

令和 6 年 6 月 12 日現在

機関番号：17501

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2023

課題番号：20K09223

研究課題名（和文）術中臓器傷害の早期検出を目指した呼気中揮発性有機化合物のリアルタイム測定法の確立

研究課題名（英文）Real-time monitoring of breath volatile organic compounds for early detection of perioperative organ injury

研究代表者

松本 重清（MATSUMOTO, SHIGEKIYO）

大分大学・医学部・准教授

研究者番号：90274761

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）：各種手術前後で尿を採取し抽出デバイスに移して尿中VOCsを抽出し、GC-MSにて網羅的解析を行った。その結果、手術する臓器により変動するVOCsが異なることが明らかとなった。また、消化器では、他と比較し、6つのVOCsが有意に増加し術後に減少したが、これらは癌のマーカーとなるのかもしれない。

また、最近、東横化学株式会社と李教授が開発したアンモニア測定機により、消化器外科手術と腎臓外科手術において、アンモニアをリアルタイムに測定することに成功した。これらの症例はいずれも正常範囲内の変化であったが、術後に臓器傷害を来すこともなかった。今後も症例を積み重ねていく予定である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

術前後に変動するVOCsが手術する臓器により異なることが明らかとなったが、VOCsは各種臓器傷害のマーカーとなるだけでなく、疾患や癌のマーカーとなる可能性があることが示唆された。また、揮発性無機ガスのアンモニアは、肝だけでなく、腎機能とも関連する重要なバイオマーカーである。本研究では、新規モジュール化光学センサを用いて、呼気アンモニアを高感度で高選択性に測定することが可能となり、消化器外科手術と腎臓外科手術において、アンモニアのリアルタイム測定に成功した。この方法を用いて、術後に生じる急性腎傷害など合併症を早期に検出できるようになることが期待される。

研究成果の概要（英文）：Urine was collected before and after various surgeries and transferred to a device to extract urinary VOCs, which were comprehensively analyzed by GC-MS. The results revealed that the variable VOCs differed depending on the operated organ. In gastrointestinal surgeries, six VOCs were significantly increased and decreased postoperatively compared to the others, which may be markers of cancer.

Recently, ammonia was successfully measured in real-time in gastrointestinal and renal surgeries using an ammonia measuring device developed by TOYOKO KAGAKU Co. and Professor Lee. In both of these cases, the changes were within the normal range, and no postoperative organ injury resulted. We plan to continue to accumulate more cases in the future.

研究分野：麻酔・集中治療

キーワード：揮発性有機化合物 アンモニア 術後臓器障害 酸化ストレス 炎症反応

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

わが国では高齢者手術が著増しているが、臓器予備能の低下した高齢者は術後合併症が生じやすい。術後合併症の発症は、患者及び家族の負担を増やすだけでなく、医療費も増大させるため、財政圧迫の大きな要因となる。よって、術後合併症が生じる前にそれを予測して、早期に予防戦略を講じることは極めて重要である。しかし、血液ガス分析や生化学検査は間欠的な測定であり、臓器傷害に陥ってからしか変化しないため、異常検出時には、すでに臓器傷害が進行していることが多い。

全身麻酔、手術、出血および輸血など周術期に生体に生じる侵襲は、細胞代謝に多大な影響を及ぼすため、術後合併症の一因となる。我々は、臓器傷害に陥る前に、細胞レベルでの代謝異常を捉えることができれば、早期に予防策を講じることにより臓器傷害を予防できると考えた。

近年、様々な代謝経路を介して、各組織の細胞にて産生される揮発性有機化合物(VOCs)は、尿、皮膚、呼気などから検出されることが明らかとなった。VOCs は癌を初め、様々な疾患のバイオマーカーとして認識されつつある。呼気中 VOCs 測定はガスクロマトグラフィ質量分析計(GC/MS)を用いるが、大型で実験室に設置されるため、試料採取と分析の間に時間を要すること、そのため濃度が変化することなどの理由で正確に測定できなかった。最近、高感度で小型化された計測器が開発され、呼気中 VOCs のリアルタイム測定が可能となってきた。我々は、カプノメータのサンプリング・チューブを介して容易に採取できる呼気において、VOCs を術中にリアルタイム測定する技術を確立し、この方法を診断に応用できれば、術後合併症を減少させることができると考えて本研究を計画した。

2. 研究の目的

本研究では、まず、VOCs は呼気では微量であるため、より濃度の高い尿を網羅的に解析し、術中に変化する VOCs を特定する。続いて、研究分担者の李丞祐教授が開発した水晶振動子ガスセンサシステムを用いて、特定された VOCs を呼気中でリアルタイムに測定する技術を確立する。さらに、術後臓器傷害や合併症の誘因となる炎症および酸化ストレスのマーカーも測定し、VOCs との関連を調べる。最終的には、各臓器傷害にて上昇する VOCs を同定し、どの程度上昇したら予防策を講じればよいかを明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

方法 1: 侵襲度の異なる、様々な待機手術患者を対象とする。まず、VOCs の高感度抽出法である、SPME (Solid Phase Micro Extraction) 法により、術中に採取した尿試料から VOCs を迅速に抽出し、ガスクロマトグラフィ・質量分析計 (GC/MS) を利用して網羅的解析を行い、術中に大きく変動する VOCs を同定する。同時に、SPME 法により、呼気中 VOCs も網羅的に解析して、尿の結果と比較して、術中に大きく変動する VOCs を同定する。続いて、術前・術後合併症の有無や術中の状態 (麻酔法、麻酔・手術時間、出血量など) との相関性を確認し、最終的には、呼気中 VOCs の標的成分を決定する。

方法 2: 特定された VOCs をリアルタイムに測定できる、水晶振動子によるガスセンサを開発する。このセンサは水晶振動子の固有振動数が電極に付着した質量の変化によって変化することを利用したものである。微量の VOCs を検知するために、水晶振動子上には、特定された VOCs を吸着する感応膜を開発し成膜する。この成膜を搭載したガスセンサシステムが完成したら、術中患者において、リアルタイム測定が可能かどうかを検討する。

方法3: 可能な限り多くの患者の呼気中 VOCs データを集積する。同時に、血液も採取し、後に、炎症や酸化ストレスのマーカー (IL-6 やマロンジアルデヒドなど) を測定する。VOCs 値と術後臓器傷害との関連を比較し、各種臓器傷害と関連のある VOCs を特定する。臓器傷害については、肺は PaO₂/F_iO₂ 比、腎は血清クレアチニン値、肝は総ビリルビン値、心臓はトロポニン T、凝固は血小板数を測定して評価する。VOCs 値と酸化ストレスや炎症反応の血清マーカーも比較し、関連のある VOCs を同定する。さらに、ウイスマー社の FREE Carrio Duo(当施設現有)により測定できる酸化ストレスの程度や抗酸化能も VOCs 値と比較する。最終的には、術中の呼気中 VOCs 測定が、術後合併症を早期に予測できる指標となるか、また、酸化ストレスや炎症の指標となるかを検討する。

方法4: アンモニアは、肝だけでなく、腎機能とも関連する重要なバイオマーカーである。最近、東横化学株式会社と李教授が開発した新規モジュール化光学センサを用いて、呼気アンモニアを高感度で高選択性に測定することが可能となった。この方法を用いて、術後に生じる急性腎傷害などを早期検出できるかどうかを検討する。

4. 研究成果

心臓血管外科 (n=24)、消化器外科 (n=36)、脳神経外科 (n=12)、呼吸器外科 (n=12)、腎臓外科 (n=16) の手術前後で尿を採取し -80 で凍結保存、後に解凍して尿サンプルを抽出デバイスに移して尿中 VOCs を抽出し、GC-MS にて網羅的解析を行った。

[時間]	心臓外科(24検体)			消化器(36検体)			脳外科(12検体)			呼吸器(12検体)			腎臓 其他(16検体)		
	データ数	MAX	Min	データ数	MAX	Min	データ数	MAX	Min	データ数	MAX	Min	データ数	MAX	Min
3-Heptanone	0	0.000	0.000	0	0.000	0.000	4	3.798	0.989	0	0.000	0.000	0	0.000	0.000
Cyclohexanone	24	3.128	0.208	36	21.393	0.161	12	8.238	0.048	12	10.617	0.353	13	7.893	0.014
2-Propanol, 1,1,1,3,3,3-hexafluoro-	8	0.957	0.008	13	1.083	0.003	3	0.746	0.006	7	1.186	1.186	7	0.999	0.016
Propan-2-ol, 1-(2-isopropyl-5-methylcyclohexyloxy)-3-(4-morpholyl)-	0	0.000	0.000	0	0.000	0.000	4	1.098	0.533	0	0.000	0.000	0	0.000	0.000
Hexanoic acid, 2-ethyl-	10	0.238	0.030	20	1.798	0.010	3	0.344	0.018	8	0.381	0.020	8	0.421	0.019
3-Azabicyclo[3.2.1]octane-2,4-dione, 1,8,8-trimethyl-3-[2-(4-morpholinyl)ethyl]-	0	0.000	0.000	0	0.000	0.000	4	2.323	0.292	0	0.000	0.000	0	0.000	0.000
Phenol	21	0.228	0.020	35	2.725	0.016	10	0.377	0.017	11	0.478	0.029	9	1.334	0.025
Phenol, 4-methyl-	8	10.507	0.038	7	0.448	0.010	3	0.316	0.034	4	0.384	0.022	3	0.081	0.025
Phenol, 4-ethyl-	2	1.404	0.039	0	0.000	0.000	0	0.000	0.000	0	0.000	0.000	0	0.000	0.000

その結果、術前後に著明な差を示す VOCs として、3-Heptanone、Cyclohexanone、1,1,1,3,3,3-Hexafluoro-2-propanol、1-(2-isopropyl-5-methylcyclohexyloxy)-3-(4-morpholyl)-Propan-2-ol、2-ethyl-Hexanoic acid、1,8,8-trimethyl-3-[2-(4-morpholinyl)ethyl]-3-Azabicyclo[3.2.1]octane-2,4-dione、Phenol、4-methyl-Phenol、4-ethyl-Phenol が同定された。

現在、これらの VOCs がどのような代謝経路に参与しているのかを調べているが、3-Heptanone は二次代謝産物の不完全な代謝から生じる分子で、脳外科手術においてのみ術後の減少を認められた。消化器外科では全体的に Cyclohexanone が術後に減少し、2-ethyl-Hexanoic acid は術後に上昇した。1,1,1,3,3,3-Hexafluoro-2-propanol、1-(2-isopropyl-5-methylcyclohexyloxy)-3-(4-morpholyl)-Propan-2-ol、1,8,8-trimethyl-3-[2-(4-morpholinyl)ethyl]-3-Azabicyclo[3.2.1]octane-2 に関しては、代謝経路は不明である。Phenol は消化器外科や腎臓外科術後に著明に減少、4-methyl-Phenol と 4-ethyl-Phenol は心臓外科手術後に著明に減少した。

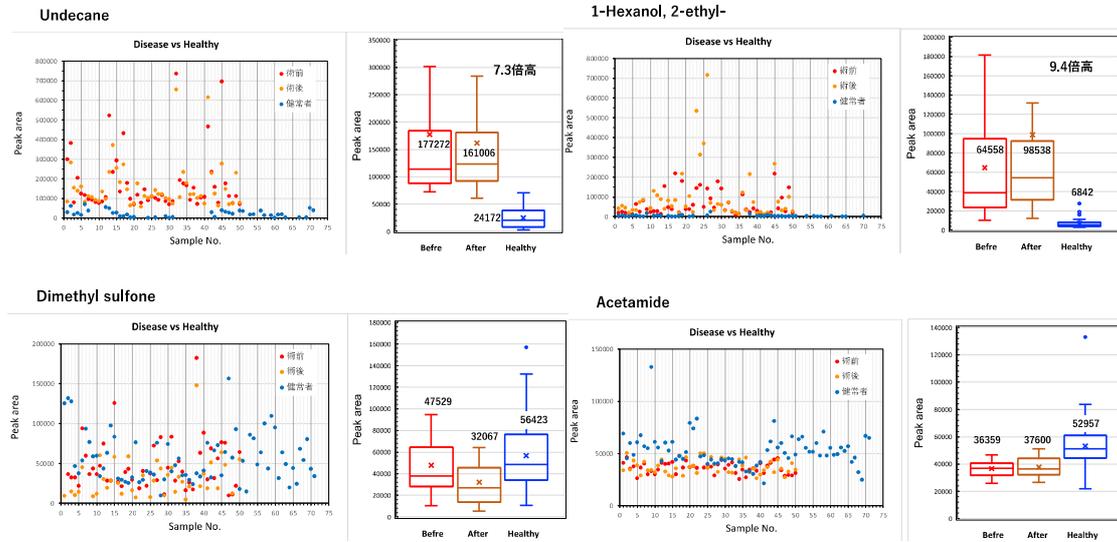
このように臓器により変動する VOCs が異なることが明らかとなった。

また、消化器外科手術 (n=15、肝 5 例、食道 3 例、大腸 3 例、膵 2 例、胃 2 例) では、他の手術 (n=34) と比較して、4-Cyanocyclohexene、Phenol、2-Ethyl-1-hexanol、 α,α -Dimethyl benzenemethanol、Acetophenone、2,4-Bis(1,1-dimethylethyl)-phenol が有意に増加し、術後に減少したが、これらの VOCs は消化器癌のマーカーとなるのかもしれない。

Compound	Mean value of PA		No. of detections		p-value
	Gastrointestinal cancer	Others	Gastrointestinal cancer	Others	
4-Cyanocyclohexene	110057	0	9/15	0/32	-
Phenol	290968	108132	14/15	24/32	0.049
2-Ethyl-1-hexanol	790508	307197	14/15	30/32	0.019
α,α -Dimethyl-benzenemethanol	1812088	584964	15/15	25/32	0.023
Acetophenone	396395	82038	14/15	15/32	1.9 x 10 ⁻³
2,4-Bis(1,1-dimethylethyl)-phenol	324674	125994	15/15	29/32	1.7 x 10 ⁻⁷

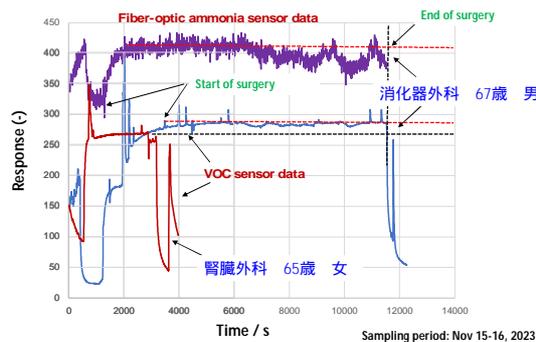
健常人 (n=57) の尿にも含まれる VOCs については、手術患者 (n=50) において、Undecane が

約7.3倍、2-ethyl-Hexanoic acidが約9.4倍と有意に高値を示した。一方、AcetamideやDimethyl sulfoneは健常人よりも有意に低値であり、Dimethyl sulfoneは術後により低下した。



代謝経路が不明な化合物も多く、詳細は現在まだ解析中であるが、健常人よりも有意に高値で術後減少する VOCs は癌や疾患のマーカーとなり、また、術前よりも術後に上昇するのは臓器傷害のマーカーとなるのかもしれないが、コロナ禍により採取した症例数が少なく、術後臓器傷害を来した症例も少なかったため、臓器傷害と VOCs、炎症および酸化ストレスの関連を明らかにすることはできなかった。今後も引き続き症例数を増やして、臓器傷害と VOCs の関連を明らかにする方針である。

最近、東横化学株式会社と李教授が開発したアンモニア測定の試作機により、消化器外科手術と腎臓外科手術においてアンモニアをリアルタイムに測定することに成功した。これらの症例はいずれも正常範囲内の変化であったが、術後に臓器傷害を来すこともなかった。今後も症例を積み重ねていく予定である。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔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
研究分担者	李 丞祐 (Lee Seung-Woo) (60326460)	北九州市立大学・国際環境工学部・教授 (27101)	

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