

皮膚中の EtOH ガスの可視化計測のためのバイオ蛍光式探嗅カメラに関する研究

Biofluorometric sniff-cam system for ethanol gas measurement of human skin

医科歯科大 ○黄 砥, 飯谷 健太, 當麻 浩司, 荒川 貴博, 三林 浩二

Tokyo Medical and Dental Univ.

Di Huang, Kenta Iitani, Koji Toma, Takahiro Arakawa, Kohji Mitsubayashi

E-mail: m.bdi@tmd.ac.jp

【はじめに】

生体ガス中には疾病・代謝に由来する揮発性化合物が含まれており、これら揮発性化学成分を計測することで、非侵襲的な疾病早期診断や代謝評価が期待されている。さらに対象ガス成分を可視化することにより、ガス濃度の時空間情報が明らかとなり、放出動態や部位の特定が可能になる。そこで本研究では、エタノールガスを対象成分とし、アルコール脱水素酵素(ADH)の反応にて生成される還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド(NADH)の蛍光を高感度カメラにて検出し、エタノールガスの時間的・空間的な変化を動画像として捉える「バイオ蛍光式探嗅カメラ」を構築し、高感度なガス可視化計測について検討を行った。さらに、生体由来のサンプルの応用として、構築した可視化システムを用いて、飲酒後の手掌部からの皮膚ガスの可視化計測に適用した。

【実験方法】

本システムは暗箱内に、励起光源(UV-LED シート)、励起光用バンドパスフィルター(BPF, $\lambda=340 \pm 42.5$ nm)、ADH 固定化メッシュ、蛍光用 BPF ($\lambda=490 \pm 10$ nm)、高感度カメラの順で光学同軸上に配置して構築した。ADH はエタノールの酸化触媒反応にて、補酵素である酸化型 NAD (NAD^+)を電子受容体としてエタノールを酸化し、NADH を生成する。NADH は NAD^+ と異なり、自家蛍光(ex. 340 nm, fl. 490 nm)を有することから NADH の蛍光の増減を検出することでエタノールガスを測定することが可能である。可視化実験では、補酵素である NAD^+ (5 mM)を含む緩衝液にて湿潤させた ADH 固定化メッシュを、生体由来エタノールガスを負荷し、酵素反応に基づく NADH の生成を、UV-LED 光源シートにて励起し、その自家蛍光を高感度 CCD にて動画像として撮像した。さらに、本システムを飲酒後の皮膚ガス計測に適用し、生体ガスの可視化計測を行った。

【結果及び考察】

本研究で構築したエタノールガス用の可視化装置を Fig. 1 に示す。構築した探嗅カメラへ標準エタノールガスを負荷したところ、負荷点を中心として、ガス成分濃度に依存した蛍光の増減が観察され、0.5-200 ppm の範囲でエタノールガスの定量が可能であった。また主な生体ガス成分を複数用いて出力比較を行ったところ、エタノールガスに対して高い出力が得られ、酵素の基質特異性に基づく選択性が確認された。次に、飲酒後の手掌部を本システムの酵素メッシュ前に翳したところ、経皮エタノールガスに基づく、蛍光画像が観察された。さらに、飲酒後の経時変化を調べたところ、飲酒後 30 分をピークとするガスの濃度変化が確認された。以上により、本システムは生体由来の揮発性成分を可視化することが可能であり、今後、多様な部位に用いることで、生体ガスの分布や発生部位などを評価することが可能と考えられる。

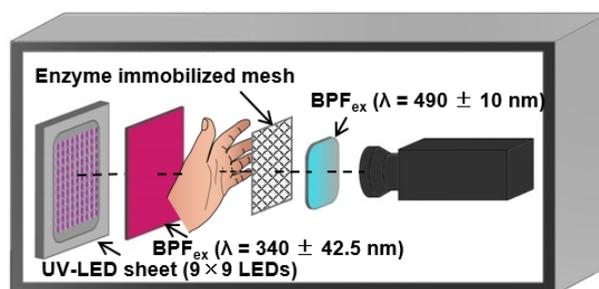


Fig. 1 Biofluorometric sniff-cam system with ADH for skin EtOH gas