

( 続紙 1 )

京都大学	博士 ( 農 学 )	氏名	花 井 陽 介
論文題目	揮発性肺がんマーカーの探索		
(論文内容の要旨)			
<p>がんによる死亡の中では、肺がんによる死亡率が最も高い。肺がんのような進行がんの罹患率を減少させ、治療効果を改善するために最も重要なのは早期発見である。肺がんの場合は胸部X線、CT-scan、PETなどの診断方法が開発されているが、その受診率は30%程度にとどまっており、このような低い受診率を改善し早期発見を増やしていくため、被験者に苦痛や心理的な負担を与えない簡便な肺がん診断方法の開発が求められている。近年、そのような診断技術との関連で注目されているのが、揮発性のバイオマーカーである。実際、さまざまな疾患に特有の匂いがあることが報告されており、肺がんについてもイヌの嗅覚を利用した実験により、罹患の有無を識別できる揮発性成分の存在が示唆されている。この知見をもとにこれまでに呼気中の揮発性有機化合物 (VOC) に着目した揮発性肺がんマーカーの探索が試みられてきた。いくつかの候補化合物も示されているが、それらの感度および特異度は十分とはいえない。また呼気は試料の保存や運搬のしやすさに難があり、ルーチン分析の対象としてはあまり適していない。そこで本研究では、より取り扱いが容易な尿に着目し、そこに含まれるVOCの中からマーカー化合物の探索を行って非侵襲かつ簡便な肺がんの早期診断方法の確立につなげることをめざしたものである。主な内容は以下のように要約される。</p> <p>第1章では、尿の匂いにより肺がん罹患の有無を識別できることを示すためセンサーマウスの作成を試みた。肺がん患者と健常者の尿を用いY字迷路試験によってマウスを3カ月間トレーニングした結果、それぞれを80%以上の正答率で識別できるようになった。これにより肺がん患者の尿の識別につながる何らかの揮発性化合物の存在が示された。</p> <p>第2章では、肺がん特有のにおい成分に関する知見を得るため、固相マイクロ抽出法とGC-TOF MSを組み合わせヒト肺がん細胞培養液および担がんマウス尿に含まれる微量VOCを分析した。その結果、肺がん細胞と担がんマウス尿に共通して含まれる特異的なVOCを7種類同定することに成功した。</p> <p>第3章では、肺がん患者の尿を特徴付けるVOCの同定を目的とし、第2章と同じ分析方法により肺がん患者と肺がんには罹患していない対照者の尿に含まれるVOCの比較解析を行った。これにより肺がん特異的なVOCを9種類同定し、さらに診断マーカーとしての有用性を評価する統計的手法であるROC解析の結果、これらのVOCが高い感度と特異度を持つマーカーであることを示した。さらに得られたVOCを用いた主成分分析結果から、2-pentanone が腺がんと扁平上皮がんを区別できるマーカーとなることを示した。</p> <p>第4章では、第3章で見いだされたヒトの肺がんバイオマーカー候補VOCをより感度高く分析するための抽出効率改善を検討した。種々抽出条件を変化させて比較した結果、尿試料に飽和量の塩化ナトリウムを添加した後加熱処理することで対象とするVO</p>			

Cの抽出量が顕著に増加することが見いだされ、ヒト尿の分析感度向上がもたらされた。

第5章では、第4章で尿の化学的な前処理がVOCのプロファイルを顕著に変化させた結果をふまえ、肺癌細胞移植後初期のモデルマウスの尿を用いて、より早期に確度高くがんが発見できる揮発性マーカーの探索を行った。その結果、試料尿に水酸化ナトリウムと塩化ナトリウムを添加後加熱することで、肺癌の初期ステージでも識別が可能な複数の新規マーカー候補化合物を特定できた。

注) 論文内容の要旨と論文審査の結果の要旨は1頁を38字×36行で作成し、合わせて、3,000字を標準とすること。  
論文内容の要旨を英語で記入する場合は、400～1,100 wordsで作成し  
審査結果の要旨は日本語500～2,000字程度で作成すること。

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

肺がんは早期発見が難しく死亡率の高いがんであるため、簡便で被験者に苦痛を与えずかつ確実性の高い診断方法の開発が強く望まれている。診断のための指標としては、近年、分析の簡便さとスループットの高さという観点から、がん由来する揮発成分が注目されている。本論文は、これまで分析対象として研究されてきた呼気よりも保存や運搬などの取り扱いが容易な尿に着目し、そこに含まれる揮発性有機化合物から肺がんマーカーを見いだして、非侵襲かつ簡便な肺がんの診断技術の開発に結びつけることを目標としたもので、評価できる点は次の通りである。

1. Y字迷路試験によってマウスをトレーニングした結果、80%以上の正答率で肺がん患者尿を識別できるセンサーマウスの作成に成功し、尿中に肺がんを特徴付ける匂い成分が存在することを示した。
2. ヒト由来肺がん細胞の培養液および肺がんモデルマウス尿に含まれる揮発性化合物について、固相マイクロ抽出法による抽出・濃縮とGC-TOF MS を用いた高感度分析および統計処理を組み合わせた分析方法を設計し、さらにその方法に基づいて細胞培養液と尿の両方から、肺がん特異的に増加している7つの揮発性化合物を同定した。
3. 肺がん患者および対照者から採取したヒト尿を用いて揮発性化合物の分析と比較解析を行った結果、9種類の肺がんマーカーを特定した。また得られたマーカーのうち2-pentanone は腺がんと扁平上皮がんを区別する上で有効であった。
4. 化学的な前処理を行うことで揮発性化合物の抽出効率を顕著に改善できた。さらにそれにより新たに生じる揮発性化合物から、肺がんの初期ステージでも識別できる複数のマーカー候補が得られた。

以上のように、本論文は尿の揮発性成分の分析に基づく非侵襲かつ簡便な肺がん診断技術の開発につながる有用な知見を示しており、分析化学、生化学および医学の発展ならびに臨床検査技術の進展に寄与するところが大きい。

よって、本論文は博士（農学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成26年6月19日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士（農学）の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。

また、本論文は、京都大学学位規程第14条第2項に該当するものと判断し、公表に際しては、当該論文の全文に代えてその内容を要約したものとすることを認める。

注) 論文内容の要旨、審査の結果の要旨及び学位論文は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。

ただし、特許申請、雑誌掲載等の関係により、要旨を学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日： 年 月 日以降（学位授与日から3ヶ月以内）