

日本医療研究開発機構 医療分野研究成果展開事業  
(先端計測分析技術・機器開発プログラム)  
事後評価報告書



I 基本情報

研究開発課題名: (日本語) マルチモーダル内視鏡システムによる生体機能診断  
(英語) Integrated multimodal endoscope for hyper-spectral imaging and on site mass spectrometry

研究開発実施期間: 2017年4月1日～2019年3月31日

研究開発代表者 氏名: (日本語) 村田正治  
(英語) Masaharu Murata

研究開発代表者 所属機関・部署・役職:  
(日本語) 九州大学 先端医療イノベーションセンター・特任教授  
(英語) Kyushu University, Center for Advanced Medical Innovation, Professor

## II 研究開発の概要

胃カメラに始まる内視鏡の開発は、「体内の異常を見る」ことを目的として進められてきた。CCDイメージセンサ技術の進歩とともに内視鏡の電子化が進み、それとともに高感度化・高解像度化を中心として性能の向上が図られてきた。すでに4K以上の高精細画像や3D画像に対応した内視鏡が開発され、画質向上の面ではその極みに達した感が強い。

一方で、多彩なイメージング技術を内視鏡に組み込むことにより、肉眼では見えない深部や組織構造の変化を捉えることも可能となってきた。これらの新しいイメージング技術の活用によって、体内の「肉眼には見えない異常を診る」ことができるようになれば、内視鏡診断は病変部位の形状や色調を見るための形態診断からより高度な機能診断へとその付加価値を高めることができるであろう。

そこで本研究では二つの技術を内視鏡に導入する。その一つは、物質による光の吸収スペクトルを解析する分光分析技術（ハイパースペクトルイメージング、HSC）である。これによって酸素飽和度等の構造的な変化を鏡視下において定性的、定量的に可視化することができる。もう一つは疾患特異的な分子（バイオマーカー）の可視化システムである。これらの技術を内視鏡に実装することにより、高精細な通常画像に加えて、その奥に潜む組織構造の変化や特定分子の広がりに関する情報もリアルタイムに取得・重畳表示することが可能となる。これらの技術を内視鏡に実装することにより、これまで形態診断に留まっていた内視鏡を機能診断へと進化させる。リアルタイム性や診断精度の大幅な向上によって、患者負担の軽減と医療の質の向上に貢献することを目的とした。

本プロジェクトではこれら二つの診断デバイスを開発し、その臨床的有用性を評価した。参画企業であるHOYA社と共同開発したHSCカメラは、組織表面の酸素飽和度を非接触に画像化することができる。酸素飽和度とは血中において酸素運搬するヘモグロビンの分子状態を定量化した指標であり、様々な疾患・病態と深く関係する生体情報である。そこでまず、このHSCカメラのモデル動物での評価を実施し、さらに脳神経外科での臨床研究を遂行した。図1にマウスの皮下に大腸がんおよび肺がんを移植したモデルマウスの観察を行った。この結果、がん部(T)は正常部(N)と比べて明らかに低酸素化していることが明らかとなった。がん部周辺は血管からの

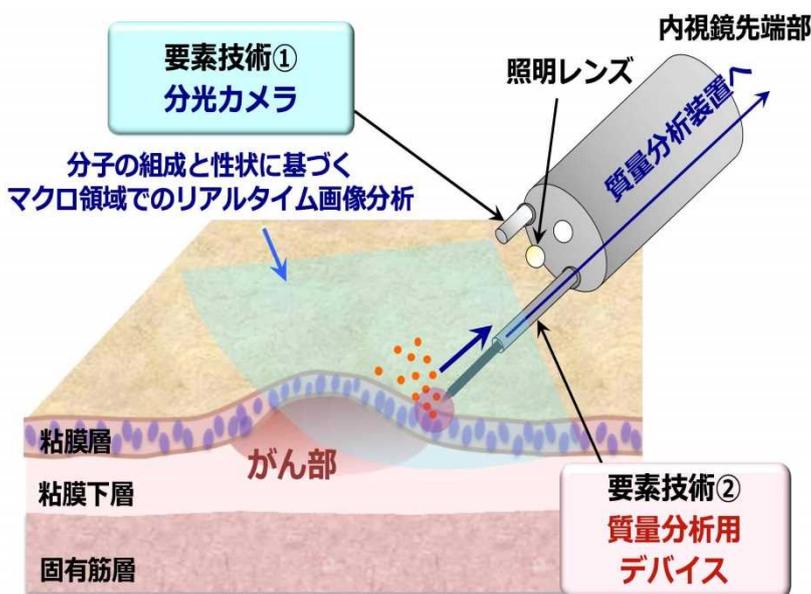


図1 マルチモーダル内視鏡システム

の酸素供給が不十分となり、正常部と比較して酸素飽和度が低い低酸素状態になることが知られており、HSCカメラによる画像化によってがんの種類やその進行度を診断できる可能性があることが示唆された。さらに低酸素イメージング技術を脳外科領域に適応し、もやもや病を対象疾患とする4症例に適応した。開頭部が撮影できるようHSCカメラを設置し、脳血管バイパス術の前後で分光画像を撮影した。この結果、術前に比べて術後の脳表面の酸素飽和度は明らかに上昇していることが示された。ただし、バイパス後に血流が芳しくない症例では酸素飽和度の上昇は観察されなかった（後に再手術）。脳血管バイパス術においてはこれまでインドシアニングリーン（ICG）の静注による術後評価が行われてきたが、HSCカメラによる低酸素イメージングは単純な血流を見るのではなく脳表面の酸素飽和度を定量的かつ無侵襲に描出す

ることができるため臨床的有用性が高く、引き続き症例の蓄積を継続している。

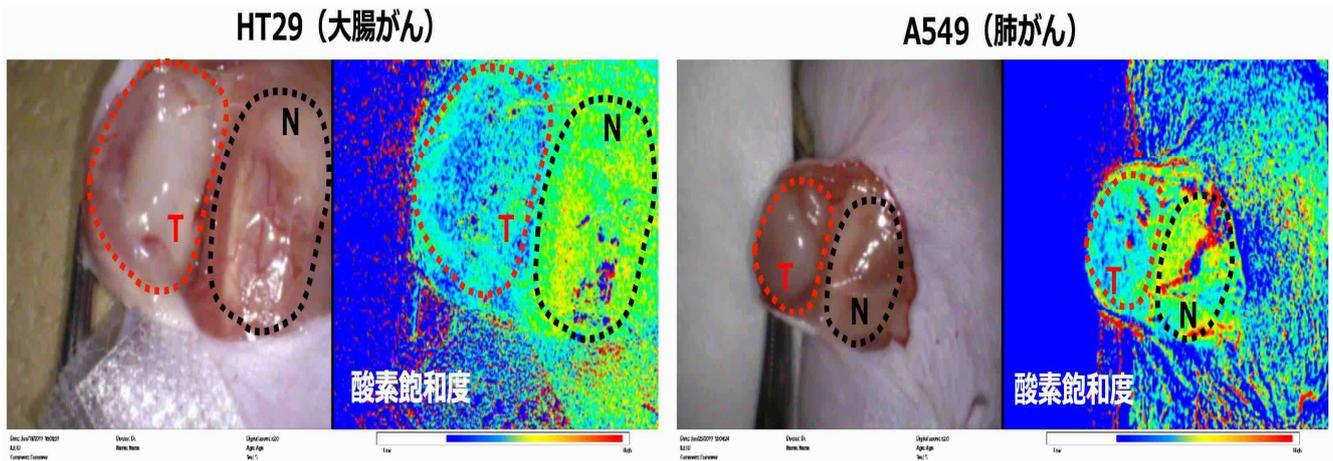


図2 分光内視鏡によるがん部（T、BM1 高値領域）の低酸素イメージング  
（青：低酸素領域 黄色：中間領域 赤：高酸素領域）

酸素飽和度を定量的かつ無侵襲に描出することができるため臨床的有用性が高く、引き続き症例の蓄積を継続している。

次に、HSC カメラによって低酸素領域と描出されたがん部の代謝物解析を実施した。注目したのは我々が以前からがん部に特有な腫瘍マーカーとして着目していた分子、ウリジン二リン酸 N-アセチルグルコサミン (UDP-GlucNAc) である。がん部および非がん部における UDP-GlucNAc を測定した結果、がん部からのみ UDP-GlucNAc が検出された。さらに乳がん患者 (15 症例) から抽出したがん部からも同様に UDP-GlucNAc を検出した。その量は非がん部の 5 倍以上の高値であり、腫瘍マーカーとして臨床的有用性が示唆された。この UDP-GlucNAc のサンプリング方法について種々検討した結果、本プロジェクトにおいて独自開発した改良法により胃がん (KATO III)、大腸がん (HT29)、そして肺がん (A549) のいずれにおいてもサンプリング効率が大幅に向上することを確認した。なお、腫瘍マーカーとしての UDP-GlucNAc については、本プロジェクトの成果として特許申請を完了している。

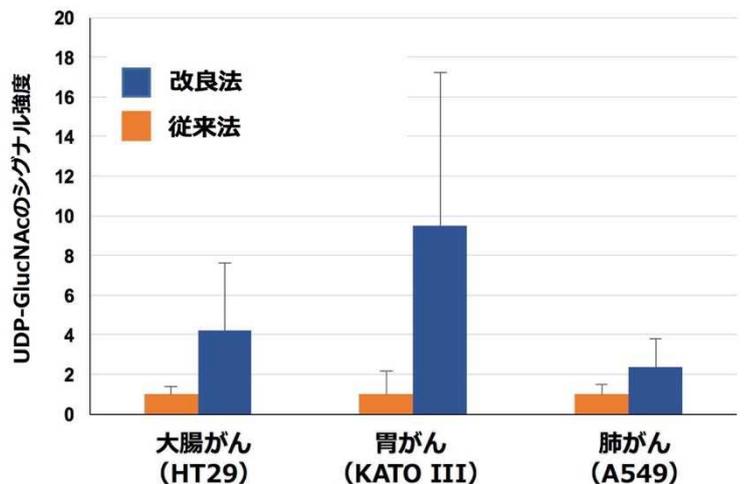


図3 バイオマーカーのサンプリング効率の改善

本プロジェクトでは分光技術 (HSC) と質量分析技術の二つの要素技術を統合した新型内視鏡の開発を目指した。広い範囲の可視化に適した前者と、ピンポイントでの微量成分の高感度分析に優れた後者を組み合わせることで、様々な疾患の in situ でのリアルタイム診断が可能となる。すでに分光内視鏡、バイオマーカー診断法ともに臨床研究へ進展しており、脳神経外科、消化器外科、泌尿器科、そして耳鼻科において症例の蓄積を遂行中である。特に本プロジェクトにおいて開発したバイオマーカー診断法は、生体組織から簡単に対象分子を抽出することに成功しており、UDP-GlucNAc に加えて新たなバイオマーカーの発見にも成功している。肉眼所見では違いが分からない組織であっても、がん部の分光画像では明らかに低酸素化が進んでおり、さらにその低酸素領域では腫瘍マーカーUDP-GlucNAc の高発現が確認できた。これらの事実は機能の異なる二つの診断デバイスを組み合わせることで、診断精度の向上の面で相乗効果を生み出せることを示唆している。つまり分光内視鏡によるマクロ領域での低酸素イメージングによってお

おまかな診断をした上で、質量分析による局所分析によって境界域・悪性度を精密診断できれば、前がん病変の炎症との鑑別等に有用であろう。引き続き症例を集積した上で、早期の実用化をめざしている。

This project aims to develop a multimodal detector to foster the development of new biomarkers or diagnostics for gastrointestinal cancers. The detector will consist of two main components: a hyper-spectral camera (HSC), and a mass spectrometer to a flexible endoscope system. Spectral Imaging is the combination of machine vision with spectroscopy and comprises the acquisition, processing and classification of hyper-spectral images. The wavelength scanning approach also provides spectral and spatial resolution by acquiring both spatial dimensions of an image at once and by sequentially scanning the spectral information. Hence, this technique is suitable for wide-field imaging that rapidly visualize large surface areas for the detection of early stage cancer. On the other hand, on site real time mass spectrometry at the tip of endoscope gives the complementary molecular information on the biomarkers or diagnosis of diseases. The basic technologies to realize such on site real time mass spectrometry are the ionization of molecules from specimen under the mild and environmental condition without special sample preparation and the highly efficient ion transportation from the tip of endoscope to the mass spectrometer. We combined these technologies to develop the on site mass spectrometry devices under this project.

We deintegrated the DESI (Desorption Electro Spray Ionization) source we developed for LC-QIT-TOF-MS manufactured by Shimadzu Corp. and we modified and ported this DESI ionization source to ultra-high resolution and high accuracy FT mass spectrometer installed at AIST. This ionization source consists of fully computer controlled electrospray probe with high velocity nebulizing gas at the tip of electrospray probe, fully computer controlled 3D precise motor sample stage and elongated MS inlet tube. With this ported DESI source, highly charged solvent droplet is impacted onto the sample fixed on computer controlled motor stage to produce secondary solvent droplet which dissolved materials on the surface of sample specimen. The spray tip position relative to the droplet impact point on the sample surface and spray impact angle are fully controlled by computer. The secondary solvent droplet produced from sample surface is sucked by the elongated stainless steel MS-inlet on the FT mass spectrometer. The charged solvent droplet is de-solvated at inside of MS-inlet tube to produce analyte ions. The mass/charge ratio of the analyte ion is measured by ultra-high resolution and high accuracy FT mass spectrometer to give bio-maker molecular signal on the mass spectrum.