

第1章 血液由来の呼気・皮膚ガス成分の 高感度バイオ計測&イメージング

飯谷健太^{*1}, 市川健太^{*2}, 三林浩二^{*3}

1 はじめに

我々の身体は、代謝過程を通じて絶えず様々な化合物を生成・分解している。食事や薬、環境要因により体内に摂取される物質の組成や量が変化しており、その代謝の状態は個人により異なる。つまり、体内に存在する化学物質を調べ、状態を評価しプロセスを解明することは、健康状態を把握する上で有効である。健康診断や人間ドックにおいて血液分析は主要な検査項目である。血液中には、外部から取り込まれた化学物質、代謝の過程で生じた中間体、代謝産物など、さまざまな物質が含まれている。しかし、医療機関で行われる侵襲的な血液検査は日常的なモニタリングや病気の早期発見には必ずしも適さず、非観血的な生体サンプルが注目されている。例えば、呼気や経皮ガス中に存在するヒト由来揮発性有機化合物 (H-VOCs, human volatile organic compounds) を計測し、代謝の評価や疾患のスクリーニングを行うことは、従来の血液検査の補完的アプローチとして有望であると考えられる。表1は、代謝や疾患のバイオマーカーとして報告されている H-VOCs の例である。

上記の H-VOCs は、肺でのガス交換により血液から呼気中に放出される。さらに、H-VOCs は皮膚からも経皮ガスとして放出されることがわかっている。H-VOCs の放出には、主に3つの経路があると考えられている (Fig. 1)。(I) 間質液を介した皮膚毛細血管からの経皮放出、(II) 汗としての体表面への放出、(III) 体表面に存在する常在細菌による産生。これらを総合して皮膚ガスと呼んでいる。

生体ガス研究では、ガスクロマトグラフィー (GC)-質量分析計 (MS)³⁾ や陽子移動反応 (PTR)-MS⁴⁾、選択イオンフローチューブ (SIFT)-MS⁵⁾ などの大型分析装置が用いられることが多い。これらの装置には、高い信頼性、堅牢なガス分離能力、卓越した感度、大きな設置面積、高い初期コストと運用コスト、効果的に運用するための専門知識の必要性といった共通の特徴が

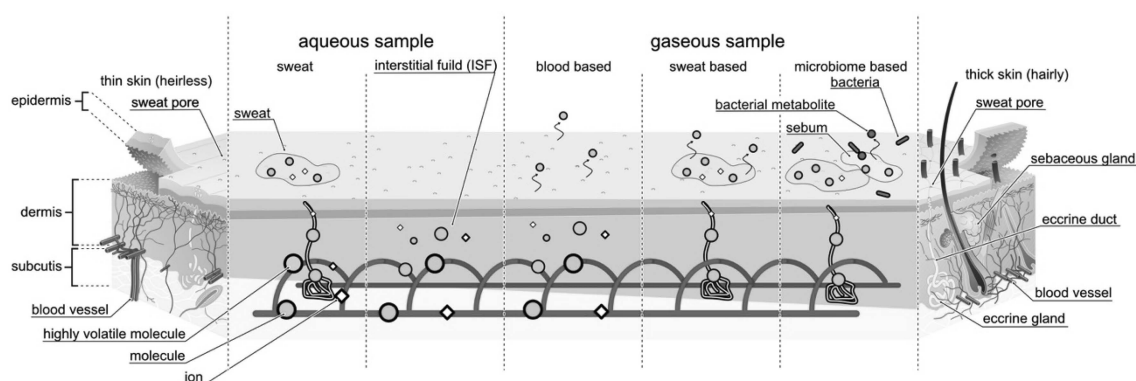
*1 Kenta IITANI 東京科学大学[旧 TMDU] 総合研究院 生体材料工学研究所
センサ医工学分野 講師

*2 Kenta ICHIKAWA 東京科学大学[旧 TMDU] 総合研究院 生体材料工学研究所
センサ医工学分野 助教

*3 Kohji MITSUBAYASHI 東京科学大学[旧 TMDU] 総合研究院 生体材料工学研究所
センサ医工学分野 教授

表 1 疾患と H-VOCs の関連の一例¹⁾

diseases	volatile biomarkers
diabetes	acetone
asthma	nitric oxide
cystic fibrosis	hydrogen cyanide
lung cancer	VOCs pattern
chronic kidney disease	trimethyl amine
colorectal cancer	methane
myocardial infarction	pentane
obstructive sleep apnea	pentane and nitric oxide
renal failure	ammonia

Fig. 1 血液中揮発成分の経皮的な放出経路のイメージ図²⁾ (Elsevier の許諾に基づき再掲載)

ある。しかしながら、日常でのパーソナルユースには適さない。他方、小型かつ簡便に扱うことの可能なガス計測用センサとして、半導体式ガスセンサ、電気化学式ガスセンサ、接触燃焼式ガスセンサ、物理吸着型ガスセンサなどの化学センサや、生物の嗅覚機能を利用した各種バイオセンサが開発されている⁶⁾。

なお、医療応用を目指す生体ガス用センサでは特にガス選択性に留意する必要がある。生体ガス中には数千種類の VOCs が含まれると報告されているが⁷⁾、選択性の低いガスセンサでは、測定対象以外の成分に反応してしまい、混合成分から干渉を受けて誤った結果を導くこととなる。また、これらの VOCs 濃度は非常に低いためにセンサ感度も犠牲にすることができない。上記の課題をふまえて筆者らは、酵素反応に基づくバイオセンサをガス計測へと応用している。酵素は特定の基質にのみ触媒反応を示す基質特異性を有することから選択的なガス計測に適する。また、酵素反応のなかには光により反応状況をモニタリングできるものがあり、近年の光センサの著しい高感度化と組み合わせることで高い選択性と感度を両立できる。本節では、筆者らがこれ

までに開発を進めた生化学式ガスセンサおよびガスイメージングシステムおよび、これを用いた医療計測への応用例を紹介する。

2 酵素反応を用いたガス成分の計測方法

表2は筆者らのグループがこれまでに発表した酵素反応を用いた気相成分用バイオセンサについて、検出方法および検出対象 VOC で分類し表示している。検出メカニズムは、酵素反応の形式および検出方法により異なる。例えば、①、②および③は Fig. 2A のような共通形を有する酸化還元反応により消費される酸素や生成される過酸化水素を電気化学的、あるいは光化学的に検出する方法である。次節以降では、この中でも特に感度に優れ、測定対象 VOC の幅も広い④の nicotinamide adenine dinucleotide (NAD) 依存性脱水素酵素を用い、自家蛍光を有する還元型 NAD (NADH) を蛍光検出 (励起 340 nm, 蛍光 490 nm) するバイオ蛍光計測 (Fig. 2B) について紹介する。

表2 酵素を用いた気相成分用バイオセンサの例

検出メカニズム	検出対象 VOC	Ref.
①酵素反応により消費した酸素量を電気化学式酸素センサにより測定し、基質濃度を定量	ethanol	8, 9)
	trimethylamine	10~13)
	ammonia	14~16)
	methyl mercaptan	17~19)
	dimethyl sulfide	20)
	H ₂ O ₂	21, 22)
	nicotine	23)
	choline	24)
	toluene	25)
②酵素反応により消費した酸素量をルテニウム錯体により蛍光測定し、基質濃度を定量	ethanol	26, 27)
	methyl mercaptan	28)
	dimethyl sulfide	29)
③酵素反応に応じて生成される過酸化水素を電気化学的に測定し、基質濃度を定量	ethanol	30~32)
	acetaldehyde	31~33)
	formaldehyde	34~36)
④酵素反応により生じた NADH 濃度を自家蛍光の強度から測定し、基質濃度を定量	ethanol	37~40)
	methanol	41)
	2-propanol	42~45)
	acetaldehyde	46, 47)
	formaldehyde	48~51)
	acetone	43, 45, 52)
	2-nonenal	53)

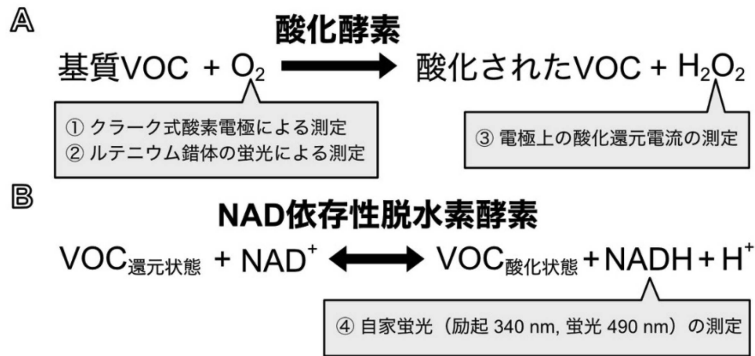


Fig. 2 (A)酸化酵素および(B)NAD 依存性脱水素酵素を用いた VOC の測定方法

3 光ファイバー型バイオ蛍光式ガスセンサ「バイオスニファ」

バイオスニファは、測定対象 VOC に適切な NADH 依存性脱水素酵素を不溶性担体に固定化し、液相と気相の隔膜としてフローセル中に配置することで気相中 VOC の連続的計測を行う。Fig. 3A にバイオスニファの基本的な構成を、Fig. 3B に酵素固定化膜の作製方法の一例を示す。Fig. 2A にも示した通り、 $\text{VOC}_{\text{還元状態}}$ の酸化を NAD 依存性脱水素酵素が触媒する際、補酵素であ

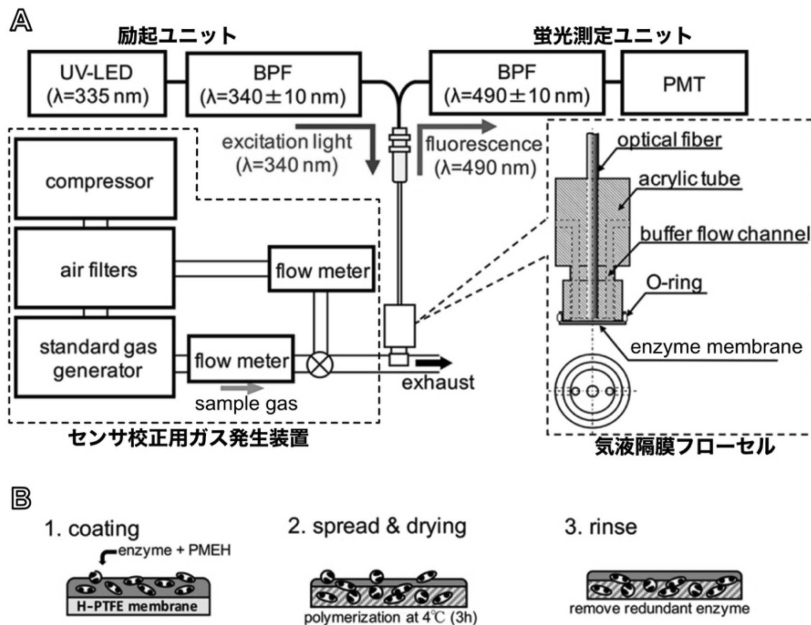


Fig. 3 (A)バイオスニファの基本的な構成部品およびその配置図。(B)気液隔膜としての酵素固定化膜の作製方法の一例⁴⁷⁾ (American Chemical Society の許諾に基づき一部を改変して再掲載)