



Title	十二指腸液中のメタボローム解析に基づいた膵胆道疾患の診断に関する研究 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	岸, 法磨
Citation	北海道大学. 博士(医学) 甲第15890号
Issue Date	2024-03-25
Doc URL	<a href="http://hdl.handle.net/2115/92030">http://hdl.handle.net/2115/92030</a>
Rights(URL)	<a href="https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/">https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/</a>
Type	theses (doctoral - abstract and summary of review)
Additional Information	There are other files related to this item in HUSCAP. Check the above URL.
File Information	KISHI_Kazuma_review.pdf (審査の要旨)



[Instructions for use](#)

## 学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称      博士（医 学）      氏名 岸 法磨

主査      教授 久住 一郎  
審査担当者 副査      准教授 工藤 正尊  
副査      教授 的場 光太郎

### 学位論文題名

十二指腸液中のメタボローム解析に基づいた膵胆道疾患の診断に関する研究  
(Metabolomics of duodenal juice for diagnosis of pancreaticobiliary diseases)

膵胆道癌は予後が極めて悪い一方で、診断が難しいことが知られている。診断法には、内視鏡的逆行性胆管膵管造影法 (ERCP)を用いた膵管や胆道狭窄部の鉗子生検、ブラシ擦過細胞診、膵液・胆汁の細胞診があるが、いずれも感度や正診率は高くはないのが現状である。また、ERCPには膵炎などの有害事象のリスクがあるが、胆汁や膵液を含む十二指腸液は安全に採取可能である。近年、血液や胆汁などを用いてゲノム、プロテオーム、メタボロームを解析し、バイオマーカーを探るマルチオミックスの研究が進められている。その中でメタボロームは遺伝子産物の最も下流に位置し、メタボロームの変化が疾患によって生じた体内の変化を鋭敏に反映している可能性があり、解析対象数もマルチオミックスの中では少なく比較的解析しやすいとされる。そこで本研究では、膵胆道疾患の診断において、十二指腸液のメタボローム解析の有用性を検討した。その結果、膵胆道疾患両方において、悪性で十二指腸液中のアセトン濃度が有意に高く、膵臓グループにおいて悪性でフェニルアラニンの濃度が有意に低いことが分かり、診断への有用性が示された。

審査にあたり、まず副査の工藤准教授から、サンプルの調整時について、採取した十二指腸液を最初の水で薄めて使用しているのか、得られた検体が多いものと少ないもので最初のエッペンチューブに入れる量が違って来るのかという質問があった。申請者は、最初の段階に関しては、量の少ない検体に関しては全てエッペンチューブに入れて遠心をかけ、量の多い検体に関しては、エッペンチューブに入る最大量を入れた上でそれぞれ遠心分離にかけていることを返答した。理由としては、最初の遠心の段階で沈殿が多い検体があり、上澄みの量が足りない可能性を減らすためであること、また、検体が少ないからといって水で薄めたりはしていないことを付け加えて返答した。測定器はシングルアームで行っているのかという質問に関しては、今回使用した 800MHz の測定器は、プログラミングを装置に入れることで、一度に最大 100 検体まで自動で測定可能であることを返答した。同じ患者において、採取した時期の違う検体間でメタボロームを比較した場合、結果は異なるのかという質問に関しては、検査の性質上なかなか同じ患者で採取する機会はなかったため、プレリミナリーな実験として、一度に多く十二指腸液が採取した症例に関しては、採取時と約 2 週間後に分けてそれぞれ測定し、結果の違いを検索したが特に変化はなかったことを返答した。ルイス抗原陰性の場合に CA19-9 は上がらないとのことだが、実際に本研究において役立つ症例はあったかという質問に関しては、本検討において悪性であるにも関わらず CA19-9 が上昇していない症例もあり、その中で実際にアセトンが上昇して

いる例もあったため、そういう場合にアセトン是有用であったと考えていることを返答した。

次に副査的場教授からは、法医学の分野ではアセトンは質量分析法(GC-MS)で測定を行って検査に利用しているが、今回 GC-MS で検討もしたのかという質問があった。申請者は、GC-MS では測定していないことをまず返答し、その上で感度の面ではアセトンの測定において GC-MS の方が優れているが、NMR 法の良さとして検体回収を行うことができる点があり、何度か再測定や再検討が必要なこともありその際に NMR 法であったことが有用であったことを返答した。また、GC-MS では前処理がある分、その際にアセトンの検出量が減る可能性もあることを付け加えてお答えし、今後アセトンの測定法による検出量の違いを検討する必要があることも返答した。十二指腸液は膵液と胆汁が混じるとのことだが、実際に十二指腸自体から分泌液が出ているのか質問に関しては、実際に十二指腸からどれくらいの分泌液が出ているかは既報がないが、既報によると十二指腸粘膜から粘液(MUC6)中心の分泌液が出ていることが分かっていることを返答した。十二指腸液の粘液中心の分泌液が今回の測定に何か影響を及ぼすことはないかという質問に関しては、実際に十二指腸液を回収した場合、胆汁や膵液などが混じりあっているため、それがどれくらい影響を与えているかは評価できなかったが、実際に十二指腸液が測定可能であったことを踏まえるとそこまで影響はなかったことが推測されることを返答した。これまでの既報で、膵臓疾患と胆道疾患のどちらがメタボロームにおいて優れた結果が出ているのか既報があるかという質問に関しては、実際にそれぞれを比較した既報は無いため不明ではあるが、既報としては血液の報告が多く、その中でも膵臓の既報が多い印象があること、今後膵臓疾患と胆道疾患において実際に比較を行っていきたい旨を返答した。

主査の久住教授からは、NMR 法において検出限界濃度はどれくらいであるのかという質問があった。申請者は NMR 法における検出感度は数  $\mu\text{M}$  の既報があり、今回のアセトンの平均濃度が  $0.02\text{mM}$  であったことから、測定するのに十分な検査であったことを返答した。リミテーションのところにあったが、癌のステージによるメタボロームの変化というところで、実際に早期の癌でも役にたちそうであるのかという質問に関しては、本研究の少ない症例の中での検討ではあるが、実際にアセトンの悪性診断能として、ステージ I/II と良性で比較した場合にも有意に悪性でアセトンが高かったこと、ステージが I/II から III/IV になるにあたって実際にアセトンの平均濃度も上昇している傾向があったことから、早期診断にも利用可能な可能性があることを返答した。抗癌剤など治療薬による影響はあるのかという質問に関しては、実際に抗癌剤の有無で変化があるのか検討はできていないが、既報によるとウルソデオキシコール酸の内服にて血中のメタボロームの変化が示唆された報告があるため、今後治療薬によるメタボロームの変化も検討していきたい旨を返答した。最後に学位論文の本文中における表記間違いなどに関して、いくつか指摘があり、申請者は修正を行っていくことを返答した。

審査委員一同は、これらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ、申請者が博士(医学)の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。