

令和 4 年 6 月 13 日現在

機関番号：13501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K07728

研究課題名(和文) AIと質量分析を用いた内視鏡検査時のリアルタイム診断支援システム

研究課題名(英文) Mass spectrometry and artificial intelligence-based real-time endoscopic diagnosis system

研究代表者

吉村 健太郎 (Yoshimura, Kentaro)

山梨大学・大学院総合研究部・講師

研究者番号：70516921

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：内視鏡検査時にリアルタイムで悪性腫瘍を検出するために、糸状の素材(ライン)を用いて組織を採取し、次いで患者体外へと移送する機構を構築した。組織はラインにより質量分析装置へと運ばれるが、そこで抽出とイオン化を同時に行うためのエレクトロスプレーイオン化法を基盤とした新規イオン源の構築も行った。また多数の患者より得られた正常粘膜および大腸がん組織を分析することで構築された組成データベースを、機械学習の一種であるサポートベクターマシンで学習し、悪性腫瘍であるか否かを判別することが可能な診断アルゴリズムを構築した。判別性能を一個抜き交差検証で評価したところ、病理診断との一致率は86%であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で構築された「AI型質量分析内視鏡がん診断支援システム」は、数ミリの細いチューブを介して、生きている人間の体内や既存の器具では到達しにくい狭い場所(特に消化管内腔)へアクセスし、組織をわずかに採取して迅速に体外へと移送し、リアルタイムで詳細な成分分析を行うことを可能とする。内視鏡検査において実用化されている計測機器のほとんどは光学カメラによって画像を取得するものであり、その場では詳細な分析結果を得られないが、当該システムを利用すれば、検査で得られる情報量が一気に拡大するため、悪性腫瘍を始めとした各種疾患の初期スクリーニングの確度を向上させることが可能となる。

研究成果の概要(英文)：To detect malignant tumors in real-time during endoscopy, we constructed a machine to collect tissue using a string and then transfer the sample to the outside of the patient's body. The tissue is transported by the string to an ion inlet of the mass spectrometer, where biological molecules are extracted and ionized to analyze the molecular composition of the tissue. To perform this process, we also constructed a novel electrospray ionization-based ion source. In addition, we constructed a tissue composition database (47 normal mucosal membrane samples and 44 colorectal cancer tissue samples). The database was learned with a support vector machine, a type of machine learning, to use as a diagnostic algorithm for malignant tumors. When the discrimination ability was evaluated by leave-one-out cross-validation, the concordance rate with the pathological diagnosis was 86%.

研究分野：分子生物学

キーワード：がん診断 メタボロミクス 質量分析

## 1. 研究開始当初の背景

内視鏡検査では通常画像に加え、狭帯域光画像、拡大画像などをリアルタイムで取得し、診断に利用する。より詳細な組織像を得るためには生検がおこなわれるが、結果を得るまでに時間がかかり、明確な結果が得られない場合には再検査が要求される場合がある。また生検はあくまでも病理形態学に留まるので、なおも臨床的判断に迷うことや、採取部位が瘢痕化するなどの生検自体が患者にとって不利益となる場合がある。さらに咽頭、喉頭、気管などの嘔吐・咳嗽反射の強い領域では、非麻酔下での生検の実施は困難である。したがって臨床からは、内視鏡検査時にリアルタイムで生検と同等の情報力を有する判断材料の取得法と、それを低侵襲で実施可能な新規技術の開発が望まれている。

質量分析 (MS) は現代において、最も信頼性が高い成分分析の方法論であり、非常に多様な生体成分の分析が可能である。各種の生命現象や病態解明を目的とした研究では、分子量 2,000 以下の低分子代謝物を網羅的に解析 (メタボロミクス) することが多い。この目的では主に検体を大気圧下で扱うことが可能な「アンビエント MS」を行うが、前処理が簡便でかつクロマト分離を必要としないものでは、リアルタイムで分析結果の取得が可能である。近年、アンビエント MS で得られた生体成分の組成解析を基盤とした、がんの迅速診断技術の研究開発が急速に進んでおり、これは内視鏡検査にも応用が可能である。

## 2. 研究の目的

本研究では、内視鏡検査時に検査対象部位をリアルタイムで診断可能な「AI 型質量分析内視鏡がん診断支援システム」を構築することを目的とする。当該システムには検体を採取、輸送、質量分析するための機械部分と、得られたデータから疾患を診断するためのアルゴリズムの構築が必須であり、後者には機械学習や深層学習などの人工知能を用いることを特徴とする。各種消化器粘膜上皮がんの病理医による診断との一致率 90%以上を目指し、将来的には組織型や良悪性診断も可能とすることを目指す。

## 3. 研究の方法

(1) ライン式検体採取装置：内視鏡鉗子孔を用いて検体を採取し、体外へ移送するためのライン式検体採取・輸送機構を構築する。内視鏡先端ではラインが外部に露出して検体に接触し、組織を採取するが、その採取具合や深達度などを最適にするためのプローブ形状を検討し、設計、構築する。ラインの移動経路とプローブは一体化し、内視鏡に装着した場合の動作や、本来の内視鏡操作への影響について検証する。

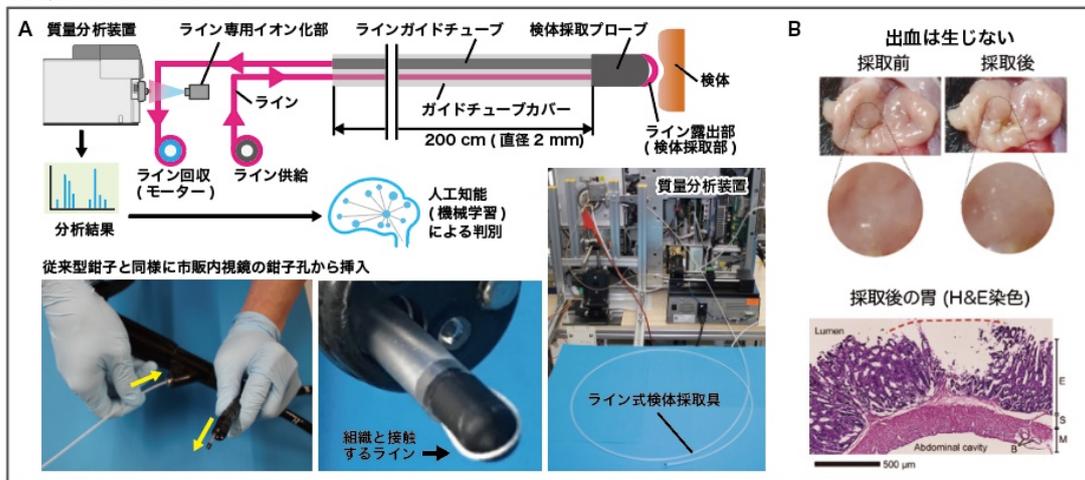
(2) 抽出イオン化部：ラインによって採取、移送された検体を質量分析装置のイオン導入孔前面でイオン化する機構を構築する。汎用されている大気圧イオン化法である electrospray ionization (ESI) あるいは atmospheric pressure chemical ionization (APCI) を検討し、どちらが最適かを明らかにする。

(3) 診断アルゴリズムの構築：抽出されたヒト消化器粘膜上皮がん（当初は大腸がん）およびその周辺の非がん部検体を質量分析し、組成データベースを構築する。データベースを人工知能の一種であるロジスティック回帰あるいはサポートベクターマシンで機械学習し、がんの判別アルゴリズムを構築する。判別性能を一個抜き交差検証で評価し、病理診断との一致率 80%以上を目指す。データベースにはがん特異的に発現量が変化する分子の情報も内包されているため、マーカー探索や病態解明を目指し、個別分子の解析も並行して進める。

#### 4. 研究成果

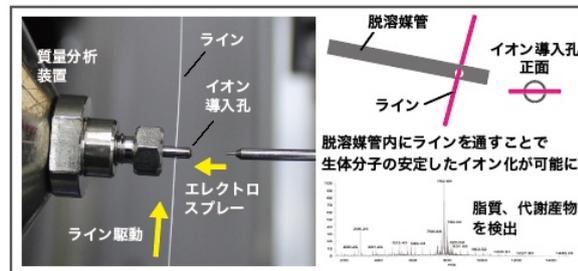
(1) 内視鏡の鉗子孔に挿入し検体の採取と輸送を行う、ライン式検体採取具とラインの輸送機構を構築した (図 1A)。ラインはステップインモーターによってベルトコンベアのようにガイドチューブに沿って往復させる。ラインの駆動速度や距離は厳密に制御可能である。検体が不着したラインが往路のラインと接触して交叉汚染が生じないように、復路のガイドチューブを二重被膜とした。先端部ではラインが露出し消化器粘膜と接触するが、組織の採取量や深達度が一定となるように、またラインが脱落しないように検体採取プローブの形状を設計、構築した (特許申請予定)。ライン式検体採取具を市販内視鏡に挿入し、実際に組織からの検体採取が可能であること、本来の内視鏡操作に影響を与えないことが確認された。麻酔下のマウス胃および小腸粘膜と肝臓を対象に生体からの検体採取を試みたところ、粘膜上皮採取後の組織からは目立った出血はなく、また組織の採取は粘膜下組織には達していなかったことから、本採取法の低侵襲性が示された (図 1B)。ラインと組織の接触を強くするか時間を長くすることで、任意に深層の組織を採取することも可能であった。

図 1, ライン式検体採取装置



(2) ラインで採取された組織に含まれる生体成分を抽出、イオン化するための専用イオン化部を構築した (図 2 左)。イオン源としては大気圧化学イオン化法 (Atmospheric Pressure Chemical Ionization) と、エレクトロスプレーイオン化法 (Electrospray Ionization, ESI) を比較検討した結果 ESI を採用した。駆動されたラインは細かく上下運動するため、当初生じたエレクトロスプレー中におけるラインの位置が変化してしまい、マススペクトルパターンに再現性が得られないという問題があった。そこで質量分析装置へのイオン導入インターフェースとなる脱溶媒管の側面に貫通する孔を設け、そこにラインを通すことで常に一定の位置関係が保てる構造とした (図 2 右上)。これにより、イオンシグナルの検出感度と安定性、再現性が劇的に改善した。ESI の印加電圧やネブライザーガス流量と、質量分析装置のスキャンスピードなどの質量分析に係る各種のパラメーターを最適化し、ラインに付着した消化器粘膜より脂質や一次代謝産物などを網羅的に検出することが可能となった (図 2 右下)。

図 2, ライン専用イオン化部



(3) ヒト大腸の正常粘膜上皮 (47 検体) および直腸、結腸がん組織 (腺がんと扁平上皮がんをあわせて 44 検体) を質量分析し、組成データベースを構築した。非がんおよびがんの 2 群をサポートベクターマシンで機械学習し、一個抜き交差検証で判別精度を評価したところ、病理診断との一致率は 86%であった。(1) および (2) に記載した装置類と、機械学習を基盤とした診断アルゴリズムを統合することで、一体型の診断システムが完成する。今後はこの統合システムの構築と、それを用いた臨床試験の実施に向けた準備を進める。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計14件（うち査読付論文 11件／うち国際共著 3件／うちオープンアクセス 11件）

1. 著者名 Iwano T, Yoshimura K, Inoue S, Odate T, Ogata K, Funatsu S, Tanihata H, Kondo T, Ichikawa D, Takeda S	4. 巻 107
2. 論文標題 Breast cancer diagnosis based on lipid profiling by probe electrospray ionization mass spectrometry	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 British Journal of Surgery	6. 最初と最後の頁 632 ~ 635
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/bjs.11613	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Giordano Silvia, Takeda Sen, Donadon Matteo, Saiki Hidekazu, Brunelli Laura, Pastorelli Roberta, Cimino Matteo, Soldani Cristiana, Franceschini Barbara, Di Tommaso Luca, Lleo Ana, Yoshimura Kentaro, Nakajima Hiroki, Torzilli Guido, Davoli Enrico	4. 巻 40
2. 論文標題 Rapid automated diagnosis of primary hepatic tumour by mass spectrometry and artificial intelligence	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Liver International	6. 最初と最後の頁 3117 ~ 3124
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/liv.14604	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Hiraoka Kenzo, Ariyada Osamu, Usmanov Dilshadbek T., Chen Lee C., Ninomiya Satoshi, Yoshimura Kentaro, Takeda Sen, Yu Zhang, Mandal Mridul K., Wada Hiroshi, Rankin-Turner Stephanie, Nonami Hiroshi	4. 巻 9
2. 論文標題 Probe Electrospray Ionization (PESI) and Its Modified Versions: Dipping PESI (dPESI), Sheath-Flow PESI (sfPESI) and Adjustable sfPESI (ad-sfPESI)	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Mass Spectrometry	6. 最初と最後の頁 A0092 ~ A0092
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5702/massspectrometry.A0092	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Chen Lee Chuin, Iwano Tomohiko, Ninomiya Satoshi, Koike Takayuki, Tanaka Yoshihisa, Yoshimura Kentaro	4. 巻 32
2. 論文標題 Miniaturized String Sampling Probe and Electrospray Extraction/Ionization within the Ion Inlet Tube for Mass Spectrometric Endoscopy	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of the American Society for Mass Spectrometry	6. 最初と最後の頁 606 ~ 610
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/jasms.0c00366	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Suzuki Keiko, Yoshimura Kentaro, Kawataki Tomoyuki, Hanihara Mitsuto, Takeda Sen, Kinouchi Hiroyuki	4. 巻 2
2. 論文標題 Prediction of Pathological and Radiological Nature of Glioma by Mass Spectrometry Combined With Machine Learning	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Neurosurgery Open	6. 最初と最後の頁 1~8
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/neuopn/okaa026	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Saito Ryo, Yoshimura Kentaro, Shoda Katsutoshi, Furuya Shinji, Akaike Hidenori, Kawaguchi Yoshihiko, Murata Tasuku, Ogata Koretsugu, Iwano Tomohiko, Takeda Sen, Ichikawa Daisuke	4. 巻 21
2. 論文標題 Diagnostic significance of plasma lipid markers and machine learning-based algorithm for gastric cancer	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Oncology Letters	6. 最初と最後の頁 1~8
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/ol.2021.12666	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kiritani Sho, Yoshimura Kentaro, Arita Junichi, Kokudo Takashi, Hakoda Hiroyuki, Tanimoto Meguri, Ishizawa Takeaki, Akamatsu Nobuhisa, Kaneko Junichi, Takeda Sen, Hasegawa Kiyoshi	4. 巻 21
2. 論文標題 A new rapid diagnostic system with ambient mass spectrometry and machine learning for colorectal liver metastasis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 BMC Cancer	6. 最初と最後の頁 1~9
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12885-021-08001-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yoshimura Kentaro, Yamada Yuki, Ninomiya Satoshi, Chung Wen Yuan, Chang Yu-Ting, Dennison Ashley Robert, Hiraoka Kenzo, Takeda Sen, Chen Lee Chuin	4. 巻 172
2. 論文標題 Real-time analysis of living animals and rapid screening of human fluid samples using remote sampling electrospray ionization mass spectrometry	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis	6. 最初と最後の頁 372~378
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jpba.2019.04.050	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Wen Y Chung, Elon Correa, Kentaro Yoshimura, Ming-Chu Chang, Ashley Dennison, Sen Takeda, Yu-Ting Chang	4. 巻 12
2. 論文標題 Using Probe Electrospray Ionization Mass Spectrometry and Machine Learning for Detecting Pancreatic Cancer with High Performance	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 American Journal of Translational Research	6. 最初と最後の頁 171-179
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Ishii Hiroki, Saitoh Masao, Sakamoto Kaname, Sakamoto Kei, Saigusa Daisuke, Kasai Hirotake, Ashizawa Kei, Miyazawa Keiji, Takeda Sen, Masuyama Keisuke, Yoshimura Kentaro	4. 巻 122
2. 論文標題 Lipidome-based rapid diagnosis with machine learning for detection of TGF- signalling activated area in head and neck cancer	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 British Journal of Cancer	6. 最初と最後の頁 995 ~ 1004
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41416-020-0732-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Sen Takeda, Kentaro Yoshimura, Hiroshi Tanihata	4. 巻 156
2. 論文標題 Sample Preparation for Probe Electrospray Ionization Mass Spectrometry	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Visualized Experiments	6. 最初と最後の頁 1
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3791/59942.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Fukuhara Seiichiro, Iwasaki Eisuke, Iwano Tomohiko, Machida Yujiro, Tamagawa Hiroki, Kawasaki Shintaro, Seino Takashi, Yokose Takahiro, Endo Yutaka, Yoshimura Kentaro, Kashiwagi Kazuhiro, Kitago Minoru, Ogata Haruhiko, Takeda Sen, Kanai Takanori	4. 巻 5
2. 論文標題 New strategy for evaluating pancreatic tissue specimens from endoscopic ultrasound guided fine needle aspiration and surgery	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 JGH Open	6. 最初と最後の頁 953 ~ 958
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jgh3.12617	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Iwano Tomohiko, Yoshimura Kentaro, Watanabe Genki, Saito Ryo, Kiritani Sho, Kawaida Hironichi, Moriguchi Takeshi, Murata Tasuku, Ogata Koretsugu, Ichikawa Daisuke, Arita Junichi, Hasegawa Kiyoshi, Takeda Sen	4. 巻 12
2. 論文標題 High-performance Collective Biomarker from Liquid Biopsy for Diagnosis of Pancreatic Cancer Based on Mass Spectrometry and Machine Learning	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Cancer	6. 最初と最後の頁 7477 ~ 7487
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7150/jca.63244	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Akahane Koshi, Kimura Shunsuke, Miyake Kunio, Watanabe Atsushi, Kagami Keiko, Yoshimura Kentaro, Shinohara Tamao, Harama Daisuke, Kasai Shin, Goi Kumiko, Kawai Tomoko, Hata Kenichiro, Kiyokawa Nobutaka, Koh Katsuyoshi, 他7名	4. 巻 6
2. 論文標題 Association of allele-specific methylation of the <i>ASNS</i> gene with asparaginase sensitivity and prognosis in T-ALL	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Blood Advances	6. 最初と最後の頁 212 ~ 224
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1182/bloodadvances.2021004271	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 吉村 健太郎
2. 発表標題 質量分析内視鏡を用いたリアルタイムがん診断システムの開発
3. 学会等名 第68回質量分析総合討論会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 吉村 健太郎
2. 発表標題 質量分析内視鏡がん診断システムの開発
3. 学会等名 第67回質量分析総合討論会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 吉村 健太郎
2. 発表標題 遠隔サンプリングエレクトロスプレーイオン化質量分析法を用いた生体サンプルのリアルタイム分析および迅速スクリーニング
3. 学会等名 第67回質量分析総合討論会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 吉村 健太郎
2. 発表標題 Probe electrospray ionization-mass spectrometry serving two ends: Clinical diagnosis and elucidation of molecular mechanism
3. 学会等名 第2回島津グローバルイノベーションサミット（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 吉村 健太郎
2. 発表標題 質量分析を用いた内視鏡検査時における即時診断技術
3. 学会等名 イノベーションジャパン2019 ~大学見本市&ビジネスマッチング~
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 吉村 健太郎
2. 発表標題 アンビエント質量分析と機械学習を用いた迅速がん診断システムの構築
3. 学会等名 第67回応用物理学会春季学術講演会（招待講演）
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計2件

産業財産権の名称 分離装置及び分離方法、並びに検査装置及び検査方法	発明者 浮田 芳昭、内藤 大揮、二宮 啓、岩野智彦、吉村 健太郎	権利者 山梨大学
産業財産権の種類、番号 特許、特願2020-118417	出願年 2020年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 生体試料の状態評価装置、システム、方法、およびプログラム	発明者 吉村 健太郎、佐藤金夫、大館 徹、川井将敬	権利者 国立大学法人山梨大学
産業財産権の種類、番号 特許、特願2019-131533	出願年 2019年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------