

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年4月1日現在

機関番号：17401

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2010～2011

課題番号：22650118

研究課題名（和文）

乳癌特異的微量ガス分析による非侵襲型乳癌自己検診センサの開発

研究課題名（英文）

Development of Self-health Check Sensor for Breast Cancer by Analysis of Trace Amount of Its Specific Gases

研究代表者

西山 勝彦 (NISHIYAMA KATSUHIKO)

熊本大学・大学院自然科学研究科・准教授

研究者番号：10202243

研究成果の概要（和文）：

皮膚微量ガス簡易測定法の基盤技術の確立を目的とし、乳癌検出感度に関わるガス回収法の予備検討を行った。数名の健常者と乳癌患者の皮膚ガスを比較検討し、乳癌特異的皮膚ガスの分析を行った。特異ガス吸着物質としてはPDMSを用いて、乳房近傍、乳首周辺、の数カ所の検討を行った結果、乳首周辺からのガスの発生量が多いことが示された。また、乳癌患部近くの皮膚（乳頭）から発生する微量ガスを回収する貼付剤として数種類の市販の添付剤を比較検討した。

研究成果の概要（英文）：

In order to establish a basic technique measuring specific gases from skin with high sensitivity, several techniques to get trace amounts of gases were tried and compared. By comparing and analyzing data obtained from patients and healthy subjects, specific gases for breast cancer were evaluated. PDMS were used as adsorbent material for gases. PDMSs were fixed by plaster commercially available on some positions on breasts. The results shows that the PDMS fixed near nipple adsorbed gases from the gas with high efficiency.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,700,000	0	1,700,000
2011年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,000,000	390,000	3,390,000

研究分野：医療用センサ

科研費の分科・細目：人間医工学・医用システム

キーワード：自己診断、乳癌、ガスセンサ

1. 研究開始当初の背景

日本女性の癌の中で、乳癌は罹患者が最も多く、死亡者も年々増加している。しかし、乳癌標準検診法であるマンモグラフィ受診率

は15%と低く、検診普及による死亡率減少が期待できる状況でなく、受診率アップに貢献する革新的検診法の開発が望まれている。本研究では、癌由来微量ガス(VOCs)測定法が、

マンモグラフィと同等の乳癌検出感度を有し、更に腫瘍の形状に関係なく早期乳癌を検出可能なことを検証する。検証後、その VOCs を検知して色に変化するカラーイメージセンサを開発し、場所を選ばない非侵襲型乳癌自己検診ツールとして応用し、乳癌受診率を飛躍的に向上させ、乳癌による死亡率減少への貢献を目指す。

## 2. 研究の目的

日本女性の癌の中で、乳癌は罹患者が最も多く、死亡者も年々増加している。しかし、乳癌標準検診法であるマンモグラフィ受診率は15%と低く、検診普及による死亡率減少が期待できる状況でなく、受診率アップに貢献する革新的検診法の開発が望まれている。本研究では、癌由来微量ガス (VOCs) 測定法が、マンモグラフィと同等の乳癌検出感度を有し、更に腫瘍の形状に関係なく早期乳癌を検出可能なことを検証する。検証後、その VOCs を検知して色に変化するカラーイメージセンサを開発し、場所を選ばない乳癌自己検診ツールとして商品化し、乳癌受診率を飛躍的に向上させ、乳癌による死亡率減少への貢献を目指す。

主な問題点である MMG の低い受診率は、

(1) 痛いというイメージ、(2) 病院へ行く必要、(3) 高い検査代、等が挙げられる。また、乳癌罹患ピークの 40 代女性の乳房は、高濃度乳腺のため MMG による画像撮影ではバックグラウンドが高く、乳癌発見率 (診断精度) を低下させると指摘され、別の方法が検討されている。更に、MMG は、触診で検出できない大きさのしこり (石灰化陰影、腫瘍塊) を検出可能だが、その大きさは最低約 1cm であり、しこりを作らない乳癌の場合、MMG では検出できない問題もある。

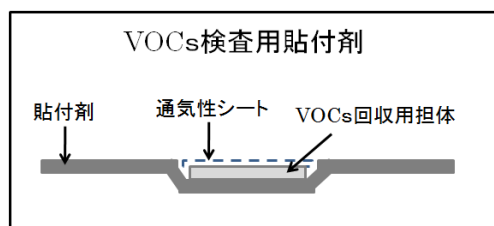
## 3. 研究の方法

乳癌関連 VOCs の乳癌検出感度の検討

### 1) 乳癌培養細胞由来 VOCs を用いた検出感度の検討

乳癌培養細胞から発生する VOCs を、培養液を入れた密閉容器内のヘッドスペースから SPME (固相マイクロ抽出法、Solid Phase Micro-Extraction) を用いて回収する。吸着担体に回収された VOCs を GCMS (ガスクロマト質量分析) 装置で分析し、既知化合物のデータベースと照合することで、検出された全種類の VOCs について分子種を同定する。

### 2) 乳癌患者の乳頭由来 VOCs を用いた検出感度の検討



乳癌患部から発生する VOCs を検査する貼付剤を作製する (上図)。貼付剤には、乳頭から排出される VOCs 吸着担体が含まれ、左右の乳頭に VOCs 検査用貼付剤を一定時間 (0、1、3、6、12 時間) 貼付することにより、無侵襲性に VOCs を回収する。

### 3) 乳癌関連 VOCs の乳癌検出特異性の検討

#### 乳頭から排出される VOCs の特異性の検討

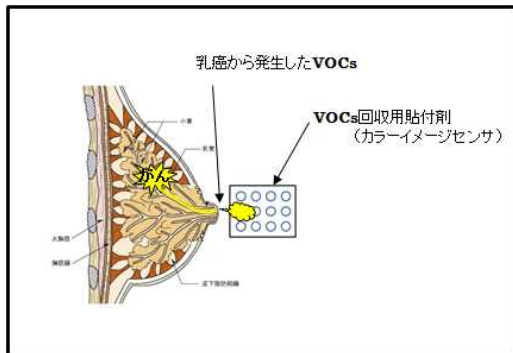
乳癌患部に近い乳頭から排出される癌由来 VOCs は、血液中に溶けずに、乳管を介して直接、乳頭から体外へ排出されるため、乳癌特異性の高い VOCs 分子が高濃度に検出され、数種類の VOCs 分子で乳癌を容易に判定できる可能性がある。

そこで、乳癌細胞株を培養した場合に発生する VOCs を特定し、特定されたガスに対する吸着特性の高い高分子吸着剤の開発を行う。高感度化吸着剤によって、MMG 検診では困難な早期癌の検出を行う。

#### 4. 研究成果

本年度は、早期乳癌発見のための自己検査ツールとして、皮膚微量ガス簡易測定法の基盤技術の確立を目的とした。具体的には、「①乳癌特異的皮膚ガスの分子種の解明」、「②乳癌検出感度の予備検討」を行った。

「乳癌特異的皮膚ガスの分子種の解明」では、最初に最適なガス吸着担体・吸着時間・貼付方法について検討し、最適な皮膚微量ガス回収法を確立しつつある。数名の健常者と乳癌患者の皮膚ガスを比較検討し、乳癌特異的皮膚ガスの分析を行った。

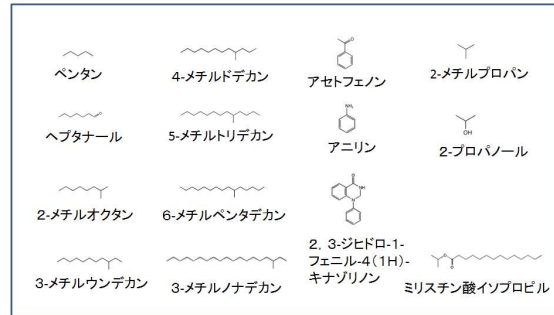


将来的には上図に示したカラーイメージセンサを目的としたい。

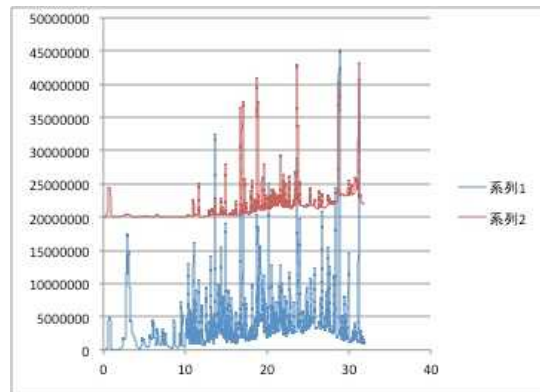
特異ガス吸着物質としてはPDMSを用いて、乳房近傍、乳首周辺、の数カ所の検討を行った結果、予想通り、乳首周辺からのガスの発生量が多いことが示された。吸着物質であるPDMSは基本的に大きな面積の方が多くのガスを吸着できるのだが、加熱脱離装置のサイズの都合上、17 x 5 mm程度が最大であった。

乳癌患部近くの皮膚（乳頭）から発生する微量ガスを回収する貼付剤として数種類の市販の添付剤を試した。添付剤そのものの影響は殆ど見られなかったが、被験者の意見によると剥がす際に「若干痛みを感じる」添付剤が有ることが分かった。結果的にはN社のCという製品の使用感が好ましかったようである。

#### 乳癌患者の呼気中に増加しているVOCs



乳癌患者では、健常者に比べ、呼気中に増加する揮発性有機化合物14種類（上図）が報告され、我々も同様の分子を確認している。乳癌患部近くの乳頭から排出されるガスは、血液中に溶けずに乳管を介して直接、乳頭から体外へ排出されるため、呼気ガスに比べ、乳癌特異性がさらに高い可能性が期待される。実際の乳癌患者のサンプル数を増やし、GCMS分析で比較検討し、乳癌特異的皮膚ガスをより確実に同定することが必要である。



具体的な結果例を上図に示した。現在までに健常者10人、癌患者5名のサンプルが得られているが、今回はある1名の健常者と患者のデータのみを示したものである。X軸はリテンションタイムであり、特定の分子とGCMASSのカラム内の相互作用の強度に対応する。一方、Y軸はカウント数であり、ある特定成分の濃度に対応している。上に記したようにガス成分を吸着するPDMSポリマーのサイズは17 x 5 mmである。健常者（系列1）と患者（系列2）の乳頭付近PDMSポリマーをにN社のC防水防菌透湿テープで固定し就寝中の

発生したガスの分析結果である。両者を比較しやすくするために、患者（系列2）のスペクトルは上方に移動した。リテンションタイム0-10分付近には健常者、患者間で大きな差が観測されるが、この差は基本的にはアーティファクトであり、実際のガス成分の差を反映していない。10分-30分までに得られているスペクトルには芳香族アミン、芳香環を有するアミノ酸、脂肪酸などに起因することが示されているが、現在のサンプルの状況では患者と健常者を決定的に識別可能な物質の同定には至っていないが、図に示すように、スペクトルには十分な差が生じている。サンプル数の増加およびより詳細な解析によって、信頼性の高い癌細胞由来ガスを同定することが可能である。

#### 5. 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕（計7件）

1. K. Nishiyama, N. Miyanari, T. Araki, T. Yamamuro, and K. Kunitake, "Effect of Co-absorption of Ascorbic Acid and Boric Acid Compared to Absorption of Each Single Component on Long-term Oxidation-registry for the Negative Active Materials of Lead-acid Batteries", *Electrochemistry*, 79(8), 609-613(2011) (査読有).
2. H. Ueda, S. Yoshimoto, K. Nishiyama, "Stability of Porphyrin Adlayers Formed on Au(111) Evaluated by Using Thiolate SAMs Replacement Reaction, Proceedings of The International Student Conference on Advanced Science and Technology, 2011, Jinan, 29-30(査読無).
3. K. Nishiyama, "EFFECTS OF PROMOTERS ON ELECTROCHEMICAL OXIDATION OF SUGARS AT AU ELECTRODE FOR BIO-FUEL CELL", Proceedings of Minamata International Symposium on Environment and Energy Technology, 2011 (査読無).
4. N. Miyanari, T. Yamamuro, M. Kunitake, K. Nishiyama, "Oxidation-Resistant Film for Negative Active Materials of Lead-acid Batteries Generated by Co-adsorption of Ascorbic Acid and Boric Acid", 12, *Chem. Lett.*, 39(10), 1058 (2010) (査読有).

5. Y. Makita, S. Uemura, K. Nishiyama, M. Kunitake et al., "Electrochemical Investigation of Dynamic Solution Structures of Bicontinuous Microemulsion at Solid Interfaces", *Chem. Lett.*, 39(11), 1152 (2010) (査読有).

6. K. Nishiyama\*, K. Inada, I. Taniguchi, Tryptophan, and Serotonin at Glassy Carbon Paste Electrode", "Selective Determination of Uric Acid, *Electrochemistry*, 78 (2010) 165-169(査読有).

7. K. Nishiyama, "バイオ燃料電池の最近の展開", *月刊ディスプレイ*, 16 (2010) 17-23.

〔学会発表〕（計4件）

1. 上田博幸、吉本惣一郎、西山勝彦, "Au(111)表面に形成されたポルフィリン単分子膜の分子テンプレート膜としての安定性評価", 電気化学会第78回大会講演要旨集, PS28, 2011, 2011, 3, 29-31, 横浜国立大学
2. 西山勝彦、戸屋恵、稲田和文, "グラッシーカーボンペースト電極を用いたトリプトファンおよびセロトニンの高感度検出条件の検討", 日本化学会第91秋季年会, 2F4-04, 2011. 2011. 3. 26-29, 神奈川大学横浜キャンパス
3. 戸屋恵、稲田和文、西山勝彦, "グラッシーカーボンペースト電極を用いたアミノ酸センサーの電極表面処理による高感度化", 2010 日本化学会西日本大会講演要旨集, p291, 2010. 2010. 11. 6-7, 熊本大学
4. 田島翔太、岸慎太郎、佐藤啓太、松浦宏明、中野信夫、瀬戸康雄、西山勝彦, "金属ナノ粒子修飾カーボンペーパー電極を用いたびらん性ガスセンサの開発", 2010 日本化学会西日本大会講演要旨集, p291, 2010. 2010. 11. 6-7, 熊本大学

〔図書〕（計0件）

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

西山勝彦 (NISHIYAMA KATSUHIKO)  
熊本大学・大学院自然科学研究科・准教授  
研究者番号：10202243

##### (2) 研究分担者

( )  
研究者番号：

##### (3) 連携研究者

( )  
研究者番号：