

研究報告書

在宅気管切開児における唾液/気管分泌物アミラーゼ比による、気管分泌物量の管理

高槻病院新生児小児科 榎本真宏

1. 唾液、気管分泌物中のアミラーゼ (AMY) 濃度の正確な測定のための研究

担当研究者：高槻病院臨床検査科 中島正晴 八百啓介

高槻病院新生児小児科 榎本真宏

【背景】小児在宅医療において誤嚥の評価は重要だが、簡便かつ定量的な方法はない。そこで、我々の施設では、気管分泌物と唾液のアミラーゼ(AMY)の濃度測定による誤嚥の定量的な評価を試みている。しかし、これらの検体は粘度が非常に高く、かつ高濃度のAMYを含有するという特性がある。

【目的】一般的な血清AMY測定器を用いて、高粘稠度な分泌物中の高濃度AMYを正確に測定する方法を検討した。

【方法】

上記目標を達成するために、以下の通り、二段階で研究を行った。

研究 1-1 粘度低下処理方法の確立

高粘稠度検体は粘度を低下させないと測定機で測定することができないが、ポンピングで粘度低下処理した高粘度検体は、正確に希釈できるか検討した。

研究 1-2 高濃度検体の希釈測定方法の確立

1-2-1 高濃度検体（唾液）は何倍に希釈してから測定すべきか検討した。

1-2-2 その倍率で正確に希釈測定できるか検討した。

対象

高濃度検体：健康な成人の唾液 (n=3)

高粘稠度検体：小児患者の鼻汁（気管分泌物は採取が困難なため、n=5）

測定機器

AU680型自動分析装置（ベックマンコールター） AMY 2500 U/L まで測定可能

測定試薬

AMY AMY-EL (セロテック)

高濃度試料

高濃度試料 AMY (セロテック)

倫理的配慮

本研究は院内の倫理委員会で承認を受けて行われた

【結果】

研究 1-1 粘度低下処理方法の確立

まず、シリンジポンピングを行って、1000ul のマイクロチップで吸引できることを確認した (図 1)。

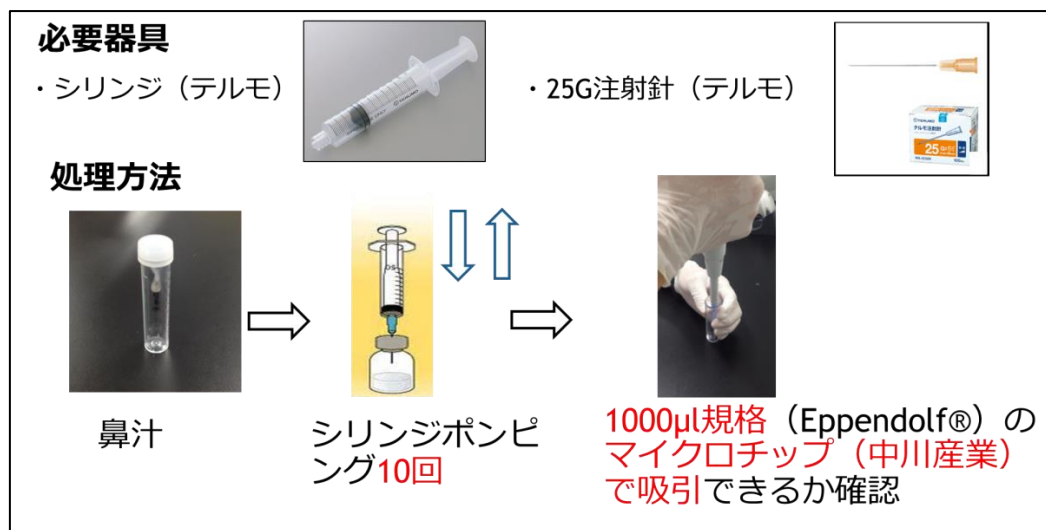


図 1 シリンジポンピングによる、粘性低下の方法

次に、AMY 濃度約 930 U/L の血清を直線性試料として、ポンピングした鼻汁と生理食塩水を用いて 2 種類の希釈直線性の比較を行ったところ、ポンピングで粘度低下処理した高粘度検体は、正確に希釈できた (図 2)。

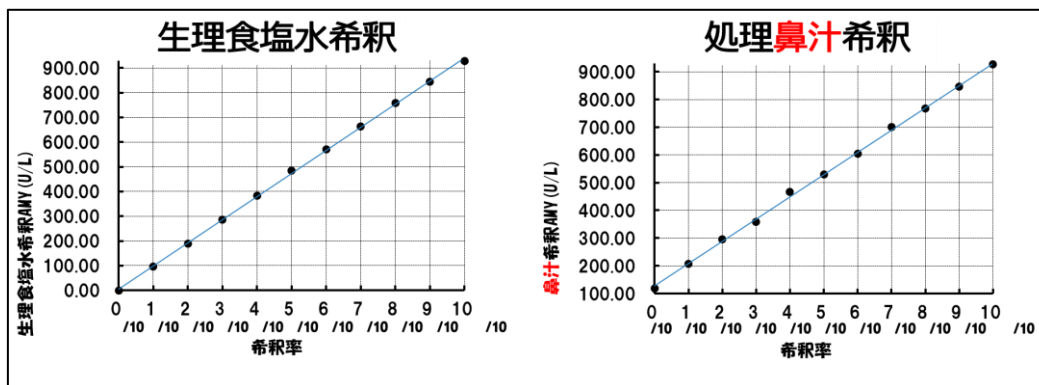


図2 粘度低下処理液と生理食塩水の希釈比較

研究 1-2 高濃度検体の希釈測定方法の確立

1-2-1 高濃度検体（唾液）は何倍に希釈してから測定すべきか？

唾液検体（n=3）のアミラーゼ濃度は、87813、173013、222347 U/L であった。つまり、理論上では、89 倍以上に希釈することで、測定機の測定可能域（2500 U/L）に入ることが示された（表 1）。さらに、全ての唾液検体において、64～2048 倍までは、アミラーゼ濃度と比して±5%の範囲内で測定できており、正確な測定ができていた（表 1）。以上より、唾液検体の AMY は 100 倍希釈することで、正確に測定可能と考えられた。

表 1 唾液検体におけるアミラーゼ濃度の検討

	アミラーゼ濃度 (単位)	64倍	128倍	256倍	512倍	1024倍	2048倍
検体 1	87813	99%	102%	98%	99%	100%	100%
検体 2	173013	97%	100%	98%	102%	102%	101%
検体 3	222347	95%	99%	100%	101%	103%	103%

1-2-2 100 倍率で正確に希釈測定できるか？

高濃度試料（9860 U/L）を鼻汁（110 U/L、粘度低下処理済）を用いて、用手法にて 10 倍に希釈し、さらに分析装置にて 10 倍希釈を行い、正確に希釈できているか検討した。その結果、理論値 1046.6 U/L に対して、測定値は 1029 U/L であり、測定値/理論値は 98.3% であったことから、高濃度試料を正確に希釈測定できていると考えられた。

【考察】

粘稠な検体であっても、簡便な方法（ポンピング）で粘性を低下させ、一般的な検査機器で AMY を正確に測定することは可能であった。また AMY 高濃度の唾液検体は、用手法（10 倍）と分析装置（10 倍）により 100 倍希釈することで、装置の測定範囲内で正確に測定ができた。

本研究の結果、唾液、気管分泌物の AMY 濃度は正確かつ簡便に測定可能と考えられた為、今後、誤嚥の定量的評価の検討を行う予定である。小児患者の唾液、気管分泌物における AMY 測定の日差再現性や検者間誤差、保存状態（凍結、冷蔵、室温）が測定に与える影響などの検討が必要であると考えられる

2. 気管分泌物/唾液アミラーゼ濃度比を用いた唾液の気道への流れ込みの評価

担当研究者： 高槻病院新生児小児科 榎本真宏 中田あゆみ 森篤志

【背景】

小児の在宅医療において、気管切開や人工呼吸管理を要する場合、気管分泌物の管理が重要となる。また、痰が多く気管吸引が頻回になると患者・家族の負担は増大する。気管分泌物は、理論的には、下気道からの分泌物だけではなく、ある程度唾液が流れ込むことが、想定される。これは、在宅医療を要する小児が、脳性麻痺などの中枢神経疾患や染色体異常などのために、嚥下機能が低下していることによる。しかし、気管吸引物が増加した場合、気管支肺由来の分泌物が増えたのか唾液の誤嚥によるものかどうかを見極める簡便な方法はない。

アミラーゼは唾液中に分泌される消化酵素であり、気管分泌物には通常アミラーゼは含まれていないと考えられる。アミラーゼ濃度測定は通常の病院で簡単かつ迅速に検査できる項目である。

したがって、気管分泌物と唾液中のアミラーゼ濃度を測定することによって、その割合から気管分泌物の由来が、唾液か気管支肺かが明らかとなる可能性がある。

【目的】

2-1、喉頭気管分離術後の患者における気管分泌物中のアミラーゼ濃度の検討

2-2、全患者における気管分泌物中のアミラーゼ濃度の比の検討

【方法】

対象

高槻病院、または愛仁会リハビリテーション病院に入院中、または通院中の児で、両親から文書による同意を得られた小児在宅医療中または小児在宅医療を目指す児で、気管切開、気管挿管、喉頭分離をしている児。

検体採取の方法

唾液、気管分泌物共に最低 300ul を回収した。一度に回収できない場合は、複数回に分けて回収した。さらに、少量のため回収が困難な場合は、吸引チューブ内に付着した分泌物を生理食塩水 1ml を用いて回収した。

測定方法

先に述べた研究の結果に乗っ取り、高槻病院臨床検査部において行われた。

倫理的配慮

本研究は院内の倫理委員会で承認を受けて行われた。

【結果】

2-1、喉頭気管分離術後の患者における気管分泌物中のアミラーゼ濃度の検討

喉頭気管分離術後の患者において、気管分泌物は非常に粘度が高く、かつごく少量であったため、希釈せずに計測に至った症例は 1 例のみ(2 回測定)であった。その患者(生後 7.8 か月、基礎疾患は 18 トリソミー)における気管分泌物の AMY 濃度は、720,1275U/L であった。

気管内分泌物が粘調または少量のため希釈を要した症例を含めると、のべ 11 回測定した。その濃度の中央値は 882U/L、範囲は 160~1980U/L であった。この結果から、研究前にはゼロと考えられていた唾液の混ざらない気管分泌物中の AMY 濃度がゼロでないことが証明された。

2-2、気管内分泌物を希釈せずに測定できた症例における、気管分泌物 AMY 濃度と唾液 AMY 濃度の比 (T/O 比) の検討 (表 2)

気管内分泌物の回収に生理食塩水 1ml を用いた症例では、その希釈倍率を正確に求めることが不可能なため、ここでは希釈なしに回収できた患者のみを対象とした。喉頭気管分離患者では T/O 比は 11% であり、予想外に気管 AMY が計測された。一方、喉頭分離していない患者の T/O 比は中央値で 26%、平均値で 31% であり、喉頭分離の患者より高い傾向にあったが、下気道からの分泌物が増えると想定される肺炎罹患中の患者と非罹患中の患者においては、T/O 比は統計学的な有意な差を認めなかった(マンホイットニーU 検定)。

また、肺炎罹患中の患者の中に、RS ウイルス罹患を疑う児がいたため、気管内 AMY 濃度との関連を見るために RS ウイルスの RT-PCR を施行したが、結果は陰性であり、それ以降の検討を行っていない。

表 2 T/O 比の中央値、平均値

	喉頭気管分離 (肺炎) n=1(2回測定)	気切・挿管 (非肺炎) n=5(7回)	気管切開 (肺炎) n=6(8回)	気切・挿管 (全症例) n=11(15回)	全症例 n=12 (17回測定)
中央値	11.18%	23.70%	34.03%	25.90%	26.50%
平均値	11.18%	23.30%	43.23%	31.25%	33.93%

【考察】

二点、研究前の仮説と異なる点が認められた。一つは、喉頭分離患者において、気管内に AMY が研究前にはゼロと考えられていた唾液の混ざらない気管分泌物中に AMY が測定されたこと、もう一つは、喉頭分離患者の気管分泌物回収が思ったより難しかったことである。これにより、本研究の計画は想定より時間がかかることとなった。

しかしながら、喉頭分離患者の AMY が測定されるということは、過去に報告のない新しい知見であり、本研究での成果といえる。過去には以下のような報告がある。成人の気管分泌物中のアミラーゼにより人工呼吸管理中のマイクロアスピレーションを予測できた (Weiss et al. Crit Care Med. 2013、Dewavrin F et al. PLoS One. 2014)。また、成人気管挿管症例において気管分泌物/唾液アミラーゼ濃度比は容易に測定可能で、誤嚥を定量化できる可能性が示唆された (Filloux B et al. Minerva Anesthesiol. 2013)。しかし、小児領域での報告はなく、喉頭気管分離症例での検討は見当たらない。つまり、過去の成人領域の研究は、気管内から測定される AMY はすべて唾液という前提である。これは、本研究により、その前提が否定されたことになり、再考を要することである。

気管支肺からは AMY が分泌されていないと仮定した場合、T/O 比が 0% とすると気管吸引物はすべて気管支肺由来と考えられ、T/O 比が 50% とすると気管吸引物は半分が唾液由

来と考えられ、T/O 比が 100%とすると気管吸引物はすべて唾液由来と考えられる。つまり、喉頭分離症例においては、この数値はゼロになると予想されたが、結果は 11%と以外と高値であった。つまりこの程度までの数値であれば、ほとんど唾液の誤嚥はないと考えても良いのかもしれない。今後の症例の集積が待たれる。しかし、非喉頭分離症例においては、T/O 比は高い傾向にあり、ある程度唾液誤嚥の指標となりうる可能性は残っている。この点においても、引き続き症例の蓄積が望まれる。

勇美記念財団から、本研究の遂行のため、多額の研究資金の提供を受けたことについて、この場を借りて深謝します。一方で、研究費を使い切れなかった理由は①AMY の測定が思いのほか安価であったこと、②測定系の確立に時間を要したため、十分な患者検体の解析に至らなかったこと、③患者解析において、気管分泌物の回収の思ったより難渋することがあったこと、④喉頭気管分離術後の患者の気管分泌物から AMY が検出されたことなどが考えられる。したがって、研究費の多くの部分を変換することとなった。しかしながら、安価な研究であっても一定の研究成果を得たことを強調しておきたい。

本検査方法は、患者にとって極めて非侵襲的であり、また安価である。引き続き研究を継続し、今後の小児在宅医療現場への応用を目指したい。