

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2016-504591
(P2016-504591A)

(43) 公表日 平成28年2月12日(2016.2.12)

(51) Int.Cl. F I テーマコード(参考)
GO 1 N 33/497 (2006.01) GO 1 N 33/497 A 2 G O 4 5

審査請求 有 予備審査請求 未請求 (全 24 頁)

(21) 出願番号 特願2015-550302 (P2015-550302)
(86) (22) 出願日 平成25年12月19日 (2013.12.19)
(85) 翻訳文提出日 平成27年8月20日 (2015.8.20)
(86) 国際出願番号 PCT/KR2013/011848
(87) 国際公開番号 W02014/104649
(87) 国際公開日 平成26年7月3日 (2014.7.3)
(31) 優先権主張番号 10-2012-0153283
(32) 優先日 平成24年12月26日 (2012.12.26)
(33) 優先権主張国 韓国 (KR)

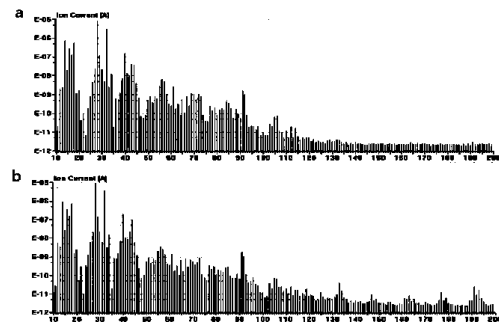
(71) 出願人 508033465
アール バイオ カンパニー リミテッド
R B I O C O . , L T D .
大韓民国, 150-870, ソウル, ヨン
ドンポ-グ, ククウェ-デロ 76-ギ
ル, 10
(71) 出願人 511197659
ラ ジョンチャン
大韓民国, 440-300, キョンギ-ド
, スウォン-シ, チャンアン-グ, チョン
ジャ-ドン, 918, チョンソルマウル
エステ- ハンファ アパートメント, 6
26-701
(74) 代理人 100078282
弁理士 山本 秀策

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 呼吸ガスを利用した癌の診断方法

(57) 【要約】

本発明は、癌患者の呼気に特異的に含まれた揮発性有機化合物を検出することを特徴とする癌の診断方法に関し、より詳細には癌が疑われる患者から採取された呼吸ガスで癌特異VOCのイオン化断片の分子量が(i)69、(ii)131及び(iii)181である物質の有無を測定する工程を含む癌診断のための情報提供方法に関する。本発明によると、癌患者の呼気から非侵襲的に癌を高い敏感度で早期診断でき、既存の癌診断方法より経済的であり、速かに癌を診断することができる。



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

次の工程を含む、癌診断のため、呼吸ガス内イオン化断片を分析する方法：

- (a) 排出された呼吸ガスで癌特異 VOC のイオン化断片の分子量が (i) 69、(i i) 131 及び (i i i) 181 である物質を検出する工程と、
- (b) 前記検出された結果を利用して癌関連情報を取得する工程。

【請求項 2】

前記物質は、電子鼻、GC-MS 及び GC で構成された群で選択される機器を利用して、検出することを特徴とすること請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記癌特異 VOC は、perfluorodecanoic acid、Perfluoro-n-pentanoic acid、perfluorononanoic acid、perfluorooctanoic acid、perfluoro-1-heptene、perfluorocyclohexane、1H, 1H-Perfluoro-1-heptanol、octafluorocyclobutane、perfluoro(methylcyclohexane) 及びこれらの混合物で構成される群から選択されることを特徴とすること請求項 1 に記載の方法。

10

【請求項 4】

前記 (a) 工程で、癌特異 VOC のイオン化断片の分子量が 51、63、79、101、113、129、147、151 及び 199 で構成される群から選択される物質を追加的に検出することを特徴とすること請求項 1 に記載の方法。

20

【請求項 5】

前記癌は、脳腫瘍、頭頸部腫瘍、乳癌、甲状腺癌、肺癌、胃癌、肝癌、膵臓癌、小腸癌、大腸（直腸）癌、腎臓癌、前立腺癌、子宮頸部癌、子宮内膜癌及び卵巣癌で構成される群から選択される癌であることを特徴とすること請求項 1 に記載の方法。

【請求項 6】

次の工程を含む癌診断のための情報提供方法：

- (a) 排出された呼吸ガスで癌特異 VOC のイオン化断片の分子量が (i) 69、(i i) 131 及び (i i i) 181 である物質を検出する工程と、
- (b) 前記検出された結果を利用して癌関連情報を取得する工程。

30

【請求項 7】

前記物質は、電子鼻、GC-MS 及び GC で構成された群で選択される機器を利用して、検出することを特徴とすること請求項 6 に記載の方法。

【請求項 8】

前記癌特異 VOC は、perfluorodecanoic acid、Perfluoro-n-pentanoic acid、perfluorononanoic acid、perfluorooctanoic acid、perfluoro-1-heptene、perfluorocyclohexane、1H, 1H-Perfluoro-1-heptanol、octafluorocyclobutane、perfluoro(methylcyclohexane) 及びこれらの混合物で構成される群から選択されることを特徴とすること請求項 6 に記載の方法。

40

【請求項 9】

前記 (a) 工程で、癌特異 VOC のイオン化断片の分子量が 51、63、79、101、113、129、147、151 及び 199 で構成される群から選択される物質を追加的に検出することを特徴とすること請求項 6 に記載の方法。

【請求項 10】

前記癌は、脳腫瘍、頭頸部腫瘍、乳癌、甲状腺癌、肺癌、胃癌、肝癌、膵臓癌、小腸癌、大腸（直腸）癌、腎臓癌、前立腺癌、子宮頸部癌、子宮内膜癌及び卵巣癌で構成される群から選択される癌であることを特徴とすること請求項 6 に記載の方法。

【請求項 11】

50

癌が疑われる患者から採取された呼吸ガスで *perfluorodecanoic acid*、*Perfluoro-n-pentanoic acid*、*perfluorononanoic acid*、*perfluorooctanoic acid*、*perfluoro-1-heptene*、*perfluorocyclohexane*、*1H, 1H-Perfluoro-1-heptanol*、*octafluorocyclobutane* 及び *perfluoro(methylcyclohexane)* で構成される群から選択される癌特異 VOC の有無を測定する工程を含む、癌診断のための情報提供方法。

【請求項 12】

前記測定は、電子鼻、GC-MS 及び GC で構成された群から選択される機器を利用して行うことを特徴とすること請求項 11 に記載の方法。

10

【請求項 13】

前記癌は、脳腫瘍、頭頸部腫瘍、乳癌、甲状腺癌、肺癌、胃癌、肝癌、膵臓癌、小腸癌、大腸（直腸）癌、腎臓癌、前立腺癌、子宮頸部癌、子宮内膜癌及び卵巣癌で構成される群から選択される癌であることを特徴とすること請求項 11 に記載の方法。

【請求項 14】

癌診断のため、癌が疑われる患者から採取された呼吸ガスで *perfluorodecanoic acid*、*Perfluoro-n-pentanoic acid*、*perfluorononanoic acid*、*perfluorooctanoic acid*、*perfluoro-1-heptene*、*perfluorocyclohexane*、*1H, 1H-Perfluoro-1-heptanol*、*octafluorocyclobutane* 及び *perfluoro(methylcyclohexane)* で構成される群から選択される癌特異 VOC の有無を測定する工程を含む、癌診断方法。

20

【請求項 15】

前記測定は、電子鼻、GC-MS 及び GC で構成された群から選択される機器を利用して行うことを特徴とすること請求項 14 に記載の方法。

【請求項 16】

前記癌は、脳腫瘍、頭頸部腫瘍、乳癌、甲状腺癌、肺癌、胃癌、肝癌、膵臓癌、小腸癌、大腸（直腸）癌、腎臓癌、前立腺癌、子宮頸部癌、子宮内膜癌及び卵巣癌で構成される群から選択される癌であることを特徴とすること請求項 14 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

30

【技術分野】

【0001】

本発明は、癌患者の呼気に特異的に含まれた揮発性有機化合物を検出することを特徴とする癌の診断方法に関し、より詳しくは癌が疑われる患者から採取された呼吸ガスで癌特異 VOC のイオン化断片の分子量が (i) 69、(ii) 131 及び (iii) 181 である物質の有無を測定する工程を含む癌診断のための情報提供方法に関する。

【背景技術】

【0002】

乳癌は、世界的に女性で最も発生頻度が高い癌の一つとして知られている。しかし、早期診断をして手術などの適切な治療を行った場合、生存率は、他の癌腫に比べて高いと知られている。乳癌を診断できる方法は、一般に X 線を利用するマンモグラフィー (*mammography*)、超音波検査、乳房磁気共鳴 (MRI) 等の *diagnostic imaging* 技術、組織検査 (*biopsy*)、そして自己診断法などがある。マンモグラフィー (*mammography*) の場合、費用的な側面、そして放射線を利用するという点で短所が指摘されている。乳房磁気共鳴 (MRI) は、放射線を使わない安全な方法で、他の *diagnostic imaging* 技術に比べて優秀な方法であるが、高価な費用が大衆的な乳癌診断法になる障害要素である。また、組織検査は、正確な癌診断ができるが、費用的側面、傷跡が残る点を考慮すると、早期診断法として普遍化するには難しい側面があると見ている。

40

【0003】

50

最近発表された国家癌統計によると、2009年一年にだけ約3万2千人の新しい甲状腺癌患者が発生することが明らかになって、すべての癌種をあわせて1位を占めた。これは我が国の癌発生患者の約17%を占める程度であり、これからはさらに増えるものと見られる。しかし、甲状腺癌は、予後が非常に良い癌と知られていて、多くの甲状腺癌は、完治が可能であるが一部の甲状腺癌は、非常に攻撃的性向を見せることがあるため、早期発見が重要である。診断は、主に臨床的、血液検査所見、映像的評価から始め、細針吸入検査や手術を介して病理学的に確診に達する。しかし、このような診断は、いずれも侵襲的で高価な方式であり、容易にできるものではなく、より普遍的で経済的な診断方法が求められる。これが、呼吸の甲状腺癌診断は、非侵襲的で経済的な診断方法といえる。

【0004】

癌疾患の簡単な、non-invasiveな早期診断法として、肺癌、乳癌、頭頸部癌 (head and neck cancer) 等の癌患者の呼気 (exhaled breath) に含まれている癌特異的揮発性有機化合物 (volatile organic compounds、VOC) を検出する方法に対する研究が活発に進められている。しかし、この呼気を利用した癌の早期診断法は、まだ広く利用されていない。その理由は、呼気の多くは窒素、酸素、二酸化炭素などで形成されていて、呼気中に含まれた揮発性有機化合物 (volatile organic compounds、VOC) の濃度が nanomolar (10^{-9} M) 或いは picomolar (10^{-12} M) 程度で非常に低く、その中で癌特異的成分を探すことはかなり難しいためである。しかし、最近では電子鼻 (electronic Nose) 等嗅覚センサー技術の発達でヒトの呼気や小便に含まれた特定揮発性有機化合物 (volatile organic compounds、VOC) が色々な病気、特に癌の指標物質として活用される可能性に対する研究が進められている。

【0005】

過度な酸化ストレスによって発生する物質が、乳癌をはじめとする数種の癌の原因になると知られていて、酸化ストレスは、ミトコンドリア内のROS (reactive oxygen species) の量を増加させて、細胞質にこれらが流出するようにしてDNA、タンパク質などを酸化させて、特に polyunsaturated fatty acid の脂質過酸化を誘発させる。このような脂質過酸化から発生する物質は、alkane (C_4C_{20}) compound、methylalkane compound などのVOCで、このようなVOCは、細胞組織から血液循環系に伝達されてこれらの中一部は、肺胞から呼気 (alveolar exhaled breath) として排出されるようになる。

【0006】

今までの研究報告によれば、呼気 (exhaled breath) で検出される乳癌特異的VOCは、alkane (nonane)、methylalkane (5-methyl tridecane等) compound (Michael Phillips, MD, The Breast Journal, 9:184, 2003) の他にも 2-propanol, 2,3-dihydro-1-phenyl-4(1H)-quinazolinone、1-phenyl-ethanone、heptanol、isopropylmyristate などが存在する (Michael Phillips, MD, Breast Cancer Research and Treatment, 99:19, 2006)。また、3,3-dimethylpentane、2-amino-5-isopropyl-8-methyl-1-azulene carbonitrile、5-(2-methylpropyl)nonane、2,3,4-trimethyldecane、6-ethyl-3-octyl ester 2-trifluoromethyl benzoic acid (Hossam Haick, British Journal of Cancer, 103:542, 2010) などの知られた発ガン性物質が、乳癌患者の呼吸サンプルで検出されたが、呼吸検出による診断方法に適用することは難しい実情であった。

10

20

30

40

50

【0007】

このような事項を考慮すると、国内でも乳癌の場合、早期診断が可能で経済的な側面でも簡単に接近できるnon-invasiveな診断法の開発が切に求められる。

そこで、本発明者等は、診断費用が少なくて済み、非侵襲性(non-invasive)である癌の早期診断法を開発しようと鋭意努力した結果、癌患者の呼気(exhaled breath)に特異的に含まれている癌特異的揮発性有機化合物(breast cancer-specific volatile organic compounds、VOC)を質量分析計を基にした電子鼻(Electronic Nose based on Mass spectrometer)を利用して確認して、前記癌特異的揮発性有機化合物の有無を検出して、癌を診断する方法を開発して、本発明を完成することになった。

10

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0008】

【非特許文献1】Michael Phillips, MD, The Breast Journal, 9:184, 2003

【非特許文献2】Michael Phillips, MD, Breast Cancer Research and Treatment, 99:19, 2006

【非特許文献3】Hossam Haick, British Journal of Cancer, 103:542, 2010

20

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0009】

本発明の目的は、癌患者の呼気に含まれている揮発性有機化合物を分析することを特徴とする非侵襲性(non-invasive)である癌の早期診断法を提供するところにある。

【課題を解決するための手段】

【0010】

前記目的を達成するために、本発明は(a)排出された呼吸ガスで癌特異VOCのイオン化断片の分子量が(i)69、(ii)131及び(iii)181である物質を検出する工程と、(b)前記検出された結果を利用して癌関連情報を取得する工程と、を含む、呼吸ガス内イオン化断片を分析して、癌を診断する方法を提供する。

30

【0011】

本発明はまた、(a)排出された呼吸ガスで癌特異VOCのイオン化断片の分子量が(i)69、(ii)131及び(iii)181である物質を検出する工程と、(b)前記検出された結果を利用して癌関連情報を取得する工程と、を含む癌診断のための情報提供方法を提供する。

【0012】

本発明はまた、癌が疑われる患者から採取された呼吸ガスでperfluorodecanoic acid、Perfluoro-n-pentanoic acid、perfluorononanoic acid、perfluorooctanoic acid、perfluoro-1-heptene、perfluorocyclohexane、1H, 1H-Perfluoro-1-heptanooctafluorocyclobutane及びperfluoro(methylcyclohexane)で構成される群から選択される癌特異VOCの有無を測定する工程を含む、癌診断のための情報提供方法を提供する。

40

【0013】

本発明はまた、癌が疑われる患者から採取された呼吸ガスでperfluorodecanoic acid、Perfluoro-n-pentanoic acid、perfluorononanoic acid、perfluorooctanoic acid

50

、perfluoro-1-heptene、perfluorocyclohexane、1H,1H-Perfluoro-1-heptanol、octafluorocyclobutane及びperfluoro(methylcyclohexane)で構成される群から選択される癌特異VOCの有無を測定する工程を含む、癌診断方法を提供する。

【0014】

本発明の他の特徴及び具現例は、以下の詳細な説明及び添付された特許請求範囲からより一層明白になる。

【図面の簡単な説明】

【0015】

【図1】電子鼻を利用した健常者と乳癌患者の呼気に含まれた揮発性有機化合物を分析した結果を示したもので、(a)は健常対照群の呼気に含まれた化合物に対する結果であり、(b)は乳癌患者の呼気に含まれた化合物に対する結果である。

【図2】GC-MSを利用した健常者と乳癌患者の呼気に含まれた揮発性有機化合物を分析した結果を示したもので、(a)は健常対照群の呼気に含まれた化合物に対する結果であり、(b)は乳癌患者の呼気に含まれた化合物に対する結果である。

【図3】乳癌患者の呼気サンプルのGC-MS結果をデータベースを利用して解釈する方法を示した。

【図4】GC-MSを利用した健常者と甲状腺癌患者の呼気に含まれた揮発性有機化合物を分析した結果を示したもので、(a)は乳癌患者の呼気に含まれた化合物に対する結果であり、(b)は健常対照群の呼気に含まれた化合物に対する結果である。

【発明を実施するための形態】

【0016】

他の方式で定義されない限り、本明細書において使用されたあらゆる技術的・科学的用語は、本発明が属する技術分野に熟練した専門家によって通常理解されるものと同じ意味を有する。通常、本明細書において使用された命名法は、本技術分野において周知であり、しかも汎用されるものである。

【0017】

一観点において、本発明は、(a)排出された呼吸ガスで癌特異VOCのイオン化断片の分子量が(i)69、(ii)131及び(iii)181である物質を検出する工程と、(b)前記検出された結果を利用して癌関連情報を取得する工程と、を含む、呼吸ガス内イオン化断片を分析して、癌を診断する方法に関する。

【0018】

本発明では、癌患者の呼気で特異的に含まれている揮発性有機化合物(VOC)を確認して、前記揮発性有機化合物を検出して癌診断に利用する方法を開発した。

【0019】

このような、呼気のVOCの検出のために本発明の様態では電子鼻とGC-MSを用いたが、本発明では呼気に存在する特定VOCを検出できる分析機器ならば制限することなく用いられる。

【0020】

電子鼻は、ヒトの鼻の嗅覚機能をデジタル化したもので、Multi-sensor Array技術を利用して、特定香りまたは臭い成分とそれぞれのセンサーでの電気化学的反応を電気信号で示したものである。本発明では、質量分析計と連結された電子鼻であるSmartNose300(Switzerland)を用いた。

【0021】

本発明で電子鼻は質量分析計(Mass-Spectrometer)が装着されていることを特徴とすることができ、ガスの検出は、電子鼻に装着された質量分析計を利用して測定することを特徴とすることができる。

【0022】

また、本発明は、電子鼻、GC-MS(gas chromatography-mass spectrometry)及びGC(

10

20

30

40

50

gas chromatography)で構成された群で選択される機器を利用して、前記物質を検出することを特徴とすることができる。

【0023】

本発明の様態では、乳癌及び健常者の呼気を採取して、電子鼻を解して分析した結果、健常者と乳癌患者から、異なるパターンのVOCプロファイルを確認して、これをGC-MSで再確認して、イオン化断片の分子量が(i)69、(ii)131及び(iii)181である物質が乳癌患者から特異的を検出されることを確認した。

【0024】

本発明の他の様態では、甲状腺癌患者の呼気をGC-MSで分析した結果、イオン化断片の分子量が(i)69、(ii)131及び(iii)181である物質が検出されることを確認した。

10

【0025】

本発明において、前記(a)工程で、癌特異VOCのイオン化断片の分子量が51、63、79、101、113、129、147、151及び199で構成される群から選択される物質を追加的に検出することを特徴とすることができる。

【0026】

従って、本発明の癌診断方法は、脳腫瘍、頭頸部腫瘍、乳癌、甲状腺癌、肺癌、胃癌、肝癌、膵臓癌、小腸癌、大腸(直腸)癌、腎臓癌、前立腺癌、子宮頸部癌、子宮内膜癌及び卵巣癌で構成される群から選択される癌を診断することができる。

【0027】

本発明において、イオン化断片の分子量が、(i)69、(ii)131及び(iii)181である物質である化合物は、perfluorodecanoic acid、Perfluoro-n-pentanoic acid、perfluorononanoic acid、perfluorooctanoic acid、perfluoro-1-heptene、perfluorocyclohexane、1H,1H-Perfluoro-1-heptanol、octafluorocyclobutane、perfluoro(methylcyclohexane)及びこれらの混合物で構成される群から選択されることを特徴とすることができる。

20

前記化合物の特徴は下記の通りである。

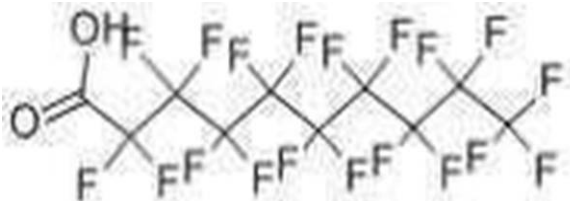
1) Perfluorodecanoic acid

組成式： $C_{10}HF_{19}O_2$

分子量：514.08

CAS登録番号：335-76-2

【化1】



30

40

【0028】

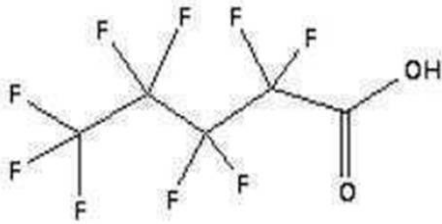
2) Perfluoro-n-pentanoic acid

組成式： $C_5HF_9O_2$

分子量：264

CAS登録番号：2706-90-3

【化2】



【0029】

10

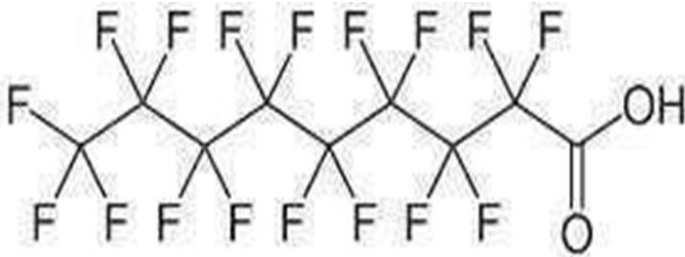
3) perfluorononanoic acid

組成式： $C_9HF_{17}O_2$

分子量：464

CAS登録番号：375-95-1

【化3】



20

【0030】

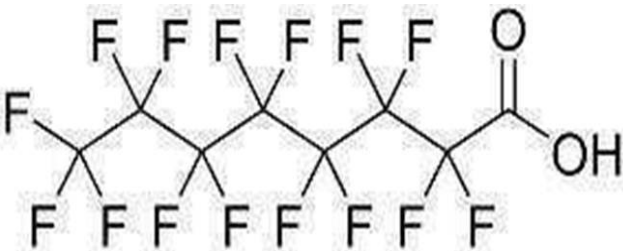
4) perfluorooctanoic acid

組成式： $C_8HF_{15}O_2$

分子量：414

CAS登録番号：335-67-1

【化4】



30

【0031】

5) perfluoro-1-heptene

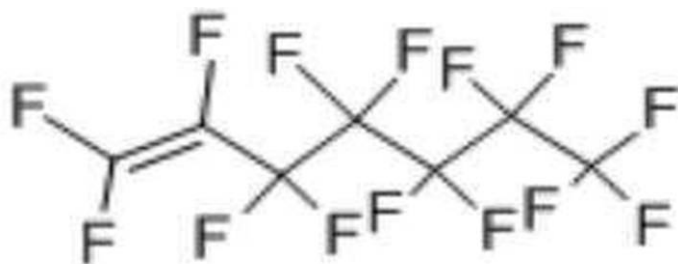
組成式： C_7F_{14}

分子量：350

CAS登録番号：355-63-5

40

【化5】



【0032】

50

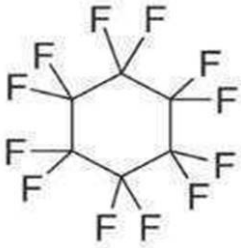
6) perfluorocyclohexane

組成式： C_6F_{12}

分子量：300

CAS登録番号：355-68-0

【化6】



10

【0033】

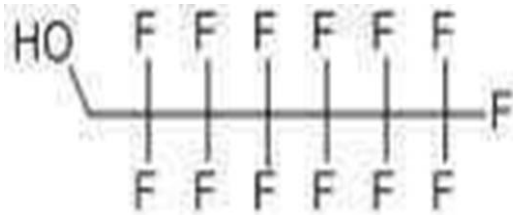
7) 1H, 1H-Perfluoro-1-heptanol

組成式： $C_7H_3F_{13}$

分子量：350

CAS登録番号：375-82-6

【化7】



20

【0034】

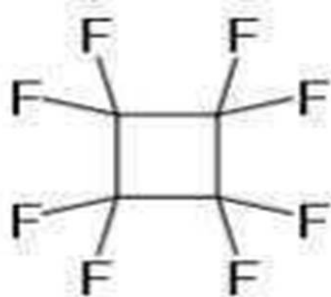
8) octafluorocyclobutane

組成式： C_4F_8

分子量：200

CAS登録番号：115-25-3

【化8】



30

40

【0035】

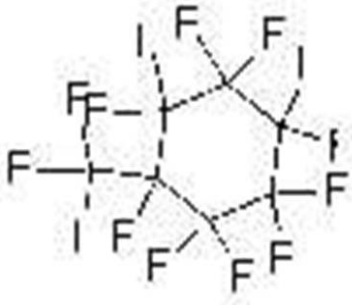
9) perfluoro(methylcyclohexane)

組成式： C_7F_{14}

分子量：350

CAS登録番号：355-02-2

【化9】



【0036】

10

他の観点において、本発明は、(a) 排出された呼吸ガスで癌特異VOCのイオン化断片の分子量が(i) 69、(ii) 131及び(iii) 181である物質を検出する工程と、(b) 前記検出された結果を利用して癌関連情報を取得する工程と、を含む癌診断のための情報提供方法に関する。

【0037】

また他の観点において、本発明は、癌が疑われる患者から採取された呼吸ガスでperfluorodecanoic acid、Perfluoro-n-pentanoic acid、perfluorononanoic acid、perfluorooctanoic acid、perfluoro-1-heptene、perfluorocyclohexane、1H, 1H-Perfluoro-1-heptanoloctafluorocyclobutane及びperfluoro(methylcyclohexane)で構成される群から選択される癌特異VOCの有無を測定する工程を含む、癌診断のための情報提供方法に関する。

20

【0038】

また他の観点において、本発明は、癌が疑われる患者から採取された呼吸ガスでperfluorodecanoic acid、Perfluoro-n-pentanoic acid、perfluorononanoic acid、perfluorooctanoic acid、perfluoro-1-heptene、perfluorocyclohexane、1H, 1H-Perfluoro-1-heptanol、octafluorocyclobutane及びperfluoro(methylcyclohexane)で構成される群から選択される癌特異VOCの有無を測定する工程を含む、癌診断方法に関する。

30

【0039】

本発明において、前記測定は、電子鼻、GC-MS及びGCで構成された群から選択される機器を利用を行うことを特徴とすることができ、前記癌は、脳腫瘍、頭頸部腫瘍、乳癌、甲状腺癌、肺癌、胃癌、肝臓癌、すい臓癌、小腸癌、大腸(直腸)癌、腎臓癌、前立腺癌、子宮頸部癌、子宮内膜癌及び卵巣癌で構成される群から選択される癌であることを特徴とすることができる。

【0040】

また他の観点において、本発明は、(a) 排出された呼吸ガスで癌特異VOCのイオン化断片の分子量が(i) 69、(ii) 131及び(iii) 181である物質を検出する工程と、(b) 前記検出された結果を利用して癌関連情報を取得する工程と、を含む、呼吸ガス内イオン化断片の分子量が(i) 69、(ii) 131及び(iii) 181である物質を分析して、癌を診断する方法に関する。

40

【0041】

また他の観点において、本発明は、癌が疑われる患者から採取された呼吸ガスでperfluorodecanoic acid、Perfluoro-n-pentanoic acid、perfluorononanoic acid、perfluorooctanoic acid、perfluoro-1-heptene、perfluorocyclohexane、1H, 1H-Perfluoro-1-heptanoloctafluorocyclobutane及びperfluoro(methylcyclohexane)で構成される群から選択される癌特異VOCの有無を測定する工程を含む、癌診断方法に関する。

50

tafluorocyclobutane及びperfluoro(methylcyclohexane)で構成される群から選択される癌特異VOCの有無を測定する工程を含む、癌の診断方法に関する。

【実施例】

【0042】

以下、本発明を実施例を挙げて詳述する。これらの実施例は単に本発明をより具体的に説明するためのものであり、本発明の範囲がこれらの実施例に制限されないことは当業者において通常の知識を有する者にとって自明である。

【実施例1】

【0043】

癌患者の呼気サンプリング及び電子鼻を利用した分析

乳癌患者の呼吸は、建国(コングク)大病院乳癌センターで乳癌診断を受けてまだ手術を受けなかった入院患者を対象に手術直前に呼吸を受けた。乳癌患者の呼吸は、62人の呼吸を受けて、健常者の呼吸は、アールアンドエルバイオ幹細胞相談員が健常顧客1000人の呼吸を採取した。

【0044】

呼気のサンプリングは、呼気採取bag(H.pylori検査用呼気採取バック0.5liter、大塚製薬、日本)を用いて、乳癌患者の呼気及び健常対照群の呼気(alveolarbreathportion)を採取した。呼気をサンプリングした乳癌患者は、他の診断方法で乳癌と確診されて患者であり、乳癌手術前の患者を選択して、呼気採取バックに採取された呼気(exhaledbreath)を電子鼻(electronicNose、(SMartNose300、SmartNose、Marin-Epagnier、Switzerland))を利用して、電子鼻のセンサーによって検出されたシグナルパターンをパターン認識アルゴリズムソフト(patternrecognitionalgorithmsoftware)を介して癌患者呼吸サンプルと健常対照群の呼吸サンプルのパターンにおける差(difference)を解明した。

【0045】

乳癌患者と健常対照群の呼気サンプルを100mLをindexsyringeに捕集して吸着させた。

【0046】

吸着した試料を電子鼻の注入口の温度が200である状態で注入した。この時用いたガスは、窒素(99.999%)であり、分当り230mlの流速で流した。データ収集時間は、3分であり、分析後purgeは3分間持続して、各試料の間でのpurgeも3分間を維持した。

【0047】

分析に用いた電子鼻(SMartNose300、SmartNose、Marin-Epagnier、Switzerland)は、質量分析計(QuadrupoleMassSpectrometer、BalzersInstruments、Marin-Epagnier、Switzerland)が連結されているもので、揮発性物質は、70eVでイオン化させて、180秒間生成されたイオン物質を四重極(quadrupole)質量フィルターを経た後、特定質量範囲(10~200amu)に属する物質を整数単位で測定して、channel数として用いた。channel数は、10-200amuで合計190個である。

【0048】

その結果、図1に示したように、健常対照群と乳癌群で差別性を見せる分子量値を探すことができる。差別性を見せる分子量は、51、63、69、79、93、101、113、129、131、147、151、161、181、199等である。

【0049】

前記のような分子量を持つfragment(質量分析に当たり試料を電子衝撃或いはイオン分子反応等でイオン化した時生成される一定の質量/電荷(m/e)比を持つ開裂イ

10

20

30

40

50

オン、分子イオンなどの質量で分子量)を探するために、GC-MSを利用して、健常対照群と乳癌群の呼気を再び分析した。

【実施例2】

【0050】

GC-MSを利用した乳癌患者の呼気分析

実施例1の方法で呼吸バックに受けてきた呼吸ガス(呼気)をSPME(Solid-Phase microextraction)に20分間吸着させた後、呼吸ガスが吸着されたSPMEをGC-MS(島津製、GC2010、GC-MSQP2010 Plus)に注入させた。GCに用いられたオープンプログラムは、40で5分、10ずつ300まで昇温した後3分間維持させた。コラムは、H1-5%phenylmethylsiloxane(30mlength、0.25mmid.,0.25umthickness)を用いた。コラム圧力は、57.4kPaであり、流速は分当り1.1mlで、物質判読のための情報データベースは、NIST/EPA/NIHを用いた。

10

【0051】

その結果を図2に示し、癌患者の呼気で特異的に分子量69、131及び181の断片が検出されると確認された。

【0052】

GC-MS上で分子量69、131及び181の断片として検出される癌患者の呼気に特異的に存在する揮発性有機化合物を解明しようと、NIST/EPA/NIHを用いて分析した結果、下記特徴を持つ[化1]~[化9]の化合物と予想された

20

:

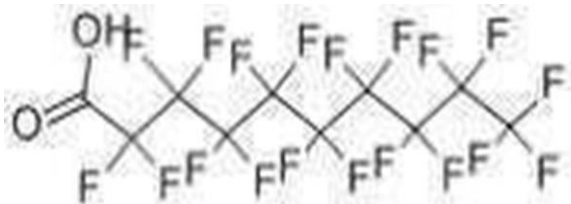
1) Perfluorodecanoic acid

組成式: $C_{10}HF_{19}O_2$

分子量: 514.08

CAS登録番号: 335-76-2

【化1】



30

【0053】

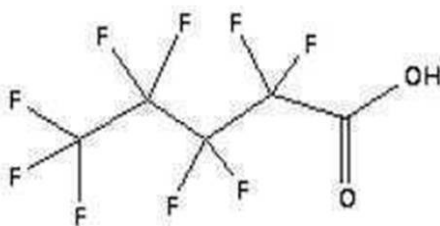
2) Perfluoro-n-pentanoic acid

組成式: $C_5HF_9O_2$

分子量: 264

CAS登録番号: 2706-90-3

【化2】



40

【0054】

3) perfluorononanoic acid

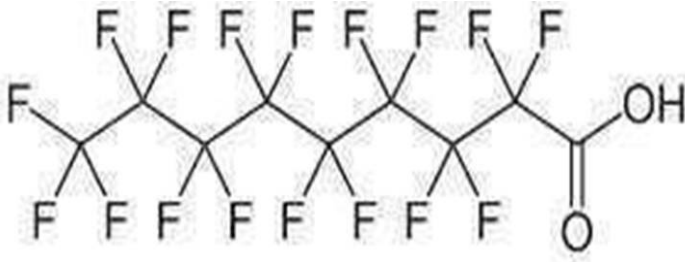
組成式: $C_9HF_{17}O_2$

分子量: 464

50

CAS 登録番号：375-95-1

【化3】



【0055】

10

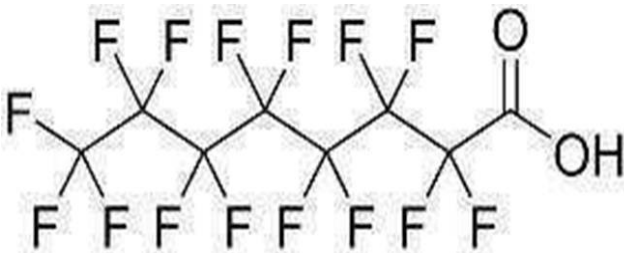
4) perfluorooctanoic acid

組成式： $C_8H_{15}O_2$

分子量：414

CAS 登録番号：335-67-1

【化4】



20

【0056】

5) perfluoro-1-heptene

組成式： C_7F_{14}

分子量：350

CAS 登録番号：355-63-5

【化5】



30

【0057】

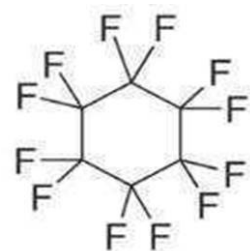
6) perfluorocyclohexane

組成式： C_6F_{12}

分子量：300

CAS 登録番号：355-68-0

【化6】



40

【0058】

50

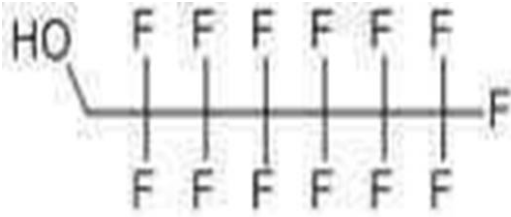
7) 1H, 1H - Perfluoro - 1 - heptanol

組成式： $C_7H_3F_{13}$

分子量：350

CAS登録番号：375 - 82 - 6

【化7】



10

【0059】

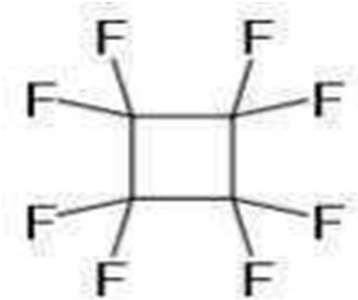
8) octafluorocyclobutane

組成式： C_4F_8

分子量：200

CAS登録番号：115 - 25 - 3

【化8】



20

【0060】

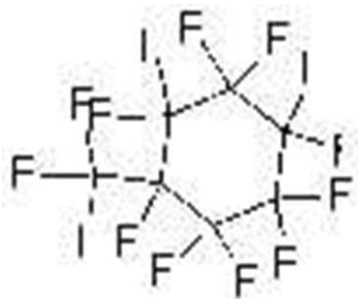
9) perfluoro(methylcyclohexane)

組成式： C_7F_{14}

分子量：350

CAS登録番号：355 - 02 - 2

【化9】



40

【0061】

乳癌患者の呼気をGC-MS分析して、分子量69、131及び181の断片が検出されるのを確認して、乳癌として診断したテスト結果を表1に示した。

【0062】

【表 1】

乳癌患者ブラインドテスト結果

	テスト結果	組織検査 結果
blind 1	乳癌	FA 線維腺腫
blind 2	乳癌	FA+Lung ca. 肺癌
blind 3	乳癌	IDC neoadjuvant 乳癌
blind 4	乳癌	FA 線維腺腫
blind 5	乳癌	IDC 乳癌
blind 6	健常者	健常者
blind 7	乳癌	IDC 乳癌
blind 8	乳癌	FCC 線維嚢胞症

10

【0063】

表 1 に示したように、健常者の場合は、GC-M S 結果で分子量 69、131 及び 181 の断片が検出されなく、乳癌または乳癌に進行中の患者の場合は、前記分子量が検出された。

【実施例 3】

20

【0064】

呼気を利用した甲状腺癌患者の診断

ソウル大病院で受けた甲状腺癌患者の呼気サンプル計 13 個（男 3 個、女 10 個）を GC-M S 分析して、実施例 2 の方法で断片分子量を確認した結果、13 個のサンプル共に分子量 69、131 及び 181 の断片が検出されるのを確認した（図 4）。

【産業上の利用可能性】

【0065】

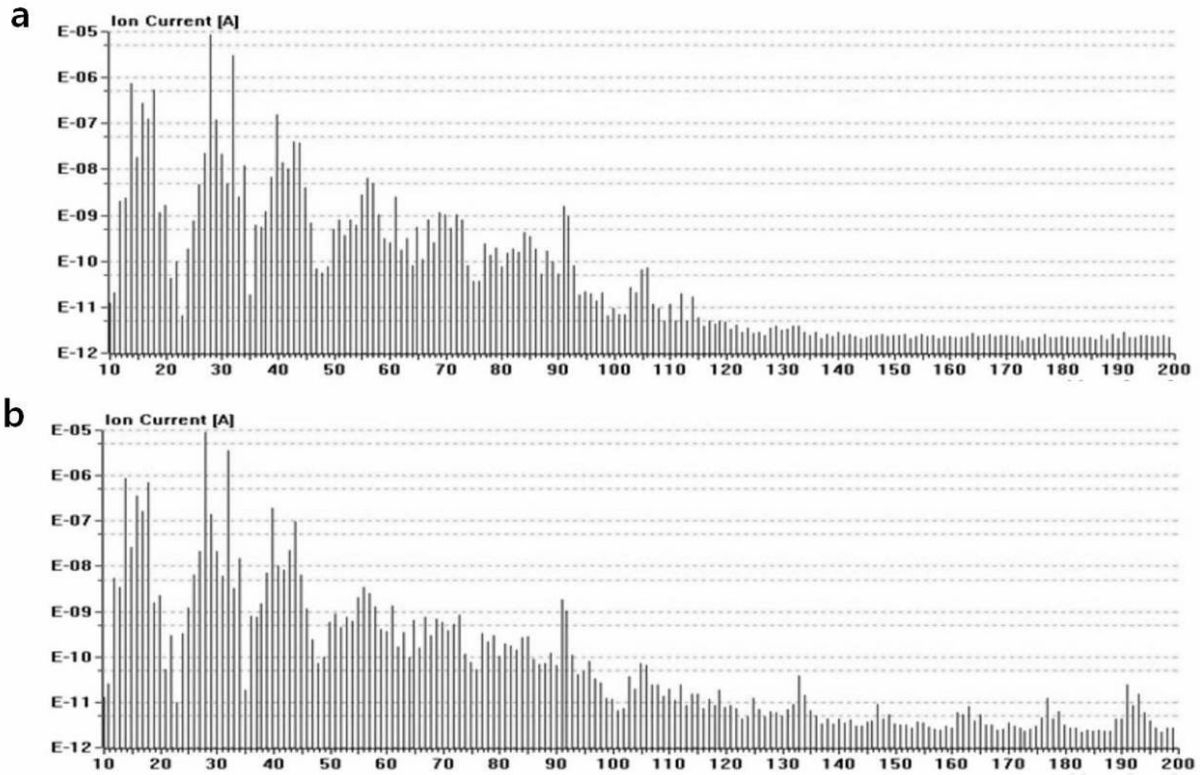
以上説明した通り、本発明によると、癌患者の呼気から非侵襲的に癌を高い敏感度で早期診断できて、既存の癌診断方法より経済的であり、速かに癌を診断することができる。

【0066】

30

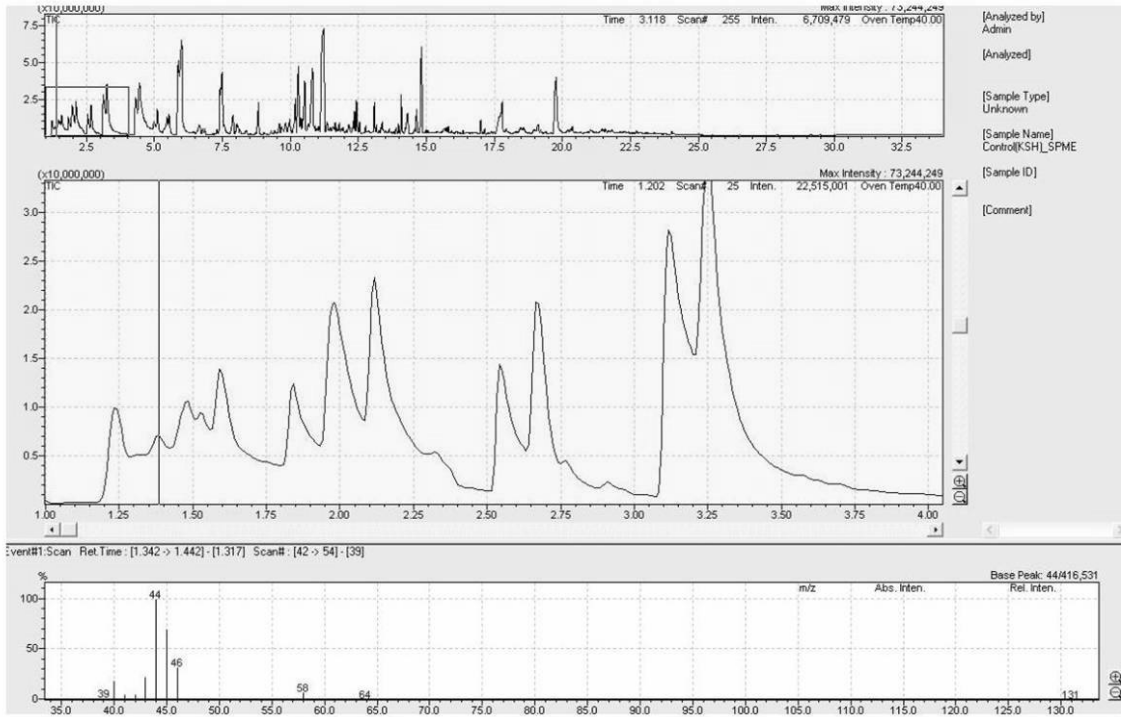
以上、本発明の内容の特定の部分を詳述したが、当業界における通常の知識を持った者にとって、このような具体的な記述は単なる好適な実施態様に過ぎず、これにより本発明の範囲が制限されることはないという点は明らかである。よって、本発明の実質的な範囲は特許請求の範囲とこれらの等価物により定義されると言える。

【 図 1 】

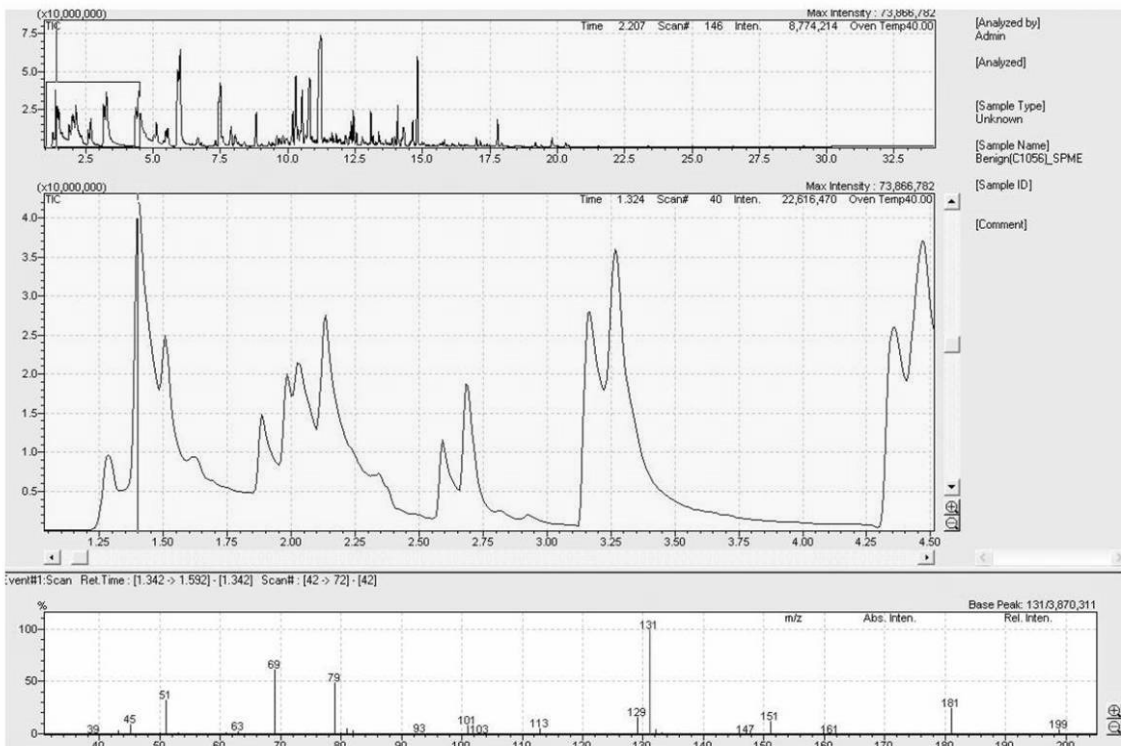


【 図 2 】

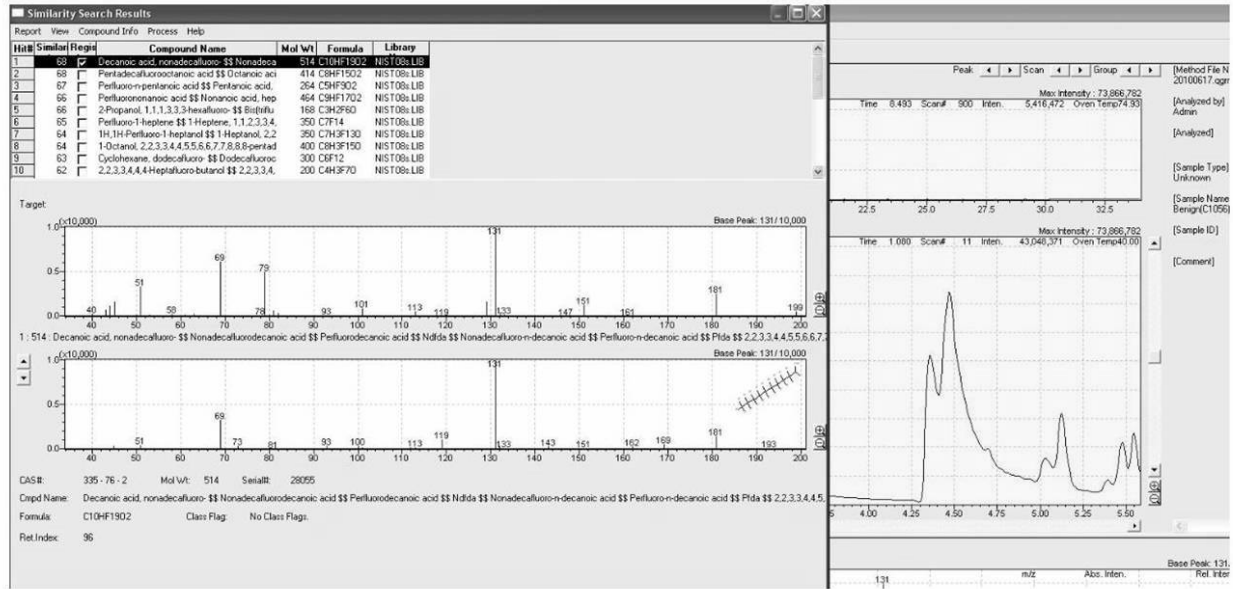
a



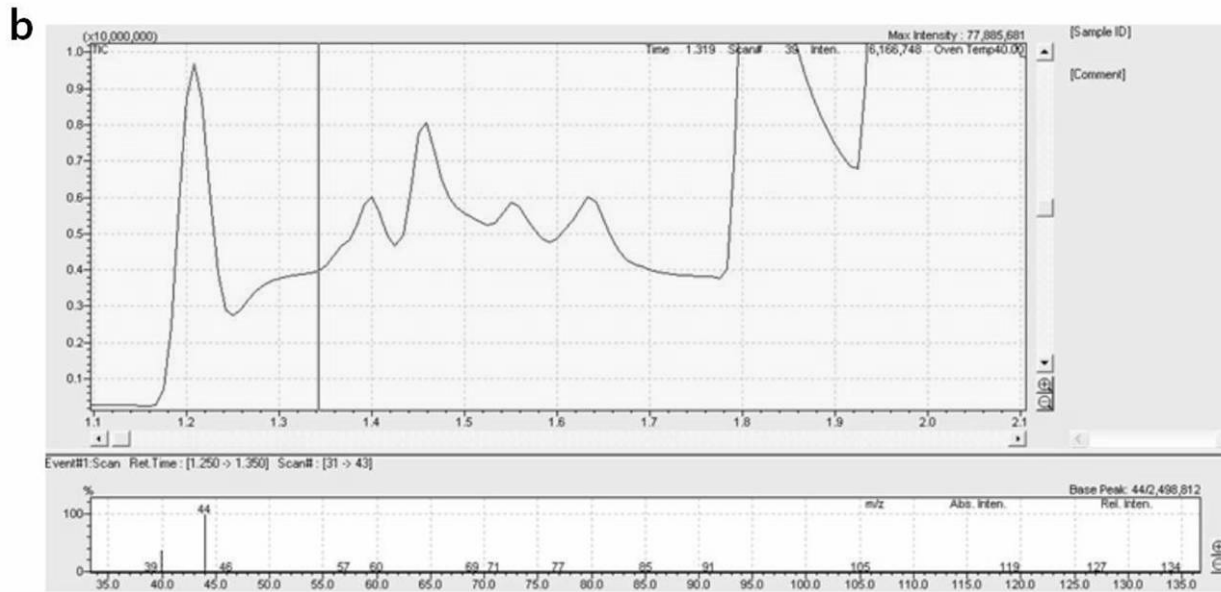
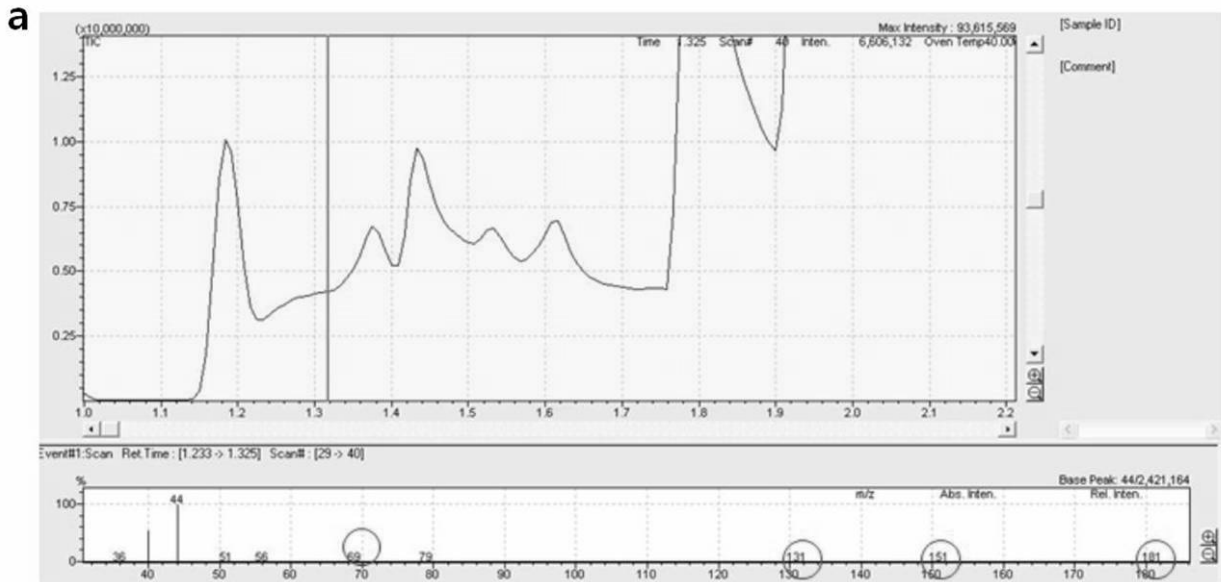
b



【 3 】



【 図 4 】




【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2013/011848

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER <i>G01N 33/497(2006.01)i, G01N 30/02(2006.01)i, G01N 30/72(2006.01)i, G01N 33/574(2006.01)i</i> According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) G01N 33/497; G06F 19/00; G01N 30/72; A61B 10/00; G01N 33/00; H01L 29/66; G01N 27/12; A61B 5/00; G01N 30/02; G01N 33/574 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Korean Utility models and applications for Utility models: IPC as above Japanese Utility models and applications for Utility models: IPC as above Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) eKOMPASS (KIPO internal) & Keywords: cancer detection, respiratory gas, VOC, ionization fragment, molecular weight, electronic nose		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	KR 10-2009-0024595 A (KIM, Sung Soo) 09 March 2009 See abstract and claims 1-5.	1-16
A	PHILLIPS, MICHAEL et al., "Volatile markers of breast cancer in the breath" The Breast Journal, 2003, vol. 9, no. 3, pages 184-191 See abstract.	1-16
A	US 2010-0198521 A1 (HAICK, Hossam) 05 August 2010 See abstract and claims 1-11.	1-16
A	KR 10-1168199 B1 (AGENCY FOR DEFENSE DEVELOPMENT) 25 July 2012 See abstract and claim 1.	1-16
A	KR 10-2012-0117802 A (THE RESEARCH FOUNDATION OF STATE UNIVERSITY OF NEW YORK) 24 October 2012 See abstract and claims 1-19.	1-16
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 20 MARCH 2014 (20.03.2014)		Date of mailing of the international search report 21 MARCH 2014 (21.03.2014)
Name and mailing address of the ISA/KR  Korean Intellectual Property Office Government Complex-Daejeon, 189 Seons-ro, Daejeon 302-701, Republic of Korea Facsimile No. 82-42-472-7140		Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2013/011848

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
KR 10-2009-0024595 A	09/03/2009	KR 10-0946436 B1	10/03/2010
US 2010-0198521 A1	05/08/2010	WO 2009-013754 A1	29/01/2009
KR 10-1168199 B1	25/07/2012	NONE	
KR 10-2012-0117802 A	24/10/2012	CA 2782559 A1	09/06/2011
		CN 102639992 A	15/08/2012
		EP 2507622 A1	10/10/2012
		JP 2013-513111 A	18/04/2013
		WO 2011-068976 A1	09/06/2011

국제조사보고서

국제출원번호

PCT/KR2013/011848

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))
G01N 33/497(2006.01)i, G01N 30/02(2006.01)i, G01N 30/72(2006.01)i, G01N 33/574(2006.01)i

B. 조사원 분야
 조사원 최소문헌(국제특허분류용 기재)
 G01N 33/497; G06F 19/00; G01N 30/72; A61B 10/00; G01N 33/00; H01L 29/66; G01N 27/12; A61B 5/00; G01N 30/02; G01N 33/574

조사원 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌
 한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사원 최소문헌란에 기재된 IPC
 일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사원 최소문헌란에 기재된 IPC

국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우))
 eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템) & 키워드: 암 진단, 호흡가스, VOC, 이온화 단편, 분자량, 전자코

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
A	KR 10-2009-0024595 A (김성수) 2009.03.09. 요약 및 청구항 1-5 참조.	1-16
A	PHILLIPS, MICHAEL et al., 'Volatile markers of breast cancer in the breath' The Breast Journal, 2003, 9권, 3호, 페이지 184-191 요약 참조.	1-16
A	US 2010-0198521 A1 (HAICK, HOSSAM) 2010.08.05. 요약 및 청구항 1-11 참조.	1-16
A	KR 10-1168199 B1 (국방과학연구소) 2012.07.25. 요약 및 청구항 1 참조.	1-16
A	KR 10-2012-0117802 A (더 리서치 파운데이션 오브 스테이트 유니버시티 오브 뉴욕) 2012.10.24. 요약 및 청구항 1-19 참조.	1-16

추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다. 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.

* 인용된 문헌의 특별 카테고리:
 "A" 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌 "T" 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌
 "E" 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌 "X" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다.
 "L" 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌 "Y" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다.
 "O" 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌
 "P" 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌 " & " 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌

국제조사의 실제 완료일 2014년 03월 20일 (20.03.2014)	국제조사보고서 발송일 2014년 03월 21일 (21.03.2014)
--------------------------------------------	-------------------------------------------

ISA/KR의 명칭 및 우편주소 대한민국 특허청 (302-701) 대전광역시 서구 청사로 189, 4동 (둔산동, 정부대전청사) 팩스 번호 +82-42-472-7140	심사관 장봉호 전화번호 +82-42-481-3353
-----------------------------------------------------------------------------------------------------------	------------------------------------

서식 PCT/ISA/210 (두 번째 용지) (2009년 7월)



국제조사보고서
대응특허에 관한 정보

국제출원번호
PCT/KR2013/011848

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
KR 10-2009-0024595 A	2009/03/09	KR 10-0946436 B1	2010/03/10
US 2010-0198521 A1	2010/08/05	WO 2009-013754 A1	2009/01/29
KR 10-1168199 B1	2012/07/25	없음	
KR 10-2012-0117802 A	2012/10/24	CA 2782559 A1	2011/06/09
		CN 102639992 A	2012/08/15
		EP 2507622 A1	2012/10/10
		JP 2013-513111 A	2013/04/18
		WO 2011-068976 A1	2011/06/09

フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), EP(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ

(74)代理人 100113413
弁理士 森下 夏樹

(74)代理人 100181674
弁理士 飯田 貴敏

(74)代理人 100181641
弁理士 石川 大輔

(74)代理人 230113332
弁護士 山本 健策

(72)発明者 ラ, ジョン - チャン
大韓民国 440 - 300 キョンギ - ド, スウォン - シ, チャンアン - グ, チョンジャ -
ドン, 918, チョンソル マウル エスケー ハンファ アパートメント, 626 - 70
1

(72)発明者 キム, ソ ヒュン
大韓民国 447 - 746 キョンギ - ド, オサン - シ, オサン - ロ 132 - 10, デリ
ム イー - ピュンハンセサン 2 - ダンジ アパートメント, 209 - 202

Fターム(参考) 2G045 AA26 CB22 DA78 FB06