

論 文 内 容 要 旨

題目 Applying Probe Electrospray Ionization Mass Spectrometry to Cytological Diagnosis: A Preliminary Study by Using Cultured Lung Cancer Cells

(細胞診における探針エレクトロスプレーイオン化質量分析の有用性：肺癌培養細胞での検討)

著者 Yuki Morimoto, Takeshi Oya, Mayuko Ichimura-Shimizu, Minoru Matsumoto, Hirohisa Ogawa, Tomoko Kobayashi, Satoshi Sumida, Takumi Kakimoto, Michiko Yamashita, Chunmei Cheng, Koichi Tsuneyama

2021年 6月 7日 Published online Acta Cytologica
DOI: 10.1159/000516639

内容要旨

目的：病理診断は悪性腫瘍の診断に不可欠な検査であり、人口の高齢化に伴い重要性が急速に高まっている。しかし、病理診断は未だに形態学的情報のみで行われており、それだけでは診断困難な症例も多く存在する。そこで我々は、検体中の異型細胞の非形態学的情報を迅速に取得するための方法として、質量分析 (Mass Spectrometry:MS) に着目した。事前にマトリックスをサンプルに適用することによってイオン化を促進する従来の MS には、データの取得と分析の両方に時間がかかるという欠点がある一方、近年考案された新たな方法である、探針エレクトロスプレーイオン化質量分析 (Probe Electrospray Ionization Mass Spectrometry :PESI-MS) は、サンプルの前処理を必要とせずに、専用の探針でサンプリングを行い、液体・固体を問わずに少量の試料でも迅速に MS を行うことが可能である。本研究では、ヒトの肺由来の種々の組織型の培養細胞株をサンプルとし、PESI-MS による方法で MS を行い、マススペクトルのパターンを比較検討した。

方法：5 種類の肺扁平上皮癌細胞株、5 種類の肺腺癌細胞株、5 種類の小細胞癌株、4 種類の悪性中皮腫細胞株、および 2 種類の正常細胞株 (気道上皮細胞、中皮細胞) を含むさまざまなタイプの培養細胞に対して、DPiMS-2020 (島津製作所) を用いた PESI-MS 分析を行った。得られた各細胞のマススペクトルに対して、部分的最小二乗判別分析 (partial least squares-discriminant

様式(8)

analysis:PLS-DA) を行い、各細胞サンプルのマススペクトルの差を確認した。また、同時にメタボロミクス分析も行い、扁平上皮癌と腺癌におけるマススペクトル中の、どのピークに有意差があるのかを確認した。

結果：すべてのサンプルにおいて、 m/z 0~2000 の範囲でマススペクトルが検出された。また、各サンプルに共通するいくつかの特徴的なピークが m/z 200 および 800 付近で検出された。正常細胞-癌細胞間、癌細胞-癌細胞間という形で PLS-DA を行ったところ、どの細胞間においてもマススペクトルの差が見られた。メタボロミクス解析からは、扁平上皮癌-腺癌間で有意差が見られたピークがいくつか認められ、その中でも m/z 1,569.28 は有意差が大きく、両者の鑑別に有用と考えられた。

まとめ：PESI-MS による質量分析は、培養細胞サンプルからでも迅速にマススペクトルを検出することが可能であった。また、その結果から良悪性や組織型の鑑別を推定できる可能性が示唆された。以上のことから、PESI-MS は特定の細胞学的情報を迅速に取得するための新しい診断モダリティとして有望と考えられた。

論文審査の結果の要旨

報告番号	甲医第 1502 号	氏名	森本 友樹
審査委員	主査 富田 江一 副査 上原 久典 副査 坂東 良美		

題目 Applying Probe Electrospray Ionization Mass Spectrometry to Cytological Diagnosis: A Preliminary Study by Using Cultured Lung Cancer Cells

(細胞診における探針エレクトロスプレーイオン化質量分析の有用性：肺癌培養細胞での検討)

著者 Yuki Morimoto, Takeshi Oya, Mayuko Ichimura-Shimizu, Minoru Matsumoto, Hirohisa Ogawa, Tomoko Kobayashi, Satoshi Sumida, Takumi Kakimoto, Michiko Yamashita, Chunmei Cheng, Koichi Tsuneyama

令和3年6月7日掲載 Acta Cytologica Online 版に発表済
(主任教授 常山幸一)

要旨 病理診断には組織診と細胞診が含まれている。組織診では個々の細胞の異型度（細胞異型）と、複数の細胞が織りなす構築の異常（構造異型）が形態情報として評価され、免疫染色などの補助的診断も発達している。一方、細胞診では細胞異型しか評価できず、補助的診断法も少ないことから、診断精度は組織診よりも低くなっている。細胞診の診断精度向上には、形態以外の情報を迅速、かつ確実に取得して診断に反映させることが重要と考えられる。本研究では細胞から得られる非形態情報の1つとして、質量分析に注目し、新たなモダリティである探針エレクトロスプレーイオン化質量分析（Probe Electrospray Ionization Mass

Spectrometry :PESI-MS) の有用性を検証した。PESI-MS はサンプルに専用の針を数回刺入し、その際にイオン化した物質を検出する方法であり、マトリックス塗布のような前処理を必要としないため、液体・固体を問わずに少量の試料で迅速に質量分析が可能である。

申請者らは、いずれもヒト肺由来の培養細胞株である5種類の肺扁平上皮癌、5種類の肺腺癌、5種類の小細胞癌、4種類の悪性中皮腫、および2種類の正常細胞（気道上皮細胞、中皮細胞）に対してDPiMS-2020（島津製作所）を用いたPESI-MSを行った。各細胞から得られたマススペクトルを用いて部分的最小二乗判別分析（Partial least squares-discriminant analysis:PLS-DA）とメタボロミクス解析を行い、各細胞間で比較検討した。

得られた結果は以下の如くである。

- 1) すべてのサンプルにおいて、 m/z 0~2000 の範囲でマススペクトルが検出された。また、各サンプルに共通するいくつかの特徴的なピークが m/z 200 および 800 付近で検出された。
- 2) 正常細胞-癌細胞間、癌細胞-癌細胞間という形で PLS-DA を行ったところ、どの細胞間においてもマススペクトルの差が見られた。
- 3) メタボロミクス解析からは、扁平上皮癌-腺癌間で有意差が見られたピークがいくつか認められ、その中でも m/z 1569.28 は有意差が大きく、両者の鑑別に有用と考えられた。

以上より、PESI-MS による質量分析によって培養細胞から迅速にマススペクトルが検出でき、マススペクトルを比較することで細胞の良悪性や組織型が鑑別できる可能性が示された。

本研究は従来 of 形態学に基づく病理診断の精度向上に、迅速質量分析が寄与する可能性を示すものであり、その臨床的意義は大きく学位授与に値すると判定した。