

線虫及び質量分析計を用いた 癌の匂い物質の解明と早期診断法の開発

Investigation of Scent Substances and Development of Early Diagnosis for Carcinoma Using Caenorhabditis Elegans Scent Detection and Mass Spectrograph

川口 義明

東海大学医学部内科学系消化器内科

Yoshiaki Kawaguchi

Divisio of Gastroenterology

Tokai University School of Medicine

[要旨]

癌の早期発見は患者の生命予後を延ばす上で重要であるが、膵癌などの難治癌では早期診断が困難なために進行癌で発見され、治療に難渋する場合がある。尿検体を用いて線虫 *Caenorhabditis elegans*(*C. elegans*)の嗅覚による癌に対する走性行動または質量分析器により匂い物質を解明することで癌早期発見が可能であるかを検討する。患者にとって侵襲のない尿検体を用いて、癌の匂い物質が解明できれば、健診などで応用が可能である。

[Abstract]

Early diagnosis for carcinoma is important for extension of prognosis, but in the incurable carcinoma cases, for example pancreatic cancer, almost of them are discovered in advanced stage because of difficulty of early diagnosis. We examine the possibility of early diagnosis for carcinoma by investigation of scent substances using *Caenorhabditis Elegans* and mass spectrograph for urine. If possible, scent substances can be used for early diagnosis in healthy examination.

[Key Words]

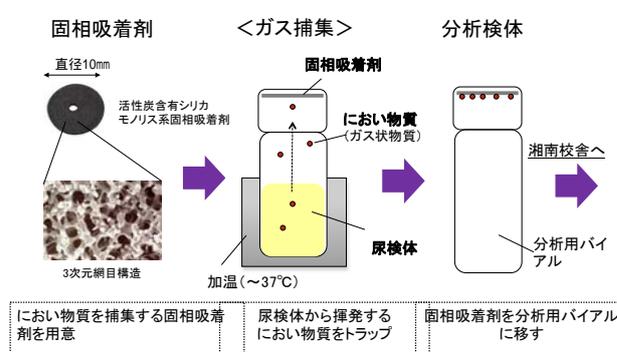
scent substance, carcinoma, *Caenorhabditis Elegans*, mass spectrograph, early diagnosis

1. はじめに

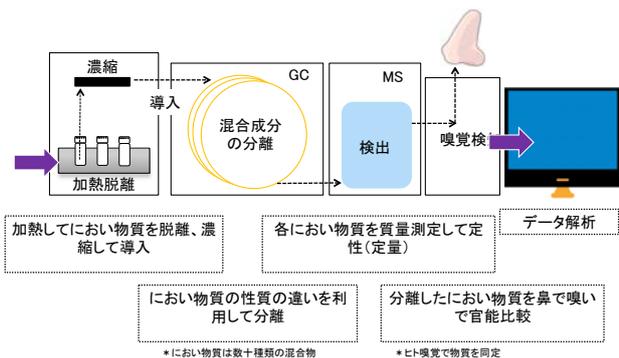
胆膵癌の早期発見は困難であり、進行癌で発見される場合がほとんどであり、難治癌の代表である。また口腔癌・消化管癌（食道癌、胃癌、大腸癌）の診断に関しても、より非侵襲的で簡便な検査による早期診断が望まれている。線虫 *Caenorhabditis elegans*(*C. elegans*)の嗅覚による癌に対する走性行動¹⁾または質量分析器を用いることで、胆膵癌・口腔癌・消化管癌の早期発見が可能であるかを検討する。患者にとって侵襲のない尿検体を用いて、*C. elegans*の胆膵癌・口腔癌・消化管癌診断能を測定するとともに胆膵癌・口腔癌・消化管癌特有の匂い物質を解明することは臨床的に意義深い。今回は *C. elegans*の条件設定が決定に至っていないため、質量分析器を用いた研究の測定条件の検討に関して報告する

2. 実験の概要

尿検体から匂い成分を捕集、分析する流れを図で示す。



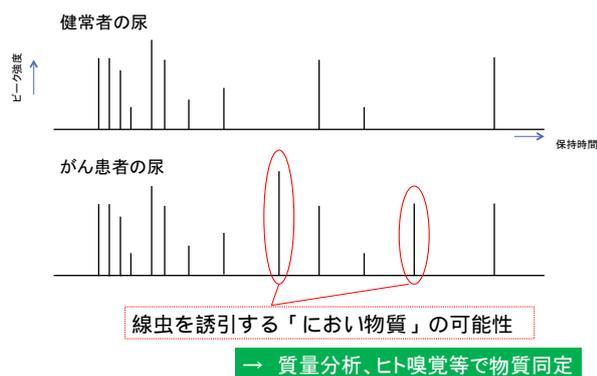
加熱脱離—ガスクロマトグラフィー質量分析—匂い嗅ぎシステム



癌患者と健常者の尿検体から匂い物質を解析することによって、癌特異的な匂い物質が存在するかどうかを解析する。

＜得られるデータ＞

分析開始後の経過時間毎に各におい物質の量に応じたピークが得られる



3. 結果の概要

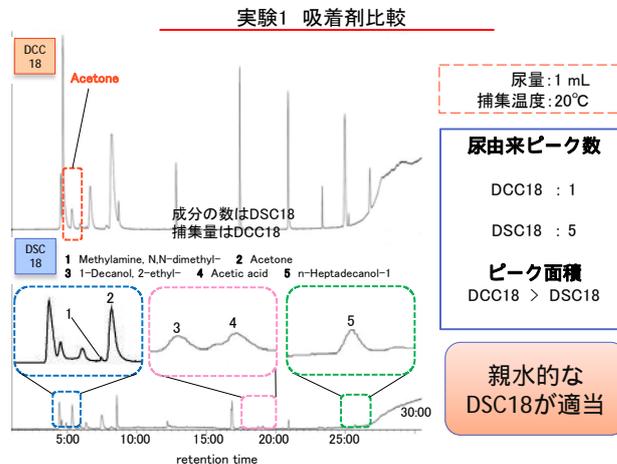
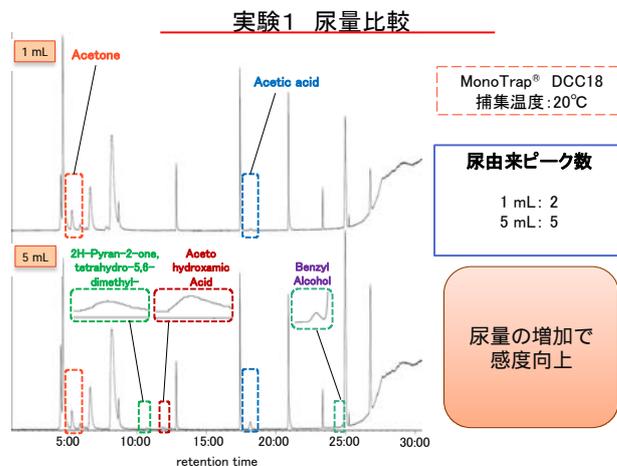
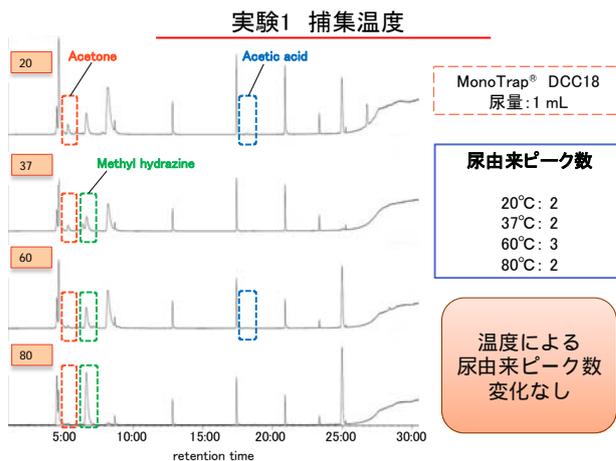
1) 匂い成分捕集方法の検討

匂い成分捕集方法には下記の3つの方法がある。どの方法、どの条件が最も有用であるかの基礎実験を行った。

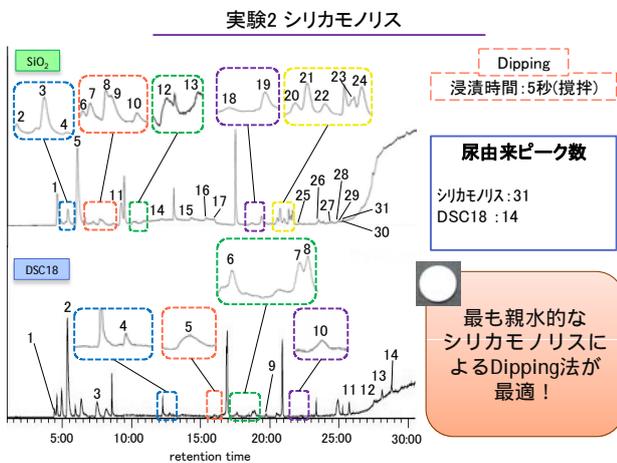
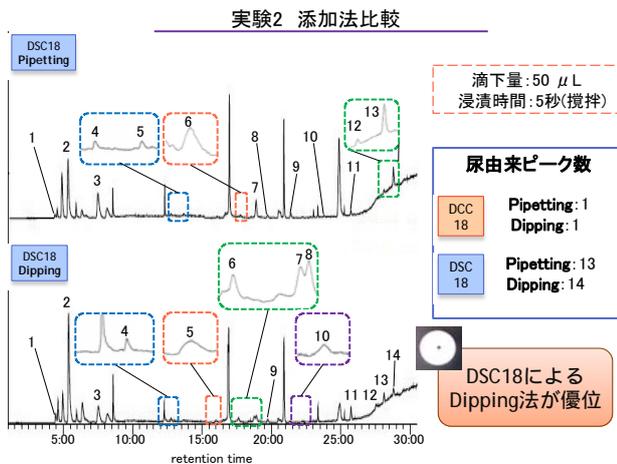
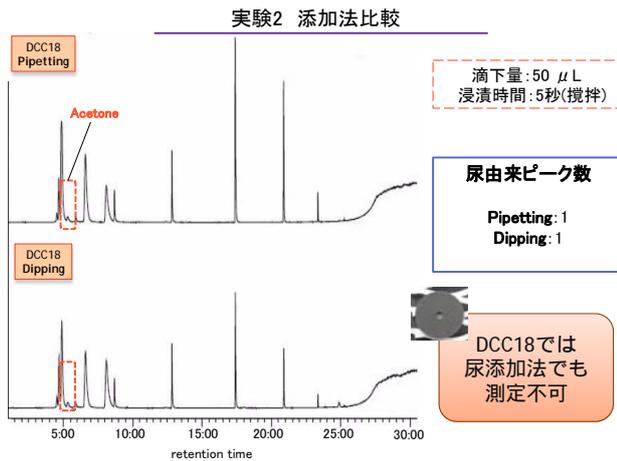
		固相吸着剤MonoTrap®		
1	揮発ガス固相捕集法	DCC18	DSC18	
2	固相添加捕集法 (Pipetting, Dipping)	DCC18	DSC18	シリカモノリス
3	揮発ガス直接導入法	-	-	-

ガスクロマトグラフィー/質量分析計		
カラム	InertCap® Pure WAX(ジーエルサイエンス社製) 0.25 mm I.D.×60 m df = 0.25 μm	
カラム温度	40°C(hold 3 min) - 6°C/min - 100°C(hold 2 min) - 10°C/min - 200°C - 20°C/min - 250°C(hold 3 min)	
キャリアーガス	ヘリウム(6.5 mL/min)	
GCITF温度	200	
検出器	温度	250
	イオン化エネルギー	70 eV
	イオン化電流	200 μA
	検出器電圧	1500 V
注入口	温度	250
	試料量	1 μL
	注入法	スプリット 10 : 1
加熱脱離温度	120 (実験3のみ60、80、100、120)	

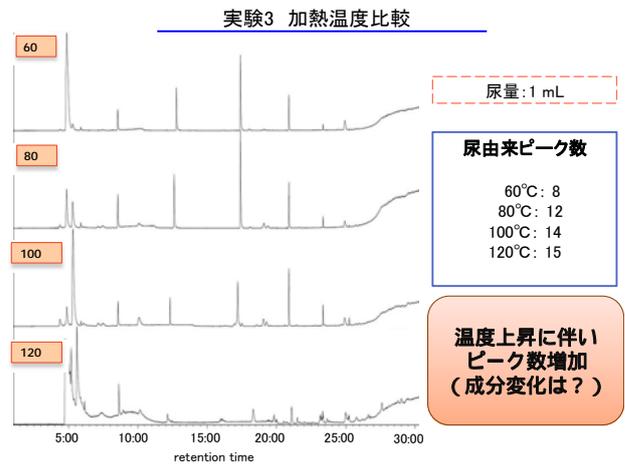
a. 揮発ガス固相捕集法の検討 (実験1)



b. 固相添加捕集法の検討 (実験2)



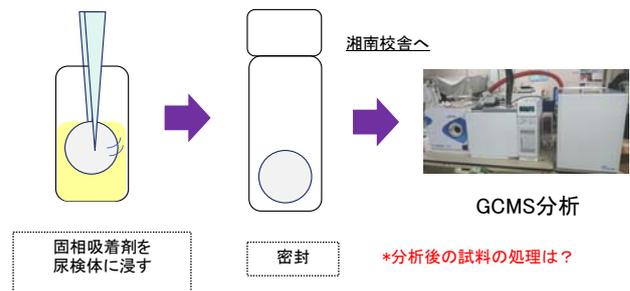
c. 揮発ガス直接導入法の検討 (実験3)



2) まとめ

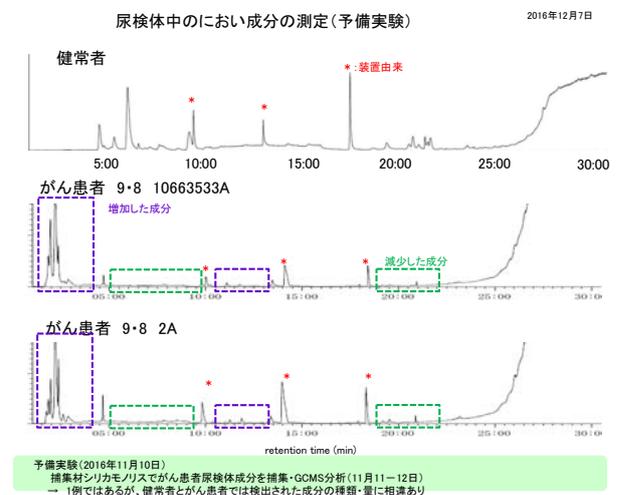
今回の基礎実験では、下記の条件が最適と考えられた。今後この条件で実験を進める方針である。

現在の最適条件
固相添加捕集法 (Dipping)
吸着剤: シリカモノリス



4. 今後の展望

膀胱癌患者1例の尿検体を用いて予備実験を行ったところ、健康尿と比較して異なるピークが観察された。



患者尿検体は凍結されたものを使用。一方健常尿は新鮮尿を用いている。凍結されたことによる影響も考えられる、今後は同一条件の尿検体で検討していきたい。

5. 引用文献

1) Hirotsu T, Sonoda H, Uozumi T, Shinden Y, Mimori K, Maehara Y, Ueda N, Hamakawa M. A Highly Accurate Inclusive Cancer Screening Test Using *Caenorhabditis elegans* Scent Detection. *PLoS One*. 2015;10:e0118699. doi: 10.1371/journal.pone.0118699. eCollection 2015. PMID: 25760772

5. 業績

論文発表

1. Yoshiaki Kawaguchi, Tetsuya Mine. Endoscopic approach to the diagnosis of pancreatic cystic tumor. *World Journal of Gastrointestinal Oncology*, 2016;8:159-164.

2. Yoshiaki Kawaguchi, Tetsuya Mine. Endoscopic treatment of patients with chronic pancreatitis. *J Pancreas (JOP)*, 2016;17:11-16.

3. Atsuko Hadano, Kenichi Hirabayashi, Misuzu Yamada, Aya Kawanishi, Yumi Takanashi, Yoshiaki Kawaguchi, Toshio Nakagohri, Naoya Nakamura, Tetsuya Mine. Molecular alterations in sporadic pancreatic neuroendocrine microadenomas. *Pancreatology*, 2016;16:411-415.

学会発表

1. Yoshiaki Kawaguchi, Yohei Kawashima, Aya Kawanishi, Masao Nakagohri, Tetsuya Mine. Comparison between Endoscopic and Surgical Drainage of the Pancreatic Duct in Chronic Pancreatitis. *UEGW2016*. 2016.10, Viene.

6. 謝辞

本研究の基礎実験は、研究分担者である東海大学理学部化学科関根嘉香教授教室にて行われたものであり、関根嘉香教授に感謝します。また研究分担者である東海大学医学部診療分子生命科学 石井直明教授、東海大学医学部内科学系消化器内科学 峯徹哉教授、同 松嶋成志教授、同 鈴木孝良准教授、同 小川真実講師、同 川島洋平助教、同 羽田野敦子

大学院生、同 川西彩大学院生、東海大学医学部基盤診療学系病理診断学 中村直哉教授、同 平林健一講師、東海大学工学部生命化学科 笹川昇教授、東海大学医学部外科学系口腔外科学 加藤久視講師、生命科学統合支援センター 安田佳代技術員に感謝します。