

心血管疾患予防に向けた、生体バイオセンサを用いた 運動強度の自己管理システムの開発

(研究助成金 70万円)

慶應義塾大学 医学部 勝 俣 良 紀

[2005年 慶應義塾大学卒]

共同研究者 慶應義塾大学 中 島 大 輔

〔研究応募書〕

研究目的

心血管疾患に対する費用対効果の高い診断法，治療法の提供は，医療財源を圧迫することなく国民の健康寿命を延長するためにとっても重要である。健康な生活を続けるために，有酸素運動を40分間，週3-4回実施することが推奨されている。そのため，毎日の体調に合わせて，リアルタイムに適切な運動強度（有酸素運動）を提供するプログラムの開発は喫緊の課題である。従来の心血管疾患患者への運動療法は，医療者が心肺運動負荷検査を行い，運動の強度，時間，種類を患者に指導したうえで，日常生活で継続することが一般的であったが，毎日の体調に合わせて，リアルタイムな適切な運動強度での運動を提供することは困難であり，これまでに類似研究は存在しない。そこで，我々は，2014年より「心拍変動」に注目した研究を開始した。運動中の心電図を用いて，30秒間の心拍変動を1拍ごととずらしながら，漸増運動負荷中のHF（高周波数成分），LF（低周波数成分），L/Hを連続的に解析し，瞬時に可視化することに成功した。さらに，心拍変動がHFからL/Hに切り替わるタイミングが，嫌気性代謝閾値（有酸素運動の限界）と相関することを発見し，1拍ごとの連続的な心拍変動解析のみから，有酸素運動限界を予測することが可能となり，2018年にJournal of American Heart Association誌に報告した。しかし，心血管疾患の一部，特に重症患者では，HFが安静時から小さく，嫌気性代謝閾値を予測することは困難であったため，より汎用性の高いデバイスの開発が必要であった。

そこで，我々は運動中の乳酸値を非観血的かつリアルタイムに測定するウェアラブルデバイスの開発に着手している。乳酸は通常体内エネルギー代謝が好気性代謝から嫌気性代謝に切り替わり解糖系にて糖からエネルギーを取り出す際に産生される物質で，直接的に嫌気性代謝閾値を示す。これまで乳酸値は血液サンプルを用

いた測定が唯一の測定方法であったが、今回開発するデバイス（乳酸測定ウェアラブルデバイス）を用いることで汗中の乳酸値を非侵襲的かつリアルタイムに測定し、可視化する（ウェアラブル端末画面等）ことが可能となった。これまでの研究結果から、本デバイスを用いた汗中乳酸は、血中乳酸とよく一致することが明らかになっている。（血液中乳酸値（赤）と、汗中乳酸値（青）の運動負荷中の変化：血中乳酸値は運動負荷上昇に伴い有酸素運動から無酸素運動に切り替わるタイミングで急速に上昇するが（LTポイント）、汗中乳酸を用いることで同変化点を良好に再現可能。）。

本研究では2つの生体バイオセンサを用いて、非侵襲的かつ連続的に生体情報（心拍変動および乳酸値）をモニタリングし、心血管疾患患者における運動療法中に適切な有酸素運動の運動強度を提供できるプログラムを開発することを目的とする。

研究実施計画の概要

本研究では、以下の研究開発を計画する。両デバイスのプロトタイプは完成しており、臨床に応用可能である。

① 両デバイスの臨床応用可能な精度と汎用性の獲得にむけた開発を継続

- ・心拍変動解析デバイスの開発：高精度のRR間隔のリアルタイム検出技術の開発、心拍変動解析の開発
- ・汗中乳酸測定ウェアラブルデバイスの開発：センサ及びチップの身体への固定治具開発、Ui/UXの開発

② 健常ボランティアおよび心血管疾患患者を対象に横断的な臨床研究をすすめ、実用化を図る。

- ・試験デザイン：単施設横断研究，当学倫理委員会からすでに承認を得ており，患者から文書による同意を得る。
- ・対象：基幹施設で心血管疾患患者と診断された18歳以上の者
- ・予定症例数 50例 ・予定試験期間 2021年4月～2022年3月まで
- ・曝露・介入の内容：乳酸測定ウェアラブルデバイス及び心拍変動解析デバイスを用いた運動負荷量の調整
- ・主要評価項目：主要評価項目：運動療法中血中乳酸値
- ・主要評価項目：副次評価項目：運動療法中の酸素摂取量，負荷量，心拍数

本研究では、正確な運動強度の自己管理に向けた、世界初の非侵襲的かつ連続的な乳酸測定およびリアルタイム心拍変動解析を実現するデバイスを開発することで、リアルタイムに適切な運動強度（有酸素運動）を提供することが可能となり、国民の健康増進に貢献できることが期待される。

I 緒言

十分な定期的な身体活動は、健康を維持し、心血管疾患を予防するために最も重要であり^{1, 2)}、現在の臨床実践ガイドラインや専門家の意見では、心血管疾患患者には有酸素運動を推奨している³⁻⁵⁾。臨床においては、嫌気性代謝閾値（VT）を決定する唯一の方法は、呼気ガス分析を併用した運動負荷検査であるが、VTの評価には高価な分析装置と専門的な知識が必要である^{6, 7)}。また、VTの決定のための

指標がいくつか知られているが、その指標間での差異が生じるため、たびたびVTの決定が困難になることがある⁸⁾。さらに、COVID-19をはじめとする感染症がある場合、交差感染の危険性がある。そのため、高価な分析装置や専門的な知識を必要とせず、簡単かつ高精度にVTを検出する方法が必要とされている。

生体バイオセンサは、連続的、リアルタイム、非侵襲的な方法で、人間の被験者の基礎となる生理学に関する重要な情報を得ることができる^{9, 10)}。生理学的情報が豊富な人間の汗をサンプリングすることは、非侵襲的なモニタリングを可能にする可能性がある¹¹⁾。継続的な乳酸モニタリングシステムは、特に運動のモニタリングにおいて、臨床現場でのリハビリ治療やその疾患の転帰に影響を与える可能性がある¹²⁾。これまでに、汗を利用した非侵襲的な乳酸センサを用いた臨床研究がいくつか報告されているが¹³⁻¹⁵⁾、装置の小型化や操作の簡便化に成功していないこと、医療機器としての精度が低いこと、コストが高いことなどが原因と考えられており、臨床応用には至っていない。

本研究では、我々が開発した汗中乳酸測定デバイスを用いて、漸増運動時の汗中の乳酸値を連続モニタリングできるかどうかを検討した。また、汗中乳酸作業閾値 (sLT) と血中乳酸作業閾値 (bLT) またはVTとの関係を検証した。

II 研究方法

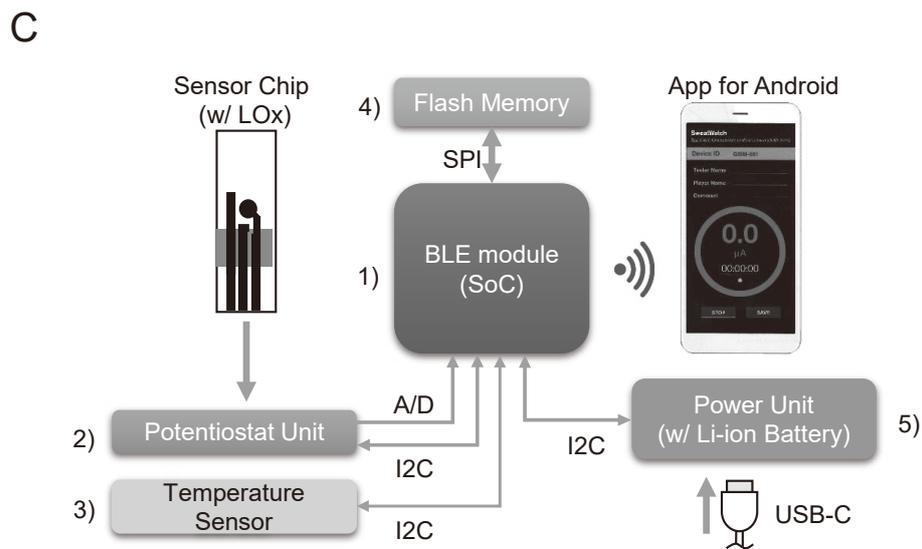
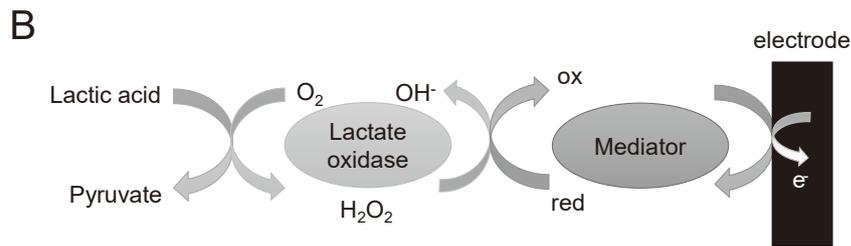
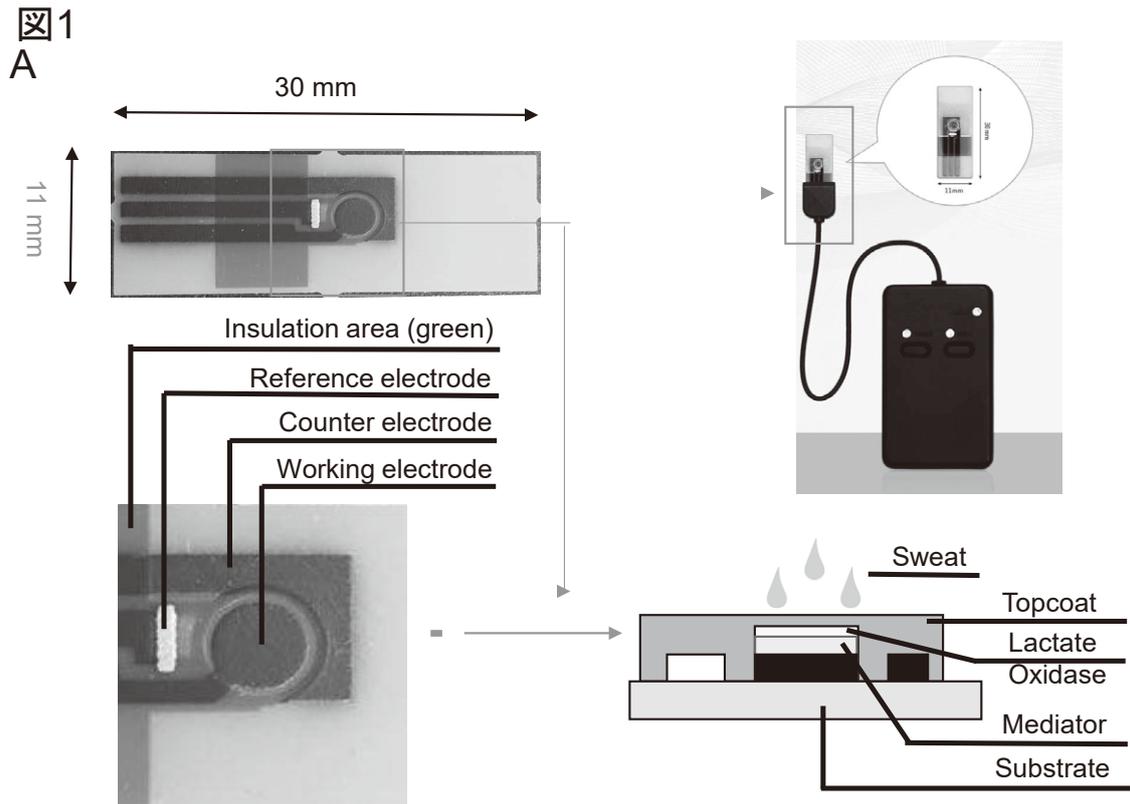
<汗中乳酸値測定装置>

試薬・材料

L-乳酸及びヒドロキシメチルフェロセンは、東京化成工業株式会社（東京，日本）から入手した。0.1mol/l-リン酸緩衝液 (PBS): pH7.0は、ナカライテスク株式会社（京都府）より調達した。L-LOx (LCO-301[®]) は東洋紡株式会社（大阪，日本）から調達した。分子生物学用水 (H20MB0501) は Merck KGaA (ドイツ, ダルムシュタット) から入手した。水溶性光硬化型感光性樹脂 (BIOSURFINE[®]-AWP) は東洋合成株式会社（東京，日本）から入手した。メタノールは、富士フイルム和光純薬株式会社（大阪府）より入手した。オリジナル印刷電極チップ (DEP-Chip[®]) は、バイオデバイステクノロジー株式会社（石川県）から調達した。

計測機器

乳酸センサチップのベースとなるオリジナルのプリント電極チップ（以下、プリント電極）は、コンピュータ支援設計 (CAD) を用いて、作用電極，対向電極，基準電極の3極からなるパターン形状を設計した (図1A)。その後、カーボンインク，Ag/AgCl，絶縁性インクを用いてスクリーン印刷法でPET基板（東レ株式会社，東京都）を作製した。これらの工程は，株式会社バイオデバイステクノロジーに委託した。



乳酸センサチップの作製

ヒドロキシメチルフェロセン飽和メタノール溶液 $0.5\mu\text{l}$ とL-LOX 0.5wt%溶液 $1.0\mu\text{l}$ の合計 $0.5\mu\text{l}$ をマイクロピペットを用いて印刷電極の作用電極に塗布し、室温で乾燥させた。次いで、作用電極、対向電極、基準電極の全面に、アプリークエーターを用いてプリ分子生物水を用いて3wt%に希釈したBIOSURFINE®-AWPを塗布し、膜厚が $15\mu\text{m}$ になるようにした。最後に、UVランプ(波長365nm)を用いて露光して保護膜を形成し、乳酸センサチップを作製した(図1A)。作製した乳酸センサチップを 5°C で冷蔵保存した。バイオセンサが乳酸と接触すると、固定化されたLox酵素が乳酸の酸化を触媒してピルビン酸および過酸化水素を生成する。その後、プルシアンブルーのトランスデューサーが過酸化水素を選択的に還元して電子を発生させ、乳酸濃度を定量化した(図1B)。

乳酸センサ装置

乳酸濃度は、I2Cインターフェースを介して駆動されるポテンショスタットユニットを介してセンサチップの動作電極(WE)からの電圧により決定された。測定中は、測定開始からの経過秒数、A/D変換された電圧(乳酸濃度に相当)、摂氏温度を10バイトのバイナリストリップデータとしてSPIインターフェースを介してフラッシュメモリに保存し、アプリは接続されたデバイスから1秒間隔でデータを受信した。動作電圧はLDOレギュレータを介して3Vに調整された(図1C)。

<研究の概要と倫理的承認>

本研究は、23名の健康な被験者と心血管疾患患者22名を対象に行った。健康者は有酸素運動能力とフィットネスレベルが幅広いが、アスリートはいなかった。また、高血圧、糖尿病、活動性肺疾患などの併存疾患はなかった。心血管疾患患者は、2019年11月から2020年5月までに慶應義塾大学病院で漸増運動負荷検査を受けた患者を登録した。心血管疾患患者の除外基準は、心臓埋め込み型電子機器の使用、2度または3度の房室ブロック、重度の肺高血圧、非代償性心不全、重度以上の原発性弁膜症心疾患、急性冠症候群の急性期とした。本研究は、慶應義塾大学医学部の施設審査委員会[許可番号;2014023,20180357]の承認を受け、ヘルシンキ宣言に従って実施された。すべての被験者は、書面によるインフォームドコンセントを提供した。

研究手順

運動負荷検査は、エルゴメーターを使用し、汗乳酸センサを貼付して汗中乳酸値の変化をモニタリングした。健康者では呼吸ガス分析は行わず、1分毎に次回からの血液サンプルを用いて血中乳酸値を測定した。汗乳酸センサは上腕に装着した。sLT, bLTを評価し、両者の関係を検証した。一方、患者では、呼気ガス分析を併用した運動負荷検査を実施し、センサは額に装着した。VT, sLTを評価し、両者の関係を検証した。

運動負荷検査のプロトコル

すべての被験者を標準的な条件で検査した。運動試験は食後1～3時間以内に行い、カフェイン飲料は運動の3時間前に制限した。喫煙する被験者はいなかった。運動試験当日は、被験者は試験前に激しい運動を避けた。一定の温度(22～24℃)に保たれた静かな部屋で、漸増負荷運動を行った。被験者は、電子ブレーキ付きエルゴメーター(三菱電機エンジニアリング社製 ストレングスエルゴ8®)を使用して、立位の姿勢で運動を行った。まず、心拍数(HR)と呼吸状態が落ち着くまで、エルゴメーターの上で2分間安静を保った。その後、健常男性は50ワット(W)、健常女性および患者は0ワット(W)で2分間のウォームアップを行い、症候限界まで運動強度を徐々に増加させた。健常者は、20W/分、患者では10または15W/分のスピードで負荷量を増やした。エルゴメーターの回転数は60回転/分とした。12誘導心電図で、全患者のHRを連続的に記録した。

呼気ガス分析

呼気ガス流量は、呼気自動化装置(Aeromonitor®, ミナトメディカルサイエンス株式会社, 大阪)を用いて測定した。換気(VE)、酸素摂取量(VO_2)、二酸化炭素排出量(VCO_2)を含む呼吸ガス交換を連続的にモニターし、10秒平均で測定した。最大酸素摂取量(peak VO_2)は、運動の最後の30秒間の平均として算出した。換気/二酸化炭素排出量(換気効率)勾配(VE- VCO_2 slope)は、運動開始から呼吸補償点までのデータを用いて、線形回帰分析によって計算された^{16, 17)}。安静時心拍数は、運動前の2分間の座位での心拍数の平均値として算出した。

換気性閾値(VT)

VTは、Gaskillらによって記述された手順(V-スロープ法など)によって古典的に決定された⁸⁾。まず、経験豊富な3人の研究者のうち2人が、各被験者のVTを無作為に評価した。第二に、2名の研究者によって決定された VO_2 値が3%以内であれば、2名の研究者の VO_2 値を平均化し、その被験者の VO_2 とした。第三に、2名の評価者によって決定された VO_2 値が3%以内でなければ、次に第三の研究者が VO_2 を独立して算出した。その値を最初の2名の研究者の VO_2 値と比較した。判定された VO_2 値がいずれかの研究者の3%以内であれば、2名の VO_2 値を平均化し、その被験者の VO_2 とした。

血中乳酸作業性閾値(bLT)

健康な被験者において、漸増負荷運動中に血中乳酸値を測定した。血中乳酸値は、運動試験中に耳かきをして耳葉を静かに圧迫し、2分ごとに毛細血管の血液サンプルを採取することによって得た。採取したサンプルを、乳酸分析器(Lactate Pro2®, ARKRAY, 日本)上の標準酵素法を用いて、直ちに全血乳酸濃度(mmol/L)を分析した。

LTはグラフプロットにより決定した¹⁸⁾。経験豊富な2名の研究者が、ベースラインからの最初の上昇を特定するために、各被験者について独立して決定した。2名の研究者間でLT時間が異なっていた場合、3人目の研究者が独立してLTを決定することで、その違いを判断した。その後、3人の研究者

は共同でLT時間を決定した。

汗中の乳酸作業性閾値 (sLT)

Change Finder アルゴリズムで算出したグラフプロットと Change Finder スコアに基づいて、ベースライン以上の汗中乳酸値の最初の有意な増加として sLT を同定した。運動開始から運動終了までの範囲の汗中乳酸値の時系列データに Change Finder アルゴリズム¹⁹⁾ を適用して、sLT のいくつかの候補点 (変化点) を抽出した。Change Finder アルゴリズムにおいて、外れ値と変化点を正確に区別するために、逐次ディスカунティング AR (SDAR) モデルを用いた二段階学習を行った。呼気ガス交換を解析した研究者とは独立した 3 人の研究者が共同で sLT のポイントを決定した。

統計的な分析

結果は、連続変数の場合は平均値±標準偏差または中央値、四分位間距離 (IQR) で、名義変数の場合はパーセンテージで表示した。一変量ロジスティック回帰分析を行い、乳酸センサにおける非反応の調整オッズ比 (OR) および 95% 信頼区間 (CI) を推定した。sLT, bLT, VT における作業道との関係をピアソンの相関係数検定で調べた。また、異なる方法 (sLT, bLT, VT) 間の類似性を検証するために Bland and Altman 法を適用した²⁰⁾。この比較は、手法間の差と、これらの手法の平均値をグラフ化したものである。すべての確率値は 2-tailed で、 <0.05 の p 値は統計的に有意であると考えられた。すべての統計解析は、R version 3.6.3 を用いて行った。

Ⅲ 研究結果

【被験者の背景】

健常者の特性を表 1 にまとめた。健康な被験者は、多くが男性 (91%) であり、平均年齢は 20 歳 (20, 21 歳) であった。患者は男性が多く (68%) で、平均年齢 65 歳 (57, 73 歳), LVEF 49.4% (32.0, 56.5%) であった。17 例 (77%) は β 遮断薬を服用していた。

表 1. 被験者特性

	健常者 (n=23)	患者 (n=22)
年齢, 歳 (median, IQR)	20 (20, 21)	65 (57, 73)
男性, n (%)	21 (91)	15 (68)
身長, cm (median, IQR)	171 (165, 175)	162 (156, 170)
体重, kg (median, IQR)	62 (58, 68)	61 (56, 72)
BMI, kg/m ² (median, IQR)	22 (20, 23)	24 (22, 26)

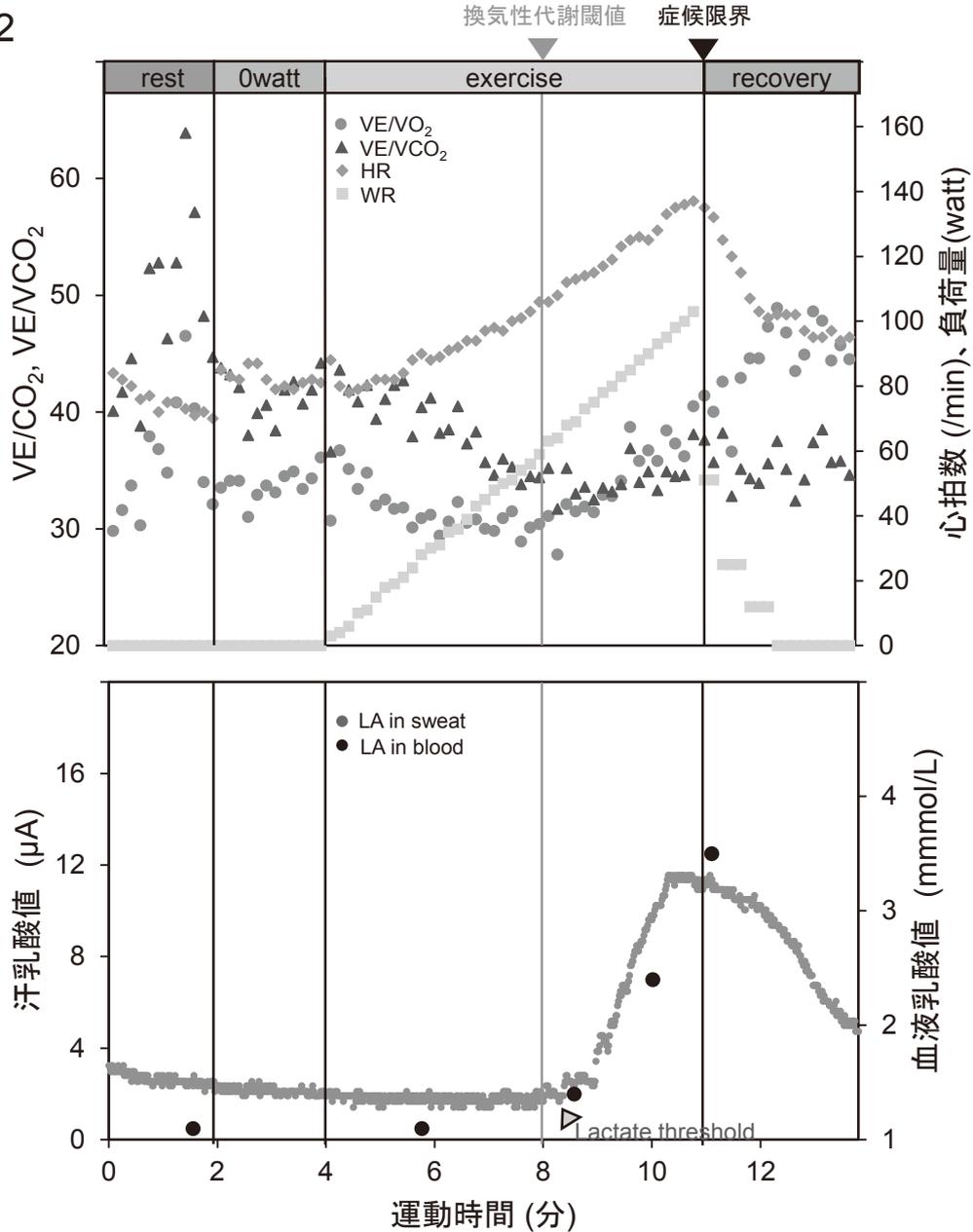
高血圧, n (%)	-	7 (32)
糖尿病, n (%)	-	3 (14)
脂質異常症, n (%)	-	12 (55)
NYHA ≥ 3	-	8 (36)
Hemoglobin, g/dL (median, IQR)	-	13.9 (12.3, 15.2)
Creatinine, mg/dL (median, IQR)	-	0.90 (0.85, 1.08)
BNP, pg/mL (median, IQR)	-	143 (36, 284)
心収縮率 edian, IQR)	-	49.4 (32.0, 56.5)
β 遮断薬(%)	-	17 (77)
ACEI or ARB, n (%)	-	12 (55)
抗血栓薬 n (%)	-	9 (41)
抗不整脈薬, n (%)	-	1 (5)
Cardiopulmonary test data		
VO ₂ at VT, mL/kg/min (median, IQR)	-	10.5 (9.8, 11.7)
VT, sec (median, IQR)	-	433.5 (420.0, 479.3)
Peak VO ₂ , mL/kg/min (median, IQR)	-	16.2 (12.4, 18.7)
%Peak VO ₂ , % (median, IQR)	-	68.9 (55.9, 86.1)
VE/VCO ₂ slope (median, IQR)	-	32.8 (29.4, 39.6)

ACEI = アンジオテンシン変換酵素阻害薬; ARB = アンジオテンシン受容体拮抗薬; BMI = ボディマス指標; BNP = B型ナトリウム利尿ペプチド; IQR = interquartile range; NYHA = New York Heart Association Functional Classification; VE/VCO₂, ventilation-carbon dioxide production; VO₂ = 酸素摂取量; VT = 換気性代謝閾値.

【運動時の汗中乳酸値のモニタリング】

漸増運動負荷検査中の汗中乳酸値の測定結果を図2に示す。運動試験中の汗の乳酸値の変化は、すべての健康な被験者と患者の一部で成功し、ウェアラブルデバイス上にリアルタイムに表示された。運動開始時は、発汗がないため、乳酸センサは反応していない。発汗の開始後、乳酸が表皮から放出され、本センサによって選択的に検出される。その後、運動の中盤以降で、汗の乳酸値の急激な上昇が観察され、症候限界の運動終了まで連続的に増加した。運動終了後は、心拍数の低下と比較して、比較的ゆっくりと汗中の乳酸値が減少した。

図2



【汗乳酸が測定できなかった要因】

患者では、運動時の汗の乳酸値の変化は健常者と同様であった。しかし、一部の症例では運動開始後、回復状態に至るまで安定して低い乳酸値を示しており、運動負荷を最大にしても発汗が不足していることが示唆された。そこで、汗乳酸が測定できなかった要因を検証するために、ロジスティック回帰分析を行った。NYHA3以上及び低い最高酸素摂取量は汗中乳酸が測定できない要因として同定された (オッズ比 (OR) 0.01 [95% 間隔 (CI); 0.00-0.13], OR 1.45 [95% CI; 1.09-2.20])。逆に、年齢, B型ナトリウム利尿ペプチド, 左室駆出率は関連していなかった (OR 0.90 [95% CI; 0.44-1.69], OR 0.91 [95% CI; 0.73-1.09], OR 1.27 [95% CI; 0.88-1.91])。

【sLT, bLT, VTの関係】

健康者全員と汗中乳酸が測定できた14例患者において、図2のように、LA値が急激に変化する転換点を容易に同定できた。健康な被験者において、sLT時の負荷量 (WR-sLT) と、bLT時の負荷量 (WT-bLT) の関係を検証した (図3)。各閾値間には強い相関を認め ($r = 0.80$, $p < 0.001$)、Bland-Altmanプロットでは、各閾値間の平均値の差は-3.0ワットで、また、平均値間に偏りを認めず、両閾値間に強い一致を示した。

次に、汗中乳酸が測定できた患者14例のうち、1人は呼気ガス分析を用いた解析でVTを明確に算出することができなかつたため、残りの13例で、sLT時の負荷量 (WR-sLT) と、VT時の負荷量 (WT-VT) の関係を検証した (図4)。WR-sLTとWR-VTの間には良好な相関が観察された ($r = 0.65$ $p = 0.01$)。また、Bland-Altmanプロットでは、両閾値間で強い一致性を認めた (各閾値間の平均差: 3.4watt)。

図3

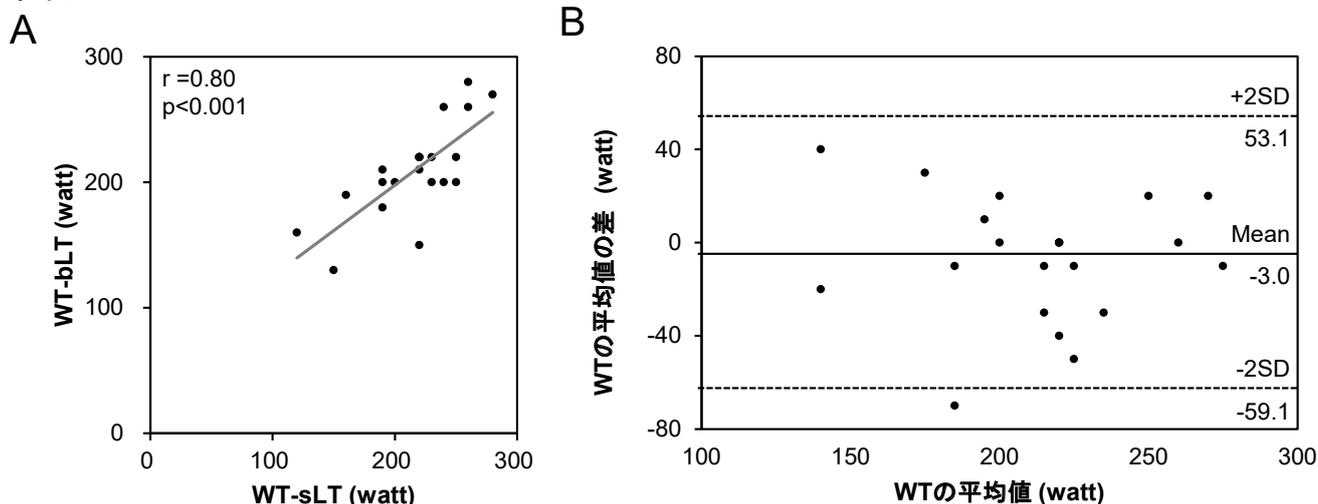
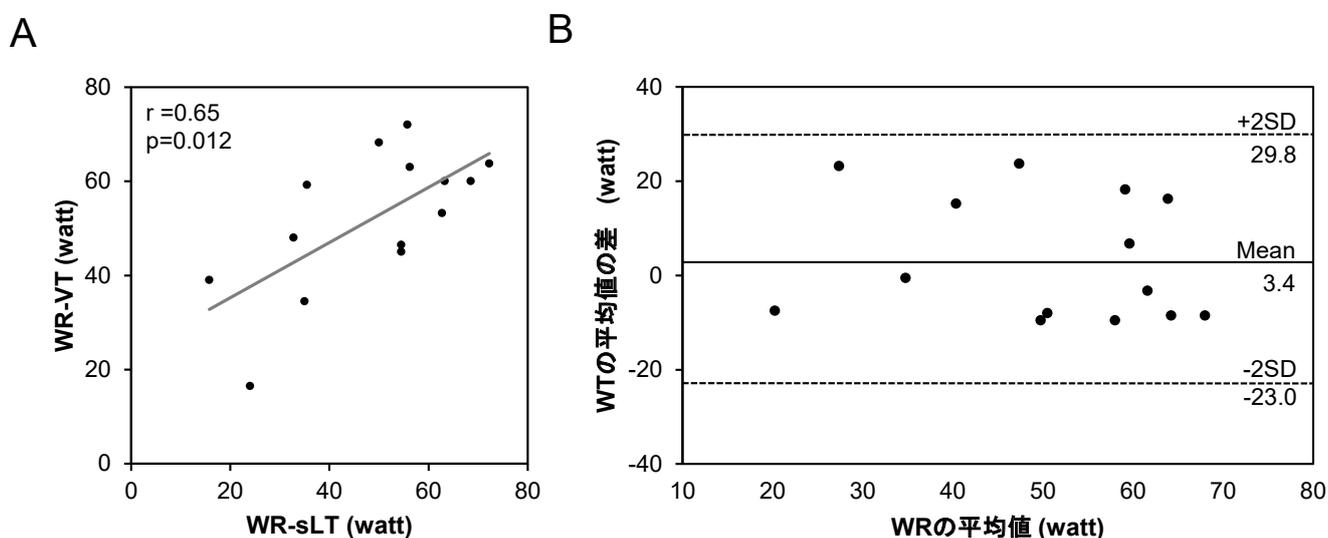


図4



IV 考 察

本研究では、我々が開発した汗中乳酸センサで、漸増運動負荷検査中の汗中の乳酸値を連続的かつリアルタイムに測定が可能であった。また、健常者および一部の患者において、sLTはbLTやVTと強く相関した。汗中乳酸のリアルタイムモニタリングは、嫌気性代謝閾値の検出に応用できる可能性が示唆された。

人体は運動などの身体活動中に複雑な生理的变化を受ける²¹⁻²⁴⁾。しかし、現在のウェアラブルデバイスは、心拍数、運動、間欠的血压、動脈性酸素飽和度、心電図などの物理的または電気生理学的情報を得るだけである。センシングモダリティの進歩により、運動中の複雑な生理的变化を詳細に把握することが期待されている²⁵⁾。特に、乳酸は個人のパフォーマンスや運動強度を追跡するために用いることができ、運動中の乳酸値の連続測定は、物理的または電気生理学的な情報からは得られない非常に有用な生理的な変化を把握することが可能になる²⁶⁻³¹⁾。現在、乳酸値は臨床検査室やポイントオブケア機器を用いて測定するが³²⁻³⁴⁾、このようなアプローチでは、連続的なリアルタイム測定が不可能である（血液サンプルを用いた測定では、最大でも1分おきの乳酸値測定となる）。一方、皮膚上に存在する汗を利用した我々のデバイスは、健康な被験者に加えて、一部の心血管疾患患者で、リアルタイムかつ連続的に運動中の汗中乳酸値を非侵襲的に測定することに成功した。これは、運動時の複雑な生理的变化の一部を可視化できたことを意味する。

バイオセンサでは、装着者に刺激を与えず、装着場所にフィットする柔軟性が重要である。最近の製造技術の進歩により、人間の皮膚の滑らかな曲線形状に自然に適合するバイオセンサの設計が可能となり、それにより、化学物質や電解質などの生理学的測定に必要な接触が実現できた³⁵⁻³⁷⁾。我々が開発したセンサも柔軟性が高く、PET基板を使用して曲面にスムーズに嵌合させることができた。これまでの研究で、運動中に額や上腕での発汗量が多いことが報告されている^{38, 39)}。また、上腕または額周辺の表皮や筋肉組織は複雑な3次元ひずみがないため、センサの密着がよく、激しい運動をしてもかなり安定しているため、汗中乳酸測定がスムーズに行える可能性が高いとい考えられた。そこで、健常者では装着の利便性などを考慮して、センサを上腕部に装着する仕様として検証を行った。一方、心血管疾患患者では、高齢であることも考慮して、上腕より発汗量が多いと報告されている額にセンサを装着した。健常者では全例で汗中乳酸値は測定できたが、心血管疾患患者では、NYHA3以上及び低い最高酸素摂取量を持つ患者では、有意に汗中乳酸値を測定することができなかった。センサが反応せず、汗中乳酸値が測定できないことは、運動時の発汗量が不足していることを示しており、利尿剤による血管内脱水、交感神経優位などの自律神経バランスの異常、心不全による虚弱状態などが考えられた。効率的な発汗ができていない患者の汗中乳酸値をモニターするウェアラブルデバイスの開発に向けて、さらなる研究が必要となる。

臨床現場では、呼吸ガス分析を用いた運動検査が、VTや運動持久力の判定に最も有用な方法である。しかし、VTの検出に必要な VE/VO_2 や VCO_2/VO_2 の傾きなど、VTの検出に必要ないくつかの因子の間に不整合があるため、VTの判定が困難な場合がある⁸⁾。また、COVID-19のような感染症パンデミック

では、交差感染の可能性があるため、呼吸ガス測定器の使用が困難になってきている。汗のみを用いたモニタリングによるsLTの決定は、これらの問題を克服できる可能性がある。無線データ転送システムを用いて汗中乳酸値をリアルタイムで評価することで、健康な被験者だけでなく、心血管疾患患者の日常的な身体状況に基づいた厳格な有酸素運動を提供することができます。さらに、この革新的なシステムを、外来患者の心臓リハビリテーションに応用することで、病院でのリハビリテーションからフィットネスクラブや自宅などでの安全かつ効果的なリハビリテーションへの変換を可能とすることが期待される。

本研究における問題点をいかに述べる。第一に、観察研究であるため、本センサで汗中乳酸値を測定できなかった要因の検証の際に、選択バイアスや未測定の交絡因子の影響を否定することはできない。第二に、本研究は比較的少ない症例数であり、比較のために乳酸酸化酵素を含まないセンサを使用した対照群は含まれていなかった。他の汗成分ではなく、乳酸が特異的に測定されたことを検証するために、同じ実験条件で、乳酸酸化酵素を含まないセンサを使用する対照実験を行う必要がある。そのうえで、大規模なサンプルサイズのランダム化比較研究が必要である。第三に、運動中の発汗率は測定されていない。このため、乳酸センサで汗中乳酸値を測定できなかった要因が、汗の不足によるものなのか、または生理学的測定に必要な接触が十分でなかったのかは不明である。本センサで汗中乳酸値が可能かどうかと発汗量の関係を調べるためには、さらなる研究が必要である。

V 結 語

健常者および一部の心血管疾患患者で、我々の開発した乳酸センサを用いて漸増運動負荷検査中に汗中乳酸値をリアルタイムかつ連続的にモニタリングに成功した。汗中乳酸値のモニタリングは、嫌気性代謝閾値の検出に役立つ可能性がある。

【参考文献】

- 1) Schnohr P, O'Keefe JH, Marott JL, Lange P and Jensen GB. Dose of jogging and long-term mortality: the Copenhagen City Heart Study. *J Am Coll Cardiol*. 2015; 65: 411-9.
- 2) Wen CP, Wai JP, Tsai MK, Yang YC, Cheng TY, Lee MC, Chan HT, Tsao CK, Tsai SP and Wu X. Minimum amount of physical activity for reduced mortality and extended life expectancy: a prospective cohort study. *Lancet*. 2011; 378: 1244-53.
- 3) Clark AM, Hartling L, Vandermeer B and McAlister FA. Meta-analysis: secondary prevention programs for patients with coronary artery disease. *Ann Intern Med*. 2005; 143: 659-72.
- 4) Flynn KE, Piña IL, Whellan DJ, Lin L, Blumenthal JA, Ellis SJ, Fine LJ, Howlett JG, Keteyian SJ, Kitzman DW, Kraus WE, Miller NH, Schulman KA, Spertus JA, O'Connor CM and Weinfurt KP. Effects of exercise training on health status in patients with chronic heart failure: HF-ACTION randomized controlled trial. *JAMA*. 2009; 301: 1451-9.
- 5) Belardinelli R, Georgiou D, Cianci G and Purcaro A. 10-year exercise training in chronic heart failure: a randomized controlled trial. *J Am Coll Cardiol*. 2012; 60: 1521-8.

- 6) Balady GJ, Williams MA, Ades PA, Bittner V, Comoss P, Foody JM, Franklin B, Sanderson B and Southard D. Core components of cardiac rehabilitation/secondary prevention programs: 2007 update: a scientific statement from the American Heart Association Exercise, Cardiac Rehabilitation, and Prevention Committee, the Council on Clinical Cardiology; the Councils on Cardiovascular Nursing, Epidemiology and Prevention, and Nutrition, Physical Activity, and Metabolism; and the American Association of Cardiovascular and Pulmonary Rehabilitation. *Circulation*. 2007; 115: 2675–82.
- 7) Guidelines for rehabilitation in patients with cardiovascular disease (JCS 2012). *Circ J*. 2014; 78: 2022–93.
- 8) Gaskill SE, Ruby BC, Walker AJ, Sanchez OA, Serfass RC and Leon AS. Validity and reliability of combining three methods to determine ventilatory threshold. *Med Sci Sports Exerc*. 2001; 33: 1841–8.
- 9) An BW, Shin JH, Kim SY, Kim J, Ji S, Park J, Lee Y, Jang J, Park YG, Cho E, Jo S and Park JU. Smart Sensor Systems for Wearable Electronic Devices. *Polymers (Basel)*. 2017; 9.
- 10) Kobsar D and Ferber R. Wearable Sensor Data to Track Subject-Specific Movement Patterns Related to Clinical Outcomes Using a Machine Learning Approach. *Sensors (Basel)*. 2018; 18.
- 11) Baker LB. Sweating Rate and Sweat Sodium Concentration in Athletes: A Review of Methodology and Intra/Interindividual Variability. *Sports Med*. 2017; 47: 111–128.
- 12) Keytsman C, Hansen D, Wens I and Eijnde BO. Exercise-induced lactate responses in Multiple Sclerosis: A retrospective analysis. *NeuroRehabilitation*. 2019; 45: 99–106.
- 13) Jia W, Bandodkar AJ, Valdés-Ramírez G, Windmiller JR, Yang Z, Ramírez J, Chan G and Wang J. Electrochemical tattoo biosensors for real-time noninvasive lactate monitoring in human perspiration. *Anal Chem*. 2013; 85: 6553–60.
- 14) Gao W, Emaminejad S, Nyein HYY, Challa S, Chen K, Peck A, Fahad HM, Ota H, Shiraki H, Kiriya D, Lien DH, Brooks GA, Davis RW and Javey A. Fully integrated wearable sensor arrays for multiplexed in situ perspiration analysis. *Nature*. 2016; 529: 509–514.
- 15) Imani S, Bandodkar AJ, Mohan AM, Kumar R, Yu S, Wang J and Mercier PP. A wearable chemical-electrophysiological hybrid biosensing system for real-time health and fitness monitoring. *Nat Commun*. 2016; 7: 11650.
- 16) Clark AL, Poole-Wilson PA and Coats AJ. Relation between ventilation and carbon dioxide production in patients with chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol*. 1992; 20: 1326–32.
- 17) Francis DP, Shamim W, Davies LC, Piepoli MF, Ponikowski P, Anker SD and Coats AJ. Cardiopulmonary exercise testing for prognosis in chronic heart failure: continuous and independent prognostic value from VE/VCO(2)slope and peak VO(2). *Eur Heart J*. 2000; 21: 154–61.
- 18) Faude O, Kindermann W and Meyer T. Lactate threshold concepts: how valid are they? *Sports Med*. 2009; 39: 469–90.
- 19) Takeuchi J and Yamanishi K. A unifying framework for detecting outliers and change points from time series. *Ieee T Knowl Data En*. 2006; 18: 482–492.
- 20) Bland JM and Altman DG. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet*. 1986; 1: 307–10.
- 21) Wasserman K, Van Kessel AL and Burton GG. Interaction of physiological mechanisms during exercise. *J Appl Physiol*. 1967; 22: 71–85.
- 22) Rittweger J, Beller G and Felsenberg D. Acute physiological effects of exhaustive whole-body vibration exercise in man. *Clin Physiol*. 2000; 20: 134–42.
- 23) Tatterson AJ, Hahn AG, Martin DT and Febbraio MA. Effects of heat stress on physiological responses and exercise performance in elite cyclists. *J Sci Med Sport*. 2000; 3: 186–93.
- 24) Yarasheski KE, Zachwieja JJ and Bier DM. Acute effects of resistance exercise on muscle protein synthesis rate in young and elderly men and women. *Am J Physiol*. 1993; 265: E210–4.
- 25) Bandodkar AJ and Wang J. Non-invasive wearable electrochemical sensors: a review. *Trends Biotechnol*. 2014; 32: 363–71.
- 26) Buono MJ, Lee NV and Miller PW. The relationship between exercise intensity and the sweat lactate excretion rate. *J Physiol Sci*. 2010; 60: 103–7.
- 27) Pilardeau PA, Lavie F, Vaysse J, Garnier M, Harichaux P, Margo JN and Chalumeau MT. Effect of different work-loads on sweat production and composition in man. *J Sports Med Phys Fitness*. 1988; 28: 247–52.
- 28) Pilardeau P, Vaysse J, Garnier M, Joublin M and Valeri L. Secretion of eccrine sweat glands during exercise. *Br J Sports Med*. 1979; 13: 118–21.
- 29) Falk B, Bar-Or O, MacDougall JD, McGillis L, Calvert R and Meyer F. Sweat lactate in exercising children and adolescents of varying physical maturity. *J Appl Physiol (1985)*. 1991; 71: 1735–40.
- 30) Biagi S, Ghimenti S, Onor M and Bramanti E. Simultaneous determination of lactate and pyruvate in human sweat using reversed-phase high-performance liquid chromatography: a noninvasive approach. *Biomed Chromatogr*. 2012; 26: 1408–15.

- 31) Polliack A, Taylor R and Bader D. Sweat analysis following pressure ischaemia in a group of debilitated subjects. *J Rehabil Res Dev.* 1997; 34: 303–8.
- 32) Jansen TC, van Bommel J, Schoonderbeek FJ, Sleswijk Visser SJ, van der Klooster JM, Lima AP, Willemsen SP and Bakker J. Early lactate-guided therapy in intensive care unit patients: a multicenter, open-label, randomized controlled trial. *Am J Respir Crit Care Med.* 2010; 182: 752–61.
- 33) Vincent JL, Quintairos ESA, Couto L, Jr. and Taccone FS. The value of blood lactate kinetics in critically ill patients: a systematic review. *Crit Care.* 2016; 20: 257.
- 34) Soper SA, Brown K, Ellington A, Frazier B, Garcia-Manero G, Gau V, Gutman SI, Hayes DF, Korte B, Landers JL, Larson D, Ligler F, Majumdar A, Mascini M, Nolte D, Rosenzweig Z, Wang J and Wilson D. Point-of-care biosensor systems for cancer diagnostics/prognostics. *Biosens Bioelectron.* 2006; 21: 1932–42.
- 35) Kim DH, Ghaffari R, Lu N and Rogers JA. Flexible and stretchable electronics for biointegrated devices. *Annu Rev Biomed Eng.* 2012; 14: 113–28.
- 36) Kim DH, Lu N, Ma R, Kim YS, Kim RH, Wang S, Wu J, Won SM, Tao H, Islam A, Yu KJ, Kim TI, Chowdhury R, Ying M, Xu L, Li M, Chung HJ, Keum H, McCormick M, Liu P, Zhang YW, Omenetto FG, Huang Y, Coleman T and Rogers JA. Epidermal electronics. *Science.* 2011; 333: 838–43.
- 37) Chuang MC, Yang YL, Tseng TF, Chou T, Lou SL and Wang J. Flexible thick-film glucose biosensor: influence of mechanical bending on the performance. *Talanta.* 2010; 81: 15–9.
- 38) Havenith G, Fogarty A, Bartlett R, Smith CJ and Ventenat V. Male and female upper body sweat distribution during running measured with technical absorbents. *Eur J Appl Physiol.* 2008; 104: 245–55.
- 39) Patterson MJ, Galloway SD and Nimmo MA. Variations in regional sweat composition in normal human males. *Exp Physiol.* 2000; 85: 869–75.