

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 年 6 月 20 日現在

機関番号：13501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26505003

研究課題名(和文) 質量分析を用いた内視鏡診断法のための新規遠隔試料採取法およびイオン化法の開発

研究課題名(英文) Development of new remote sampling ionization method for endoscopic mass spectrometry

研究代表者

チェン リーチュイン (CHEN, Lee Chuin)

山梨大学・総合研究部・准教授

研究者番号：40585577

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：内視鏡は病気の早期発見や治療に利用される重要な医療機器である。一方、生体成分の精密分析に用いられる様々な手法の中でも、質量分析は化合物同定の信頼性が最も高い。本研究ではこの二つの技術を融合するために、内視鏡に組込可能なライン式遠隔検体採取/輸送装置を開発し、ラインで輸送した検体を抽出イオン化して質量分析する手法を確立した。

研究成果の概要(英文)：At present, endoscopy relies almost exclusively on optical microscopy and the accurate analysis such as MS interrogation is performed ex-situ using biopsy. In this work, a novel probing system is developed to perform an in-situ and in-vivo endoscopic mass spectrometry using a moving string for the sampling and transportation of material. The sampling system consists of a moving cotton thread driven by motorized pulleys. When the target surface is touched by the sampling probe, the cotton thread "wipes" and transports the adhered sample to the ion source. Depending on the target analytes, desorption electrospray and atmospheric pressure chemical ionization sources are employed interchangeably for the desorption and ionization. The surface under analysis is not subjected to heat, organic solvents, high voltage or charged droplets. In-situ endoscopic MS of a living mouse and the surface analysis inside a volunteer subject's mouth are successfully demonstrated.

研究分野：質量分析

キーワード：質量分析 内視鏡診断 大気圧イオン源 遠隔採取

### 1. 研究開始当初の背景

内視鏡は病気の早期発見や治療に利用される重要な医療機器である。内視鏡先端には対象部位を画像化するための対物レンズに加えて、組織の採取器具の出口である鉗子孔が装備されることが多い。内視鏡の光学画像で疾患の疑いのある部位を発見した場合、鉗子で物理的に採取した組織を別途精密に検査するのが一般的であるが(生検)、分析結果の取得までに時間を要する。また組織の採取自体が患者にとって不利益となる場合があり、臨床の現場からは低侵襲かつリアルタイムに診断の判断材料を得られる技術が望まれている。

一方、生体成分の精密分析に用いられる様々な手法の中でも、質量分析は化合物同定の信頼性が最も高い。ただし生体成分の質量分析では試料の加熱や、生体にとって有害な有機溶媒を用いた抽出・分離などの煩雑な前処理が必要で、かつ減圧も要求されていた。しかしながら近年、自然状態のまま試料を直接イオン化して分析するアンビエントイオン化質量分析法が次々と開発され、迅速かつ高精度の *in-situ* 質量分析が可能となりつつある。この成果を活用することにより、質量分析は前述の内視鏡検査において、新たな情報を提供する強力なツールになると着想し、医療現場で使用可能な「質量分析内視鏡」の研究開発を企図した。

### 2. 研究の目的

本研究は質量分析を用いた内視鏡診断法のための新規遠隔試料採取法およびイオン化法の開発を目的としている。キーとなる要素は、内視鏡に装着が可能な小型のライン式検体採取/輸送装置と、ラインに付着した検体を適切に抽出してイオン化する装置であり、これらを質量分析装置に接続させる(図1)。

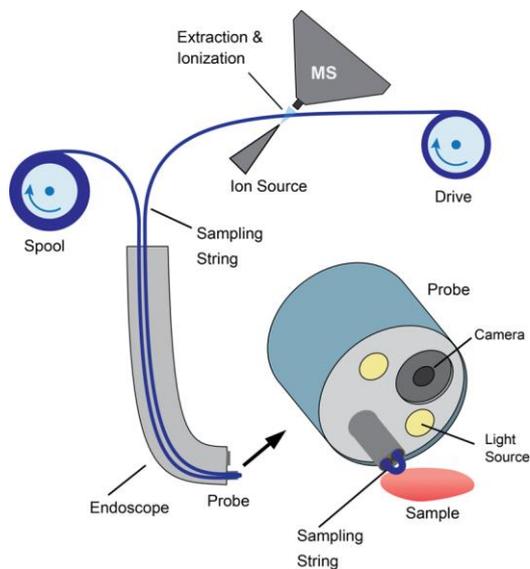


図1 質量分析内視鏡の概念図

### 3. 研究の方法

質量分析計と工業内視鏡に直接装着できる新規遠隔サンプリング・イオン化システムの開発と評価実験を行った(図2と図3)。このシステムでは検体採取用の素材として糸などの細いラインを利用し、内視鏡で確認した検査対象部位に検体採取プローブを接触させる。検査対象の表面に由来する成分や組織そのものをそのプローブに拭取らせるように動作させてラインにごく微量の検体を付着させ(図4)、そのラインをモータと滑車で患者の体外まで輸送する。ラインは細いことに加えて殺菌されたものとし、本研究は縫合糸として利用されている非吸収性素材(ポリエステル、絹、綿、ステンレスなど)を利用した。生体成分が付着したラインは外部に設置したモータで巻き取り、輸送中の損失なしに数秒程度で質量分析装置のイオン導入口にあるインターフェース部に到達する。ラインに付着した生体成分を専用のアンビエントイオン化部によって大気圧下で効率良く抽出/イオン化させ、質量分析計に取り込ませる。エレクトロスプレーイオン源の外に、非極性を持つ有機サンプルのための大気圧化学イオン源の導入も行った(図3)。

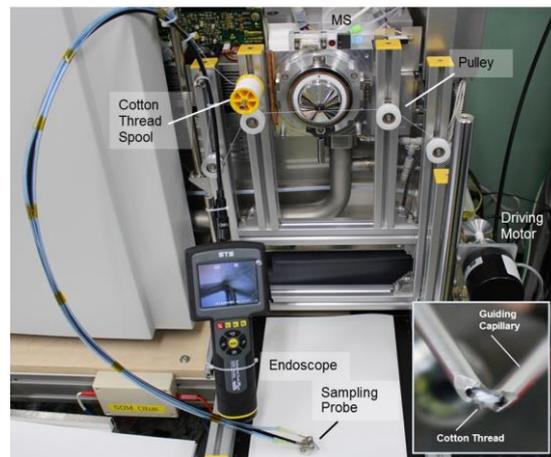


図2 工業内視鏡を用いた遠隔質量分析装置

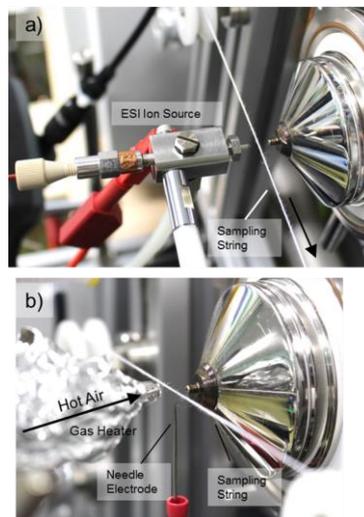


図3 a) エレクトロスプレーイオン源。b) 大気圧化学イオン源。

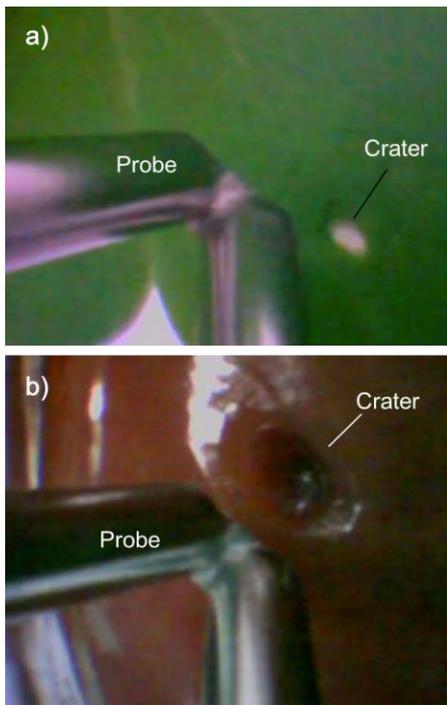


図4 綿の糸を用いた試料採取部でサンプル表面で組織採取を行った後の様子

#### 4. 研究成果

開発した *in-vivo* 内視鏡質量分析法を用いて活きたマウスの肝臓及びヒトの口内の直接分析の実証実験を行った。当該装置は試料に熱的または化学的損傷を起こすことなく輸送でき、生体内での状態を維持したままの分析が可能であることが分かった。

開腹したマウスを分析対象に、工業用内視鏡とライン式検体採取/輸送装置を組み合わせた試作機による実験を実施した。ラインの素材としては綿糸を使用し、露出した肝臓表面に検体採取プローブを接触させたところ、リアルタイムでマススペクトルが取得できることを確認できた(図5、縦軸は脂質由来のイオン信号強度、横軸は時間を示す)。市販されている直径 0.5 mm 程度の綿糸にマウスの組織を付着させてマススペクトルを測定した実験では、加熱して気化させた成分については大気圧化学イオン化(APCI)法、溶媒に溶けて抽出された成分についてはエレクトロスプレーイオン化(ESI)法をそれぞれライン用にアレンジしたイオン源装置でイオン化させた。このとき APCI 法によって検出された主な成分はコレステロール、ESI 法によって検出された主な成分は脂質や中性脂肪であった。またこの実験において得られたマススペクトルには、脂質を中心とした低分子代謝物が含まれていることを確認した(図5 縦軸は各イオンの強度、横軸は質量電荷比  $m/z$  を示す)。さらに人体の口腔粘膜から直接的に成分の検出が可能であることも確認した(図6)。

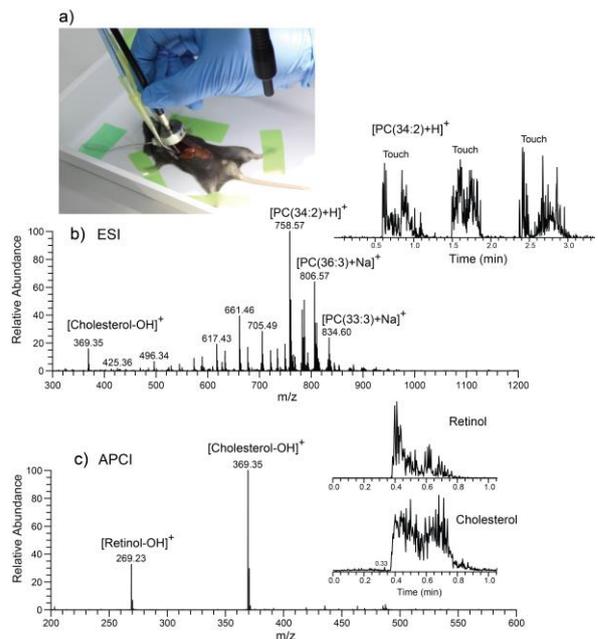


図5 開発した質量分析内視鏡を用い、活きたマウスの *in-situ, in-vivo* 分析。a) 液体抽出とエレクトロスプレーイオン化法(ESI), b) 熱脱離大気圧化学イオン化法(APCI)で得られたマススペクトル。

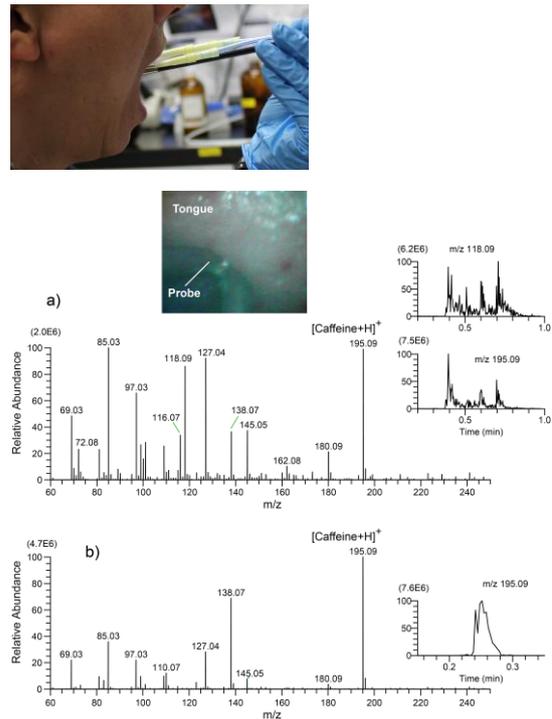


図6 a) 質量分析内視鏡を用い、人体の口腔粘膜から直接的に成分検出。b) 同じ成分を従来法で計測したマススペクトル。

## 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 5 件)

- ① **Lee Chuin Chen\***, Tsubasa Naito, Satoru Tsutsui, Yuki Yamada, Satoshi Ninomiya, Kentaro Yoshimura, Sen Takeda and Kenzo Hiraoka, “In-vivo Endoscopic Mass Spectrometry using a Moving String Sampling Probe”, *Analyst*, 査読有, 掲載決定, (2017), DOI: 10.1039/C7AN00650K
- ② **Lee Chuin Chen\***, Kentaro Yoshimura, Satoshi Ninomiya, Sen Takeda, Kenzo Hiraoka, “Towards Practical Endoscopic”, *Mass Spectrometry*, 査読有, 掲載決定, (2017).
- ③ Yuki Yamada, Satoshi Ninomiya, Kenzo Hiraoka, **Lee Chuin Chen\***, “Development of Remote Sampling ESI Mass Spectrometry for the Rapid and Automatic Analysis of Multiple Samples”, *Mass Spectrometry*, 査読有, 巻 5, S0068, (2016). DOI: 10.5702/massspectrometry.S0068
- ④ **Lee Chuin Chen\***, Satoshi Ninomiya, Kenzo Hiraoka, “Super-atmospheric pressure ionization mass spectrometry and its application to ultrafast online protein digestion analysis.”, *Journal of Mass Spectrometry*, 査読有, 巻 51, 396-411, (2016). DOI: 10.1002/jms.3779.
- ⑤ **Lee Chuin Chen\***, Masato Kinoshita, Masato Noda, Satoshi Ninomiya, Kenzo Hiraoka, “Rapid Online Non-Enzymatic Protein Digestion Analysis with High Pressure Superheated ESI-MS”, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 巻 26, 1085-1091. (2015), DOI: 10.1007/s13361-015-1111-4

[学会発表] (計 4 件)

- ① **Lee Chuin Chen\***, “Towards endoscopic mass spectrometry with remote sampling ionization”, International BMS Symposium, 口頭発表, 東京・日本橋ライフサイエンスビルディング, 2016年10月14~15日
- ② **Lee Chuin Chen\***, “Towards endoscopic mass spectrometry with remote sampling ionization”, サント

リー生有研シンポジウム, 招待講演, 京都府相楽郡サントリー生命科学財団生物有機化学研究所, 2016年10月17日

- ③ **Lee Chuin Chen**, Gas Phase Ionization with High Pressure High Temperature Electrospray, 第64回質量分析総合討論会, 口頭発表, ホテル阪急エキスポパーク (大阪府吹田市), 2016年5月18~20日
- ④ **Lee Chuin Chen**, Kenzo Hiraoka, Touch and sense: A self-aspirated direct sampling ESI held at ground potential for remote and in-situ mass spectrometry, 第63回質量分析総合討論会, 口頭発表, つくば市国際会議場エポカルつくば, 2015年6月17日~19日

[産業財産権]

○出願状況 (計 1 件)

名称: 質量分析装置及び質量分析方法、並びに解析装置及び解析方法

発明者: 吉村 健太郎、チェン リーチュイン、二宮 啓

権利者: 国立大学法人山梨大学

種類: 特許願

番号: 2017-079391

出願年月日: 2017年04月13日

国内外の別: 国内

## 6. 研究組織

(1) 研究代表者

チェン リーチュイン (CHEN Lee Chuin)

山梨大学・大学院総合研究部・准教授

研究者番号: 40585577