

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 3 日現在

機関番号：32713

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2012～2013

課題番号：24800068

研究課題名(和文) 肺癌の組織型と遺伝子変異診断としてのイオン移動度分光測定式探知器による呼気分析

研究課題名(英文) Exhaled breath analysis for lung cancer detection using ion mobility spectrometry

研究代表者

半田 寛 (Handa, Hiroshi)

聖マリアンナ医科大学・医学部・助教

研究者番号：60636265

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,200,000円、(間接経費) 360,000円

研究成果の概要(和文)：IMSを用いて61名の肺癌患者と40名の健常者を対象に呼気解析した。105の呼気揮発物質を同定し、13の呼気揮発物質で有意に上昇していた。n-Dodecaneが肺癌と健常者(感度90%、特異度69%)、15名のEGFR遺伝子変異陽性患者と17名の陰性患者(感度53%、特異度100%)で有意に上昇していた。

研究成果の概要(英文)：The exhaled breath of 61 patients with lung cancer confirmed by bronchoscopy, were analyzed using ion mobility spectrometry (IMS) and compared with 40 healthy volunteers. As a secondary assessment, we compared adenocarcinoma patients with and without epidermal growth factor receptor (EGFR) mutation. One hundred-five separated volatile organic compound (VOC) peaks were analyzed statistically. Of these, thirteen peaks showed significantly higher levels of lung cancer ( $p < 0.05$ ). n-Dodecane was the most important biomarker to discriminate between lung cancer and healthy subjects with a sensitivity of 90% and a specificity of 69%. Incorporating a decision tree algorithm starting with n-Dodecane peak, a sensitivity of 100% and specificity of 93% was achieved. Fifteen adenocarcinoma patients harboring EGFR mutation displayed a significantly higher n-Dodecane peak with a sensitivity of 53% and a specificity of 100% ( $p < 0.01$ ) than in 17 adenocarcinoma patients without the EGFR mutation.

研究分野：呼吸器・感染症内科

科研費の分科・細目：腫瘍診断学

キーワード：腫瘍診断学 分析科学

1. 研究開始当初の背景

肺癌治療において組織型の同定および上皮成長因子受容体(Epidermal Growth Factor Receptor; EGFR)遺伝子変異を含む遺伝子変異が注目されており、特に腺癌ではペメトレキセドの有用性が確立しつつあり、EGFR 遺伝子変異が陽性例では EGFR チロシンキナーゼ阻害薬が進行期肺癌の無増悪生存期間を改善することがわかっている。

近年、犬が肺癌を嗅ぎ分ける報告や electronic nose、gas chromatography およびイオン易動度分光測定式探知器 (Ion mobility spectrometer: IMS)などの呼気の揮発性物質 (volatile organic compound ; VOC) を解析する研究が注目されている。上記で述べた IMS は 63Ni などの線源を使用して大気中の分子をイオン化させた物をドリフト領域を通過させることにより、移動時間とシグナル強度のグラフであるプラズマグラムを測定し、その易動度の差から分子の種類を同定する装置である。

2. 研究の目的

IMS を用いて肺癌患者の呼気の VOC を検出し、各組織型 (腺癌、扁平上皮癌、小細胞癌) および EGFR 遺伝子変異陽性の特異的な呼気 VOC を同定することを目的とする。IMS によって各組織型および EGFR 遺伝子変異陽性の特異的な呼気 VOC を同定することで、非侵襲的な肺癌のスクリーニング、高齢者や PS 不良患者の補助診断、特異的な VOC peak の強さによって治療効果判定や重症度の評価に応用できると考えている。

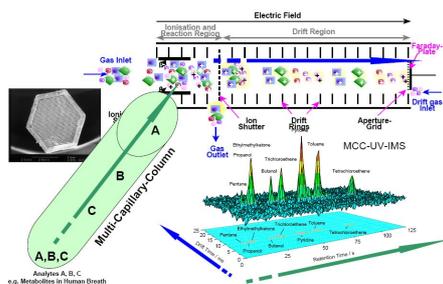


図 1. IMS の原理 .

腺癌では n-Dodecane、扁平上皮癌では Nonanal、2-Butanol に相当する VOC peak がみられた。欧州ではこの呼気センサーによる呼気分析で肺腺癌では n-Dodecane が肺扁平上皮癌では 2-Butanol、Nonanal の VOC peak を同定できたとの報告されている。本学の pilot study でも肺腺癌と扁平上皮癌の特異的な VOC peak を確認することができ (臨床試験承認番号第 1820 号)、Gas chromatography and mass-spectrometry (GC-MS) を東京理科大学薬学部青木伸教授の協力の下使用させていただき、肺腺癌患者 1 名の呼気から n-Dodecane が検出されること

を確認した。最近の報告では、呼気濃縮液を用いて EGFR 遺伝子変異を同定できた症例もあり、呼気の揮発性物質により肺癌の遺伝子変異も可能であると考えている。

3. 研究の方法

通常の呼気分析に加えて気管支鏡で採取した呼気サンプルでの Breath Discovery (B & S Analytik 社, ドイツ) を用いて IMS 測定を行う。ガイドシースキットおよび気管支鏡用超音波プローブを用いて肺癌を描出し腫瘍近傍からサンプルを採取する。その後、ブラッシング、気管支洗浄および経気管支生検を行い、病理学的診断を得る。



図 2. IMS 測定機器 (Breath Discovery).

4. 研究成果

Ion mobility spectrometry を用いて 61 名の肺癌患者と 40 名の健常者を対象に呼気解析した。105 の呼気揮発物質を同定し、13 の呼気揮発物質で有意に上昇していた。

| Peak | Description          | 1/K <sub>0</sub> | RT    | P value |
|------|----------------------|------------------|-------|---------|
| 3    | n-Dodecane           | 0.891            | 128.9 | <0.001  |
| 8    | 3-Hydroxy-2-Butanone | 0.536            | 7     | <0.05   |
| 10   | Ethylbenzene         | 0.566            | 10.7  | <0.001  |
| 12   | Isopropylamine       | 0.588            | 2.9   | <0.001  |
| 13   | 2-Hexanone           | 0.581            | 7.2   | <0.01   |
| 15   | 1-Pentanol           | 0.613            | 7     | <0.01   |
| 24   | Hexanal              | 0.762            | 2     | <0.05   |
| 35   | 1-Butanol            | 0.69             | 2.3   | <0.05   |
| 40   | NN                   | 0.606            | 6.9   | <0.05   |
| 53   | NN                   | 0.784            | 3.2   | <0.05   |
| 66   | Cyclohexanone        | 0.699            | 11.8  | <0.001  |
| 67   | 2-Heptanol           | 0.667            | 12.1  | <0.05   |
| 95   | NN                   | 0.791            | 93.7  | <0.01   |

表 1. 肺癌で有意に上昇していた VOC peak .

n-Dodecan から始まる Decision tree を併用し肺癌と健常者を感度および特異度が約 90%

で分ける事ができた。n-Dodecane が肺癌と健常者（感度 90%、特異度 69%）で有意に上昇しており、欧米の報告の再現性が確認できた。

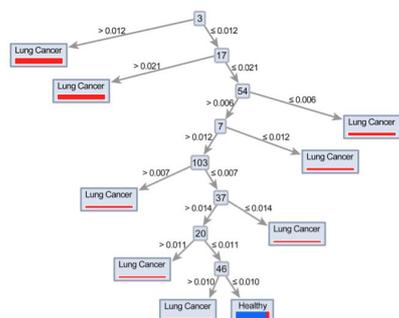


図 3. 肺癌患者と健常者の Decision tree.

更に肺癌の組織型（腺癌、扁平上皮癌、小細胞癌）の 3 つに分け Decision tree を用いて 3 つの VOC peak で組織型毎に分けることが可能であった。

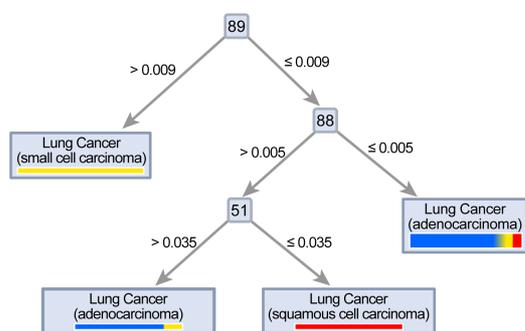


図 4. Decision tree を用いた肺癌の組織型の解析.

15名のEGFR 遺伝子変異陽性患者と 17名の陰性患者の n-Dodecane の VOC peak を解析したところ感度 53%、特異度 100%、 $p < 0.01$  と有意差をもって上昇していた。

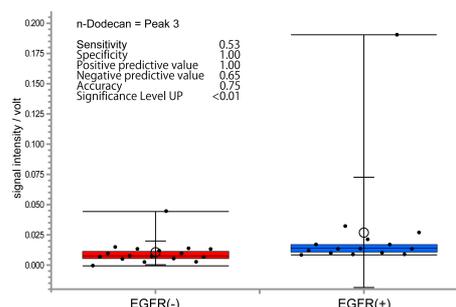


図 5. EGFR 遺伝子変異の解析結果.

しかし、気管支鏡下でサンプリングを行った結果は、キシロカインなどの他の VOC の混入が多く正しい解析ができなかった。今後、肺癌術前後での VOC の変化をもとに肺癌に特異的な VOC パターンを同定する予定である。

## 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 0 件)

〔学会発表〕(計 3 件)

Handa H, Inoue T, Yonemura Y, Maddula S, Baumbach JI, Miyazawa T. Volatile metabolites arising from lung cancer in Japan, Breath Analysis Summit 2013, Jun 2013. Saarbrucken, Germany.

Handa H, Miyazawa T, Morikawa K, Inoue T, Furuya N, Kida H, Nishine H, Nobuyama S, Inoue T, Mineshita M, Hiramoto T. Detection of lung cancer using ion mobility spectrometry in Japan: pilot study, ERS annual congress, Sep 2012. Amsterdam, Netherland.

半田寛, 井上哲兵, 森川慶, 古屋直樹, 木田博隆, 西根広樹, 延山誠一, 井上健男, 峯下昌道, 宮澤輝臣. 肺癌におけるイオン移動度分光測定式探知器(IMS)による呼気分析の検討, 第 52 回日本呼吸器学会学術講演会, 2012 年 4 月、神戸、日本.

〔図書〕(計 1 件)

半田寛, 宮澤輝臣. 癌・腫瘍学 肺癌の呼気分析による診断医学のあゆみ 2012; 240: 933-935. 医歯薬出版株式会社.

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
出願年月日:  
国内外の別:

取得状況(計 0 件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
取得年月日:  
国内外の別:

〔その他〕  
ホームページ等

## 6. 研究組織

(1)研究代表者

半田 寛 (HANDA, HIROSHI)  
聖マリアンナ医科大学 医学部・助教

研究者番号：6 0 6 3 6 2 6 5

(2)研究分担者

( )

研究者番号：

(3)連携研究者

( )

研究者番号：