

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 24 日現在

機関番号：31310

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2015

課題番号：25870662

研究課題名(和文)悪性腫瘍疾患検査法に適用可能な尿由来生体ガス捕集方法に関する研究

研究課題名(英文)A study on the collection methods of urine-derived biogas that can be applied to examination methods of malignant tumors

研究代表者

一條 佑介(Ichijo, Yusuke)

東北文化学園大学・科学技術学部・助教

研究者番号：80550574

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、申請者らが開発した微量ガスの濃縮・捕集分析技術を基に、尿からのホルムアルデヒドの分析精度を高めるため、高性能の濃縮型サンブラ、および尿用生体ガス採取器具を提案し、その採取・分析性を検証して悪性腫瘍疾患検査法の確立に資する研究を行うものである。

結果として、擬似尿中の化学物質濃度と気中放出部(バブラー部分)で気中放散した化学物質濃度の関係から、被験者検体(尿)から発生する生体ガスの測定により、尿中の化学物質濃度を求めることができることが示唆され、悪性腫瘍疾患検査法の確立に資する基礎的研究を行うことができた。

研究成果の概要(英文)：Based on the concentration and collection analysis technology of trace gases that were developed by the applicants, in order to enhance the analytical precision of formaldehyde obtained from urine, in the present study, we proposed a high-performance concentrated type sampler and bio-gas sampling instrument for urine with the aim of conducting research that will contribute to the establishment of a malignant tumor disease inspection method to verify the collection and analyses. Our results suggest that based on the relationship between chemical concentrations in artificial urine and chemical concentrations dissipated in the gas of the gas emitting part (bubbler part), it is possible to determine the concentrations of chemical substances in urine by measuring biological gas generated from subject specimens (urine). Thus, this basic research contributes to the establishment of an examination method for malignant tumor diseases.

研究分野：医歯薬学 / 複合領域

キーワード：臨床検査システム 検査・診断システム

1. 研究開始当初の背景

ヒトから発せられる呼気、皮膚ガス、尿尿汚物からの発生ガス、放屁等の生体ガスには、多種多様なガス状物質が含まれる。それらは疾病や健康状態を表す指標物質となる可能性があり、生体ガスによる健康診断法は非侵襲的手法として期待されている。生体ガスと疾病との関係については 1950 年代初頭から数多くの研究報告例があり、日本で増加の一途をたどっている前立腺がんについては、患者から採取した尿由来のホルムアルデヒドの濃度が、健常者のものよりも高いことを Keele 大学の Spanel らが報告 (Rapid Commun. Mass Spectrom., 13, 1354, 1999) している。

しかしながら、前立腺がんの迅速、簡便かつコストパフォーマンスに優れた高感度検査法については開発されておらず、医療現場に於いて緊急ニーズの 1 つとなっている。

生体ガスの検知法としては、園田らが犬の嗅覚を利用したがん患者の判別実験 (International Journal of Gastroenterology and Hepatology, Published online Jan. 31, 2011) を行っているが、大腸がん患者の呼気を容器に採取し、がん探知犬 (ラブラドルレトリバー、9 歳、オス) にて嗅ぎ分けさせると、がん探知犬はがん患者のサンプルを 36 回中 33 回も選定することができ、呼気の代わりに便から採取した検体でも 38 回中 37 回の選定が成されたと報告している。また、この手法で乳がん、胃がん、前立腺がんが数例試した事例でもがん探知犬は嗅ぎ分けに成功している。

このように人体からの生体ガスにより、疾病や健康状態を診断する手段として極めて有効であることが分かる。ただし、現状の捕集法と分析法では、がん探知犬の嗅覚には遠く及ばず、新たな技術開発が求められている。

2. 研究の目的

現在、ヒトから発せられる尿あるいは呼気等の生体ガスと特定疾病の関係に関する研究は急速に発展している。一例として、尿から発生する生体ガス (ホルムアルデヒド) の検査により、前立腺がんと膀胱がんの診断の可能性が報告されており、生体ガス分析による特定疾病検診方法は患者負担が軽減できる非侵襲的診断方法として、実用化が期待されている。

本研究は、申請者らが開発した微量ガスの濃縮・捕集分析技術を基に、尿からのホルムアルデヒドの分析精度を高めるため、高性能の濃縮型サンプラ、および尿用生体ガス採取器具を提案し、その採取・分析性を検証して悪性腫瘍疾患検査法の確立に資する研究を行うものである。

3. 研究の方法

(1) 高効率で捕集する濃縮型サンプラの開発
尿からのホルムアルデヒドを効率よく捕

集するためには、サンプラの吸着材 (剤) が重要である。そこで、ホルムアルデヒドの吸着に特化した物理吸着材と化学吸着剤を選定する。具体的には、写真-2 に示すように、これまでの知見を基にホルムアルデヒド捕集に適した素材 (物理吸着材: 6 種類、化学吸着剤: 9 種類) を選定し、実際の尿から発生する濃度レベルに合わせ、ホルムアルデヒドのガスをガラス製 U 字管内に導入し、捕集を行う。

なお、本研究では、温度、相対湿度、換気回数が制御可能な空気環境実験室を用いて行う。図-1 に示すように、空気環境実験室は温度: $28 \pm 1^\circ\text{C}$ 、相対湿度: $50 \pm 1\%$ 、換気回数: 3 ± 0.3 回/h に制御されており、清浄空気が常時供給されている。

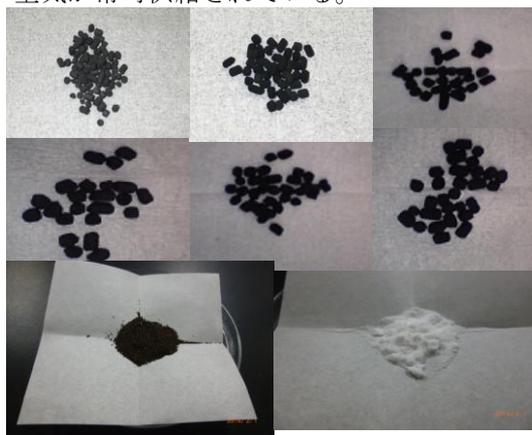


写真-1 物理吸着材や化学吸着剤の一例

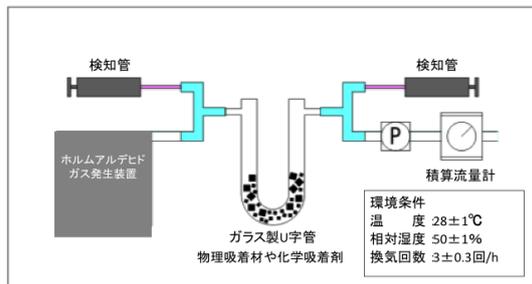


図-1 濃縮型サンプラの実験装置

(2) 生体ガスを効率的に発生、通気するガス採取器具の開発

ガス採取器具に供給される空気が生体ガスの分析精度に大きな影響を与えるため、供給空気口に強力な空気清浄フィルタを選定・設置することで、分析に影響を及ぼす干渉ガスに考慮する必要がある。

また、尿からの生体ガスにおいて、尿温度が発生量に大きな影響を及ぼすと考えられるため、ガス採取器具には加熱ヒータを設置し、体温と同じ温度に維持する機構と体温以上の加熱により微量物質の加速度的発生を行う機構を有する装置とする。

具体的には、図-2、写真-2 に示す尿中の微量化学物質を捕集する実験装置を試作する。

本装置は 1) 活性炭を用いた空気清浄層、2) 湿度を調整するシリカゲル層、3) 尿をバブリングさせて微量化学物質放散を図るバブラー、

4)尿をヒトの体温(37±1℃)に近づけるための温度調整装置、5)捕集流量を調整するための定流量ポンプにより構成されている。

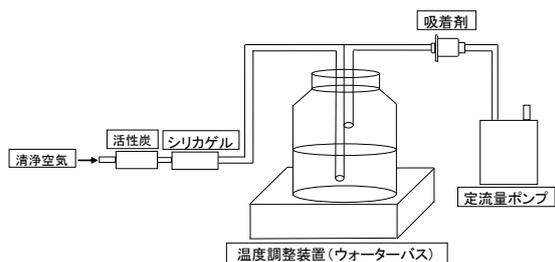


図-2 ガス採取器具の実験装置



写真-2 ガス採取器具の外観

4. 研究成果

(1) ヒトの尿の成分

実際にヒトの尿に含まれているのは水が約98%、尿素を約2%、塩素、ナトリウム、カリウム、マグネシウム、リン酸などのイオン、クレアチニン、尿酸、アンモニア、ホルモンで構成されている。

そこで、本研究では、試験体の平衡化を図るため、ヒトの尿を模した疑似尿を作製した。表-1に疑似尿の成分を示す。

表-1 疑似尿の成分

	含有率(%)	含有量(mL)
塩化カルシウム	0.02	0.43
硫酸マグネシウム	0.04	1.06
塩化ナトリウム	0.8	17.44
尿素	2	26.4
アンモニア水(29%)	1	10
水	約96	960
合計	100	1000

(2) 健常者とがん患者尿中のホルムアルデヒド

既往の研究では、前立腺がんや膀胱がんでは尿中のホルムアルデヒド濃度が上昇することが報告され、呉羽らの研究により、尿中ホルムアルデヒド濃度(健全者の平均値、喫煙者、非喫煙者)が明らかにされている(表-2参照)。

表-2 健常者尿中ホルムアルデヒド

	非喫煙者	平均値	喫煙者
μg/ml	0.019	0.021	0.027

また、Luke Chandler Shortらの研究によりがん患者の尿中ホルムアルデヒド濃度(最小値、平均値、最大値)が明らかになっている(表-3参照)。

表-3 がん患者尿中ホルムアルデヒド

	最小値	平均値	最大値
μg/ml	1.171	18.2	42.4

(3) 高効率で捕集する濃縮型サンプラの開発

尿からのホルムアルデヒドを効率よく捕集するためには、サンプラの吸着材(剤)が重要であるため、ホルムアルデヒドの吸着に特化した物理吸着材と化学吸着剤を選定した。

具体的には、図-3に示すように、これまでの知見を基にホルムアルデヒド捕集に適した素材(物理吸着材:6種類、化学吸着剤:9種類)を実際の尿から発生する濃度レベルに合わせ、ホルムアルデヒドのガスをガラス製U字管内に導入し、捕集を行った。本実験の結果を基に吸着材(剤)を選定した。

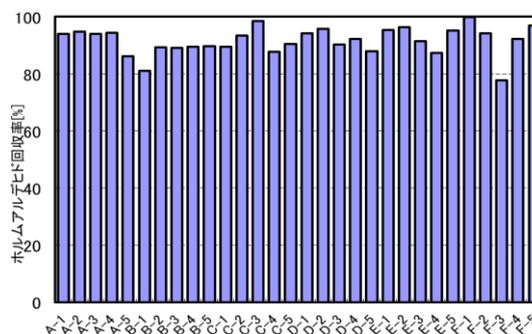


図-3 吸着材(剤)のホルムアルデヒド回収率

(4) 生体ガスを効率的に発生、通気するガス採取器具の開発

①装置試作

開発目標のガス採取器具は自動開閉扉、空気清浄フィルタと加熱ヒータ等で構成されている。そこで、図-2、図-4に示すようにガス採取器具に供給される空気が生体ガスの分析精度に大きな影響を与えるため、供給空気口に空気清浄フィルタ(活性炭層とシリカゲル層)を選定し、設置することで、分析に影響を及ぼす干渉ガスを考慮した。また、尿から発生する生体ガスは尿の温度によって発生量に大きく影響を与えるため、ガス採取器具に加熱ヒータ(ウォーターバス)を設置し、検体の尿体温を自在に制御できる機構を持たせた。

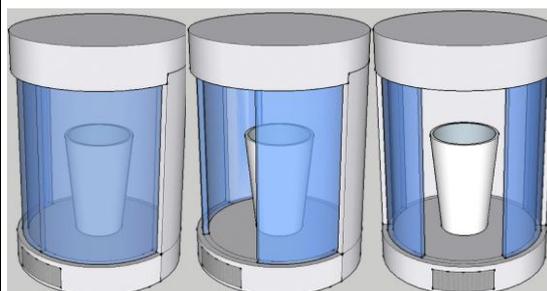


図-4 試作ガス採取器具のCG画像

②ホルムアルデヒド濃度

1) 健常者の尿を模した疑似尿

図-5に示すように、非喫煙者、平均値、喫煙者におけるバブラー内のホルムアルデヒド濃度を3回測定した結果、それぞれ平均で、7.10、9.11、11.0 ppmとなった。

捕集時間（5, 10, 15 min.）の違いによるバブラー内のホルムアルデヒド濃度に大きな差は確認できなかった。

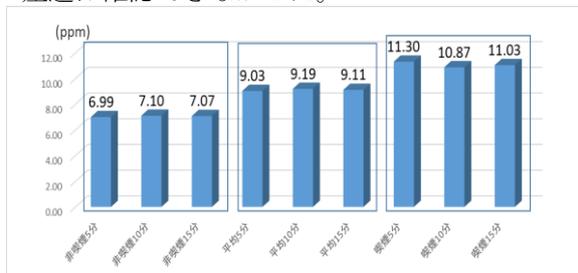


図-5 健常者(疑似尿)におけるホルムアルデヒド濃度(平均値)

2) がん患者の尿を模した疑似尿

図-6に示すように、がん患者の最小値、平均値、最大値におけるバブラー内のホルムアルデヒド濃度を3回測定した。結果、それぞれ平均で、29.5、75.9、235 ppmとなった。

捕集時間（5, 10, 15 min.）の違いによるバブラー内のホルムアルデヒド濃度に大きな差は確認できなかった。

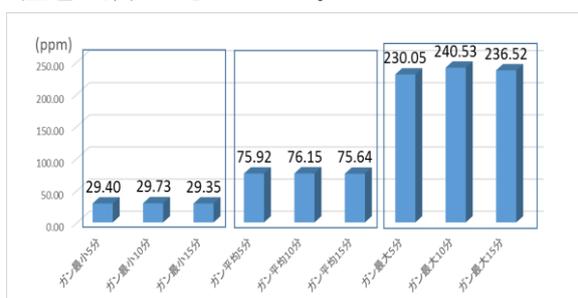


図-6 がん患者(疑似尿)におけるホルムアルデヒド濃度(平均値)

③ホルムアルデヒド発生量

1) 健常者の尿を模した疑似尿

図-7に示すように、非喫煙者、平均値、喫煙者における尿からのホルムアルデヒド発生量を算出した結果、それぞれ平均で、0.63、0.82、1.00 $\mu\text{g}/\text{h}$ であった。

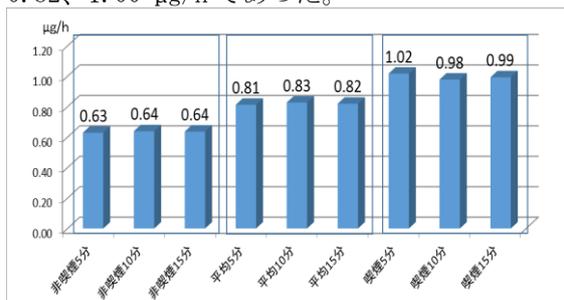


図-7 健常者(疑似尿)におけるホルムアルデヒド発生量(平均値)

2) がん患者の尿を模した疑似尿

図-8に示すように、最小値、平均値、最大値における尿からのホルムアルデヒド発生量を算出した結果、それぞれ平均で、2.65、6.83、21.2 $\mu\text{g}/\text{h}$ であった。

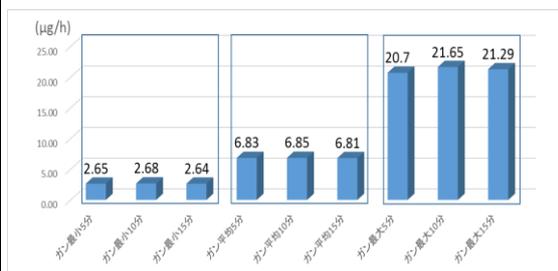


図-8 がん患者(疑似尿)におけるホルムアルデヒド発生量(平均値)

(5) まとめ

本研究は、申請者らが開発した微量ガスの濃縮・捕集分析技術を基に、尿からのホルムアルデヒドの分析精度を高めるため、高性能の濃縮型サンプラ、および尿用生体ガス採取器具を提案し、その採取・分析性を検証して悪性腫瘍疾患検査法の確立に資する研究を行った。

①高効率で捕集する濃縮型サンプラの開発

尿からのホルムアルデヒドを効率よく捕集するためには、サンプラの吸着材(剤)が重要であるため、ホルムアルデヒドの吸着に特化した物理吸着材と化学吸着剤を選定した。具体的には、これまでの知見を基にホルムアルデヒド捕集に適した素材(物理吸着材: 6種類、化学吸着剤: 9種類)を用意し、疑似尿(塩化カルシウム、硫酸マグネシウム、塩化ナトリウム、尿素、アンモニア水、精製水)を作製し、発生する濃度レベルに合わせ、ホルムアルデヒドのガスを小型チャンバー内に導入し、捕集を行った。本実験の結果を基に吸着材(剤)を選定した。

②生体ガスを効率的に発生、導入するガス採取器具の開発

開発目標のガス採取器具は自動開閉扉、空気清浄フィルタと加熱ヒータ等で構成されている。そこで、ガス採取器具に供給される空気が生体ガスの分析精度に大きな影響を与えるため、供給空気口に空気清浄フィルタ(活性炭層とシリカゲル層)を選定し、設置することで、分析に影響を及ぼす干渉ガスを考慮した。また、尿から発生する生体ガスは尿の温度によって発生量に大きく影響を与えるため、ガス採取器具に加熱ヒータ(ウォータバス)を設置し、検体の尿体温を自在に制御できる機構を持たせた。

上記により、疑似尿中の化学物質濃度と気中放散部(バブラー部分)で気中放散した化学物質濃度の関係から、被験者検体(尿)から発生する生体ガスの測定により、尿中の化学物質濃度を求めることができることが示唆され、悪性腫瘍疾患検査法の確立に資する研究を行うことができた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計0件)

[学会発表] (計1件)

- 1) 野崎淳夫、一條佑介、成田泰章：呼気や排せつ物などからの生体ガスの捕集分析技術に関する研究、第24回日本臨床環境医学会総会抄録集、p. 100、2015年6月、北里大学

[その他]

ホームページ等

<http://www.asahikawa-med.ac.jp/dept/mc/healthy/jsce/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

一條 佑介 (ICHIJO YUSUKE)

東北文化学園大学・科学技術学部・助教

研究者番号：80550574