

京都大学	博士 (医学)	氏名	中山 美恵
論文題目	Breast cancer detection using volatile compound profiles in exhaled breath via selected ion-flow tube mass spectrometry (SIFS-MS を用いた呼気ガス分析による乳がんの検出について)		
(論文内容の要旨)			
<p>乳がんは女性の中で高い致死率を示す疾患である。乳がんの早期発見は生命予後を改善する。現在、乳がんの検査方法は、マンモグラフィ・超音波・PET 検査、腫瘍マーカーがあげられる。非侵襲的な検査方法として、尿中のバイオマーカー測定その他呼気中の化合物検査等の報告がある。本研究は、SIFT-MS (C 1 イオン選択型質量分析器) を使用し呼気中の揮発性物質を分析することにより、非侵襲的に乳がんを検出することを目的としたものである。SIFT-MS は高感度・高選択性で直接呼気中の化合物を分析することができる機器である。本研究では SIFT-MS を使用して乳がんの患者 4 5 名と対照群として乳がんでない患者 (非乳がん患者) 5 1 名の呼気を分析した。乳がん患者は無治療の方を対象とし、非乳がん患者は所見なしもしくは良性の所見のある患者を対象とした。呼気採取前に、喫煙歴、飲酒歴、既往歴、歯磨き歴、うがいの有無等の問診を行い、呼気は 2 L 採取し、検体は採取後 3 時間以内に測定を行った。呼気は分位数で正常化し、それぞれの呼気中の化合物濃度を Z スコアに変換した。呼気中の化合物の分析結果は heatmap と volcano plot にて示した。また Mann-Whitney 検定を用いて乳がんの患者と非乳がん患者の化合物を比較し、PCA (主成分分析) を用いてすべての分析結果を評価し、乳がんの患者と非乳がん患者の患者を判別する複数の化合物から MLR (多重線形回帰) モデルを作成した。その後 Cross validation を行いモデルの一般化を行った。Heatmap では、数種類の化合物が高く検出されており、乳がん患者と非乳がん患者との間で有意差を認めていなかった。解析の結果 6 7 の化合物が検出され、volcano plot では乳がんの患者と非乳がん患者の間で 1 7 の化合物で差が認められた。乳がんの患者と非乳がん患者の間では代謝経路に差があり、グリセロリン脂質の代謝経路、エタノールアミンリン酸化、グルコース代謝に差がある。この代謝経路の差により乳がんの患者と非乳がん患者の間で呼気中の化合物に差が生じると考えられる。乳がんの患者と非乳がん患者の間に生じる 3 つの化合物の (3_7-dimethyl-2_6-ctadien-1-ol, ethanalamine, ethyl nonanoate) により作成した MLR モデルは、AUC が 0.719 を示している。クロスバリデーションを様々な状況で行ったが、AUC には大きな変動は認められなかった。研究の MLR モデルでは、乳がん患者において進行がん、病理学的悪性度が高いがん、増殖能が高いがんにおいては、有意差を認めた。本研究では、呼気と乳がんの代謝経路をについて評価するものではないが、これらの乳がんではがん患者に認められる代謝経路が活性化していることが理由として考えられる。喫煙は、喫煙者・非喫煙者間では ethanalamine の有意差を認めたが、喫煙者の乳がんの患者と非乳がん患者、非乳がん患者においては喫煙・非喫煙で差は認めず、喫煙と乳がん患者の呼気への影響は少ないと考えられた。</p> <p>3_7-dimethyl-2_6-ctadien-1-ol, ethanalamine, ethyl nonanoate の 3 つの化合</p>			

物を選定してモデルを作成したが、3\_7-dimethyl-2\_6-ctadien-1-ol は皮膚からも検出されるので今回は除外された。

SIFT-MS は 672 の化合物のピークを検出し、乳がんの患者と非乳がん患者において 6 5 の化合物で差を認めた。3 つの化合物を元に作成した MLR モデルではくステージの高い進行した乳がん、病理学的悪性度の高い乳がん、高い増殖能を示す乳がんの判別が可能であった。SIFT-MS は進行乳がん、高い増殖能を持つ乳がんを判別する非侵襲的な検査法になる可能性がある。

(論文審査の結果の要旨)

非侵襲的な乳癌診断法の開発を目指し、前処置なしに呼気中の揮発性有機化合物 (VOC) を測定できる選択イオンフローチューブ質量分析装置 (SIFT-MS) を用いて乳癌診断マーカー探索と乳癌診断モデルの作成を行った。対象は、乳癌症例 45 例、非乳癌症例 51 例。被験者から呼気 2L を採取し SIFT-MS による分析を行った。乳癌と非乳癌の 2 群間で定量された各ピークのシグナル強度を Mann-Whitney U test にて比較した。Stepwise 法を用いて変数選択し、ロジスティック回帰を用いて乳癌症例を非乳癌症例から識別するモデルを作成し、交差検証でモデルの識別能の汎化能力を評価した。結果は、乳癌と非乳癌の間で 65 ピークのシグナル強度に有意差を認め、更に False discovery rate で P 値補正後は 17 ピークに有意差を認めた。この中から選ばれた 3 ピークを用いて作成した乳癌識別モデルの ROC 曲線下面積 (AUC) は 0.719、感度 86.3%、特異度 55.6%、陽性適中率 68.8%、陰性適中率は 78.1% であり、交差検証で AUC 値の変動は軽度であった。予測値は乳癌のステージ上昇に伴い上昇する傾向にあった。また、予測値は乳癌のステージ上昇に伴い上昇する傾向もあり、今後、異なる装置や対象において、物質同定の検証、再現性の確認を行い、症例数を増やし汎化能評価を行う必要があるものの、SIFT-MS を用いた呼気ガス分析で乳癌を識別できる可能性が示唆された。

以上の研究は非侵襲的な乳癌診断方法の開発に貢献し、乳癌研究の発展に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士 (医学) の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、令和 5 年 2 月 24 日実施の論文内容とそれに関連した研究分野並びに学識確認のための試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日以降