

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 2 日現在

機関番号：13501

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2013～2015

課題番号：25713023

研究課題名(和文) 質量分析型即時がん診断支援システムの構築

研究課題名(英文) Construction of mass spectrometry based rapid cancer diagnosis system

研究代表者

吉村 健太郎 (YOSHIMURA, Kentaro)

山梨大学・総合研究部・助教

研究者番号：70516921

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 18,100,000円

研究成果の概要(和文)：生物試料を前処理なく大気圧で質量分析が可能な探針エレクトロスプレーイオン化法-質量分析(PESI-MS)と、機械学習を用いて腎細胞がん及び、肝細胞がんの迅速診断システムを構築した。交差検証により当該システムの性能を評価したところ、病理診断結果と90%以上一致することが確認でき、この数値は臨床での実使用が可能であることを示唆している。また多種のがん診断に応用することを目指し、研究期間内に可能な限りのがん検体収集を試みた。膠芽腫、口腔扁平上皮がん、胃がん、結腸がん、膀胱がん、膵臓がんの検体を分析し、最終的に約22,000マススペクトルからなるデータベースを構築することができた。

研究成果の概要(英文)：We constructed the rapid diagnosis system for human renal cell carcinoma and hepatocellular carcinoma using probe electrospray ionization-mass spectrometry (PESI-MS) and learning machine, and achieved over 90% coincidence of diagnosis with those judged by the conventional histopathology. To validate the applicability of this system, we applied PESI-MS to diagnosis of various cancers. In this study duration, we could collect the 22,000 mass spectra from glioma, oral squamous cell carcinoma, gastric cancer, colonic cancer, bladder cancer, and pancreatic cancer.

研究分野：細胞生物学

キーワード：機械学習 バルクデータ がん診断 大気圧イオン化法 リアルタイム質量分析 メタボロミクス

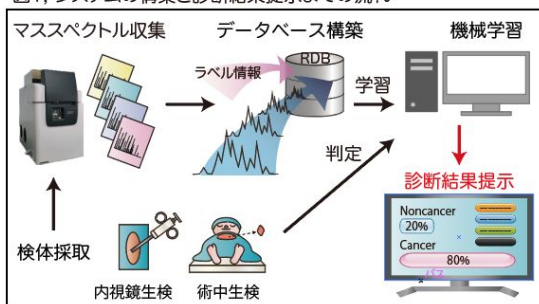
1. 研究開始当初の背景

近年、質量分析を用いた生体成分プロファイルの方法論に関する研究が盛んに行われ、プロテオーム解析のみならず、リピドーム、メタボローム解析とその適応範囲が拡大している。ことに医学の分野との融合においては、質量分析を病気の診断、特にがん診断に応用しようという試みが世界中で進んでいる。

一方、現在行われているがんの確定診断法は検体切片に対する組織染色が主流であり、術中に行われる迅速診断であっても結果が得られるまでに数 10 分を要する。従って、現場からは診断にかかる時間の短縮が望まれており、それを実現するべく質量分析を用いたがん診断システムの構築を目指した研究が複数のグループによって進められている。

我々はこれまでに、生物組織を前処理なく大気圧で迅速に質量分析が可能な probe electrospray ionization-mass spectrometry (PESI-MS)を用いて、ヒト腎細胞がんおよび肝細胞がんの測定データを蓄積し、このデータベースを基に、機械学習を用いてがんを判定することを試みてきた(図 1)。

図1, システムの構築と診断結果提示までの流れ



プロトタイプ診断システムにおいては、交差検証の結果、病理診断と 90%以上が一致する判定結果が得られたが、臨床での実使用に向けてはさらなる精度の向上が望まれる。そのためには可能な限り多くの検体からマススペクトルを収集し、機械学習の学習用データベースを拡充することが必要である。

迅速がん診断システムの開発初期段階としては、比較的検体の収集と測定が容易な腎細胞がんと肝細胞がんを対象としてきたが、本システムは検体のマススペクトルデータベースさえ構築できれば、あらゆる種類のがん判別が可能である。本研究課題では一つのシステムで多種類のがんの診断を可能にすることも目指した。

2. 研究の目的

これまでの研究により、PESI-MS によるヒトがん検体の質量分析条件の検討と、そのスペクトルパターン比較を基にした、判定アルゴリズムのプロトタイプが完成している。本研究課題では更に、腎細胞がん、肝細胞がんの判定に臨床応用可能な確実性を付与することを目的とした。さらに PESI-MS を用い

たがん診断支援システムが、多種類のがんに応用可能であることを証明することを目指した。

3. 研究の方法

(1) 腎細胞がん、肝細胞がん判定支援システムの確立と、判定所要時間の短縮。

腎細胞がん、肝細胞がんの判定精度を向上させるために、可能な限り多くの検体を収集し、マススペクトルデータベースを拡充する。

データの処理から判定までの各行程を連結/自動化するソフトを開発し、分析から判定結果提示まで 10 分以内を目指す。病理診断との判定一致率については腎細胞がん、肝細胞がんいずれも 90%以上を達成する。

(2) 多種類のがん判定への応用

多種類のがん組織よりマススペクトルを収集し、データベースを構築する。

上記データベースを元に多種類のがん判定アルゴリズムの基盤を構築する。

4. 研究成果

(1)- 腎細胞がんおよび肝細胞がん患者より非がん部、がん部検体を収集し、それぞれのマススペクトルを取得した。最終的に計 810 患者より 約 15,000 マススペクトルを収集することができた(表 1)。

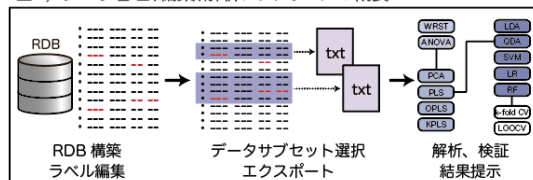
表1, 腎細胞がんおよび肝細胞がんの検体、マススペクトル数

	患者数	検体数	マススペクトル数
腎細胞がん	565	1781	8905
肝細胞がん	245	1302	6501

これらのデータは独自開発したデータ管理ソフトウェアを用いて、マススペクトルと患者情報を紐付けして保存されている (relational database, RDB)。

(1)- RDB 管理、解析用サブセットデータ構築、統計解析、判別分析、交差検証、結果の提示が可能ソフトウェアのベータ版を完成させた(図 2)。

図2, データ管理、編集、解析ソフトウェアの概要



当該ソフトウェアを用いて判定を行った結果、病理診断との一致率が腎細胞がんにおいて 94.4%、肝細胞がんにおいて 92.1%を達成することができた。肝細胞がんについては現在臨床での実使用に向けて、治験開始の準備を進めている。

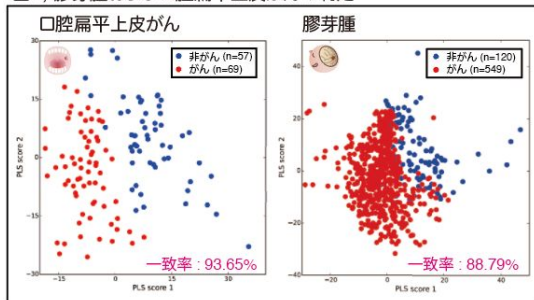
(2)- 腎細胞がん、肝細胞がんに加えて膠芽腫、口腔扁平上皮がん、胃がん、結腸がん、膀胱がん、膵臓がん検体を収集し、マススペクトルを取得した(表 2)。

表2, 各種がん検体数およびマススペクトル数

	患者数	検体数	マススペクトル数
膠芽腫	23	892	4460
口腔扁平上皮がん	29	310	1550
胃がん	135	782	3910
結腸がん	291	1928	9640
膀胱がん	59	468	2340
膵臓がん	10	22	110

(2)- 上記がん種のうち、期間内に比較的多くのデータを収集できた、膠芽腫および、口腔扁平上皮がんについて、判定アルゴリズムの構築を試みた。その結果全てにおいて85%以上の判定一致率を得ることができた(図3)。

図3, 膠芽腫および口腔扁平上皮がんの判定



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7件)

- (1) Kasai H, Kawakami K, Yokoe H, Yoshimura K, (16名省略、4番目), Involvement of FKBP6 in hepatitis C virus replication, Scientific reports. 16;16699 (2015) (査読有)
- (2) 竹田 扇, 吉村 健太郎, 田邊 國士, 相反する視座からの新しいがん診断支援装置の試み臨床病理, 臨床病理. 63;1083-9 (2015) (査読有)
- (3) Mandal MK, Saha S, Yu Z, Yoshimura K, (2名省略、4番目), Untreated and dried sample analysis by solid probe assisted nanoelectrospray ionization mass spectrometry, Analytical Methods. 7;2630-5 (2015) (査読有)
- (4) Yoshimura K, Chen LC, Johno H, (3名省略、1番目), Development of Non-proximate Probe Electrospray Ionization for Real-Time Analysis of Living Animal, Mass Spectrometry. 3;1-7 (2014) (査読有)
- (5) Mandal MK, Yoshimura K, Saha S, (3名省略、2番目), Biomolecular analysis and biological tissue diagnostics by electrospray ionization with a metal wire inserted gel-loading tip, Analytical Chemistry. 86;987-92 (2014) (査読有)
- (6) Yu Z, Chen LC, Mandal MK, Yoshimura K, (2名省略、4番目), Direct Electrospray Ionization Mass

Spectrometric Profiling of Real-World Samples via a Solid Sampling Probe, Journal of The American Society for Mass Spectrometry. 24;1612-5 (2013) (査読有)

- (7) Yoshimura K, Mandal MK, Michio Hara, (5名省略、1番目), Real time diagnosis of chemically-induced hepatocellular carcinoma using a novel mass spectrometry-based technique, Analytical Biochemistry. 441;32-7 (2013) (査読有)

[学会発表](計12件)

- (1) Yoshimura K, Kasai H, Moriishi K, Takeda S, ミエリン形成におけるヘッジホッグシグナルの機能とシグナル活性調節機構の解明, 第121回日本解剖学会総会・全国学術集会, 2016年3月28日, ビッグパレットふくしま(福島県郡山市)
- (2) Yoshimura K, Kasai H, Moriishi K, Takeda S, Hedgehog signaling specifically regulates the morphogenesis of Schwann cell in promyelinating stage, 第38回日本神経科学大会, 2015年7月30日, 神戸国際会議場(兵庫県神戸市)
- (3) Yoshimura K, Chen LC, Nakajima M, Johno H, Hiraoka K, Takeda S, Development of real-time metabolomic analysis system and database construction/statistical analysis software, 第63回質量分析総合討論会, 2015年6月19日, つくば国際会議場エポカルつくば(茨城県つくば市)
- (4) Yoshimura K, Mori Y, Kasai H, Moriishi K, Takeda S, ミエリン形成においてヘッジホッグシグナルはシュワン細胞の形態変化を時期特異的に調節する, 第120回解剖学会総会・全国学術集会, 2015年3月23日, 神戸国際会議場(兵庫県神戸市)
- (5) Yoshimura K, Arimatsu T, Takeda S, ミエリン形成準備期におけるシュワン細胞の形態変化は一次繊毛によるヘッジホッグシグナルの受容によって調節される, 第37回日本神経科学大会, 2014年9月12日, パシフィコ横浜(神奈川県横浜市)
- (6) Yoshimura K, Chen LC, Tanabe K, Nakajima M, Ninomiya S, Hori H, Izumi H, Hiraoka K, Takeda S, Developing a human cancer diagnostic system: Towards on-site multi purpose gadgetry, 20th International Mass Spectrometry Conference, 2014年8月25日, Geneva (Switzerland)
- (7) Yoshimura K, Takeda S, ミエリン形成準備期のシュワン細胞におけるヘッジ

ホッグシグナルと一次繊毛の役割, 第五回繊毛研究会, 2014年5月25日, アクトシティ浜松研修交流センター(静岡県浜松市)

- (8) Yoshimura K, Tanabe K, Chen LC, Ninomiya S, Hori H, Izumi H, Hiraoka K, Takeda S, Development and Application of Diagnosis System Using Probe Electrospray Ionization and Dual Penalized Logistic Regression Machine, 第62回質量分析総合討論会, 2014年5月14日, ホテル阪急エキスポパーク(大阪府吹田市)
- (9) Yoshimura K, Arimatsu T, Takeda S, 末梢神経のミエリン形成準備期における一次繊毛の機能, 第119回解剖学会総会・全国学術集会, 2014年3月27日, 自治医科大学キャンパス(栃木県下野市)
- (10) Yoshimura K, 大気圧イオン化法および学習機械を用いた質量分析型迅速診断システムの開発, 大阪大学質量分析シンポジウム, 2014年3月18日, 大阪大学理学研究科(大阪府豊中市)
- (11) Yoshimura K, Tanabe K, Chen LC, Ninomiya S, Hori H, Nakajima H, Hiraoka K, Takeda S, 学習機械を用いた質量分析型がん診断装置の開発, 第61回質量分析総合討論会, 2013年9月11日, つくば国際会議場エポカルつくば(茨城県つくば市)
- (12) Yoshimura K, Tanabe K, Chen LC, Nakajima H, Hiraoka K, Takeda S, Human Cancer Diagnosis by the Electrospray Ionization and Bayesian Statistics, 4th Asia Oceania Mass Spectrometry Conference and 10th Taiwan Society for Mass Spectrometry Annual Conference, 2013年7月11日, Taipei (Taiwan)

〔産業財産権〕

○出願状況(計1件)

名称: マススペクトル解析システム、方法およびプログラム

発明者: 吉村 健太郎、城野 悠志、船山 慧、川井 将敬、森 優喜、竹田 扇

権利者: 国立大学法人山梨大学

種類: 特許権

番号: 特願 2015-078992

出願年月日: 平成 27 年 4 月 8 日

国内外の別: 国内

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.hh-bd.link>

6. 研究組織

(1)研究代表者

吉村 健太郎

(YOSHIMURA, Kentaro)

山梨大学・総合研究部・助教
研究者番号: 70516921

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし