

表 1-B

No	A・H・M	AA・A・H	AA・A・M
1	0.995	0.995	0.989
2	0.910	0.763	0.430
3	0.814	0.845	0.970
4	0.996	0.940	0.746
5	0.885	0.947	0.979
6	0.748	0.990	0.932
7	0.943	0.849	0.999
8	0.691	0.701	0.763
9	0.806	0.895	0.892
10	0.922	0.999	0.989
11	0.999	0.999	0.998
12	0.999	0.998	0.998
13	0.991	0.947	0.835
14	0.875	0.869	0.869
15	0.773	0.879	0.804
16	0.939	0.949	0.941
M	0.893	0.910	0.883
SD	0.097	0.086	0.144

図 1 2 は OGTT 時のアセトアルデヒド、アセトン・ヘキサナールから重回帰分析にて求めたグルコース推定値とグルコース実測値の関係を示したものである。図 1 2-A は重回帰相関係数が  $r=0.995$ 、図 1 2-B は  $r=0.701$ 、図 1 2-C は  $r=0.999$ 、図 1 2-D は  $r=0.869$  であった。この 3 変数で求めた最も低い重相関係数は  $r=0.701$  であり、最も高い相関係数は  $r=0.999$  であった。これらの結果から、アセトアルデヒド、アセトン・ヘキサナールの皮膚ガス成分を用いると最も高い精度でグルコース濃度を推定することが可能と考えられる。

図 1 2-A

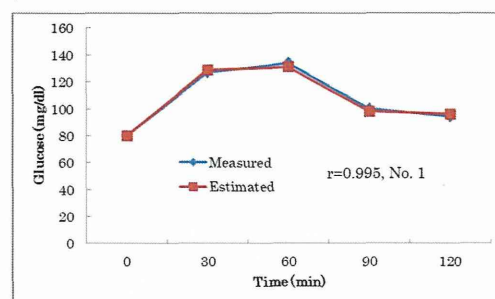


図 1 2-B

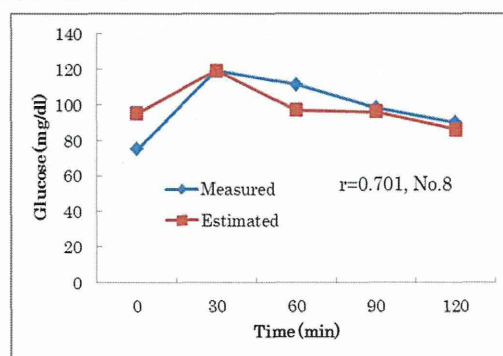


図 1 2-C

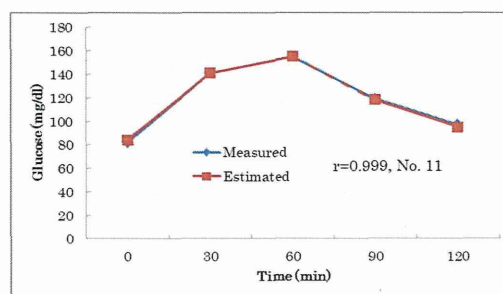


図 1 2-D

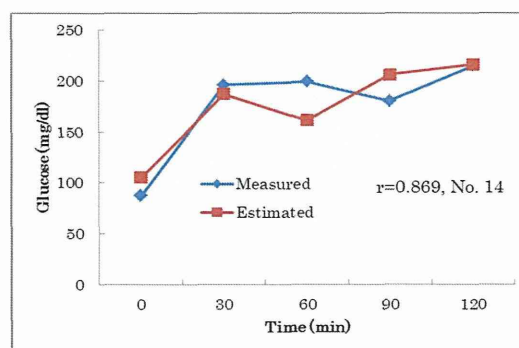


図 1 2. OGTT 時のグルコース実測値とアセトアルデヒド、アセトン・ヘキサナールから求めたグルコース推定値の関係

表 2. 測定値と推定値の誤差 (%)

No	Time (min)	実測値	推定値	誤差 (%)
1	0	80	80	0
	30	127	129	1.6
	60	134	131	-2.2
	90	100	98	-2.0
	120	94	96	2.1
8	0	75	95	26.7
	30	119	119	0.0
	60	111	97	-12.6
	90	98	96	-2.0
	120	90	86	-4.4
11	0	82	84	2.4
	30	141	141	0.0
	60	155	155	0.0
	90	119	118	-0.8
	120	97	95	-2.1
14	0	87	105	20.7
	30	196	187	-4.6
	60	199	161	-19.1
	90	180	206	14.4
	120	215	216	0.5

表 2 には (推定値—測定値) / 実測値から求めた実測値から推定値の誤差を示した。3箇所と比較的大きな誤差 (26.7, 20.7, 19.1%) が認められたがそ

の他はすべて 15%以下であった。

表 3-A と表 3-B には各ラットにおけるグルコースと 2 変数の重相関係数の平均値と標準偏差を示したものである。表 1 の 3 変数に比べると相関係数は低くなることが明らかとなった。

表 3-A

No	N・AA	N・A	N・H	N・M	AA・A
1	0.572	0.616	0.601	0.627	0.654
2	0.284	0.360	0.929	0.107	0.354
3	0.815	0.754	0.874	0.935	0.617
4	0.882	0.878	0.878	0.905	0.894
5	0.498	0.141	0.957	0.012	0.681
6	0.911	0.435	0.692	0.330	0.901
7	0.796	0.583	0.661	0.779	0.652
8	0.698	0.619	0.325	0.188	0.557
9	0.314	0.496	0.128	0.279	0.889
10	0.744	0.839	0.831	0.702	0.976
11	0.992	0.995	0.974	0.976	0.702
12	0.682	0.444	0.546	0.366	0.809
13	0.812	0.596	0.572	0.638	0.796
14	0.657	0.586	0.541	0.466	0.655
15	0.396	0.980	0.671	0.302	0.698
16	0.391	0.922	0.587	0.316	0.931
M	0.653	0.640	0.673	0.496	0.735
SD	0.214	0.233	0.226	0.295	0.158

表 3-B

No	AA・ H	AA・ M	A・H	A・M	H・M
1	0.452	0.459	0.176	0.242	0.576
2	0.758	0.428	0.753	0.415	0.909
3	0.845	0.779	0.814	0.780	0.808
4	0.681	0.823	0.369	0.746	0.742
5	0.857	0.436	0.861	0.107	0.884
6	0.908	0.889	0.737	0.324	0.725
7	0.568	0.573	0.794	0.919	0.572
8	0.585	0.546	0.412	0.523	0.527
9	0.381	0.323	0.625	0.796	0.437
10	0.757	0.919	0.877	0.923	0.854
11	0.938	0.984	0.999	0.986	0.796
12	0.629	0.642	0.990	0.986	0.808
13	0.925	0.804	0.345	0.830	0.466
14	0.639	0.673	0.615	0.632	0.659
15	0.967	0.365	0.709	0.758	0.208
16	0.596	0.436	0.913	0.898	0.798
M	0.718	0.630	0.687	0.679	0.673
SD	0.174	0.207	0.238	0.268	0.188

表 4 には全体、対照群、肥満群におけるグルコース (G) と 4 変数との重相関関係を示したものである。いずれの群においてグルコースとの高い重相関関係は認められなかった。

表 4-A, -B, -C. 全体(A)、対照群(B)、肥満群(C)における独立変数 (グルコース) と 4 変数の重相関関係および平均値と標準偏差

表 4-A

群	4 変数	重相関係数(r)
全体	N・AA・A・H	0.207
全体	N・AA・A・M	0.201
全体	N・AA・H・M	0.207
全体	N・A・H・M	0.176
全体	AA・A・H・M	0.089
	Mean	0.139
	SD	0.073

表 4-B

群	4 変数	重相関係数 (r)
対照	N・AA・A・H	0.293
対照	N・AA・A・M	0.309
対照	N・AA・H・M	0.298
対照	N・A・H・M	0.176
対照	AA・A・H・M	0.241
	Mean	0.263
	SD	0.050

表 4-C

群	4 変数	重相関係数(r)
肥満	N・AA・A・H	0.255
肥満	N・AA・A・M	0.246
肥満	N・AA・H・M	0.251
肥満	N・A・H・M	0.172
肥満	AA・A・H・M	0.255
	Mean	0.236
	SD	0.032

いずれの群においてもグルコースと 4 変数間に高い重相関関係は認めら

れなかった。

表 5-A, -B, -C. 全体(A)、対照群(B)、肥満群(C)における独立変数（グルコース）と 3 変数の重相関関係および平均値と標準偏差

肥満	N・AA・A	0.246
肥満	N・AA・M	0.241
肥満	N・H・M	0.169
肥満	A・H・M	0.169
肥満	AA・A・H	0.253
肥満	AA・A・M	0.243
	Mean	0.477
	SD	0.036

表 5-A

群	3 変数	重相関係数(r)
全体	N・AA・A	0.199
全体	N・AA・M	0.201
全体	N・H・M	0.174
全体	A・H・M	0.057
全体	AA・A・H	0.089
全体	AA・A・M	0.056
	Mean	0.322
	SD	0.064

いずれの群においてもグルコースと 3 変数間に高い重相関関係は認められなかった。

表 6-A, -B, -C. 全体(A)、対照群(B)、肥満群(C)における独立変数（グルコース）と 2 変数間の重相関関係および平均値と標準偏差

表 5-B

群	3 変数	重相関係数(r)
対照	N・AA・A	0.287
対照	N・AA・M	0.298
対照	N・H・M	0.257
対照	A・H・M	0.193
対照	AA・A・H	0.221
対照	AA・A・M	0.238
	Mean	0.534
	SD	0.036

表 6-A

群	2 変数	重相関係数 (r)
全体	N・AA	0.199
全体	N・A	0.173
全体	N・H	0.054
全体	A・M	0.172
全体	AA・A	0.053
全体	AA・H	0.088
全体	AA・M	0.054
全体	A・H	0.054
全体	A・M	0.006
全体	H・M	0.057
	Mean	0.091
	SD	0.062

表 5-C

群	3 変数	重相関係数 (r)
---	------	-----------

表 6-B

群	2 変数	重相関係数(r)
対照	N・AA	0.283
対照	N・A	0.269
対照	N・H	0.248
対照	A・M	0.257
対照	AA・A	0.202
対照	AA・H	0.211
対照	AA・M	0.221
対照	A・H	0.158
対照	A・M	0.192
対照	H・M	0.078
	Mean	0.212
	SD	0.058

表 6-C

群	2 変数	重相関係数 (r)
肥満	N・AA	0.241
肥満	N・A	0.093
肥満	N・H	0.166
肥満	A・M	0.115
肥満	AA・A	0.242
肥満	AA・H	0.249
肥満	AA・M	0.241
肥満	A・H	0.168
肥満	A・M	0.093
肥満	H・M	0.165
	Mean	0.177
	SD	0.060

いずれの群においてもグルコースと 2 変数間に高い重相関関係は認められなかった。

表 7 は全ラット、肥満ラット及び対照群ラット群におけるグルコースと皮膚ガス NO、アセトアルデヒド、アセトン、ヘキサナールおよび 6-メチル-5-ヘプテン-2-オンの相関係数を示したものである。いずれにおいても有意な相関関係は認められなかった。

表 7. 全体、対照群、肥満群におけるグルコースと各皮膚ガス成分の相関係数

表 7

群	NO	AA	A
全体	-0.172	0.051	-0.003
対照	0.247	0.195	0.140
肥満	0.078	0.236	0.057

群	H	M
全体	-0.054	-0.006
対照	-0.047	-0.077
肥満	0.163	0.082

表 8. 全体、対照群、肥満群における独立変数 (グルコース) と 5 変数 (N・AA・A・H・M) の重相関関係

群	5 変数	重相関係数 (r)
全体	N・AA・A・H・M	0.297
対照	N・AA・A・H・M	0.309

肥満	N・AA・A・H・M	0.256
----	------------	-------

表 8 には全体、対照群、肥満群におけるグルコース (G) と 5 変数 (NO、アセトン、アセトアルデヒド、ヘキサナール、6-メチル-5-ヘプテン-2-オン) との重相関関係を示したものである。グルコースとの高い重相関関係は認められなかった。

#### D. 考察

本研究は肥満ラットと対照ラットを対象に血中グルコース濃度を皮膚から放出される揮発性ガス濃度からの推定を試みた。グルコースを経口投与し、30、60、90、120 分にラットの尻尾から静脈血と、皮膚ガスを採取した。採取した皮膚ガス中のアセトアルデヒド (AA)、アセトン (A)、ヘキサナール (H)、6-メチル-5-ヘプテン-2-オンおよび一酸化窒素 (N) 濃度を測定した。本研究においては耐糖能が低下した肥満ラットにおいて、グルコース経口投与後の血中グルコースを 5 種類の皮膚ガス成分 (一酸化窒素 (NO)、アセトアルデヒド、アセトン、ヘキサナールおよび 6-メチル-5-ヘプテン-2-オン) のうち、3 種類 (アセトアルデヒド、アセトン、ヘキサナール) の皮膚ガス成分から重回帰分析を用いて血中グルコース濃度を推定したところ Galassetti らの研究グループとほぼ同様な結果が得られた。これらの結果は図 1 2 -A から図 1 2 -D に示

されている。これら 3 種類の皮膚ガス成分から推定した血糖値と実測値の誤差は表 2 に示したように 3 箇所では 26.7%、20.7%と 19.1%と比較的高い誤差が認められたが、その他は 15%以下であり、高い精度で血中グルコースが推定できることが明らかとなった。

近年、呼気ガス成分から血中グルコースの推定する試みがある研究グループでなされている。Galassetti ら (2005) は OGTT (Oral Glucose Tolerance Test) 時において、血中グルコースを独立変数、呼気ガスアセトン濃度とエタノール濃度を従属変数とした重回帰分析を行い、重相関関係が  $r=0.41\sim 0.95$  範囲内であり、10 名の重相関係数の平均値は  $r=0.71$  であった。Lee ら (2009) は、21 歳~33 歳の健常者を対象に、グルコースの静脈注入後、4~6 種類の呼気ガス成分 (エタノール、アセトン、硝酸メチル、エチルベンゼン、*o*-キシレン、*m/p* キシレン) から血中グルコースの推定を重回帰分析を行い、個人においての平均重相関関係は 4 種類の組み合わせで  $r=0.913$  (0.698~0.977)、5 種の組み合わせでは  $r=0.931$  (0.699~0.991)、6 種類の組み合わせでは  $r=0.946$  (0.701~0.993) と高い相関関係を認めている。Galassetti らと同じ研究グループの Minh (2011) らは、健常者と 1 型糖尿病患者にグルコースとインスリンを注入して、グルコースを呼気ガス中アセトン濃度、硝酸メチル、エタノール、エチルベンゼンから重回帰分析を用いて推定し、両群にお

いての重相関関係は  $r=0.654\sim 0.999$  であると報告している。Galassetti らの研究グループは、1 型と 2 型糖尿病および健常者の呼気ガス成分から重回帰分析を用いて血中グルコース濃度を推定することが可能であると報告している。

一方、単一の呼気ガス成分と血中グルコース濃度の関係には一致した知見は得られていない。これまでに 22～55 歳の健常者、8 名（男性 7 名、女性 1 名）を対象に夜間絶食後の血中グルコース濃度は呼気ガス中のアセトン濃度 ( $r=0.98$ )、エタノール ( $r=0.90$ )、メタノール ( $r=0.93$ ) と高い相関関係が認められることが報告されている (Righettoni ら 2013)。Turner ら (2009) も 1 型糖尿病患者において、血中グルコース濃度は呼気ガスアセトン濃度と密接に関係することが報告されている。しかし同著者は 1 型糖尿病患者において安静時血中グルコース濃度と呼気ガスアセトン濃度の相関関係は  $r=0.134$  ( $n=8$ ) であり、相関関係は認められなかったと報告している (Turner ら 2009)。個々のラットについてみると経口投与後の呼気ガスアセトン濃度は血中グルコース濃度と高い相関関係が認められたと報告されている (Turner ら 2009)。しかし経口投与後の血中グルコース濃度とエタノール濃度の相関係数は  $r=0.55$ 、アセトン濃度とは  $r=0.40$  と報告しており高い相関関係は得られていない (Galassetti ら 2005)。本研究においても正常ラットと耐糖能の低下した肥満

ラットにおいて、グルコース経口投与後の血中グルコース濃度は単一の皮膚ガス成分と高い相関関係は認められなかった。また各ラットにおいても経口投与後の血中グルコースと単一の皮膚ガス成分中に高い相関関係は認められなかった。このように血中グルコース濃度と呼気ガスアセトン濃度の関係は現在、研究者により異なった結果が報告されている。

本研究結果から単一の皮膚ガス成分から血中グルコース濃度と高い相関関係は認められなかったが、今後の検討課題である。

#### E. 結論

本研究においては耐糖能が低下した肥満ラットにおいて、グルコース経口投与後の血中グルコースを 5 種類の皮膚ガス成分（一酸化窒素 (NO)、アセトアルデヒド、アセトン、ヘキサナールおよび 6-メチル-5-ヘプテン-2-オン）を測定し、そのうち 3 種類（アセトアルデヒド、アセトン・ヘキサナール）の皮膚ガス成分から重回帰分析を用いて血中グルコースを推定したところ平均値と標準偏差は  $0.910\pm 0.086$  であった。実測値と推定値の誤差は、26.7%、20.7%と 19.1%と比較的高い誤差が認められたが、その他は 15%以下であり高い精度で血中グルコースが推定できることが明らかとなった。

#### 参考文献

- 1) Galassetti P, Novak B, Nemet D, Sose-Gottron C, Cooper DM, Meinardi

- S, Newcomb R, Zaldivar F, Blake DR. Breath ethanol and acetone as indications of serum glucose levels: an initial report. *Diabetes Technol Therapeutics* 2005; 7: 115-123.
- 2) Lee J, Ngo J, Blake D, Meinardi S, Pontello AM, Newcomb R, Galassetti PR. Improved predictive models for plasma glucose estimation from multi-linear regression analysis of exhaled volatile organic compounds. *J Appl Physiol* 2009; 107: 155-160.
- 3) Minh TDC, Oliver SR, Ngo J, Flores R, Midyett J, Meinardi S, Carlson MK, Rowland FS, Blake DR, Galassetti PR. Noninvasive measurement of plasma glucose from exhaled breath in healthy and type 1 diabetic subjects. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2011; 300: E116-E175.
- 4) Naitoh K, Inai Y, Hirabayashi T, Tsuda T. Direct temperature- controlled trapping system and its use for the gas chromatographic determination of organic vapor released from human skin. *Analy Chem* 2000; 72: 2797-2801.
- 5) Nakanishi R, Ohwaki J, Emoto S, Mori T, Mizuno K, Tsuda T, Itoh H, Ohkuwa T. Nitric oxide concentrations in gas emanating from the tails of obese rats. *Redox Report* 2013; 18: 233-137.
- 6) Novak BJ, Blake DR, Meinardi S, Rowland FS, Pontello A, Cooper DM, Galassetti PR. Exhaled methyl nitrate as a noninvasive marker of hyperglycemia in type 1 diabetes. *PNAS* 2007; 104: 15613-15618.
- 7) Paredi P, Wojciech W, Invernizzi G, Kharitonov SA, Barnes PJ. Exhaled carbon monoxide levels elevated in diabetes and correlated with glucose concentration in blood. *CHEST* 1999; 116: 1007-1011.
- 8) Righettoni M, Schmid A, Amann A, Pratsinis SE. Correlations between blood glucose and breath components from portable gas sensors and PTR-TOF-MS. *J Breath Res* 2013; 7: 037110
- 9) Turner C, Parekh B, Walton C, Spanel P, Smith D, Evans M., An exploratory comparative study of volatile compounds in exhaled breath and emitted by skin using selected ion flow tube mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom* 2008; 22: 526-532.
- 10) Turner C, Walton C, Hoashi S, Evans M. breath acetone concentration decreases with blood glucose concentration in type I diabetes mellitus patients during hypoglycaemic clamps. *J Breath Res* 2009; 046004
- 11) Yamane N, Tsuda T, Nose K, Yamamoto A, Ishiguro H, Kondo T. Relationship between skin acetone and blood  $\beta$ -hydroxy-butyrate concentrations in diabetes. *Clin Chim Acta* 2006; 365: 325-329.



## センサーの特定と計測方法に関する研究

有限会社ピコデバイス 津田孝雄

### 研究要旨

本研究は血糖値に関与する複数のセンサーを見出し、これらのセンサーを用いて、血糖値を皮膚ガスから測定する装置の製作にある。そのためにまずセンサーの評価をするシステムの構築を行った。2台の評価用装置を製作した。

装置の一台は従来のセンサー群を用いて、皮膚ガスによる血糖値推算に用いた。予備試験を実施して、血糖値の推算できるソフトを制作した。本研究目的が達成できる基礎検討ができた。

同時にヒト皮膚ガス中の化学物質で血糖値に対応する化学物質の探索を実施した。多変数解析の結果、複数のプラス寄与およびマイナス寄与する化学物質の存在が確認できた。今後、これらの化学物質の確定とこれらに対応したセンサー群を用いることにより、精度良い皮膚ガス血糖値測定器の開発が可能となろう。

### A. 研究目的

皮膚ガス成分中の血糖値に応答する化学物質群を見出し、その化学物質群に応答する複数のセンサーを選択し、それらを搭載した非侵襲血糖測定装置の試作を実施する。

### B. 研究方法

本研究は血糖値に関与する複数のセンサーを見出し、これらのセンサーを用いて、血糖値を皮膚ガスから測定する装置の製作にある。そのためにまずセンサーの評価をするシステムの構築を行った。

また同時に皮膚ガスには多数の化学物質が含有されていることが、これまでの研究でわかっている。血糖値によく対応する皮膚ガス中の化学物質を見出すことが必要である。このために、ヒト皮膚ガスの捕集とその時の血

糖値のデータとの対応を見出す。皮膚ガスのGC/MS測定を実施しその成分中の化学物質の探索を実施した。

### C. 研究結果

(I) 皮膚ガスから血糖値を推算するための迅速小型測定器の開発

本プロジェクトの基本は、1) 血糖値に反応する皮膚ガス中の化合物を見出すこと、2) その化合物または化合物群へ反応するセンサーを装備した皮膚ガスを用いた血糖モニターを構築することにある。

#### 1. 皮膚ガスを用いた血糖測定器の製作方針

皮膚ガス血糖測定器の試作は、皮膚ガス採集具（指、腕、腹部、腋などの体の局所を覆い皮膚ガスを捕集する

用具)からのガスを多数のセンサーに導き、例えば指プローブで捕集された皮膚ガス化学成分を複数検知することを目的としている。センサーは特性検知に向けて作成されているが、特定の分子構造にのみ反応するセンサーは市場にはほとんどなく、多くは複数の分子に応答を示すものである。これらのセンサーの特異性を補うには二つの手法がある。一つには特定の検知の能力を補うための反応管(吸着剤による処理、化学反応による処理など)を加えてより選択性を高めることがある。もう一つの手法は多数のセンサーを用いて、血糖に関連性を有する特定物質へのセンサー群の個々の応答の違いから、演繹的に特定物質の濃度を検知する。

特異性を増していく手段を補助として採用していくことにした。

センサー群の配置の仕方の一例として、図13に直列型の流路図を示した。

この装置の模式図では、指プローブからの皮膚ガスを採取する工程、内部洗浄の工程、大気ガスをクリーン化する工程、皮膚ガスを検知する工程を含んでいる。

図13における直列型の配置において、センサー1及びセンサー2は皮膚ガスを選択・特異的に検出するものであり、また他のセンサー3から5は選択性を高める補助手段として各センサーの前に吸着材や反応性の化合物を設置しセンサーへ導いている。

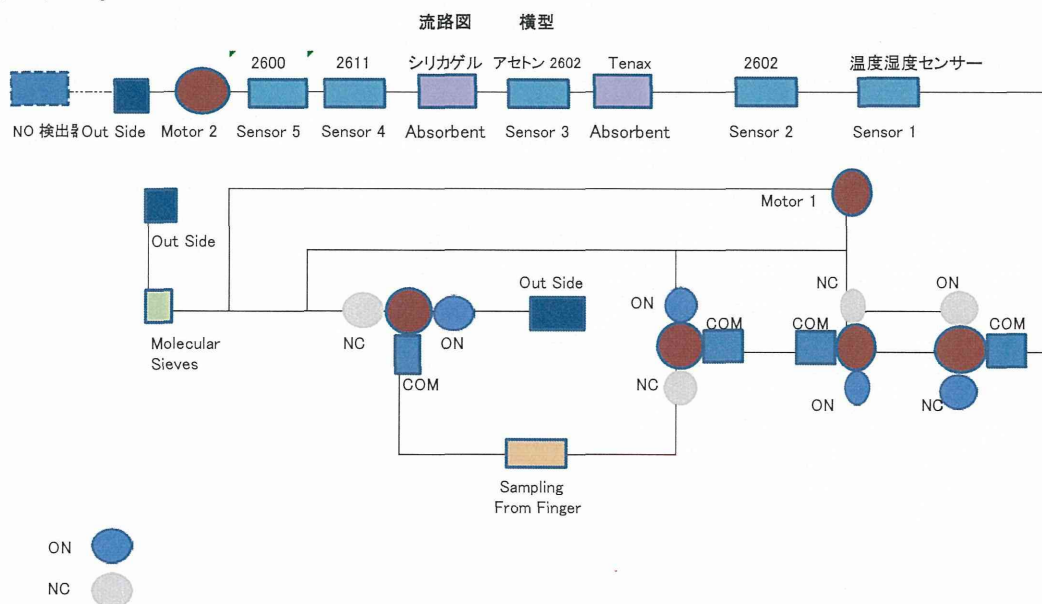


図13 皮膚ガスを用いた血糖測定器の流路デザイン

(NC:通常閉状態、通電時開状態、ON:NCと反対の作動、COM:開)

本プロジェクトにおいては、後者の考え方を主におきつつ、センサーの

センサー6として、一酸化窒素センサーを最後に設置して、一酸化窒素の減

圧下での検知を行えるモデルになっている。

皮膚ガスを用いた血糖値測定器の試作においては、並列型の配置の概念を取り入れ、直列型と並列型の併用で行った。

## 2. 市販センサーの現状

市販センサーの種類を列挙するとメタンセンサー、水素センサー、水蒸気センサー、温度センサー、湿度センサー、アルコールセンサー、一酸化窒素センサー、一酸化炭素センサー、二酸化炭素センサー、低級炭化水素用センサー、アンモニアセンサー、硫化水素センサー、硫黄化合物センサーなどがあげられる。

これらの中には、感度が皮膚ガスセンサーとして一般的には不足するものが多数ある。皮膚ガスの濃度は例えば、5分間皮膚を覆えば、サブppmからppbの濃度になる。

多くの市販センサーの性能としては数ppmが通常で、これより高感度のものもあるが、数は少ない。市販センサーの特異性、感度等を考慮してセンサーを選択する必要がある

## 3. 皮膚ガスからの血糖測定器試作

以上の検討を踏まえて、試作器を2台製作した。製作した血糖測定試作器2台は いずれもセンサーとしては、6個を搭載した。



図1-4 試作器の写真

2台の使用法は、1台を市販血糖測定器との比較実験に使い、他の1台をセンサーの応答性の確認に用いる。次いで、2台を同時に使い10～12個のセンサーを使用して検討する。この際に、各センサーの流速を調節できるように、ポンプを各センサーごとに配置し、かつ流量測定が実施できるように多数の流量センサーを別ケースにセットして配置する設計となっている。

## 4. 皮膚ガスを用いた血糖測定試作器を用いた測定実験による予備ソフト（一次ソフト）の製作

血糖測定試作器には、ソフトとして実施した予備試験の結果を用いて作成した一次ソフトを使用した。予備試験は既存の測定器「指からの皮膚ガスを用いたアセトン・エタノール検知器」を用い、関係者3名の協力を得て、穿刺による指先からの血液を用いて血糖値測定併用しながら、測定器のセンサーの応答特性を調べた。この時のデータを用いて、関係式を求め予備ソフト（第一次血糖ソフト）を作った。

### 4-1. 予備ソフトの作製

皮膚ガス対象：皮膚ガスの捕集場所として指を用いた。手順は指を乾燥紙で

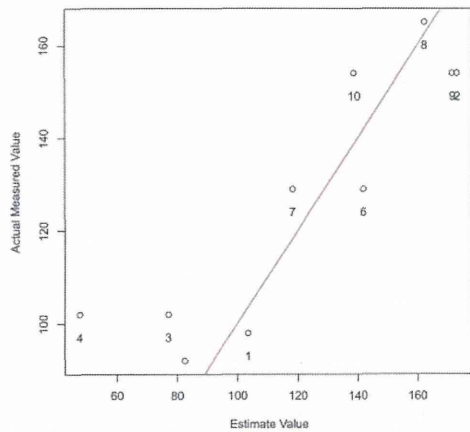


図 15 第一次ソフト使用した指からの皮膚ガス検知器の応答と血糖値の関係

表面を軽くきれいにしてから、測定はアセトン・エタノール検知器を使用した。

データの採用の仕方：同一の被検者測定が3回繰り返されているとき、第一回を除いた。また左右の両方を用いた際には測定回数の多い手（左手）を採用した（通常左右は同じ信号を出すはずだが、指の測定前の状態の変化があったものと思われる）。

測定した25点を採用して、血糖との相関を用いて予備ソフト(第一次)を作成した。その結果を図15に示した。分散は大きいですが、相関は認められた。

## (II) 試作器を用いた試験データの取得

予備ソフトを組み込んだ試作器を用いて、関係者による基礎データの取得を実施した。指への穿刺による血液からグルコース値と第一次予備ソフトを組み込んだ測定器の表示する血

糖値の相関を調べた。

## 第二次予備テスト実施

1. 平成27年1月20日、2月3日、2月26日に実施した。実施した関係者は4名、3名、5名で、被験者数は5名である。

試験は第一次ソフトを組み込んだ血糖測定試作器を用いた。血糖値は穿刺による指先からの血液を用いて得た。既存の血液による血糖測定値と試作した皮膚ガスを用いた試作器による血糖値を求めた。

同時に手からの皮膚ガスを採取し、血糖に依存する皮膚ガス成分の探索を実施した。

第二次予備テストより得られた結果は以下のように要約できる。すなわち、第一次ソフトを用いて、第二次予

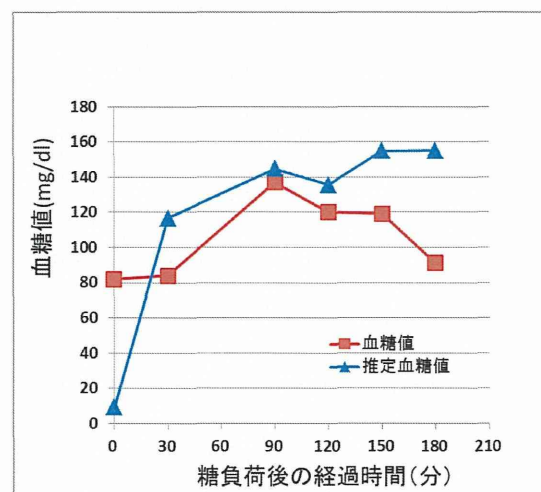


図 16 糖負荷後の血糖値および推定血糖値

予備テスト 実施日 27. 1. 20 被験者 TR

△印 推定血糖値、■印 指からの血液による血糖値



備テストの結果を図 1 6 に示した。

被験者 TR においては、ほぼ相関する挙動を示した。

以上より作成ソフト（第一次）においては、ほぼ実測値と推算値が近い値と示すことも見られるが、実測値と乖離する場合も生じている。

### II-3 湿度センサーと血糖値の関係

湿度センサーの応答と血糖値の変化を比較すると、糖負荷に伴って血糖値が上昇し、ついで迅速に下降する人は、水分量の変化が少なく、逆に血糖値の下がり具合が少ない人は、湿度の変化が大きくなる傾向にあった。これは糖負荷における血管の浸透圧が上昇することに起因すると考えられる。

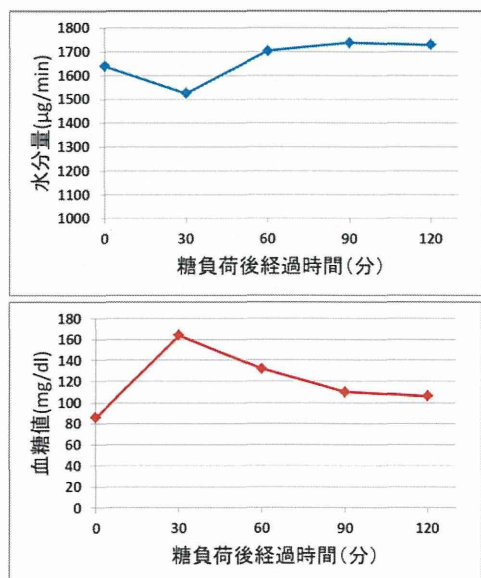


図 1 7 糖負荷量にともなう水分量と血糖値の変化  
被験者 IZ

この結果から、水分量は血糖値に依

存した変数であることを示している。

### III. 血糖推算ソフトの製作

新たに製作したソフト(二次ソフト)での血糖値と推算値の図を示した。

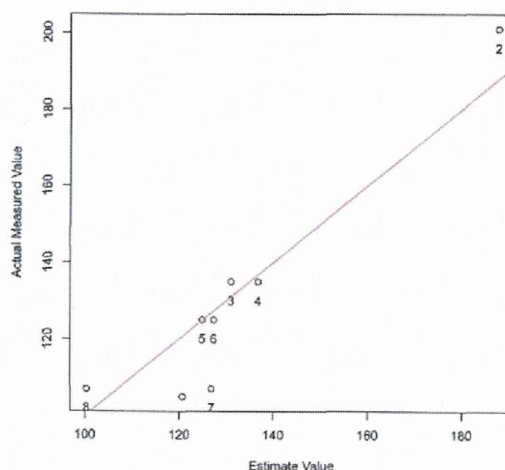


図 1 8 新たに作成したソフトを用いた血糖値の推定

2月26日実施の3名のデータよりソフトを作り、そのソフト(第二次ソフト)を用いて同日実施した1名の皮膚ガス血糖測定器による値と実測値との関係を検討した。図18に結果を示した。皮膚ガスと血糖値の相関については、まだ大きく異なるポイントも見られるが、概して血液による測定値と皮膚ガスによる測定値の相関が認められる。今後の検討により皮膚ガスによる推定値の誤差を15%以内に留めることが出来よう。

糖尿病疾患患者、糖尿病疾患予備軍の患者と健常人については、糖負荷における血糖値の変化が異なるので、これらの類別のソフト、その類別に応じた血糖値の推算を行うソフトが必要

と思われる。

#### IV. 皮膚ガスを用いた血糖測定器に用いる指プローブの製作

これまで指プローブは手製で製作していた。このためコストが高くついていた。血糖測定を広範囲に実施するためには、指プローブを使い捨てにする必要がある。指プローブの多数の製作をめざして、射出成型の金型を製作した。またこの金型を用いて、射出成型による指プローブの生産を実施した。金型の写真を図19に示した。また図20および図21に金型を用いて生産した指プローブの写真を示した。

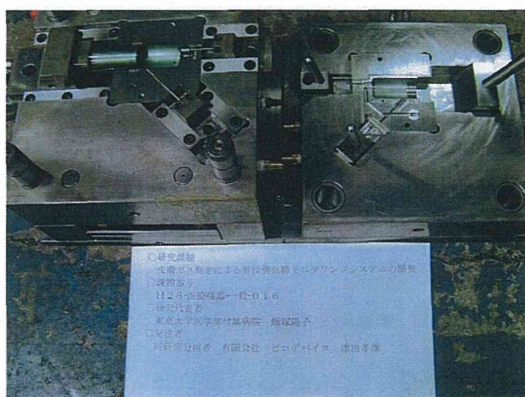


図19 射出成型用金型



図20 製作した指プローブ



図21 ゴムキャップを装着した実際に用いる指プローブ（右端の成形品）。

製作した指プローブは使い勝手が良く、多数の被験者に適用できるとの感触を得た。

#### V. 血糖値に関連する皮膚ガス中の化学成分のGC/MSによる探索

##### V-1. 糖負荷試験におけるヒト皮膚ガスの変化

糖負荷試験を実施した際に、手から皮膚ガスを採集した。この皮膚ガスをサンプル保存バッグに保ち、次いで低温冷却濃縮装置—GC/MS 装置により測定した。

得られたクロマトグラムを時間経過、血糖値の経過に伴う変化を検討した。

図22~図25に示すように、血糖値の変化に伴って、アセトアルデヒド、アセトン、シアノシクロヘキセンについて、血糖値の上昇とともに大きくなり、血糖値の低下に伴って減少することが認められた。また化合物シアノシクロヘキセンについては、血糖値の上昇に伴いいったん減少することが認められた。

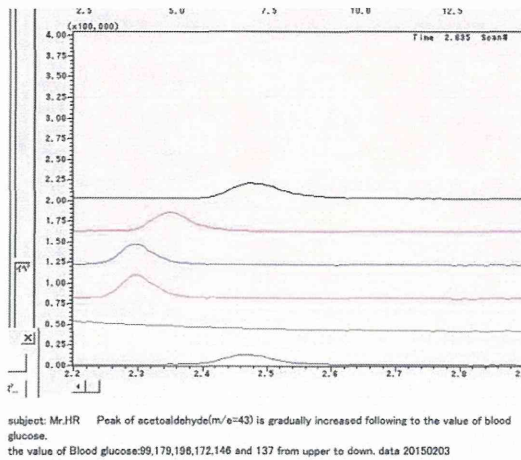


図22 皮膚ガス GC/MS 測定 血糖値に伴った変化 ピーク： アセトアルデヒド； 測定ライン 上から血糖値99，179，196，172，146，137．被検者 HR

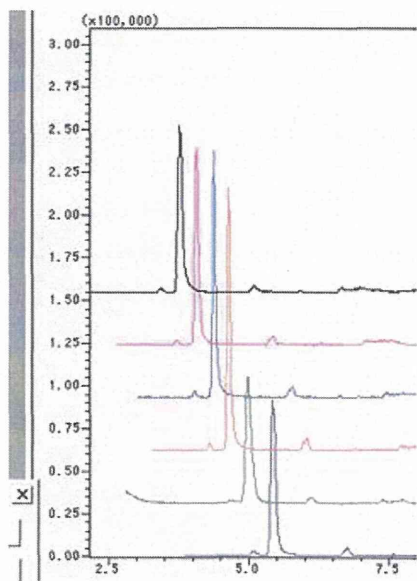


図23 皮膚ガス GC/MS 測定 血糖値に伴った変化 ピーク： アセトン； 測定ライン 上から血糖値99，179，196，172，146，137．被検者 HR

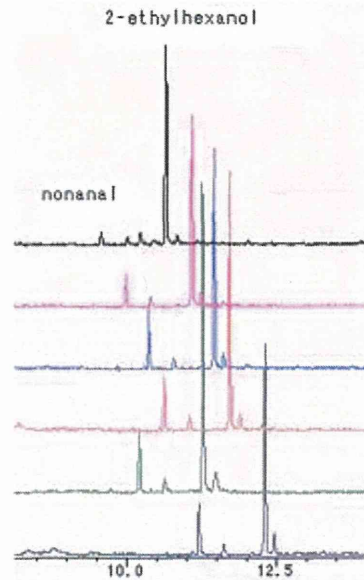


図24 皮膚ガス GC/MS 測定 血糖値に伴った変化 ピーク： ノネナルおよび2-エチルヘキサノール； 測定ライン 上から血糖値99，179，196，172，146，137．被検者 HR

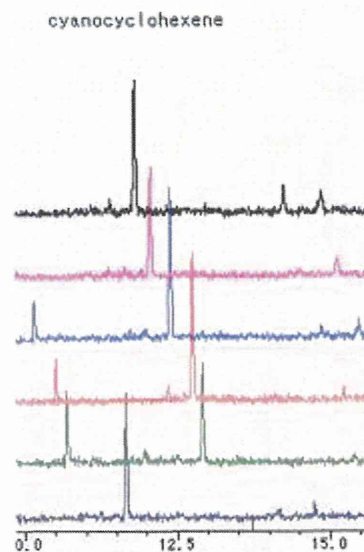


図25 皮膚ガス GC/MS 測定 血糖値に伴った変化 ピーク： シアノシクロヘキセン； 測定ライン 上から血糖値99，179，196，172，146，137．被検者 HR



前記の皮膚ガス中の化学物質の変化については、ラットの動物実験における皮膚ガスの変化とほぼ同一と認められる。なおシアノシクロヘキセンについては、質量スペクトルからの確認である。

## V-2 皮膚ガスの GC/MS 変化について統計処理を加えた皮膚ガス化合物の探索

これまでに被験者の皮膚ガスデータや野菜の香りデータ（マスフラグメント）と疾病の重度や野菜の糖度などの関連を検討し、相互の関連やそれぞれの寄与する化学物質の特定を実施し、その結果を報告してきた（丹羽、松島、津田、久永、日本分析化学会第58年会、講演番号H1007、北大、2009.9；津田、平山、角田、大野、日本薬学会第135年会、神戸、2015.3）。本検討を血糖値において実施した。

2月3日に実施した被験者3名の血糖負荷試験の際の被験者の血糖値の変化について検討を進めた。データとしては被験者3名の2時間半における血糖値変化各6点、合計18点の血糖値とGC/MSとの相関について調べた。方法は次のように概略できる。すなわち被験者の皮膚ガスをその時の血糖値を測定しながら捕集した。得られた皮膚ガスを低温濃縮装置（NIT-P型、ピコデバイス）を経由してオンラインでGC/MSを実施した。

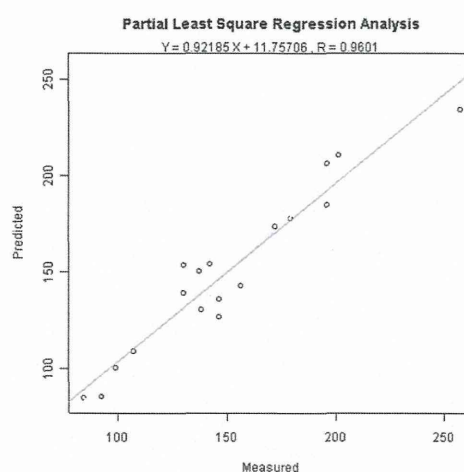


図2.6 実測の血糖値 (measured) と計算から得られた血糖値の予測 (predicted) の関係 ( $R=0.96$ )

皮膚ガスのGC/MSにより得られたフラグメントより求めた値。質量範囲50～250、被検者3名、血糖測定各自6点、合計18点

次いで得られたクロマトグラムヘデータ処理ソフトを適用して、統計分析に使用できるように、m/e（質量/電化数）ごとの強度に変換する。ついで、ピコデバイスで作成した多変数解析ソフト（Partial Least Square Regression Analysis）を用いて統計処理を行った。本ソフトには多変数解析ソフトとしてPLS統計処理ソフトとリンクしている。

m/e 50～250の範囲で、処理を実施した結果を図2.6に示した。図に示されよう解析結果から、測定値と推測値は非常に良好な関係を示した。これにより皮膚ガスによる血糖値の推測は可能であることが判明した。



### V-3. 解析から得られたマスフラグメントの寄与度情報

多変数解析により血糖値と皮膚ガス成分との関連が見いだされたので、

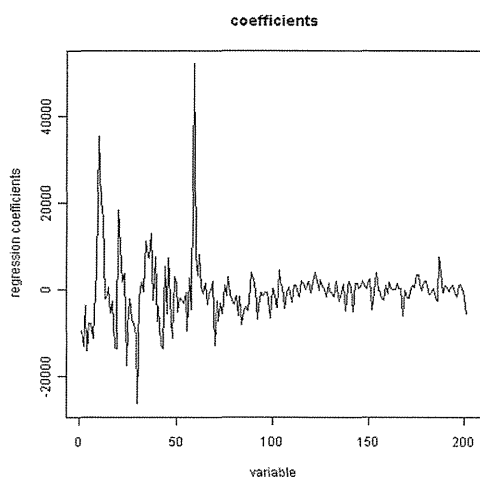


図27 皮膚ガス GC/MS における質量フラグメントの寄与度 (横軸はプラス 50 で元の値になる)

この変数因子である  $m/e$  の寄与度を調べ、この図を図27に示した。

図27においては横軸に  $m/e$  の値 (+50により実際の値に変換できる)、縦軸に regression coefficient を表示している。これによりフラグメントの ( $m/e$ ) の値が60, 70, 80, 110, 230付近においてプラスの寄与の非常に大きなあるいはかなり大きな化学物質の存在が示されている。同時に73, 78, 90, 130付近においてマイナス寄与のかなり大きな化学物質の存在が明らかにされている。

以上から、血糖値にプラス関与およびマイナス関与する皮膚ガス中の化学物質が存在することが判明した。

## VI. まとめ

VI-1. センサー評価のための装置を2台製作した。製作した1台は実際に指からの皮膚ガスを用いた血糖値評価システムとして使用した。この装置には、予備実験で得た実験に基づいて多変数解析により得たソフトを搭載した。

糖負荷実験を実施し第一次ソフトを適用しこのソフトの問題点、センサーの問題点、センサーの配置の問題点等が判明した。次いで糖負荷実験を3回実施し、検討した。第二次ソフトを製作し、血糖値と装置のセンサーの応答から推定した値と相関を検討したところ、かなり良好な結果が得られ本研究目的が将来的に達成されるとの感触が得られた。

VI-2. センサー評価用に製作したもう1台の装置には、これまで用いなかったセンサーを一部搭載し評価のための基礎実験に用いる体制を作った。どのようなセンサーを用いるかについては、ラットの実験及び人の皮膚ガスの解析結果から判断を加えていく。2台の評価装置は、良好な作動を示している。

VI-3. 皮膚ガスを捕集し、GC/MS測定を実施した。多変数解析を用いた血糖値と皮膚ガスの相関については、良好な関係が成立することを見出した。

VI-4. 血糖値と相関を持つ化学物質について、アセトアルデヒド、アセトン等が対応することを見出した。また多変数解析により複数のプラス依存、マイナス依存物質のフラグメント数

が判明した。

年 3 月 27 日。

#### D. 考察

皮膚ガスによる血糖値の評価を実施する装置を製作した。本装置の適用によるセンサーの評価が進展できる基礎が固められた。

また、皮膚ガス中の血液応答性化学物質の探索の基礎が実施できたので、次年度における化学物質の確定の基礎ができた。

#### E. 結論

本研究課題の皮膚ガスと血糖値の関係は、基本的に成立することが見いだされた。すなわち皮膚ガスと血糖値の間に相関があり、また皮膚ガス中に血糖値に対応する複数の化学物質が存在することが判明した。

これらの化学物質をセンシングするための複数のセンサーを搭載した装置を製作して、今後有効なセンサーを見出し、迅速に非侵襲的に血糖値を測定できる装置の製作基盤が構築できた。

#### F.健康危険度情報

特になし

#### G.研究発表

学会発表

1. 「パーキンソン病疾病の皮膚ガス成分の特徴と GC/MS フラグメントからの重度の推定」津田、平山、角田、大野、日本薬学会第 135 年会、ポスター発表 (27 PA-p m 132)、平成 27

## 皮膚ガスの取得方法に関する研究開発 (センサパッド作製のための基盤技術研究)

凸版印刷株式会社 塩谷俊人

### 研究要旨

正確な血糖値を知るためには、血糖値の経時変化を測定することが必要とされてきている。今回の研究での皮膚ガスを用いて無侵襲で血糖値を把握する際には、経時変化が測定できる皮膚ガス収集のためのセンサパッドが必要とされる。今年度はそのための形状の検討、素材についての基礎分析のデータを集めて来年度の本格的なセンサパッド開発への基盤技術研究を行った。

### A. 研究目的

無侵襲で血糖値を把握するために、今回ピコデバイスの皮膚ガスセンサシステムの改良を通じて血糖値との相関を把握して小型化を目指しているが、それとともに血糖値の把握には経時変化も重要であるため、連続でのモニタリングも必要とされる。現状の皮膚ガスのサンプリングは指を挿入するサック状のガス収集器具で行っており、実験レベルであれば問題はないが連続モニタリングをターゲットにしたときには、指を挿入するタイプを長時間用いることは使いやすい形とはいえない。そのため体の一部分に固定して皮膚ガスを収集できるセンサパッドが必要とされる。

### B. 研究方法

まずはどのようなところに固定するのがよいのか、どのような形がよいのか、材料はどのようなものがよいかが基礎課題となり、また実際に装着した

ときに違和感がなく着けていることができるか、また現状の指を挿入させるタイプと遜色ない結果が出るかということが応用課題となる。

インスリン注射は図28のように安定した吸収が得られるため腹部に注入する。そのため海外メーカーでのインスリン自動注入システムは図29のように腹部に装着している。ピコデバイスの現状の皮膚ガスセンサシステム(図30)では指をセンサパッドに挿入して計測する形を取っているが、インスリン自動注入システムの形を踏襲してイメージとしては図31のように腹部にセンサパッドを当てて制御部分を近くに固定することを考える。



図28：現状のインスリン注射

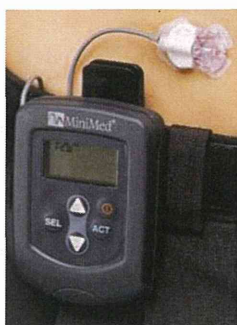


図 29：インスリンの自動注入

ここで制御部分をどう固定するのかということが問題となるが、体にシールで貼る(図32)、ベルトで固定する(図33)、パンツと一体型にする(図34)というセンサパッドシステム案を考えている。これについては制御部分をどの程度小型化できるかにも関わってくるため、今年度の段階では保留とするが、平成27年度でセンサの選択、小型モーターや小型電池の選定などから制御機器の大きさや重さを割り出していく際に考えていく。



図 30：ピコデバイスの皮膚ガスセンサ実験機 (文章後に拡大図あり)

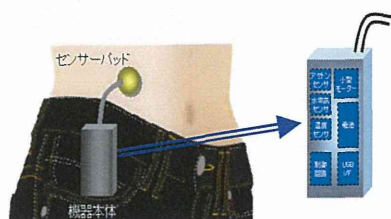


図 31：最終簡易イメージ (文章後に拡大図あり)

■皮膚ガス測定のためのガス置換方法案 A

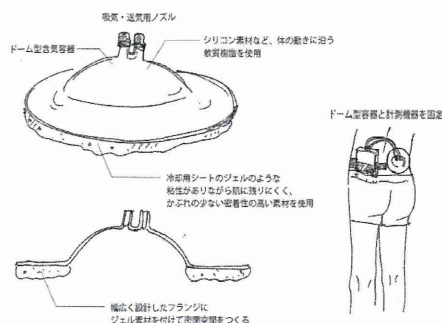


図 32：センサパッドシステム案1 (文章後に拡大図あり)

■皮膚ガス測定のためのガス置換方法案 B

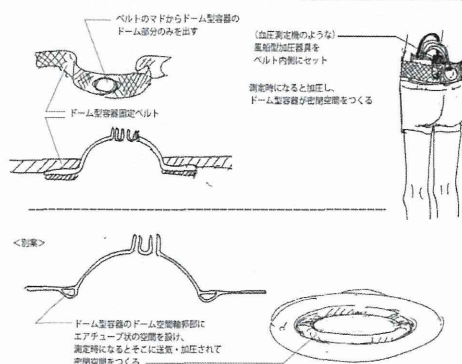


図 33：センサパッドシステム案2 (文章後に拡大図あり)

■皮膚ガス測定のためのガス置換方法案 C

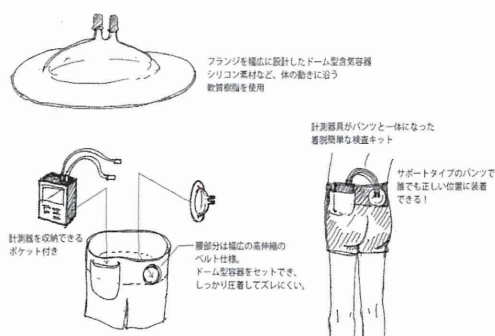


図 34：センサパッドシステム案3 (文章後に拡大図あり)

平成26年度に関しては、基礎課題をクリアするためのディスカッションと