

質量分析法と人工知能を用いた迅速膵臓癌スクリーニングシステムの開発とその応用

竹田 扇*¹ 吉村健太郎*²

Takeda Sen

Yoshimura Kentaro

1. はじめに

54,000/155,000 vs. 36,000/41,000。冒頭より唐突であるがこの数値¹⁾を見て、読者の方々は何を想像されるだろうか(図1)。これらはそれぞれ2019年における我が国の大腸癌と膵臓癌の予測死者数/予測罹患者数である。医学・医療の発展により30年ほど前には不治の病であった多くのがんが根治可能もしくは比較的良好な生命予後の期待できるものとなった。しかしながらこの間、5年生存率がほとんど変化していないがんが存在する。

これがまさに現代の「不治の病」ともいえる膵臓癌である。実際、膵臓癌の相対5年生存率は現在でも8~9%と極めて低い。

膵臓癌は原因不明の腹痛や突然の糖尿病等で発症することもあるが、症状に気づいた時点では既に進行がんで根治的な治療が難しくなっており、死に至る経過も極めて早いことがその理由であろう。したがって身体に過大な負担のかからない簡便でかつ信頼性の高い早期診断法の開発が最も期待されている

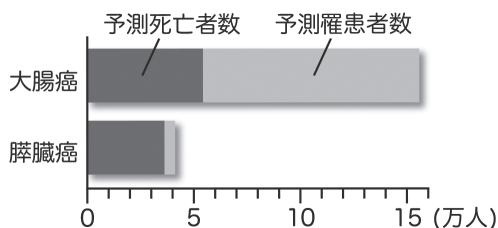


図1 我が国の大腸癌、膵臓癌の予測罹患者数と予測死亡者数
膵臓癌は約9割の患者が発見から5年以内に死亡する¹⁾

がんであるといえる。本稿では筆者が中心となって発案した質量分析法と人工知能(Support Vector Machine, SVM)を組み合わせた癌診断支援装置²⁾の基本的構築(バウプラン)とこれを実際に膵臓診断に応用した場合の診断成績、そしてこの装置の将来展望についてご紹介したい。

2. 膵臓癌の早期発見はなぜ難しいのか

膵臓には様々な消化酵素を産生し十二指腸より消化管内に分泌して食物の分解を進める外分泌機能とインスリンに代表されるホルモンを血管内に分泌し内部環境の恒常性を維持する内分泌機能が備わっている。また後腹膜臓器と呼ばれるように胃や腸の後方で脊柱に密着するようなかたちで存在するため、体表からはもっとも隔たった腹部内臓の1つである(図2)。したがって膵臓癌では特異的な症状の発現に乏しく、簡便な検査も困難であることから早期の正確な診断が困難である。このような状況が罹患者数(41,000人)と死亡者数(36,000人)の差を小さくしている要因であると考えられる。この差が小さいということは罹患者の多くが死の転機を取ることを意味する。現状では膵臓癌患者全体の約8割がステージIVで発見されるため、いかにしてステージIでの早期発見をするかが診断学における大きな目標であり、その目的の達成には新たな方法論が必要であることに論を俟たない。

既存の膵臓癌腫瘍マーカーの代表として臨床現場で頻用されるCA19-9を11論文2,316例の膵臓癌患

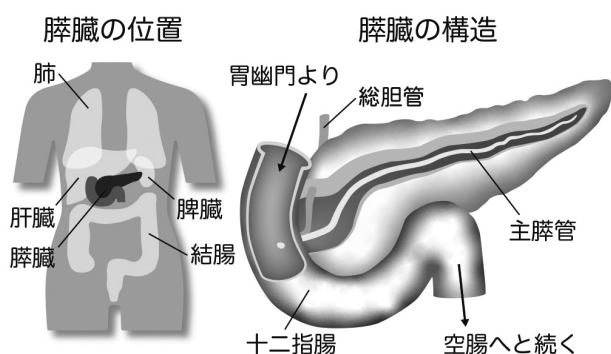


図2 からだの中における膵臓の位置とその構造

膵臓は十二指腸に囲まれる様にして腹腔深部に存在する

者からメタ解析したある報告³⁾によればその感度、特異度は共におおむね80%であった。この値では特に早期発見の要請に対して十分に応えることは叶わない。本稿で紹介する方法論は、極微量の血液からいずれの値もおおむね90%という極めて高い成績を達成しており今後スクリーニング法として有力な手段となりうる事が期待される。

3. 装置のバウプラン：質量分析法と人工知能、そしてデータベース

この装置は質量分析法と人工知能（機械学習，SVM），そしてデータベースという3つの要素より構成される。これらは一体化されたかたちで存在する。ここでは順を追って要素それぞれに関して概説し、人工知能に関しては次節でその背景思想を敷衍したい。

質量分析法はスタンダードな物理化学的計測法として生命科学領域でも汎用される方法論である。2002年島津製作所の田中耕一氏が質量分析領域でソフトレーザーイオン化法の開発によりノーベル化学賞を受賞したことは記憶に新しい。質量分析法は質量電荷比 (m/z) をもとに分析対象に含まれる分子とその構造を推定することによってほぼ一義的に分子同定を行いうるため、要素還元主義の要請に応える極めて有用な方法論であるといえよう。しかしながら質量分析法での計測にあたっては分子をイオン化する必要があるため、一般に測定対象の精製、脱塩、濃縮等の煩雑な前処理過程を経なくてはならない。これには相応の時間、労力とコストを要するので迅速な結果判定が期待される臨床現場には向か

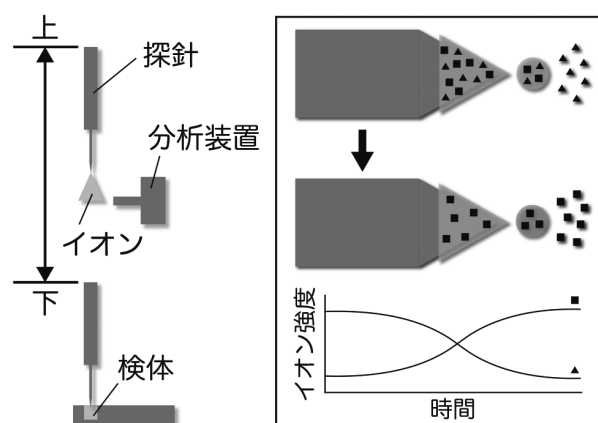


図3 探針エレクトロスプレーイオン化質量分析法 (PESI-MS) の概略 (左) とクロマトグラム効果のある探針先端 (右)

時間経過と共にイオン化のされやすさに比例してすべての分子が分析される⁹⁾

ない。また前処理の過程では検体にわずかに含まれている特定成分がカラムやフィルター等への非特異的な吸着等によって失われる場合も多い。

そこで筆者らは微細な先端をもつ金属製の探針をイオン化源として使用する探針エレクトロスプレーイオン化質量分析法 (Probe ElectroSpray Ionization Mass Spectrometry, PESI-MS) を採用し、簡便かつ迅速な質量分析を可能とした。PESI-MS で使用されている金属針は先端の曲率半径が数十 μm であり、これが検体の攪拌・捕縛とイオン化の双方に関わる。針は検体と質量分析装置のイオン吸引孔の間をミシンのように連続垂直往復運動することで分析を行う⁴⁾。PESI-MS では探針が一種のクロマトグラフィのような働きをするためイオンサプレッション効果が比較的弱いという特性を有する⁵⁾ (図3)。また検体の煩雑な前処理は基本的に不要であり、かつ数 pL 相当の試料があれば十分測定が可能であることから、他の目的で採血された血液のごく一部があればよい。微量の血液検体は血球成分を除いたのち、そのまま特別な前処理を行うことなく測定に供せられ、マススペクトルが得られる。このマススペクトルには前処理を行うと失われていたはずの分子も反映されていると考えられる (図4)。

ここでのマススペクトルを一次情報とするとその利用の仕方には次の2つの方法が考えられる。

1つは得られたスペクトルから分子推定を行い、腫瘍マーカー等の探索につなげる方法論である (図5)。要素還元主義の権化ともいえる手法で、基本的に特定の担癌患者で統計学的 (仮説検定論的)

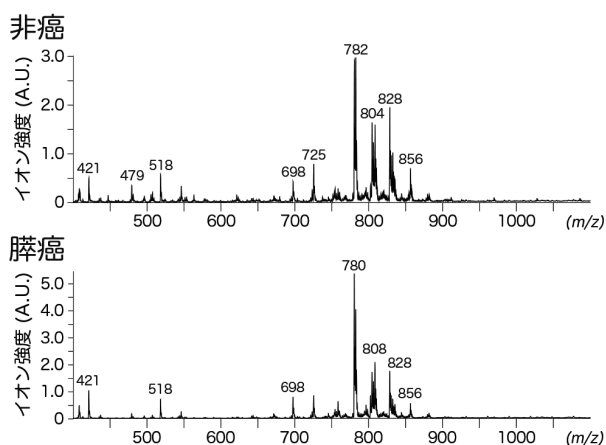


図4 膵臓癌ハイリスク群（非癌）と膵臓癌患者（膵癌）血漿より得られたマスペクトル

横軸 m/z はこの場合分子量と考えると理解しやすい。それぞれの微妙なマスペクトル差に注意

に有意と判定された分子が重要な役割を果たす。この方法論では対象分子種が明らかとなるため、病因や病態生理解明に向けた事後解析や基礎研究への展開に好適な方法であるといえる。その一方で統計的に有意とはならない大部分のデータは利用されことなく等閑視されてしまう。しかしながらこのような細部やその組み合わせにこそ判別に重要な情報が宿っている可能性が高く、それをうまく利用することができれば診断精度を上げることができるのではないかと、思い描くことができよう。

これを受けてもう1つはスペクトルピークの全体を患者の様々な臨床データと紐付けしてデータベースに蓄積しておく手法である（図6）。

このデータベースを人工知能の一種である学習機械に読み込ませ、そこから判別に必要なパラメータを学習させる。臨床実地では患者検体の測定によって得られたスペクトルを学習機械に読み込ませ、そのスペクトルパターンとデータベースを照合することで当該患者ががんであるか否かを判定するものである。この方法では統計学的に有意ではないデータも悉皆的に利用する。したがってこれまで要素還元主義のもとでの特徴抽出によって見落としていた微細な変化をも捉えようとする試みであるといえる⁵⁾。

4. 暗黙知と人工知能

本装置開発思想の根幹をなす暗黙知と人工知能について少し触れておきたい。近代科学は理解しにく

マーカー分子の存在量を比較

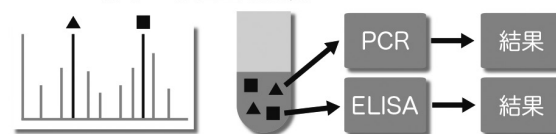


図5 マスペクトルの要素還元主義的解釈

主要なスペクトルピークから腫瘍マーカーを同定する方法論

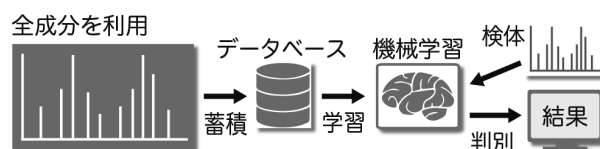


図6 マスペクトルの経験主義的解釈

すべてのスペクトルと臨床データからなるデータベースを構築し、機械学習を用いて診断学に応用する方法論

い対象や大きな問題を分割することで解析しやすい単位に一度還元し、これら部分から分かったことを足し合わせることで全体を再構築して理解するというかたちでその歩を進めてきた。これが本稿で既に紹介した要素還元主義の考え方であり、デカルト (Descartes, R, 1596-1650) の代表作『方法序説』に要素還元主義の定義ともいえる記述を見いだすことが可能である。その一方で部分の再構成は必ずしも全体を説明しうるものではない。例えば人間の顔を見た時、目鼻立ちや顔の輪郭に注目するのはもちろんであるが、その他言語化もしくは数値化しにくい情報を無意識のうちに収集して誰の顔であるかを判定している。これがまさに経験によって獲得された暗黙知であるといえよう。

近年、コンピュータの性能が著しく向上したことによって大きなデータを一括して扱うことが可能となった。これが2006年以降の第三次人工知能ブームが起こった背景の1つである。翻ってすべてのスペクトルデータを使用してデータベースを構築するならば、いわば暗黙知の形成に関わっていたと考えられる成分も採録し利用している、と解釈することが可能である。

5. 装置の実際と臨床試験成績

図7に示したのが実機である。大きさは小型冷蔵庫程度であり⁶⁾、右枠に示したディスプレイ・カートリッジに血清等の液体サンプルもしくは組織

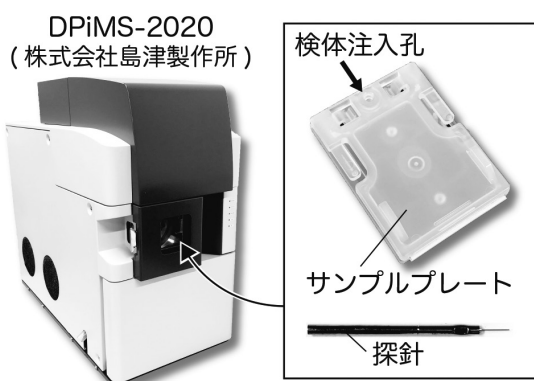


図7 原発性肝臓癌で治験実施中のがん診断支援装置
装置の外観(左)と測定で使用するディスプレイ・サンプルカセットと探針(右枠)

片等の固体サンプルを充填し、機器正面のドアを開けて探針とカートリッジをセットする。分析開始のスイッチを押してからおおむね3分程度で判定結果が得られる。操作はタッチパネル方式を採用しているので医療現場で簡単に操作できる。

具体的なデータを見ていくと、膵臓癌患者322症例を膵臓癌ハイリスク群(HRC)265症例との比較で予測を行なった場合、感度98.5%、特異度96.1%、診断一致率97.6%を達成した⁷⁾。これはCA19-9単独での感度、特異度が80%程度であったことに比して極めて良好な成績であるということが出来る。またここに年齢とCA19-9を補助データとして加えて早期膵臓癌(ステージI+II)と進行期膵臓癌(ステージIII+IV)のそれぞれをHRCとの比較で予測した場合には、前者、後者でそれぞれ感度92.1%、98.2%、特異度97.8%、97.7%、診断一致率96.1%、98%と著しく良好な成績を示した。以上の結果は本装置が早期膵臓癌スクリーニング法として好適であること、その適用によってHRCの中から早期膵臓癌の発見が容易となり、手術適応例が増え5年生存率の改善につながることを約束するものであるといえよう。

6. 今後の展開：むすびにかえて

本稿では主に血清を用いた膵臓癌早期診断への応用を紹介したが、2018年度より肝臓癌の病理診断補助目的での性能を検証するために筆者が代表で8施設からなる多施設医師主導治験(日本医療研究開発機構AMED・医療機器開発推進研究事業)を

実施している。これは画像診断では簡単には診断が付きにくい肝臓の結節性病変に適用し病理診断に対する予測を行うものである。治験終了後の保険収載を企図した研究であり、本装置の適応拡大の橋頭堡となることを期待している。また筆者らは腎細胞癌⁸⁾、乳癌⁹⁾、肝癌¹⁰⁾、咽頭扁平上皮癌、脳腫瘍、脂質代謝異常等の診断予測でも好成績を挙げており向後様々な疾患に適用できると考えている。更にリアルタイムでの測定が可能で検体量が数pLで十分であるという特性を備えたPESI-MSは基礎生命科学の研究にも広く応用することが可能である。

謝辞

本研究は(株)島津製作所より筆者(TS)に貸与された質量分析装置PESI-MS2020/SVMを用いて行われた。この装置は筆者が発案・構想し島津製作所らと共同で開発したものである。また膵臓癌の早期診断は英国Leicester大学のWen Yuan Chung, Ashley Dennison, 英国Salford大学Elon Correa, 国立台湾大学Yu-Ting Changとの共同研究で、データ解析においては島津製作所(Manchester)のNeil Loftusの、図版の作成には筆者の研究室の間仁田亜弓の協力をそれぞれ得た。筆者は島津製作所、Leicester大学から研究費の支援を受けた。

参考文献

- 1) 国立がん研究センター がん情報サービス がん登録・統計 2019年のがん統計予測 https://ganjoho.jp/reg_stat/statistics/stat/short_pred.html
- 2) Takeda, S., et al., *J Anal Oncol*, **1**, 74-80 (2012)
- 3) Gui, J.-C., et al., *Clin Exp Med*, **14**, 225-233 Doi :10.1007/s10238-013-0234-9 (2014)
- 4) Takeda, S., et al., *J Vis Exp (JoVE)*, Doi :10.3791/59942 (2020)
- 5) 平岡賢三, 『質量分析の源流』163-191, 国際文献印刷社 (2011)
- 6) 竹田扇, *Cancer Board Square*, **2**, 182-187 (2016)
- 7) Chung, W.Y., et al., *Am J Transl Res*, **12**, 171-182. (2020)
- 8) Yoshimura, K., et al., *J Am Soc Mass Spectrom*, **23**, 1741-1749 (2012)
- 9) Iwano, T., et al. *Br J Surg.*, **107**, 932-935 (2020)
- 10) Giordano, S., et al., *Liver Int. in press.*, Doi :10.1111/liv.14604. (2020)

(山梨大学医学部 解剖学講座細胞生物学教室)