



(19) 中華民國智慧財產局

(12) 發明說明書公開本

(11) 公開編號：TW 202242412 A

(43) 公開日：中華民國 111 (2022) 年 11 月 01 日

(21) 申請案號：110148710

(22) 申請日：中華民國 110 (2021) 年 12 月 24 日

(51) Int. Cl. : G01N33/574 (2006.01)

G01N27/62 (2021.01)

(30) 優先權：2021/01/07 日本

2021-001676

(71) 申請人：日商住友化學股份有限公司 (日本) SUMITOMO CHEMICAL COMPANY, LIMITED (JP)

日本

國立研究開發法人產業技術綜合研究所 (日本) NATIONAL INSTITUTE OF ADVANCED INDUSTRIAL SCIENCE AND TECHNOLOGY (JP)

日本

學校法人藍野大學 (日本) AINO UNIVERSITY (JP)

日本

(72) 發明人：尾添淳文 OZOE, ATSUFUMI (JP)；小林健太郎 KOBAYASHI, KENTARO (JP)；高橋康彦 TAKAHASHI, YASUHIKO (JP)；松永光平 MATSUNAGA, KOHEI (JP)；佐藤孝明 SATO, TAKAAKI (JP)；水谷陽一 MIZUTANI, YOICHI (JP)

(74) 代理人：洪武雄；陳昭誠

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：13 項 圖式數：15 共 45 頁

(54) 名稱

檢查罹患前列腺癌之可能性的方法

(57) 摘要

本發明提供一種前列腺癌之檢查技術。

本發明的檢查罹患前列腺癌之可能性的方法，其包括下述步驟：(1) 測定自受檢體採集之體液試樣中之選自由戊二酸二甲酯、2,6-二甲苯胺、2-羥基-2-甲基苯丙酮、2,6-二(丙-2-基)苯酚、琥珀酸二甲酯、苯乙酮、2-苯基-2-丙醇、及 3,5,5-三甲基-2-環己烯酮所組成之群中之至少 1 種生物標記之量或濃度的步驟。

The purpose of present invention is to provide an examining technique for prostate cancer. Provided is a method of examining the possibility of suffering from prostate cancer, the method comprising (1) the step of measuring the amount or concentration of at least one biomarker selected from the group consisting of Dimethyl glutarate, 2,6-Xylidine, 2-Hydroxy-2-methylpropiophenone, 2,6-di(propan-2-yl)phenol, Dimethyl succinate, Acetophenone, 2-Phenyl-2-propanol, and 3,5,5-Trimetyl-2-cyclohexenone in a body fluid sample taken from a subject.

## 【發明摘要】

【中文發明名稱】 檢查罹患前列腺癌之可能性的方法

【英文發明名稱】 METHOD OF EXAMINING THE POSSIBILITY OF  
SUFFERING FROM PROSTATE CANCER

### 【中文】

本發明提供一種前列腺癌之檢查技術。

本發明的檢查罹患前列腺癌之可能性的方法，其包括下述步驟：(1)測定自受檢體採集之體液試樣中之選自由戊二酸二甲酯、2,6-二甲苯胺、2-羥基-2-甲基苯丙酮、2,6-二(丙-2-基)苯酚、琥珀酸二甲酯、苯乙酮、2-苯基-2-丙醇、及 3,5,5-三甲基-2-環己烯酮所組成之群中之至少 1 種生物標記之量或濃度的步驟。

### 【英文】

The purpose of present invention is to provide an examining technique for prostate cancer. Provided is a method of examining the possibility of suffering from prostate cancer, the method comprising (1) the step of measuring the amount or concentration of at least one biomarker selected from the group consisting of Dimethyl glutarate, 2,6-Xylidine, 2-Hydroxy-2-methylpropiophenone, 2,6-di(propan-2-yl)phenol, Dimethyl succinate, Acetophenone, 2-Phenyl-2-propanol, and 3,5,5-Trimethyl-2-cyclohexenone in a body fluid sample taken from a subject.

【指定代表圖】 無。

【代表圖之符號簡單說明】 無。

【特徵化學式】 無。

## 【發明說明書】

【中文發明名稱】 檢查罹患前列腺癌之可能性的方法

【英文發明名稱】 METHOD OF EXAMINING THE POSSIBILITY OF  
SUFFERING FROM PROSTATE CANCER

### 【技術領域】

【0001】 本揭示係關於一種檢查罹患前列腺癌之可能性的方法等。

### 【先前技術】

【0002】 前列腺癌在男性中發病率高，其每年發病人數超過 10 萬人。又，伴隨飲食生活之歐美化和高齡化等，預計前列腺癌之發病率及其發病人數今後將繼續增加。如同其他癌症，早期發現及早期治療變得重要。

【0003】 於前列腺癌檢查中，係進行以血中 PSA(Prostate Specific Antigen，前列腺特異性抗原)值為指標之篩選檢查。但是，PSA 檢查之問題在於偽陽性多，預測精度尚有改善之餘地。另一方面，亦進行藉由穿刺活組織檢查(needle biopsy)採集前列腺組織並確認有無癌細胞之檢查。該檢查雖被利用作為確立診斷法，但侵入性高，且有引起感染症之風險。

【0004】 又，近年來，有各種報告係利用動物的嗅覺來判別前列腺癌之技術(例如，非專利文獻 1)。

[先前技術文獻]

[非專利文獻]

【0005】

[非專利文獻 1] Gordon, R.T., et al. The use of canines in the detection of human cancer. J. Altern. Complement. Med. 14, 61-67 (2008).

**【發明內容】**

[發明所欲解決之問題]

**【0006】** 本揭示之課題在於提供一種前列腺癌之檢查技術。

[解決問題之技術手段]

**【0007】** 本發明人鑒於上述課題進行努力研究，結果發現，自受檢體採集之體液試樣中之選自由戊二酸二甲酯(Dimethyl glutarate)、2,6-二甲苯胺(2,6-Xylidine)、2-羥基-2-甲基苯丙酮(2-Hydroxy-2-methylpropiophenone)、2,6-二(丙-2-基)苯酚(2,6-di(propan-2-yl)phenol)、琥珀酸二甲酯(Dimethyl succinate)、苯乙酮(Acetophenone)、2-苯基-2-丙醇(2-Phenyl-2-propanol)、及 3,5,5-三甲基-2-環己烯酮(3,5,5-Trimethyl-2-cyclohexenone)所組成之群中之至少 1 種為前列腺癌之生物標記。本發明人基於該見解進一步進行研究，結果完成了本揭示之發明。

**【0008】** 亦即，本揭示包含下述態樣。

第 1 項. 一種檢查罹患前列腺癌之可能性的方法，係包括下述步驟：  
(1)測定自受檢體採集之體液試樣中之選自由戊二酸二甲酯、2,6-二甲苯胺、2-羥基-2-甲基苯丙酮、2,6-二(丙-2-基)苯酚、琥珀酸二甲酯、苯乙酮、2-苯基-2-丙醇、及 3,5,5-三甲基-2-環己烯酮所組成之群中之至少 1 種生物標記之量或濃度的步驟。

【0009】第 2 項. 如第 1 項所述之方法，其中進一步包含下述步驟(2a)及/或(2b)：

(2a)於上述步驟(1)中檢測出之生物標記之量或濃度為基準值 A 以上之情形時，判定為上述受檢體罹患前列腺癌之可能性高之步驟；

(2b)於上述步驟(1)中檢測出之生物標記之量或濃度為基準值 B 以下之情形時，判定為上述受檢體罹患前列腺癌之可能性低之步驟。

【0010】第 3 項. 如第 2 項所述之方法，其中，上述基準值 A 及上述基準值 B 係基於自經判定為未罹患有前列腺癌之受檢體或經判定為罹患有前列腺癌之受檢體採集之體液試樣中之上述生物標記之量或濃度的最大值、平均值、百分位值(percentile value)、或最小值之值。

【0011】第 4 項. 如第 1 至 3 項中任一項所述之方法，其中，前述步驟(1)之測定方法為氣相層析質譜法。

【0012】第 5 項. 如第 4 項所述之方法，其中，前述氣相層析質譜法中之監測離子係：

(A) 於測定戊二酸二甲酯之情形時，為選自由  $m/z$  為 129 之離子、 $m/z$  為 59 之離子、及  $m/z$  為 100 之離子所組成之群中之至少 1 種，

(B) 於測定 2,6-二甲苯胺之情形時，為選自由  $m/z$  為 121 之離子、 $m/z$  為 106 之離子、及  $m/z$  為 91 之離子所組成之群中之至少 1 種，

(C) 於測定 2-羥基-2-甲基苯丙酮之情形時，為選自由  $m/z$  為 105 之離子、 $m/z$  為 59 之離子、及  $m/z$  為 77 之離子所組成之群中之至少 1 種，

(D) 於測定 2,6-二(丙-2-基)苯酚之情形時，為選自由  $m/z$  為 163 之離子、 $m/z$  為 178 之離子、及  $m/z$  為 121 之離子所組成之群中之至少 1 種，

(E) 於測定琥珀酸二甲酯之情形時，為選自由  $m/z$  為 115 之離子、 $m/z$  為 55 之離子、 $m/z$  為 59 之離子、及  $m/z$  為 114 之離子所組成之群中之至少 1 種，

(F) 於測定苯乙酮之情形時，為選自由  $m/z$  為 105 之離子、 $m/z$  為 77 之離子、及  $m/z$  為 120 之離子所組成之群中之至少 1 種，

(G) 於測定 2-苯基-2-丙醇之情形時，為選自由  $m/z$  為 43 之離子、 $m/z$  為 121 之離子、及  $m/z$  為 77 之離子所組成之群中之至少 1 種，

(H) 於測定 3,5,5-三甲基-2-環己烯酮之情形時，為選自由  $m/z$  為 138 之離子、 $m/z$  為 82 之離子、及  $m/z$  為 54 之離子所組成之群中之至少 1 種。

【0013】第 6 項. 如第 1 至 5 項中任一項所述之方法，其中，前述生物標記為 2 種以上。

【0014】第 7 項. 如第 1 至 6 項中任一項所述之方法，其中，前述體液試樣為尿試樣。

【0015】第 8 項. 一種前列腺癌之生物標記，其係包含體液試樣中之選自由戊二酸二甲酯、2,6-二甲苯胺、2-羥基-2-甲基苯丙酮、2,6-二(丙-2-基)苯酚、琥珀酸二甲酯、苯乙酮、2-苯基-2-丙醇、及 3,5,5-三甲基-2-環己烯酮所組成之群中之至少 1 種。

【0016】第 9 項. 一種前列腺癌之檢查藥，其係包含選自由戊二酸二甲酯、2,6-二甲苯胺、2-羥基-2-甲基苯丙酮、2,6-二(丙-2-基)苯酚、琥珀酸二甲酯、苯乙酮、2-苯基-2-丙醇、及 3,5,5-三甲基-2-環己烯酮所組成之群中之至少 1 種標準試樣及/或檢測劑。

【0017】又，本揭示亦包含下述態樣作為另一態樣：

A 項. 一種輔助判定罹患前列腺癌之可能性之方法，其係包括下述步驟：(1)測定自受檢體採集之體液試樣中之選自由戊二酸二甲酯、2,6-二甲苯胺、2-羥基-2-甲基苯丙酮、2,6-二(丙-2-基)苯酚、琥珀酸二甲酯、苯乙酮、2-苯基-2-丙醇、及 3,5,5-三甲基-2-環己烯酮所組成之群中之至少 1 種生物標記之量或濃度的步驟。

【0018】 B 項. 一種前列腺癌生物標記之測定方法，其係包括下述步驟：(1)測定自受檢體採集之體液試樣中之選自由戊二酸二甲酯、2,6-二甲苯胺、2-羥基-2-甲基苯丙酮、2,6-二(丙-2-基)苯酚、琥珀酸二甲酯、苯乙酮、2-苯基-2-丙醇、及 3,5,5-三甲基-2-環己烯酮所組成之群中之至少 1 種之量或濃度的步驟。

【0019】 C 項. 一種選自由戊二酸二甲酯、2,6-二甲苯胺、2-羥基-2-甲基苯丙酮、2,6-二(丙-2-基)苯酚、琥珀酸二甲酯、苯乙酮、2-苯基-2-丙醇、及 3,5,5-三甲基-2-環己烯酮所組成之群中之至少 1 種標準試樣及/或檢測劑，其係使用作為前列腺癌之檢查藥。

【0020】 D 項. 一種選自由戊二酸二甲酯、2,6-二甲苯胺、2-羥基-2-甲基苯丙酮、2,6-二(丙-2-基)苯酚、琥珀酸二甲酯、苯乙酮、2-苯基-2-丙醇、及 3,5,5-三甲基-2-環己烯酮所組成之群中之至少 1 種標準試樣及/或檢測劑之用途，其係用於檢查前列腺癌。

【0021】 E 項. 一種選自由戊二酸二甲酯、2,6-二甲苯胺、2-羥基-2-甲基苯丙酮、2,6-二(丙-2-基)苯酚、琥珀酸二甲酯、苯乙酮、2-苯基-2-丙醇、及 3,5,5-三甲基-2-環己烯酮所組成之群中之至少 1 種標準試樣及/或檢測劑之用途，其用於製造前列腺癌之檢查藥。

## [發明之效果]

【0022】 根據本揭示，可提供一種基於生物標記之前列腺癌之檢查技術。

## 【圖式簡單說明】

## 【0023】

圖 1 表示實施例 2 中之戊二酸二甲酯之測定結果之箱形圖。縱軸表示尿中濃度，橫軸中，手術前表示自接受全前列腺切除術(total prostatectomy)前之前列腺癌患者採集之尿之結果，手術後表示自接受全前列腺切除術後之前列腺癌患者採集之尿之結果。手術前與手術後為同一位受檢者。於箱形圖中，以箱所示之範圍係表示所有檢體中相當於 25 至 75%之檢體的濃度分佈範圍，橫線所示之範圍係表示所有檢體中相當於 10 至 90%之檢體的濃度分佈範圍。箱中之橫槓表示各群體(手術前、手術後)之濃度之中央值。箱中之「+」表示平均值。

圖 2 表示實施例 2 中之 2-羥基-2-甲基苯丙酮之測定結果。關於縱軸、橫軸、槓及虛線，係與圖 1 相同。

圖 3 表示實施例 2 中之 2,6-二異丙基苯酚(2,6-Diisopropylphenol) (2,6-二(丙-2-基)苯酚)之測定結果。關於縱軸、橫軸、槓及虛線，係與圖 1 相同。

圖 4 表示實施例 2 中之琥珀酸二甲酯之測定結果。關於縱軸、橫軸、槓及虛線，係與圖 1 相同。

圖 5 表示實施例 2 中之苯乙酮之測定結果。關於縱軸、橫軸、槓及虛線，係與圖 1 相同。

圖 6 表示實施例 2 中之 2-苯基-2-丙醇之測定結果。關於縱軸、橫軸、槓及虛線，係與圖 1 相同。

圖 7 表示實施例 2 中之 3,5,5-三甲基-2-環己烯酮之測定結果。關於縱軸、橫軸、槓及虛線，係與圖 1 相同。

圖 8 表示實施例 3 中之戊二酸二甲酯之測定結果之箱形圖。縱軸表示尿中濃度；橫軸中，健康者係表示自健康者採集之尿之結果，前列腺癌患者係表示自前列腺癌患者採集之尿之結果。於箱形圖中，箱所示之範圍係表示所有檢體中相當於 25 至 75% 之檢體之濃度分佈範圍，橫線所示之範圍係表示所有檢體中相當於 10 至 90% 之檢體之濃度分佈範圍。箱中之橫槓表示各群體(手術前、手術後)中之濃度之中央值。箱中之「+」係表示平均值。

圖 9 表示實施例 3 中之 2-羥基-2-甲基苯丙酮之測定結果。關於縱軸、橫軸、槓及虛線，係與圖 8 相同。

圖 10 表示實施例 3 中之 2,6-二異丙基苯酚(2,6-Diisopropylphenol) (2,6-二(丙-2-基)苯酚)之測定結果。關於縱軸、橫軸、槓及虛線，係與圖 8 相同。

圖 11 表示實施例 3 中之琥珀酸二甲酯之測定結果。關於縱軸、橫軸、槓及虛線，係與圖 8 相同。

圖 12 表示實施例 3 中之苯乙酮之測定結果。關於縱軸、橫軸、槓及虛線，係與圖 8 相同。

圖 13 表示實施例 3 中之 2-苯基-2-丙醇之測定結果。關於縱軸、橫軸、槓及虛線，係與圖 8 相同。

圖 14 表示實施例 3 中之 3,5,5-三甲基-2-環己烯酮之測定結果。關於縱軸、橫軸、槓及虛線，係與圖 8 相同。

圖 15 表示實施例 3 中之 2,6-二甲苯胺之測定結果。關於縱軸、橫軸、槓及虛線，係與圖 8 相同。

### 【實施方式】

【0024】於本說明書中，關於「含有」及「包含」之表述，係包含「含有」、「包含」、「實質上包含」及「僅包含」之概念。

【0025】於本說明書中，關於「及/或」之表述，亦包含選擇「及」與「或」之任一者之情形時的含義。亦即，「A 及/或 B」之表述包含「A 或 B」與「A 及 B」之任一含義。

#### 【0026】1. 檢查罹患前列腺癌之可能性的方法

本揭示係關於一種檢查罹患前列腺癌之可能性的方法(於本說明書中，有時亦表示為「本揭示之檢查方法」)，其係包括：(1)測定自受檢體採集之體液試樣中之選自由戊二酸二甲酯、2,6-二甲苯胺、2-羥基-2-甲基苯丙酮、2,6-二(丙-2-基)苯酚、琥珀酸二甲酯、苯乙酮、2-苯基-2-丙醇、及 3,5,5-三甲基-2-環己烯酮所組成之群中之至少 1 種生物標記(於本說明書中，有時亦表示為「對象生物標記」)之量或濃度之步驟。

【0027】又，本揭示係關於一種前列腺癌之生物標記，其包含體液試樣中之選自由戊二酸二甲酯、2,6-二甲苯胺、2-羥基-2-甲基苯丙酮、2,6-二

(丙-2-基)苯酚、琥珀酸二甲酯、苯乙酮、2-苯基-2-丙醇、及 3,5,5-三甲基-2-環己烯酮所組成之群中之至少 1 種。

【0028】 以下，對該等進行說明。

【0029】 1-1. 步驟(1)

作為檢查對象之前列腺癌並無特別限制，包含所有種類、程度(例如輕度、中度、重度)、分期(stage)等。

【0030】 受檢體為本揭示的檢查方法的對象生物，其生物種類並無特別限制。作為受檢體之生物種，例如可列舉：人類、猴、小鼠、大鼠、犬、貓、兔等各種哺乳類動物，較佳可列舉人類。

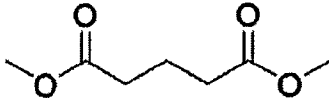
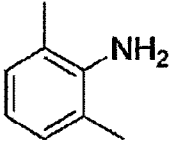
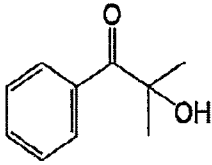
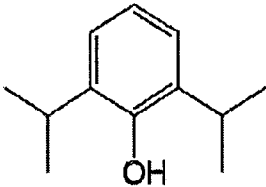
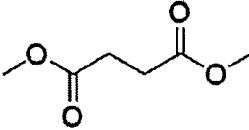
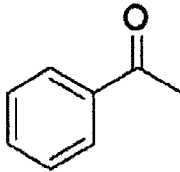
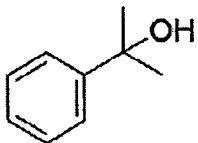
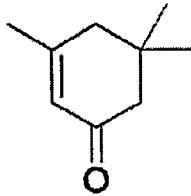
【0031】 關於受檢體之前列腺癌之狀態並無特別限制。作為受檢體，例如可列舉：未釐清是否罹患前列腺癌之檢體、無前列腺癌罹患病史之檢體、有前列腺癌罹患病史且接受過前列腺癌治療之檢體、已藉由其他檢查方法(例如 PSA 檢查等)而判定為罹患(或未罹患)前列腺癌之檢體等。於受檢體為人類之情形時，無論先前至今之病史如何，包含被認為是健康者之人類在內的任意人類均可設為檢查對象的人類。於被認為是健康者之情形時，在一般之健康檢查或健康篩檢(health screening)等中，對於前列腺癌之早期發現或早期診斷為有效。又，於有疑似前列腺癌之受檢者之情形時，可藉由本揭示之檢查方法來輔助進行前列腺癌診斷。

【0032】 體液試樣只要為能夠含有對象生物標記者，則並無特別限制。作為體液試樣，例如可列舉：通過前列腺癌組織之血液等體液、自該體液生成之體液、源自該等體液之試樣等。作為源自體液之試樣，例如可使用對體液進行精製處理而獲得之試樣。精製處理只要不會使對象生物標記之

量或濃度顯著減少，便無特別限制，例如可列舉：鹽類、蛋白質等之去除處理(例如酵素處理、層析管柱精製處理、離心分離處理等)。作為體液試樣，具體而言，例如可列舉：尿、血液、腦脊髓液、體分泌液、唾液、痰；源自該等體液之試樣。該等之中，就檢查之效率性之觀點而言，較佳為尿試樣(尿及源自尿之試樣)。體液之採集方法並無特別限制，例如可採用依據或根據如於一般之定期健康檢查中實施之方法的方法。體液之採集時機並無特別限制，例如可為早上剛起床，亦可為傍晚，亦可為睡前，亦可為飯後或是飯前。體液試樣可在採集或調製後立即使用，或可在冷凍保存後使用。由於 2,6-二(丙-2-基)苯酚在室溫下會因氧化所致之改質而減少，室溫下的半衰期為 3-12 小時，因此不適合使用在於室溫下歷時半天以上的試樣。凍結保存方法並無特別限制，例如可放入至密閉的玻璃容器中，儘快地(例如於-80°C 左右)使其凍結，而於一般冷凍庫的溫度(例如-20°C 左右)下進行保存。保存期間並無特別限制，雖可達 1 年以上，惟較佳為較短期間。體液試樣可單獨使用 1 種，亦可組合 2 種以上而採用。

【0033】對象生物標記係選自由戊二酸二甲酯、2,6-二甲苯胺、2-羥基-2-甲基苯丙酮、2,6-二(丙-2-基)苯酚、琥珀酸二甲酯、苯乙酮、2-苯基-2-丙醇、及 3,5,5-三甲基-2-環己烯酮所組成之群中之至少 1 種。此等之構造式如表 1 所示。

【0034】 [表 1]

| 化合物名稱            | 結構   |
|------------------|--|
| 戊二酸二甲酯           |    |
| 2,6-二甲苯胺         |    |
| 2-羥基-2-甲基苯丙酮     |    |
| 2,6-二(丙-2-基)苯酚   |    |
| 琥珀酸二甲酯           |   |
| 苯乙酮              |  |
| 2-苯基-2-丙醇        |  |
| 3,5,5-三甲基-2-環己烯酮 |  |

【0035】 作為步驟(1)中之測定對象之對象生物標記可僅為 1 種，可為 2 種以上、3 種以上、4 種以上、5 種以上、6 種以上、7 種以上、或 8 種。藉由組合更多的對象生物標記，可更正確地進行前列腺癌之檢查等。

【0036】對象生物標記之量或濃度之測定方法只要為能夠檢測出對象生物標記之方法，便無特別限制。就檢測靈敏度等觀點而言，該方法較佳可列舉質譜分析法(MS 法)，更佳可列舉氣相層析質譜分析法(GC/MS 法)。

【0037】GC/MS 法係藉由利用氣相層析法將受檢體之體液試樣分離，並針對各分離組分進行質譜分析而進行。

【0038】氣相層析法可依照或根據公知之方法進行。氣相層析法中之體液試樣之氣化及導入，只要根據體液試樣之狀態而自公知之方法選擇適當之方法即可。例如，可藉由使體液試樣之成分吸附於包含通用之固相微萃取纖維之揮發性有機物質吸附材料後，進行加熱脫附而進行。作為揮發性有機物質吸附材料，並無特別限制，例如可列舉聚矽氧樹脂，其中較佳可列舉聚矽氧彈性體。作為聚矽氧樹脂或聚矽氧彈性體，例如可列舉：聚二甲基矽氧烷(PDMS)、或由聚矽氧化合物中的聚合物鏈的甲基經乙基或苯基取代的改質聚矽氧化合物所構成的吸附體。揮發性有機物質吸附材料亦可與適當之載體組合使用。

【0039】氣相層析法中之載體氣體只要為非活性氣體即無特別限制。作為載體氣體，例如可列舉：氮氣、氬氣、氫氣等，較佳為氮氣。氣相層析法之固定相並無特別限制。作為固定相，例如可列舉：聚乙二醇、聚甲基氰基烷基矽氧烷、聚二甲基矽氧烷/二苯基矽氧烷、聚二甲基矽氧烷等。該等之中，較佳為極性較高之固定相，具體而言，較佳為聚乙二醇、聚甲基氰基烷基矽氧烷、聚二甲基矽氧烷/二苯基矽氧烷等，更佳為聚乙二醇、聚甲基氰基烷基矽氧烷等，又更佳為聚乙二醇。再者，作為固定相，此外亦可例示：矽膠、活性碳、沸石、活性氧化鋁等。氣相層析法的檢測器只

要為可廣泛地檢測多種成分者，即無特別限制。作為檢測器，例如可列舉：熱傳導度型檢測器(TCD；Thermal Conductivity Detector)、火焰離子化型檢測器(FID；Flame Ionization Detector)、電子捕獲型檢測器(ECD；Electron Capture Detector)等。

【0040】質譜分析可依照或根據公知之方法進行。質譜分析中的離子化法並無特別限制。作為離子化法，例如可列舉：電子電離法(EI 法)、正化學離子化法(PCI 法)、負化學離子化法(NCI 法)等，較佳可列舉 EI 法。EI 法中之離子化電壓並無特別限制，代表性的是 70V 左右。質譜分析中的離子化試樣分子的分離方法並無特別限制。作為該分離方法，例如可採用飛行時間型、磁場偏轉型、四極型、離子阱型、傅立葉轉換離子迴旋共振型(Fourier-Transform Ion Cyclotron Resonance)、串聯型等。

【0041】可藉由將由質譜分析所獲得之表示對象生物標記之離子之量予以定量，而定量出對象生物標記之量或濃度。例如，可基於藉由質譜分析所獲得之質譜中之上述離子的測定譜峰之振幅值和面積等，來算出對象生物標記之量或濃度。再者，於使用測定譜峰之振幅值和面積等之情形時，亦可視需要而加入減少背景雜訊之處理。作為定量所使用之監測離子，例如可列舉以下之監測離子。

(A) 於測定戊二酸二甲酯之情形時，為選自由 m/z 為 129 之離子、m/z 為 59 之離子、及 m/z 為 100 之離子所組成之群中之至少 1 種

(B) 於測定 2,6-二甲苯胺之情形時，為選自由 m/z 為 121 之離子、m/z 為 106 之離子、及 m/z 為 91 之離子所組成之群中之至少 1 種

(C) 於測定 2-羥基-2-甲基苯丙酮之情形時，為選自由 m/z 為 105 之離子、m/z 為 59 之離子、及 m/z 為 77 之離子所組成之群中之至少 1 種

(D) 於測定 2,6-二(丙-2-基)苯酚之情形時，為選自由 m/z 為 163 之離子、m/z 為 178 之離子、及 m/z 為 121 之離子所組成之群中之至少 1 種

(E) 於測定琥珀酸二甲酯之情形時，為選自由 m/z 為 115 之離子、m/z 為 55 之離子、m/z 為 59 之離子、及 m/z 為 114 之離子所組成之群中之至少 1 種

(F) 於測定苯乙酮之情形時，為選自由 m/z 為 105 之離子、m/z 為 77 之離子、及 m/z 為 120 之離子所組成之群中之至少 1 種

(G) 於測定 2-苯基-2-丙醇之情形時，為選自由 m/z 為 43 之離子、m/z 為 121 之離子、及 m/z 為 77 之離子所組成之群中之至少 1 種

(H) 於測定 3,5,5-三甲基-2-環己烯酮之情形時，為選自由 m/z 為 138 之離子、m/z 為 82 之離子、及 m/z 為 54 之離子所組成之群中之至少 1 種。

【0042】於本揭示中的較佳的一態樣中，可將上述監測離子當中標註底線的離子用作定量離子，而將其他離子用作參照離子。

【0043】對象生物標記之量或濃度之測定方法除了 MS 法以外，例如亦可採用表面電漿共振法、或利用金屬氧化物半導體、導電性高分子、高分子薄膜、膽固醇液晶、肖特基二極體(schottky diode)、MOSFET(Metal-Oxide-Semiconductor Field-Effect Transistor，金屬氧化物半導體場效應電晶體)、熱敏電阻(thermistor)、可變電阻(壓敏電阻；varistor)、熱電偶、晶體振盪器、SAW(表面聲波，Surface Acoustic Wave)裝置、螢光物質、吸光物質、嗅覺細胞(olfactory cell)等之檢測方法等。

【0044】 根據包含步驟(1)之本揭示之檢查方法，可提供用以算出罹患前列腺癌之可能性之判定指標的測定值，較佳為可進一步提供該判定指標。藉此，可輔助判定罹患前列腺癌之可能性等。

【0045】 又，對象生物標記可用於各種態樣中之前列腺癌檢查。例如，對象生物標記除了利用可在健康檢查等之前列腺癌之篩檢以外，亦可利用於前列腺癌治療中或治療後的治療效果之監測、前列腺癌治療後的復發之檢測、患者的預後之判定等。

【0046】 1-2. 步驟(2)

作為一態樣，本揭示之檢查方法較佳為進一步包括下述步驟：(2a)於步驟(1)中檢測出之生物標記之量或濃度為基準值 A 以上之情形時，判定為受檢體罹患前列腺癌之可能性高之步驟；及/或(2b)於步驟(1)中檢測出之生物標記之量或濃度為基準值 B 以下之情形時，判定為受檢體罹患前列腺癌之可能性低之步驟(有時將此等步驟(2a)及步驟(2b)統稱為「步驟(2)」)。在此所謂「罹患前列腺癌之可能性」，係意指「於採集體液試樣當時罹患前列腺癌之可能性」。

【0047】 根據包含步驟(2)之本揭示之檢查方法，能夠判定罹患前列腺癌之可能性。又，由於本揭示之檢查方法可以高精度判定罹患前列腺癌之可能性，故藉由包含步驟(2)之本揭示之檢查方法，可將罹患前列腺癌之受檢體更確實地判定為「罹患前列腺癌(或未罹患前列腺癌)」(亦即，可進一步降低誤判為「未罹患前列腺癌(或罹患前列腺癌)」之可能性)。

【0048】 就判定靈敏度、判定特異性、陽性準確率、陰性準確率等觀點而言，發明所屬技術領域中具有通常知識者可適當設定基準值(基準值 A

及基準值 B 各者)。基準值可為根據人種、年齡等而逐次設定之值、及預先設定之值之任一者。基準值例如可設為基於自己被判定為未罹患前列腺癌之受檢體或已被判定為罹患前列腺癌之受檢體所採集之體液試樣中之對象生物標記之量或濃度之最大值、平均值、百分位值、或最小值之值。

【0049】所謂「基準值」，係指於以該值為基準而判定疾病有無發病之情形時，判定靈敏度(有病正確診斷率)及判定特異性(無病正確診斷率)兩者為充分高之值。例如，可將於罹患前列腺癌之受檢體顯示高陽性率，且於未罹患前列腺癌之受檢體顯示高陰性率之值設定為基準值。

【0050】此處所謂的「判定靈敏度」，係指對患有特定疾病之群體進行檢查時之顯示為陽性(異常值)之比率(真陽性之比率)。又，所謂的「判定特異性」係指對未罹患特定疾病之群體進行檢查時之顯示為陰性(正常值)之比率(真陰性之比率)。又，「陽性準確率」係指於檢查中呈陽性之受檢者當中實際為罹患疾病之受檢體之比率，「陰性準確率」係指於檢查中呈陰性之受檢者當中實際為未罹患疾病之受檢體之比率。

【0051】設定基準值之方法於該領域中為眾所周知，更具體而言，例如可藉由測定自判定為未罹患前列腺癌之受檢體或判定為罹患前列腺癌之受檢體所採集之活體試樣中的對象生物標記之量或濃度，並使用該測定值而進行基於接收者操作特性(Receiver Operating Characteristic, ROC)曲線之解析等之統計解析[更具體而言，可例示使用約登指數(Youden index)之方法]來設定。

【0052】此種基準值並非採用特定之值，而是因設定基準值之際所使用的受檢體對象群體而改變。

【0053】再者，即便於將同一受檢體作為對象之情形時，亦存在測定值因所使用的分析方法而異之情況，因此基準值係因應所使用之分析方法而設定。

【0054】基準值亦可係基於自同一受檢體於一定期間前採集到之體液試樣的測定值而加以設定。所謂的「一定期間」，只要為測定值能夠於同一受檢體內變化的程度之期間，即無特別限制。例如可列舉：1 個月至 10 年、2 個月至 5 年、3 個月至 2 年、4 個月至 1 年左右之期間。又，於受檢體接受治療及/或手術之情形時，亦可基於在治療及/或手術前所採集之體液試樣之測定值而設定基準值。

#### 【0055】2. 前列腺癌之更高精度的診斷

藉由包含步驟(2a)之本揭示之檢查方法，於判定為受檢體罹患前列腺癌之可能性高之情形時，藉由於本揭示之檢查方法中進一步組合(3)之「對步驟(2a)中判定為罹患前列腺癌之可能性高之受檢者應用前列腺癌之診斷方法」之步驟，可以更高精度來診斷前列腺癌之罹患。又，因為本揭示之檢查方法可以高精度判斷罹患前列腺癌之可能性，故藉由於本揭示之檢查方法中組合步驟(3)，可更確實地將真正罹患前列腺癌之受檢體診斷為「罹患前列腺癌」(亦即，可進一步降低將未罹患前列腺癌之受檢體作為步驟(3)之診斷對象之可能性、誤診斷為「未罹患前列腺癌」之可能性、及將罹患前列腺癌之受檢體自步驟(3)之診斷對象排除之可能性)。

【0056】步驟(3)中所應用之前列腺癌之診斷方法並無特別限制，可採用各種公知之診斷方法。該診斷方法例如可列舉：直腸內觸診、超音波檢

查、MRI 檢查、CT 檢查、穿刺活組織檢查等。診斷方法可為單獨 1 種，亦可為 2 種以上之組合。

### 【0057】 3. 前列腺癌之治療

當藉由包含步驟(2a)之本揭示之檢查方法而判定為受檢體罹患前列腺癌之可能性高之情形時，或藉由步驟(3)而診斷為受檢體為前列腺癌之情形時，藉由進一步進行(4)對於在步驟(2a)中判定為罹患前列腺癌之可能性高之受檢者、或在步驟(3)中診斷為罹患前列腺癌之受檢者進行前列腺癌治療之步驟[步驟(4)]，而能夠治療受檢體之前列腺癌。又，由於本揭示之檢查方法可以高靈敏度來判斷罹患前列腺癌之可能性，故而藉由對本揭示之檢查方法或本揭示之檢查方法與步驟(3)之組合進一步地組合步驟(4)，可更為確實地治療真正罹患前列腺癌之受檢體(亦即，可進一步降低將真正罹患前列腺癌之受檢體自治療對象排除之可能性)。

【0058】 前列腺癌之治療方法並無特別限制，可採用各種公知之治療方法。作為治療方法，例如可列舉：化學療法、外科治療法、放射線治療法、免疫療法等。該等可依據公知之方法實施。

【0059】 化學療法所使用之治療藥並無特別限制，可使用各種抗癌劑。作為抗癌劑，例如可列舉：烷基化劑(alkylation agent)、抗代謝藥、微管抑制劑(microtubule inhibitor)、抗生素抗癌劑、拓樸異構酶(topoisomerase)抑制劑、鉑製劑、分子標靶藥、激素劑、生物製劑等。作為烷基化劑，例如可列舉：環磷醯胺(cyclophosphamide)、異環磷醯胺(ifosfamide)、亞硝基脲(nitrosourea)、達卡巴嗪(dacarbazine)、替莫唑胺(temozolomide)、尼莫司汀(nimustine)、白消安(busulfan)、美法侖(melphalan)、丙卡巴肼

(procarbazine)、雷莫司汀(ranimustine)等。作為抗代謝藥，例如可列舉：依諾他濱(enocitabine)、卡莫氟(carmofur)、卡培他濱(capecitabine)、替加氟(tegafur)、替加氟-尿嘧啶(uracil)、替加氟-吉瑪瑞西-歐特拉西(Tegafur-Gimeracil-Oteracil)、吉西他濱(gemcitabine)、阿糖胞苷(cytarabine)、阿糖胞苷十八烷基磷酸鹽(cytarabine ocfosphate)、奈拉濱(nerabine)、氟尿嘧啶(flourouracil)、氟達拉濱(fludarabine)、培美曲塞(pemetrexed)、噴司他汀(pentostatin)、甲胺喋呤(methotrexate)、克拉屈濱(cladribine)、去氧氟尿苷(doxifluridine)、羥基脲(hydroxycarbamide)、巯嘌呤(mercaptopurine)等。作為微管抑制劑，例如可列舉：長春新鹼(vincristin)等生物鹼系抗癌劑；多烯紫杉醇(docetaxel)、太平洋紫杉醇(paclitaxel)等紫杉烷系抗癌劑。作為抗生素抗癌劑，例如可列舉：絲裂黴素 C、阿黴素(doxorubicin)、泛艾黴素(epirubicin)、道諾黴素(daunorubicin)、博來黴素(bleomycin)、放線菌素(actinomycin)D、阿克拉黴素(aclacinomycin)、艾達黴素(idarubicin)、吡喃阿黴素(pirarubicin)、培普黴素(peplomycin)、米托蒽醌(mitoxantrone)、胺柔比星(amrubicin)、地諾他汀斯替馬拉姆(zinostatin stimalamer)等。作為拓樸異構酶抑制劑，可列舉：具有拓樸異構酶 I 抑制作用之 CPT-11、伊立替康(irinotecan)、諾吉替康(nogitecan)，具有拓樸異構酶 II 抑制作用之依託泊苷(etoposide)、索布佐生(sobuzoxane)。作為鉑製劑，例如可列舉：順鉑(cisplatin)、奈達鉑(nedaplatin)、奧沙利鉑(oxaliplatin)、卡鉑(carboplatin)等。作為激素劑，例如可列舉：地塞米松(dexamethasone)、非那雄胺(finasteride)、他莫昔芬(tamoxifen)、阿司洛唑(astrozole)、依西美坦(exemestane)、乙炔基雌二醇、氯地孕酮

(chlormadinone)、戈舍瑞林(goserelin)、比卡魯胺(bicalutamide)、氟他胺(flutamide)、普賴蘇濃(prednisolone)、亮丙瑞林(leuprorelin)、來曲唑(letrozole)、雌莫司汀(estramustine)、托瑞米芬(toremifene)、磷烯雌酚(phosfestrol)、米托坦(mitotan)、甲基睪固酮(methyltestosterone)、甲經孕酮(medroxyprogesterone)、美雄烷(mepithiostane)等。作為生物製劑，例如可列舉：干擾素 $\alpha$ 、 $\beta$ 及 $\gamma$ 、介白素 2、烏苯美司(ubenimex)、乾燥 BCG 等。作為分子標靶藥，例如可列舉：納武利單抗(nivolumab)、帕博利珠單抗(pembrolizumab)、利妥昔單抗(rituximab)、阿倫單抗(alemtuzumab)、曲妥珠單抗(trastuzumab)、西妥昔單抗(cetuximab)、帕尼單抗(panitumumab)、伊馬替尼(imatinib)、達沙替尼(dasatinib)、尼羅替尼(nilotinib)、吉非替尼(gefitinib)、厄洛替尼(erlotinib)、坦羅莫司(temsirolimus)、貝伐單抗(bevacizumab)、VEGF 捕獲劑(trap)、舒尼替尼(sunitinib)、索拉非尼(sorafenib)、托西珠單抗(Tocilizumab)、硼替佐米(bortezomib)、吉妥珠單抗-奧佐米星(gemtuzumab-ozogamicin)、伊立莫單抗-奧佐米星(ibritumomab ozogamicin)、替伊莫單抗-替伊坦(ibritumomab tiuxetan)、他米巴羅汀(tamibarotene)、視網酸(tretinoin)等。除此處所特定之分子標靶藥以外，亦可包含人類上皮生長因子受體 2 抑制劑、上皮生長因子受體抑制劑、Bcr-Abl 酪胺酸激酶抑制劑、上皮生長因子酪胺酸激酶抑制劑、mTOR 抑制劑、血管內皮生長因子受體 2 抑制劑( $\alpha$ -VEGFR-2 抗體)等以血管新生為標靶之抑制劑、MAP 激酶抑制劑等各種酪胺酸激酶抑制劑、以細胞激素為標靶之抑制劑、蛋白酶體(proteasome)抑制劑、抗體-抗

癌劑調配體等分子標靶藥等。此等抑制劑亦包括抗體。治療藥可為單獨 1 種，亦可為 2 種、或 3 種以上之組合。

#### 【0060】 4. 前列腺癌之檢查藥

本揭示於其一態樣係關於一種前列腺癌檢查藥(於本說明書中，有時亦表示為「本揭示之檢查藥」)，其包含選自由戊二酸二甲酯、2,6-二甲苯胺、2-羥基-2-甲基苯丙酮、2,6-二(丙-2-基)苯酚、琥珀酸二甲酯、苯乙酮、2-苯基-2-丙醇、及 3,5,5-三甲基-2-環己烯酮所組成之群中之至少 1 種標準試樣及/或檢測劑。以下，對此進行說明。

【0061】 標準試樣係選自戊二酸二甲酯、2,6-二甲苯胺、2-羥基-2-甲基苯丙酮、2,6-二(丙-2-基)苯酚、琥珀酸二甲酯、苯乙酮、2-苯基-2-丙醇、及 3,5,5-三甲基-2-環己烯酮所成群之至少 1 種化合物、或其修飾物，只要於此範圍內即無特別限制。例如，標準試樣可在定量對象生物標記時用於製作校準曲線。標準試樣為公知化合物、或可藉由現有的化合物修飾方法而自公知化合物獲得者。

【0062】 檢測劑只要為能夠用於檢測對象生物標記者，則並無特別限制。就檢測劑而言，當對象生物標記具有於藉由化學反應而轉換為其他化合物之情形時會顯色之結構(基團等)時，係可使用引起該化學反應之物質(顯色試劑)來作為檢測劑。作為顯色試劑，例如可列舉：磷鉬酸、大茴香醛(anisaldehyde)、鈾/鉬酸銨、硫酸、茛三酮(ninhydrin)、碘化鉍鉀試劑(Dragendorff's reagent)、二硝基苯基肼、氯化鈹、鹼性過錳酸鉀、溴甲酚綠、氯化鐵(II)等。又，對於構成對象生物標記之化合物之抗體、輔助藉由質譜分析進行之對象生物標記之檢測之檢測標籤等亦可用作檢測劑。

【0063】本揭示之檢查藥可呈包含標準試樣及/或檢測劑之組成物的形式。該組成物中，視需要亦可包含其他成分。作為其他成分，例如可列舉：基劑、載體、溶劑、分散劑、乳化劑、緩衝劑、穩定劑、賦形劑、黏合劑、崩解劑、潤滑劑、增黏劑、保濕劑、著色料、香料、螯合劑等。

【0064】本揭示之檢查藥可用於包含標準試樣及/或檢測劑之套組。該套組亦可包含於可使用於實施本揭示之檢查方法之器具、試劑等。

[實施例]

【0065】以下，基於實施例對本發明進行詳細說明，但本發明並不限定於該等實施例。

【0066】參考例 1. 尿試樣之準備

以下之實施例 1 及實施例 2 中所採用之受檢者[健康者 6 名、前列腺癌患者(以下，有時亦僅表示為「患者」)14 名]之尿試樣，係由獲得知情同意書之男性所提供之 5 天分的尿。各受檢體之年齡、前列腺癌分期及治療史係顯示於表 2 中。

【0067】 [表 2]

| 識別編號      | 年齡      | 前列腺癌分期           | 手術前治療史 |
|-----------|---------|------------------|--------|
| 健康者 1     | 52-75 歲 | -                | 無      |
| 健康者 2     |         |                  | 無      |
| 健康者 3     |         |                  | 無      |
| 健康者 4     |         |                  | 無      |
| 健康者 5     |         |                  | 無      |
| 健康者 6     |         |                  | 無      |
| 前列腺癌患者 1  | 62-78 歲 | II               | 無      |
| 前列腺癌患者 2  |         |                  | 無      |
| 前列腺癌患者 3  |         |                  | 無      |
| 前列腺癌患者 4  |         |                  | 無      |
| 前列腺癌患者 5  |         |                  | 無      |
| 前列腺癌患者 6  |         |                  | 無      |
| 前列腺癌患者 7  |         |                  | 無      |
| 前列腺癌患者 8  |         |                  | 無      |
| 前列腺癌患者 9  | 58-80 歲 | II<br>(1 名為 III) | 內分泌治療  |
| 前列腺癌患者 10 |         |                  | 內分泌治療  |
| 前列腺癌患者 11 |         |                  | 內分泌治療  |
| 前列腺癌患者 12 |         |                  | 內分泌治療  |
| 前列腺癌患者 13 |         |                  | 內分泌治療  |
| 前列腺癌患者 14 |         |                  | 內分泌治療  |

【0068】 大多數患者係屬於第 II 期(侷限於前列腺內部之癌症)，其分類為前列腺癌分期當中之初期階段。

【0069】 患者在接受全前列腺切除術之後，在手術後 3 個月的時間點之 PSA 測試中係被判定為前列腺癌陰性。將自該等患者採集之尿作為手術後尿。

【0070】 將所有的尿試樣於採集後立即利用孔徑尺寸為 0.2 $\mu$ m 之過濾器進行過濾，藉此去除雜質、並進行殺菌後，於-80 $^{\circ}$ C 下保存直到用於測定。

【0071】 實施例 1. 使用固相微萃取-氣相層析質譜法鑑別前列腺癌標記物

為了減低因飲食與遺傳性素因所致之個人臭味、潛血所引起之氣味，將 5 名患者[62 至 77 歲，癌症分期為 II，格里森分數(Gleason score)為 7.2(平均)]之 5 天分之尿以等量予以混合而製作成混合尿。也同樣地將 6 名健康者(52 至 75 歲)分為各 3 名健康者之 2 組，並於各組中將 3 名健康者 6 天分之尿以等量混合，而製作成混合尿。

【0072】 於測定應用內分泌治療後之患者的尿之情形時，係將應用內分泌治療後之實施根治性全前列腺切除術之前的患者 5 名[58 至 80 歲，第 II 期 4 名，第 III 期 1 名，格里森分數 6.0(平均)]之 5 天分的尿以與上述同樣的方式混合。

【0073】 於密閉之玻璃容器中放入混合尿，藉由加溫而大量捕集揮發性成分，並利用質譜儀進行成分分析。為了將稀薄成分濃縮，係使化合物吸附於塗覆有二乙烯苯/碳分子篩/聚二甲基矽氧烷(divinylbenzene/carboxen/polydimethylsiloxane, DVB/CAR/PDMS)(supelco, #57348-U, Sigma-Aldrich 製)之固相微萃取纖維上。

【0074】將 250 $\mu$ L 尿液置於 2mL 玻璃小瓶中，且在 40 $^{\circ}$ C 下培養 30 分鐘，插入上述纖維且保持 20 分鐘，以吸附化合物。將吸附有化合物之纖維插入至 GC-MS(GCMS-TQ8030，島津製)之注入口，使化合物脫附，進行揮發成分之測定。測定係對各試樣實施 2 次。作為分析時之品質控制 (quality control) 試樣，無論為健康者、患者，均係從用於解析之全部的尿中取出一部分來製作等量混合尿，並進行分析。GC-MS 之分析條件如下。

【0075】 <分析條件>

- 分析儀器：GCMS-TQ8030 系統(島津製作所製)
- 管柱：CP Sil 8CB (30 m  $\times$  0.25 mm 內徑  $\times$  0.25  $\mu$ m 膜厚，Agilent Technologies 製)
- 移動相氣體：氮氣、1.0mL/分鐘、流量固定
- 升溫條件：40 $^{\circ}$ C (0 分鐘) $\rightarrow$ 40 $^{\circ}$ C (5 分鐘) $\rightarrow$  240 $^{\circ}$ C (45 分鐘) $\rightarrow$  240 $^{\circ}$ C (50 分鐘)
- 注入條件：2 分鐘，240 $^{\circ}$ C，無分流
- 掃描範圍：m/z40-500，0.2 掃描/秒
- 離子源溫度：180 $^{\circ}$ C
- 介面溫度：300 $^{\circ}$ C
- 離子化電壓：70 eV。

【0076】基於藉由 QC 試樣之分析所獲得之所有譜峰之高度值，針對各譜峰算出每次分析之相對標準偏差(%RSD)。將 %RSD<30% 及與陰性對象相比為 5 倍以上之譜峰作為解析對象，排除因機器分析過程中之技術因素所致之檢測容易不均的譜峰和雜訊譜峰，獲得於每次分析時能夠再現性

良好地檢測出之譜峰的作為解析對象之 160 譜峰。繼而，利用 GC-MS 分別測定上述健康者及前列腺癌患者之手術前手術後之混合液，並將所獲得之譜峰之高度值作為變數，進行主成分分析，獲得新穎的第一主成分與第二主成分之合成變數。將第一主成分與第二主成分作為軸，將各混合尿之主成分得分進行作圖。

【0077】 將從健康者檢體及前列腺癌患者檢體(手術前)獲得之檢體沿著 PC1 軸而描繪於不同位置，顯示揮發性成分之分佈(profile)係明確地有所不同。將健康者檢體與前列腺癌患者+內分泌治療患者檢體(手術前)進行比較，雖然亦描繪於不同位置，且揮發性成分之分佈明顯呈現出不同，但是其差異並不如從健康者檢體與前列腺癌患者檢體(手術前)獲得之檢體的差異，前列腺癌患者+內分泌治療患者檢體(手術前)係沿著 PC1 軸而更接近於健康者檢體。就第一主成分而言，健康者係正向變大，反之，前列腺癌患者則係負向變大，因此認為第一主成分為顯示出健康狀態之軸。基於此，咸認前列腺癌患者+內分泌治療患者檢體(手術前)會更接近於健康者之結果，可能是因為：藉由內分泌治療而抑制癌之進展之效果，使得自癌組織釋出之癌特有的揮發性化合物減少，而接近於自健康者之癌組織所釋出之揮發性化合物分佈。

【0078】 關於摘除癌之後的患者之檢體[即前列腺癌患者檢體(手術後)及前列腺癌患者檢體+內分泌治療(手術後)之檢體]，與手術前癌患者相比，於作圖中其係沿著 PC1 軸而在正向落於更接近健康者之附近。咸認癌症之有無會導致釋放至尿中之揮發性成分之分佈發生變化。

【0079】同樣地，將藉由 GC-MS 分析所獲得之各個譜峰的主成分得分繪製於 PC1 軸-PC2 軸之圖表。根據上述結果，認為第一主成分得分為負向之大譜峰為賦予前列腺癌特徵之成分集團。將此成分集團中之八種化合物(戊二酸二甲酯、2,6-二甲苯胺、2-羥基-2-甲基苯丙酮、2,6-二(丙-2-基)苯酚、琥珀酸二甲酯、苯乙酮、2-苯基-2-丙醇、及 3,5,5-三甲基-2-環己烯酮)鑑別為前列腺癌標記。

【0080】實施例 2. 人類尿之揮發性有機化合物之定量分析(手術前後之尿中濃度推移)

使用 5 名癌症患者的手術前之尿、及該等 5 名癌症患者的手術後之尿，對實施例 1 中所鑑別之 7 種對象化合物(戊二酸二甲酯、2-羥基-2-甲基苯丙酮、2,6-二(丙-2-基)苯酚、琥珀酸二甲酯、苯乙酮、2-苯基-2-丙醇和 3,5,5-三甲基-2-環己烯酮)之濃度進行定量分析。各尿檢體係藉由等量混合 5 次份之尿而獲得。定量分析方法的詳細內容如下。

【0081】<測試溶液之調製>

(1) 標準原液

將對象化合物以 DMSO 稀釋，調製成 10、20、50、200、500、2000、5000、10000 及 20000ng/mL(試樣中的等效濃度為 1、2、5、20、50、200、500、1000 及 2000ng/mL)，作為標準原液。

(2) 標準溶液

於 20mL 容積之頂空小瓶(headspace vial)中添加精製水 250 $\mu$ L，並添加各校準曲線用標準原液 25 $\mu$ L。

(3) 試樣溶液及空白溶液

於 20mL 容積之頂空小瓶中加入檢體 250 $\mu$ L，並加入 DMSO 25 $\mu$ L。  
再者，將使用 TOC 精製水取代試樣進行相同之操作而調製成之溶液設為空白溶液。

#### (4) 添加試樣溶液

於 20mL 容積之頂空小瓶中加入檢體 250 $\mu$ L，並加入 200、500、2000ng/mL 的標準原液 25 $\mu$ L。

#### 【0082】 <裝置>

- GC-MS：GCMS-QP2010Ultra(島津製作所股份有限公司製)
- 自動取樣器：AOC-5000Plus(島津製作所股份有限公司製)

#### (SPME 部)

- SPME 纖維：二乙基苯分散與碳分子篩(Carboxen)分散、聚二甲基矽氧烷之 2 層(DVB/CAR/PDMS)
- 小瓶(vial)內平衡溫度：40 $^{\circ}$ C
- 小瓶內平衡時間：30 分鐘
- 萃取時間：20 分鐘
- 脫附時間：4 分鐘
- 纖維加熱清洗溫度：260 $^{\circ}$ C
- 纖維加熱清洗時間：10 分鐘

#### (GC 部)

- 管柱：InertCap Pure WAX 內徑 0.25mm、長度 30m、膜厚 0.5 $\mu$ m(GL Sciences 股份有限公司製)
- 管柱溫度：40 $^{\circ}$ C(維持 5 分鐘) $\rightarrow$ 5 $^{\circ}$ C/分鐘 $\rightarrow$ 240 $^{\circ}$ C(維持 5 分鐘)

- 注入口溫度：240°C
- 載體氣體控制模式：以載體氣體流量成為 1mL/分鐘之方式進行線速度控制。

- 試樣導入法：無分流
- 注入量：1  $\mu$ L

(MS 部)

- 離子化方法：EI 方法
- 介面溫度：240°C
- 離子源溫度：200°C
- 增益：自動調諧(auto-tuning)結果相對值 0.2kV
- 模式：掃描(scan)
- 掃描速度：0.2 scan/sec。

【0083】以 InertCap Pure WAX 分別測定標準溶液。獲得所得之總離子層析圖(Total Ion Chromatogram, TIC)後，根據所檢測出之譜峰之質譜來鑑定對象化合物之譜峰，選定監測離子(表 3)。

【0084】 [表 3]

| 化合物名稱            | 監測離子                     |
|------------------|--------------------------|
| 戊二酸二甲酯           | 定量：129<br>參照：59, 100     |
| 2-羥基-2-甲基苯丙酮     | 定量：105<br>參照：59, 77      |
| 2,6-二(丙-2-基)苯酚   | 定量：163<br>參照：178, 121    |
| 琥珀酸二甲酯           | 定量：115<br>參照：55, 59, 114 |
| 苯乙酮              | 定量：105<br>參照：77, 120     |
| 2-苯基-2-丙醇        | 定量：43<br>參照：121, 77      |
| 3,5,5-三甲基-2-環己烯酮 | 定量：138<br>參照：82, 54      |

【0085】 將結果示於圖 1 至 7。就 7 種對象化合物而言，與手術後檢體相比，於手術前檢體中係顯示出較高值之成分。由此可知，該等化合物係源自前列腺癌組織之化合物。

【0086】 實施例 3. 人類尿液之揮發性有機化合物之定量分析(健康者及患者之尿中濃度比較)

使用 6 名健康者之 4 天分之尿(合計為 24 試樣)、及 4 名前列腺癌患者之 2 至 5 天分之尿(合計為 13 個試樣)，就實施例 1 中所鑑別之 8 種對象化合物(戊二酸二甲酯、2-羥基-2-甲基苯丙酮、2,6-二(丙-2-基)苯酚、琥珀酸

二甲酯、苯乙酮、2-苯基-2-丙醇、3,5,5-三甲基-2-環己烯酮和 2,6-二甲苯胺)之濃度進行定量分析。定量分析方法係與實施例 2 相同。

【0087】 在實施例 2 中未選定之 2,6-二甲苯胺之監測離子如下。

【0088】 [表 4]

| 化合物名稱    | 監測離子                 |
|----------|----------------------|
| 2,6-二甲苯胺 | 定量：121<br>參照：106, 91 |

【0089】 將結果示於圖 8 至 15。就 8 個對象化合物而言，與健康正常者之檢體相比，係於前列腺癌患者之檢體中顯示出較高值之成分。由此可知，該等化合物係源自前列腺癌組織之化合物。

【符號說明】

無。

## 【發明申請專利範圍】

【請求項1】 一種檢查罹患前列腺癌之可能性的方法，係包括下述步驟：

(1)測定自受檢體採集之體液試樣中之選自由戊二酸二甲酯、2,6-二甲苯胺、2-羥基-2-甲基苯丙酮、2,6-二(丙-2-基)苯酚、琥珀酸二甲酯、苯乙酮、2-苯基-2-丙醇、及 3,5,5-三甲基-2-環己烯酮所組成之群中之至少 1 種生物標記之量或濃度的步驟。

【請求項2】 如請求項 1 所述之方法，其中進一步包含下述步驟(2a)及/或(2b)：

(2a)於前述步驟(1)中檢測出之生物標記之量或濃度為基準值 A 以上之情形時，判定為前述受檢體罹患前列腺癌之可能性高之步驟；

(2b)於前述步驟(1)中檢測出之生物標記之量或濃度為基準值 B 以下之情形時，判定為前述受檢體罹患前列腺癌之可能性低之步驟。

【請求項3】 如請求項 2 所述之方法，其中，該基準值 A 及該基準值 B 係基於自經判定為未罹患有前列腺癌之受檢體或經判定為罹患有前列腺癌之受檢體採集之體液試樣中之上述生物標記之量或濃度的最大值、平均值、百分位值或最小值之值。

【請求項4】 如請求項 1 至 3 中任一項所述之方法，其中，前述步驟(1)之測定方法為氣相層析質譜法。

【請求項5】 如請求項 4 所述之方法，其中，前述氣相層析質譜法中之監測離子係：

(A) 於測定戊二酸二甲酯之情形時，為選自由  $m/z$  為 129 之離子、 $m/z$  為 59 之離子、及  $m/z$  為 100 之離子所組成之群中之至少 1 種，

(B) 於測定 2,6-二甲苯胺之情形時，為選自由  $m/z$  為 121 之離子、 $m/z$  為 106 之離子、及  $m/z$  為 91 之離子所組成之群中之至少 1 種，

(C) 於測定 2-羥基-2-甲基苯丙酮之情形時，為選自由  $m/z$  為 105 之離子、 $m/z$  為 59 之離子、及  $m/z$  為 77 之離子所組成之群中之至少 1 種，

(D) 於測定 2,6-二(丙-2-基)苯酚之情形時，為選自由  $m/z$  為 163 之離子、 $m/z$  為 178 之離子、及  $m/z$  為 121 之離子所組成之群中之至少 1 種，

(E) 於測定琥珀酸二甲酯之情形時，為選自由  $m/z$  為 115 之離子、 $m/z$  為 55 之離子、 $m/z$  為 59 之離子、及  $m/z$  為 114 之離子所組成之群中之至少 1 種，

(F) 於測定苯乙酮之情形時，為選自由  $m/z$  為 105 之離子、 $m/z$  為 77 之離子、及  $m/z$  為 120 之離子所組成之群中之至少 1 種，

(G) 於測定 2-苯基-2-丙醇之情形時，為選自由  $m/z$  為 43 之離子、 $m/z$  為 121 之離子、及  $m/z$  為 77 之離子所組成之群中之至少 1 種，

(H) 於測定 3,5,5-三甲基-2-環己烯酮之情形時，為選自由  $m/z$  為 138 之離子、 $m/z$  為 82 之離子、及  $m/z$  為 54 之離子所組成之群中之至少 1 種。

**【請求項6】** 如請求項 1 至 5 中任一項所述之方法，其中，前述生物標記為 2 種以上。

**【請求項7】** 如請求項 1 至 6 中任一項所述之方法，其中，前述體液試樣為尿試樣。

**【請求項8】** 一種前列腺癌之生物標記，係包含體液試樣中之選自由戊二酸二甲酯、2,6-二甲苯胺、2-羥基-2-甲基苯丙酮、2,6-二(丙-2-基)苯酚、

琥珀酸二甲酯、苯乙酮、2-苯基-2-丙醇、及 3,5,5-三甲基-2-環己烯酮所組成之群中之至少 1 種。

【請求項9】 一種前列腺癌之檢查藥，係包含選自由戊二酸二甲酯、2,6-二甲苯胺、2-羥基-2-甲基苯丙酮、2,6-二(丙-2-基)苯酚、琥珀酸二甲酯、苯乙酮、2-苯基-2-丙醇、及 3,5,5-三甲基-2-環己烯酮所組成之群中之至少 1 種標準試樣及/或檢測劑。

【請求項10】 一種前列腺癌生物標記之測定方法，係包括下述步驟：(1) 測定自受檢體採集之體液試樣中之選自由戊二酸二甲酯、2,6-二甲苯胺、2-羥基-2-甲基苯丙酮、2,6-二(丙-2-基)苯酚、琥珀酸二甲酯、苯乙酮、2-苯基-2-丙醇、及 3,5,5-三甲基-2-環己烯酮所組成之群中之至少 1 種之量或濃度的步驟。

【請求項11】 一種選自由戊二酸二甲酯、2,6-二甲苯胺、2-羥基-2-甲基苯丙酮、2,6-二(丙-2-基)苯酚、琥珀酸二甲酯、苯乙酮、2-苯基-2-丙醇、及 3,5,5-三甲基-2-環己烯酮所組成之群中之至少 1 種標準試樣及/或檢測劑，其係用作為前列腺癌之檢查藥。

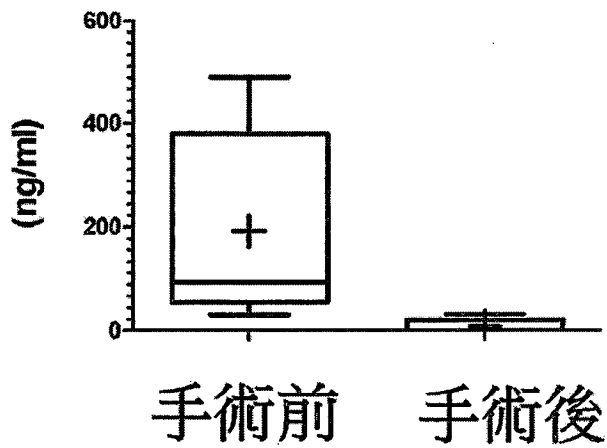
【請求項12】 一種選自由戊二酸二甲酯、2,6-二甲苯胺、2-羥基-2-甲基苯丙酮、2,6-二(丙-2-基)苯酚、琥珀酸二甲酯、苯乙酮、2-苯基-2-丙醇、及 3,5,5-三甲基-2-環己烯酮所組成之群中之至少 1 種標準試樣及/或檢測劑之用途，其係用於檢查前列腺癌。

【請求項13】 一種選自由戊二酸二甲酯、2,6-二甲苯胺、2-羥基-2-甲基苯丙酮、2,6-二(丙-2-基)苯酚、琥珀酸二甲酯、苯乙酮、2-苯基-2-丙醇、及

3,5,5-三甲基-2-環己烯酮所組成之群中之至少 1 種標準試樣及/或檢測劑之用途，其係用於製造前列腺癌之檢查藥。

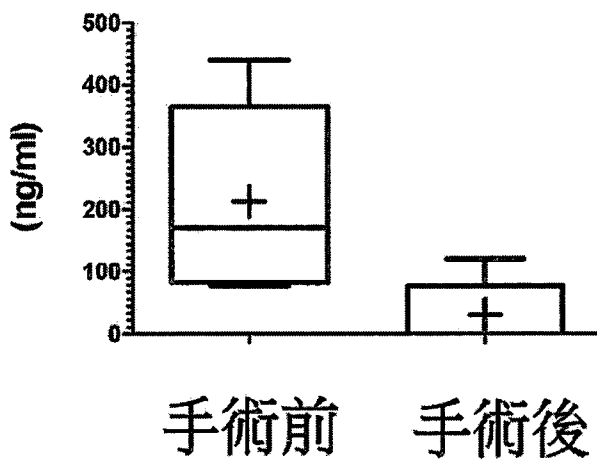
【發明圖式】

戊二酸二甲酯



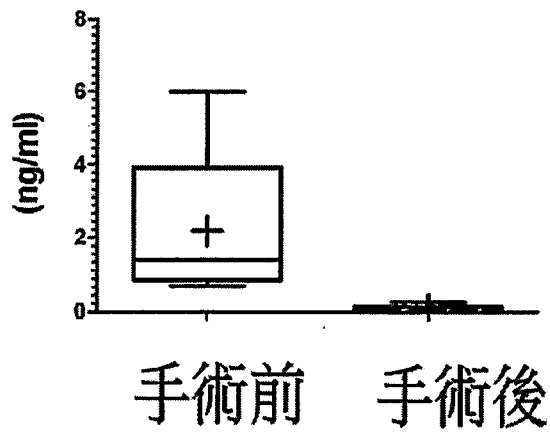
【圖1】

2-羥基-2-甲基苯丙酮



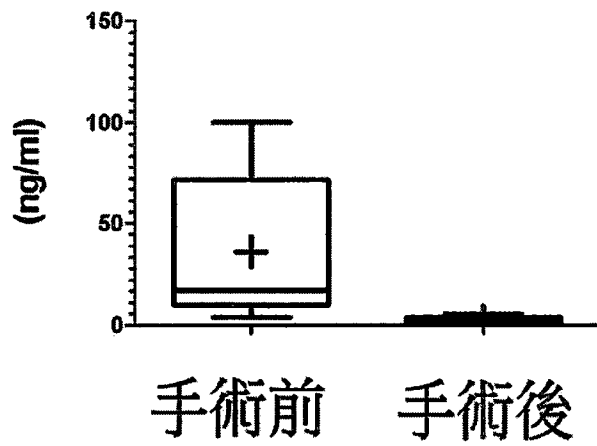
【圖2】

### 2,6-二異丙基苯酚



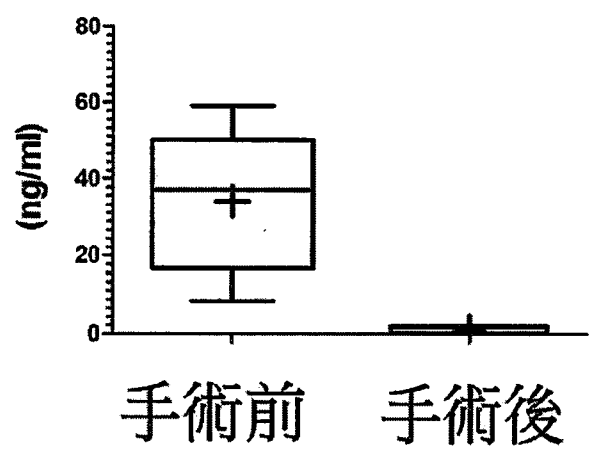
【圖3】

### 琥珀酸二甲酯



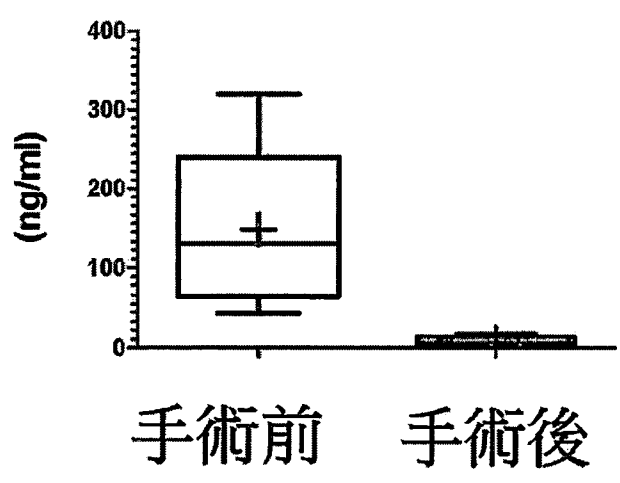
【圖4】

### 苯乙酮



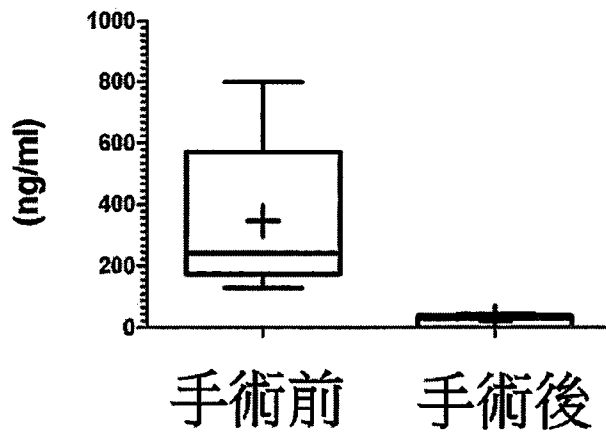
【圖5】

### 2-苯基-2-丙醇



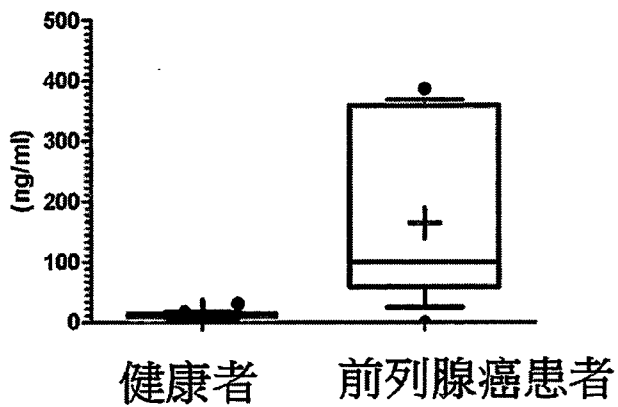
【圖6】

### 3,5,5-三甲基-2-環己烯酮



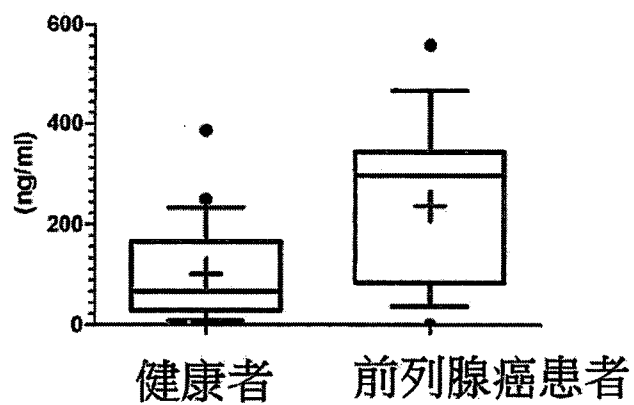
【圖7】

### 戊二酸二甲酯



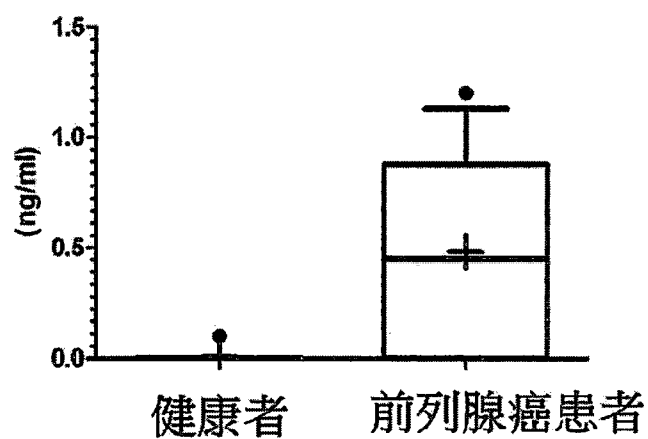
【圖8】

## 2-羥基-2-甲基苯丙酮



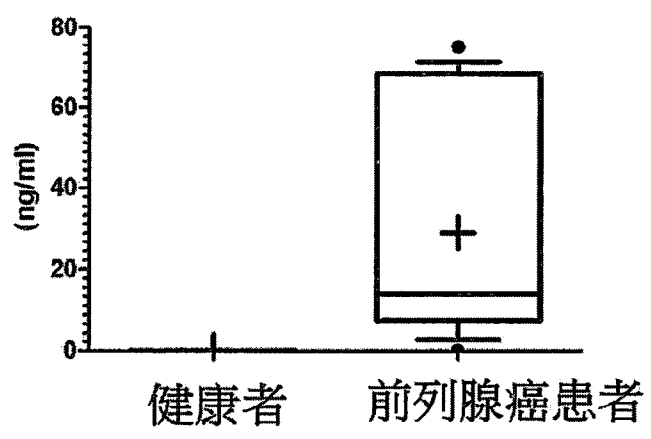
【圖9】

## 2,6-二異丙基苯酚



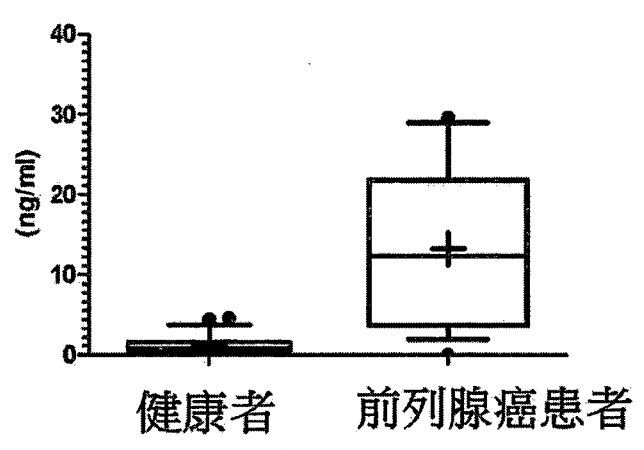
【圖10】

### 琥珀酸二甲酯



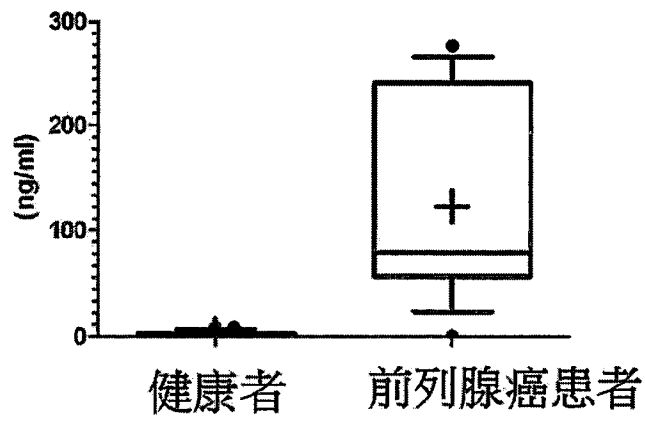
【圖11】

### 苯乙酮



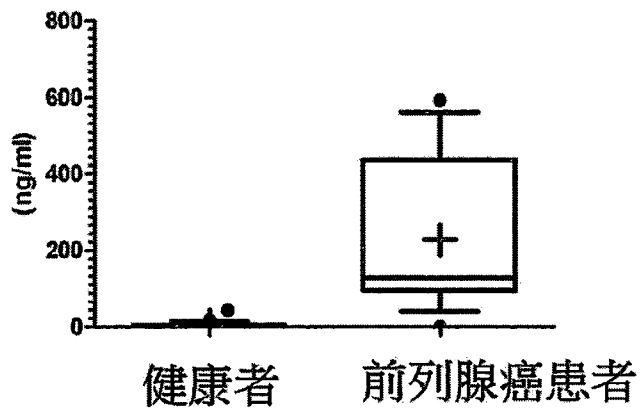
【圖12】

### 2-苯基-2-丙醇



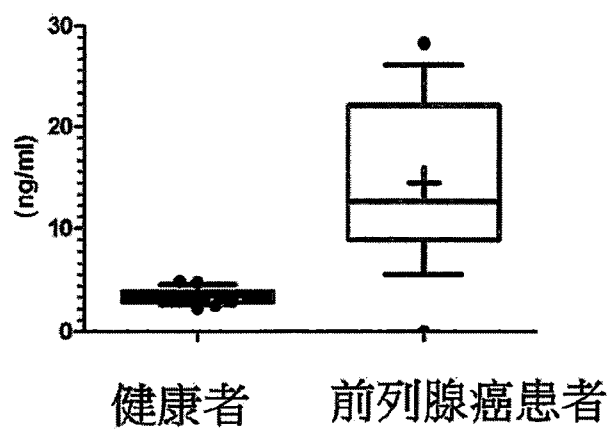
【圖13】

### 3,5,5-三甲基-2-環己烯酮



【圖14】

### 2,6-二甲苯胺



【圖15】

## 【發明說明書】

【中文發明名稱】 檢查罹患前列腺癌之可能性的方法

【英文發明名稱】 METHOD OF EXAMINING THE POSSIBILITY OF  
SUFFERING FROM PROSTATE CANCER

### 【技術領域】

【0001】 本揭示係關於一種檢查罹患前列腺癌之可能性的方法等。

### 【先前技術】

【0002】 前列腺癌在男性中發病率高，其每年發病人數超過 10 萬人。又，伴隨飲食生活之歐美化和高齡化等，預計前列腺癌之發病率及其發病人數今後將繼續增加。如同其他癌症，早期發現及早期治療變得重要。

【0003】 於前列腺癌檢查中，係進行以血中 PSA(Prostate Specific Antigen，前列腺特異性抗原)值為指標之篩選檢查。但是，PSA 檢查之問題在於偽陽性多，預測精度尚有改善之餘地。另一方面，亦進行藉由穿刺活組織檢查(needle biopsy)採集前列腺組織並確認有無癌細胞之檢查。該檢查雖被利用作為確立診斷法，但侵入性高，且有引起感染症之風險。

【0004】 又，近年來，有各種報告係利用動物的嗅覺來判別前列腺癌之技術(例如，非專利文獻 1)。

[先前技術文獻]

[非專利文獻]

【0005】

[非專利文獻 1] Gordon, R.T., et al. The use of canines in the detection of human cancer. J. Altern. Complement. Med. 14, 61-67 (2008).

### 【發明內容】

[發明所欲解決之問題]

【0006】本揭示之課題在於提供一種前列腺癌之檢查技術。

[解決問題之技術手段]

【0007】本發明人鑒於上述課題進行努力研究，結果發現，自受檢體採集之體液試樣中之選自由戊二酸二甲酯(Dimethyl glutarate)、2,6-二甲苯胺(2,6-Xylidine)、2-羥基-2-甲基苯丙酮(2-Hydroxy-2-methylpropiophenone)、2,6-二(丙-2-基)苯酚(2,6-di(propan-2-yl)phenol)、琥珀酸二甲酯(Dimethyl succinate)、苯乙酮(Acetophenone)、2-苯基-2-丙醇(2-Phenyl-2-propanol)、及 3,5,5-三甲基-2-環己烯酮(3,5,5-Trimetyl-2-cyclohexenone)所組成之群中之至少 1 種為前列腺癌之生物標記。本發明人基於該見解進一步進行研究，結果完成了本揭示之發明。

【0008】亦即，本揭示包含下述態樣。

第 1 項. 一種檢查罹患前列腺癌之可能性的方法，係包括下述步驟：  
(1)測定自受檢體採集之體液試樣中之選自由戊二酸二甲酯、2,6-二甲苯胺、2-羥基-2-甲基苯丙酮、2,6-二(丙-2-基)苯酚、琥珀酸二甲酯、苯乙酮、2-苯基-2-丙醇、及 3,5,5-三甲基-2-環己烯酮所組成之群中之至少 1 種生物標記之量或濃度的步驟。

【0009】第 2 項. 如第 1 項所述之方法，其中進一步包含下述步驟(2a)及/或(2b)：

(2a)於上述步驟(1)中檢測出之生物標記之量或濃度為基準值 A 以上之情形時，判定為上述受檢體罹患前列腺癌之可能性高之步驟；

(2b)於上述步驟(1)中檢測出之生物標記之量或濃度為基準值 B 以下之情形時，判定為上述受檢體罹患前列腺癌之可能性低之步驟。

【0010】第 3 項. 如第 2 項所述之方法，其中，上述基準值 A 及上述基準值 B 係基於自經判定為未罹患有前列腺癌之受檢體或經判定為罹患有前列腺癌之受檢體採集之體液試樣中之上述生物標記之量或濃度的最大值、平均值、百分位值(percentile value)、或最小值之值。

【0011】第 4 項. 如第 1 至 3 項中任一項所述之方法，其中，前述步驟(1)之測定方法為氣相層析質譜法。

【0012】第 5 項. 如第 4 項所述之方法，其中，前述氣相層析質譜法中之監測離子係：

(A) 於測定戊二酸二甲酯之情形時，為選自由  $m/z$  為 129 之離子、 $m/z$  為 59 之離子、及  $m/z$  為 100 之離子所組成之群中之至少 1 種，

(B) 於測定 2,6-二甲苯胺之情形時，為選自由  $m/z$  為 121 之離子、 $m/z$  為 106 之離子、及  $m/z$  為 91 之離子所組成之群中之至少 1 種，

(C) 於測定 2-羥基-2-甲基苯丙酮之情形時，為選自由  $m/z$  為 105 之離子、 $m/z$  為 59 之離子、及  $m/z$  為 77 之離子所組成之群中之至少 1 種，

(D) 於測定 2,6-二(丙-2-基)苯酚之情形時，為選自由  $m/z$  為 163 之離子、 $m/z$  為 178 之離子、及  $m/z$  為 121 之離子所組成之群中之至少 1 種，

(E) 於測定琥珀酸二甲酯之情形時，為選自由  $m/z$  為 115 之離子、 $m/z$  為 55 之離子、 $m/z$  為 59 之離子、及  $m/z$  為 114 之離子所組成之群中之至少 1 種，

(F) 於測定苯乙酮之情形時，為選自由  $m/z$  為 105 之離子、 $m/z$  為 77 之離子、及  $m/z$  為 120 之離子所組成之群中之至少 1 種，

(G) 於測定 2-苯基-2-丙醇之情形時，為選自由  $m/z$  為 43 之離子、 $m/z$  為 121 之離子、及  $m/z$  為 77 之離子所組成之群中之至少 1 種，

(H) 於測定 3,5,5-三甲基-2-環己烯酮之情形時，為選自由  $m/z$  為 138 之離子、 $m/z$  為 82 之離子、及  $m/z$  為 54 之離子所組成之群中之至少 1 種。

【0013】第 6 項. 如第 1 至 5 項中任一項所述之方法，其中，前述生物標記為 2 種以上。

【0014】第 7 項. 如第 1 至 6 項中任一項所述之方法，其中，前述體液試樣為尿試樣。

【0015】第 8 項. 一種前列腺癌之生物標記，其係包含體液試樣中之選自由戊二酸二甲酯、2,6-二甲苯胺、2-羥基-2-甲基苯丙酮、2,6-二(丙-2-基)苯酚、琥珀酸二甲酯、苯乙酮、2-苯基-2-丙醇、及 3,5,5-三甲基-2-環己烯酮所組成之群中之至少 1 種。

【0016】第 9 項. 一種前列腺癌之檢查藥，其係包含選自由戊二酸二甲酯、2,6-二甲苯胺、2-羥基-2-甲基苯丙酮、2,6-二(丙-2-基)苯酚、琥珀酸二甲酯、苯乙酮、2-苯基-2-丙醇、及 3,5,5-三甲基-2-環己烯酮所組成之群中之至少 1 種標準試樣及/或檢測劑。

【0017】又，本揭示亦包含下述態樣作為另一態樣：

A 項. 一種輔助判定罹患前列腺癌之可能性之方法，其係包括下述步驟：(1)測定自受檢體採集之體液試樣中之選自由戊二酸二甲酯、2,6-二甲苯胺、2-羥基-2-甲基苯丙酮、2,6-二(丙-2-基)苯酚、琥珀酸二甲酯、苯乙酮、2-苯基-2-丙醇、及 3,5,5-三甲基-2-環己烯酮所組成之群中之至少 1 種生物標記之量或濃度的步驟。

【0018】 B 項. 一種前列腺癌生物標記之測定方法，其係包括下述步驟：(1)測定自受檢體採集之體液試樣中之選自由戊二酸二甲酯、2,6-二甲苯胺、2-羥基-2-甲基苯丙酮、2,6-二(丙-2-基)苯酚、琥珀酸二甲酯、苯乙酮、2-苯基-2-丙醇、及 3,5,5-三甲基-2-環己烯酮所組成之群中之至少 1 種之量或濃度的步驟。

【0019】 C 項. 一種選自由戊二酸二甲酯、2,6-二甲苯胺、2-羥基-2-甲基苯丙酮、2,6-二(丙-2-基)苯酚、琥珀酸二甲酯、苯乙酮、2-苯基-2-丙醇、及 3,5,5-三甲基-2-環己烯酮所組成之群中之至少 1 種標準試樣及/或檢測劑，其係使用作為前列腺癌之檢查藥。

【0020】 D 項. 一種選自由戊二酸二甲酯、2,6-二甲苯胺、2-羥基-2-甲基苯丙酮、2,6-二(丙-2-基)苯酚、琥珀酸二甲酯、苯乙酮、2-苯基-2-丙醇、及 3,5,5-三甲基-2-環己烯酮所組成之群中之至少 1 種標準試樣及/或檢測劑之用途，其係用於檢查前列腺癌。

【0021】 E 項. 一種選自由戊二酸二甲酯、2,6-二甲苯胺、2-羥基-2-甲基苯丙酮、2,6-二(丙-2-基)苯酚、琥珀酸二甲酯、苯乙酮、2-苯基-2-丙醇、及 3,5,5-三甲基-2-環己烯酮所組成之群中之至少 1 種標準試樣及/或檢測劑之用途，其用於製造前列腺癌之檢查藥。

## [發明之效果]

【0022】 根據本揭示，可提供一種基於生物標記之前列腺癌之檢查技術。

## 【圖式簡單說明】

## 【0023】

圖 1 表示實施例 2 中之戊二酸二甲酯之測定結果之箱形圖。縱軸表示尿中濃度，橫軸中，手術前表示自接受全前列腺切除術(total prostatectomy)前之前列腺癌患者採集之尿之結果，手術後表示自接受全前列腺切除術後之前列腺癌患者採集之尿之結果。手術前與手術後為同一位受檢者。於箱形圖中，以箱所示之範圍係表示所有檢體中相當於 25 至 75%之檢體的濃度分佈範圍，橫線所示之範圍係表示所有檢體中相當於 10 至 90%之檢體的濃度分佈範圍。箱中之橫槓表示各群體(手術前、手術後)之濃度之中央值。箱中之「+」表示平均值。

圖 2 表示實施例 2 中之 2-羥基-2-甲基苯丙酮之測定結果。關於縱軸、橫軸、槓及虛線，係與圖 1 相同。

圖 3 表示實施例 2 中之 2,6-二異丙基苯酚(2,6-Diisopropylphenol) (2,6-二(丙-2-基)苯酚)之測定結果。關於縱軸、橫軸、槓及虛線，係與圖 1 相同。

圖 4 表示實施例 2 中之琥珀酸二甲酯之測定結果。關於縱軸、橫軸、槓及虛線，係與圖 1 相同。

圖 5 表示實施例 2 中之苯乙酮之測定結果。關於縱軸、橫軸、槓及虛線，係與圖 1 相同。

圖 6 表示實施例 2 中之 2-苯基-2-丙醇之測定結果。關於縱軸、橫軸、槓及虛線，係與圖 1 相同。

圖 7 表示實施例 2 中之 3,5,5-三甲基-2-環己烯酮之測定結果。關於縱軸、橫軸、槓及虛線，係與圖 1 相同。

圖 8 表示實施例 3 中之戊二酸二甲酯之測定結果之箱形圖。縱軸表示尿中濃度；橫軸中，健康者係表示自健康者採集之尿之結果，前列腺癌患者係表示自前列腺癌患者採集之尿之結果。於箱形圖中，箱所示之範圍係表示所有檢體中相當於 25 至 75% 之檢體之濃度分佈範圍，橫線所示之範圍係表示所有檢體中相當於 10 至 90% 之檢體之濃度分佈範圍。箱中之橫槓表示各群體(手術前、手術後)中之濃度之中央值。箱中之「+」係表示平均值。

圖 9 表示實施例 3 中之 2-羥基-2-甲基苯丙酮之測定結果。關於縱軸、橫軸、槓及虛線，係與圖 8 相同。

圖 10 表示實施例 3 中之 2,6-二異丙基苯酚(2,6-Diisopropylphenol) (2,6-二(丙-2-基)苯酚)之測定結果。關於縱軸、橫軸、槓及虛線，係與圖 8 相同。

圖 11 表示實施例 3 中之琥珀酸二甲酯之測定結果。關於縱軸、橫軸、槓及虛線，係與圖 8 相同。

圖 12 表示實施例 3 中之苯乙酮之測定結果。關於縱軸、橫軸、槓及虛線，係與圖 8 相同。

圖 13 表示實施例 3 中之 2-苯基-2-丙醇之測定結果。關於縱軸、橫軸、槓及虛線，係與圖 8 相同。

圖 14 表示實施例 3 中之 3,5,5-三甲基-2-環己烯酮之測定結果。關於縱軸、橫軸、槓及虛線，係與圖 8 相同。

圖 15 表示實施例 3 中之 2,6-二甲苯胺之測定結果。關於縱軸、橫軸、槓及虛線，係與圖 8 相同。

### 【實施方式】

【0024】於本說明書中，關於「含有」及「包含」之表述，係包含「含有」、「包含」、「實質上包含」及「僅包含」之概念。

【0025】於本說明書中，關於「及/或」之表述，亦包含選擇「及」與「或」之任一者之情形時的含義。亦即，「A 及/或 B」之表述包含「A 或 B」與「A 及 B」之任一含義。

#### 【0026】 1. 檢查罹患前列腺癌之可能性的方法

本揭示係關於一種檢查罹患前列腺癌之可能性的方法(於本說明書中，有時亦表示為「本揭示之檢查方法」)，其係包括：(1)測定自受檢體採集之體液試樣中之選自由戊二酸二甲酯、2,6-二甲苯胺、2-羥基-2-甲基苯丙酮、2,6-二(丙-2-基)苯酚、琥珀酸二甲酯、苯乙酮、2-苯基-2-丙醇、及 3,5,5-三甲基-2-環己烯酮所組成之群中之至少 1 種生物標記(於本說明書中，有時亦表示為「對象生物標記」)之量或濃度之步驟。

【0027】又，本揭示係關於一種前列腺癌之生物標記，其包含體液試樣中之選自由戊二酸二甲酯、2,6-二甲苯胺、2-羥基-2-甲基苯丙酮、2,6-二

(丙-2-基)苯酚、琥珀酸二甲酯、苯乙酮、2-苯基-2-丙醇、及 3,5,5-三甲基-2-環己烯酮所組成之群中之至少 1 種。

【0028】 以下，對該等進行說明。

【0029】 1-1. 步驟(1)

作為檢查對象之前列腺癌並無特別限制，包含所有種類、程度(例如輕度、中度、重度)、分期(stage)等。

【0030】 受檢體為本揭示的檢查方法的對象生物，其生物種類並無特別限制。作為受檢體之生物種，例如可列舉：人類、猴、小鼠、大鼠、犬、貓、兔等各種哺乳類動物，較佳可列舉人類。

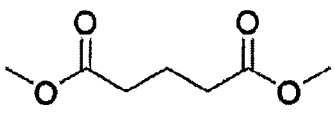
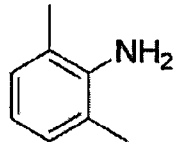
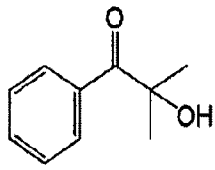
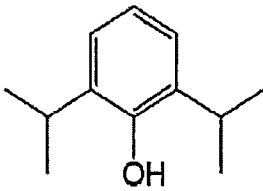
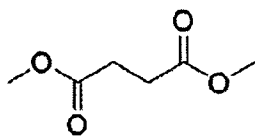
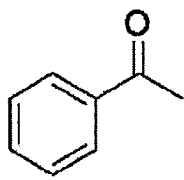
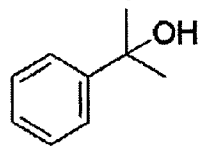
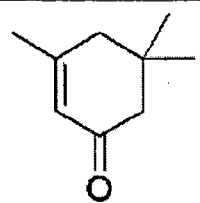
【0031】 關於受檢體之前列腺癌之狀態並無特別限制。作為受檢體，例如可列舉：未釐清是否罹患前列腺癌之檢體、無前列腺癌罹患病史之檢體、有前列腺癌罹患病史且接受過前列腺癌治療之檢體、已藉由其他檢查方法(例如 PSA 檢查等)而判定為罹患(或未罹患)前列腺癌之檢體等。於受檢體為人類之情形時，無論先前至今之病史如何，包含被認為是健康者之人類在內的任意人類均可設為檢查對象的人類。於被認為是健康者之情形時，在一般之健康檢查或健康篩檢(health screening)等中，對於前列腺癌之早期發現或早期診斷為有效。又，於有疑似前列腺癌之受檢者之情形時，可藉由本揭示之檢查方法來輔助進行前列腺癌診斷。

【0032】 體液試樣只要為能夠含有對象生物標記者，則並無特別限制。作為體液試樣，例如可列舉：通過前列腺癌組織之血液等體液、自該體液生成之體液、源自該等體液之試樣等。作為源自體液之試樣，例如可使用對體液進行精製處理而獲得之試樣。精製處理只要不會使對象生物標記之

量或濃度顯著減少，便無特別限制，例如可列舉：鹽類、蛋白質等之去除處理(例如酵素處理、層析管柱精製處理、離心分離處理等)。作為體液試樣，具體而言，例如可列舉：尿、血液、腦脊髓液、體分泌液、唾液、痰；源自該等體液之試樣。該等之中，就檢查之效率性之觀點而言，較佳為尿試樣(尿及源自尿之試樣)。體液之採集方法並無特別限制，例如可採用依據或根據如於一般之定期健康檢查中實施之方法的方法。體液之採集時機並無特別限制，例如可為早上剛起床，亦可為傍晚，亦可為睡前，亦可為飯後或是飯前。體液試樣可在採集或調製後立即使用，或可在冷凍保存後使用。由於 2,6-二(丙-2-基)苯酚在室溫下會因氧化所致之改質而減少，室溫下的半衰期為 3-12 小時，因此不適合使用在於室溫下歷時半天以上的試樣。凍結保存方法並無特別限制，例如可放入至密閉的玻璃容器中，儘快地(例如於-80℃左右)使其凍結，而於一般冷凍庫的溫度(例如-20℃左右)下進行保存。保存期間並無特別限制，雖可達 1 年以上，惟較佳為較短期間。體液試樣可單獨使用 1 種，亦可組合 2 種以上而採用。

【0033】對象生物標記係選自由戊二酸二甲酯、2,6-二甲苯胺、2-羥基-2-甲基苯丙酮、2,6-二(丙-2-基)苯酚、琥珀酸二甲酯、苯乙酮、2-苯基-2-丙醇、及 3,5,5-三甲基-2-環己烯酮所組成之群中之至少 1 種。此等之構造式如表 1 所示。

【0034】 [表 1]

| 化合物名稱            | 結構   |
|------------------|--|
| 戊二酸二甲酯           |    |
| 2,6-二甲苯胺         |    |
| 2-羥基-2-甲基苯丙酮     |    |
| 2,6-二(丙-2-基)苯酚   |    |
| 琥珀酸二甲酯           |   |
| 苯乙酮              |  |
| 2-苯基-2-丙醇        |  |
| 3,5,5-三甲基-2-環己烯酮 |  |

【0035】 作為步驟(1)中之測定對象之對象生物標記可僅為 1 種，可為 2 種以上、3 種以上、4 種以上、5 種以上、6 種以上、7 種以上、或 8 種。藉由組合更多的對象生物標記，可更正確地進行前列腺癌之檢查等。

【0036】對象生物標記之量或濃度之測定方法只要為能夠檢測出對象生物標記之方法，便無特別限制。就檢測靈敏度等觀點而言，該方法較佳可列舉質譜分析法(MS 法)，更佳可列舉氣相層析質譜分析法(GC/MS 法)。

【0037】GC/MS 法係藉由利用氣相層析法將受檢體之體液試樣分離，並針對各分離組分進行質譜分析而進行。

【0038】氣相層析法可依照或根據公知之方法進行。氣相層析法中之體液試樣之氣化及導入，只要根據體液試樣之狀態而自公知之方法選擇適當之方法即可。例如，可藉由使體液試樣之成分吸附於包含通用之固相微萃取纖維之揮發性有機物質吸附材料後，進行加熱脫附而進行。作為揮發性有機物質吸附材料，並無特別限制，例如可列舉聚矽氧樹脂，其中較佳可列舉聚矽氧彈性體。作為聚矽氧樹脂或聚矽氧彈性體，例如可列舉：聚二甲基矽氧烷(PDMS)、或由聚矽氧化合物中的聚合物鏈的甲基經乙烯基或苯基取代的改質聚矽氧化合物所構成的吸附體。揮發性有機物質吸附材料亦可與適當之載體組合使用。

【0039】氣相層析法中之載體氣體只要為非活性氣體即無特別限制。作為載體氣體，例如可列舉：氮氣、氦氣、氬氣等，較佳為氮氣。氣相層析法之固定相並無特別限制。作為固定相，例如可列舉：聚乙二醇、聚甲基氰基烷基矽氧烷、聚二甲基矽氧烷/二苯基矽氧烷、聚二甲基矽氧烷等。該等之中，較佳為極性較高之固定相，具體而言，較佳為聚乙二醇、聚甲基氰基烷基矽氧烷、聚二甲基矽氧烷/二苯基矽氧烷等，更佳為聚乙二醇、聚甲基氰基烷基矽氧烷等，又更佳為聚乙二醇。再者，作為固定相，此外亦可例示：矽膠、活性碳、沸石、活性氧化鋁等。氣相層析法的檢測器只

要為可廣泛地檢測多種成分者，即無特別限制。作為檢測器，例如可列舉：熱傳導度型檢測器(TCD；Thermal Conductivity Detector)、火焰離子化型檢測器(FID；Flame Ionization Detector)、電子捕獲型檢測器(ECD；Electron Capture Detector)等。

【0040】質譜分析可依照或根據公知之方法進行。質譜分析中的離子化法並無特別限制。作為離子化法，例如可列舉：電子電離法(EI 法)、正化學離子化法(PCI 法)、負化學離子化法(NCI 法)等，較佳可列舉 EI 法。EI 法中之離子化電壓並無特別限制，代表性的是 70V 左右。質譜分析中的離子化試樣分子的分離方法並無特別限制。作為該分離方法，例如可採用飛行時間型、磁場偏轉型、四極型、離子阱型、傅立葉轉換離子迴旋共振型(Fourier-Transform Ion Cyclotron Resonance)、串聯型等。

【0041】可藉由將由質譜分析所獲得之表示對象生物標記之離子之量予以定量，而定量出對象生物標記之量或濃度。例如，可基於藉由質譜分析所獲得之質譜中之上述離子的測定譜峰之振幅值和面積等，來算出對象生物標記之量或濃度。再者，於使用測定譜峰之振幅值和面積等之情形時，亦可視需要而加入減少背景雜訊之處理。作為定量所使用之監測離子，例如可列舉以下之監測離子。

(A) 於測定戊二酸二甲酯之情形時，為選自由  $m/z$  為 129 之離子\*、 $m/z$  為 59 之離子、及  $m/z$  為 100 之離子所組成之群中之至少 1 種

(B) 於測定 2,6-二甲苯胺之情形時，為選自由  $m/z$  為 121 之離子\*、 $m/z$  為 106 之離子、及  $m/z$  為 91 之離子所組成之群中之至少 1 種

(C) 於測定 2-羥基-2-甲基苯丙酮之情形時，為選自由  $m/z$  為 105 之離子\*、 $m/z$  為 59 之離子、及  $m/z$  為 77 之離子所組成之群中之至少 1 種

(D) 於測定 2,6-二(丙-2-基)苯酚之情形時，為選自由  $m/z$  為 163 之離子\*、 $m/z$  為 178 之離子、及  $m/z$  為 121 之離子所組成之群中之至少 1 種

(E) 於測定琥珀酸二甲酯之情形時，為選自由  $m/z$  為 115 之離子\*、 $m/z$  為 55 之離子、 $m/z$  為 59 之離子、及  $m/z$  為 114 之離子所組成之群中之至少 1 種

(F) 於測定苯乙酮之情形時，為選自由  $m/z$  為 105 之離子\*、 $m/z$  為 77 之離子、及  $m/z$  為 120 之離子所組成之群中之至少 1 種

(G) 於測定 2-苯基-2-丙醇之情形時，為選自由  $m/z$  為 43 之離子\*、 $m/z$  為 121 之離子、及  $m/z$  為 77 之離子所組成之群中之至少 1 種

(H) 於測定 3,5,5-三甲基-2-環己烯酮之情形時，為選自由  $m/z$  為 138 之離子\*、 $m/z$  為 82 之離子、及  $m/z$  為 54 之離子所組成之群中之至少 1 種。

【0042】於本揭示中的較佳的一態樣中，可將上述監測離子當中標註\*的離子用作定量離子，而將其他離子用作參照離子。

【0043】對象生物標記之量或濃度之測定方法除了 MS 法以外，例如亦可採用表面電漿共振法、或利用金屬氧化物半導體、導電性高分子、高分子薄膜、膽固醇液晶、肖特基二極體(schottky diode)、MOSFET(Metal-Oxide-Semiconductor Field-Effect Transistor，金屬氧化物半導體場效應電晶體)、熱敏電阻(thermistor)、可變電阻(壓敏電阻；varistor)、熱電偶、

晶體振盪器、SAW(表面聲波，Surface Acoustic Wave)裝置、螢光物質、吸光物質、嗅覺細胞(olfactory cell)等之檢測方法等。

【0044】根據包含步驟(1)之本揭示之檢查方法，可提供用以算出罹患前列腺癌之可能性之判定指標的測定值，較佳為可進一步提供該判定指標。藉此，可輔助判定罹患前列腺癌之可能性等。

【0045】又，對象生物標記可用於各種態樣中之前列腺癌檢查。例如，對象生物標記除了利用可在健康檢查等之前列腺癌之篩檢以外，亦可利用於前列腺癌治療中或治療後的治療效果之監測、前列腺癌治療後的復發之檢測、患者的預後之判定等。

【0046】 1-2. 步驟(2)

作為一態樣，本揭示之檢查方法較佳為進一步包括下述步驟：(2a)於步驟(1)中檢測出之生物標記之量或濃度為基準值 A 以上之情形時，判定為受檢體罹患前列腺癌之可能性高之步驟；及/或(2b)於步驟(1)中檢測出之生物標記之量或濃度為基準值 B 以下之情形時，判定為受檢體罹患前列腺癌之可能性低之步驟(有時將此等步驟(2a)及步驟(2b)統稱為「步驟(2)」)。在此所謂「罹患前列腺癌之可能性」，係意指「於採集體液試樣當時罹患前列腺癌之可能性」。

【0047】根據包含步驟(2)之本揭示之檢查方法，能夠判定罹患前列腺癌之可能性。又，由於本揭示之檢查方法可以高精度判定罹患前列腺癌之可能性，故藉由包含步驟(2)之本揭示之檢查方法，可將罹患前列腺癌之受檢體更確實地判定為「罹患前列腺癌(或未罹患前列腺癌)」(亦即，可進一步降低誤判為「未罹患前列腺癌(或罹患前列腺癌)」之可能性)。

【0048】就判定靈敏度、判定特異性、陽性準確率、陰性準確率等觀點而言，發明所屬技術領域中具有通常知識者可適當設定基準值(基準值 A 及基準值 B 各者)。基準值可為根據人種、年齡等而逐次設定之值、及預先設定之值之任一者。基準值例如可設為基於自己被判定為未罹患前列腺癌之受檢體或已被判定為罹患前列腺癌之受檢體所採集之體液試樣中之對象生物標記之量或濃度之最大值、平均值、百分位值、或最小值之值。

【0049】所謂「基準值」，係指於以該值為基準而判定疾病有無發病之情形時，判定靈敏度(有病正確診斷率)及判定特異性(無病正確診斷率)兩者為充分高之值。例如，可將於罹患前列腺癌之受檢體顯示高陽性率，且於未罹患前列腺癌之受檢體顯示高陰性率之值設定為基準值。

【0050】此處所謂的「判定靈敏度」，係指對患有特定疾病之群體進行檢查時之顯示為陽性(異常值)之比率(真陽性之比率)。又，所謂的「判定特異性」係指對未罹患特定疾病之群體進行檢查時之顯示為陰性(正常值)之比率(真陰性之比率)。又，「陽性準確率」係指於檢查中呈陽性之受檢者當中實際為罹患疾病之受檢體之比率，「陰性準確率」係指於檢查中呈陰性之受檢者當中實際為未罹患疾病之受檢體之比率。

【0051】設定基準值之方法於該領域中為眾所周知，更具體而言，例如可藉由測定自判定為未罹患前列腺癌之受檢體或判定為罹患前列腺癌之受檢體所採集之活體試樣中的對象生物標記之量或濃度，並使用該測定值而進行基於接收者操作特性(Receiver Operating Characteristic, ROC)曲線之解析等之統計解析[更具體而言，可例示使用約登指數(Youden index)之方法]來設定。

【0052】此種基準值並非採用特定之值，而是因設定基準值之際所使用的受檢體對象群體而改變。

【0053】再者，即便於將同一受檢體作為對象之情形時，亦存在測定值因所使用的分析方法而異之情況，因此基準值係因應所使用之分析方法而設定。

【0054】基準值亦可係基於自同一受檢體於一定期間前採集到之體液試樣的測定值而加以設定。所謂的「一定期間」，只要為測定值能夠於同一受檢體內變化的程度之期間，即無特別限制。例如可列舉：1 個月至 10 年、2 個月至 5 年、3 個月至 2 年、4 個月至 1 年左右之期間。又，於受檢體接受治療及/或手術之情形時，亦可基於在治療及/或手術前所採集之體液試樣之測定值而設定基準值。

#### 【0055】2. 前列腺癌之更高精度的診斷

藉由包含步驟(2a)之本揭示之檢查方法，於判定為受檢體罹患前列腺癌之可能性高之情形時，藉由於本揭示之檢查方法中進一步組合(3)之「對步驟(2a)中判定為罹患前列腺癌之可能性高之受檢者應用前列腺癌之診斷方法」之步驟，可以更高精度來診斷前列腺癌之罹患。又，因為本揭示之檢查方法可以高精度判斷罹患前列腺癌之可能性，故藉由於本揭示之檢查方法中組合步驟(3)，可更確實地將真正罹患前列腺癌之受檢體診斷為「罹患前列腺癌」(亦即，可進一步降低將未罹患前列腺癌之受檢體作為步驟(3)之診斷對象之可能性、誤診斷為「未罹患前列腺癌」之可能性、及將罹患前列腺癌之受檢體自步驟(3)之診斷對象排除之可能性)。

【0056】步驟(3)中所應用之前列腺癌之診斷方法並無特別限制，可採用各種公知之診斷方法。該診斷方法例如可列舉：直腸內觸診、超音波檢查、MRI 檢查、CT 檢查、穿刺活組織檢查等。診斷方法可為單獨 1 種，亦可為 2 種以上之組合。

### 【0057】 3. 前列腺癌之治療

當藉由包含步驟(2a)之本揭示之檢查方法而判定為受檢體罹患前列腺癌之可能性高之情形時，或藉由步驟(3)而診斷為受檢體為前列腺癌之情形時，藉由進一步進行(4)對於在步驟(2a)中判定為罹患前列腺癌之可能性高之受檢者、或在步驟(3)中診斷為罹患前列腺癌之受檢者進行前列腺癌治療之步驟[步驟(4)]，而能夠治療受檢體之前列腺癌。又，由於本揭示之檢查方法可以高靈敏度來判斷罹患前列腺癌之可能性，故而藉由對本揭示之檢查方法或本揭示之檢查方法與步驟(3)之組合進一步地組合步驟(4)，可更為確實地治療真正罹患前列腺癌之受檢體(亦即，可進一步降低將真正罹患前列腺癌之受檢體自治療對象排除之可能性)。

【0058】前列腺癌之治療方法並無特別限制，可採用各種公知之治療方法。作為治療方法，例如可列舉：化學療法、外科治療法、放射線治療法、免疫療法等。該等可依據公知之方法實施。

【0059】化學療法所使用之治療藥並無特別限制，可使用各種抗癌劑。作為抗癌劑，例如可列舉：烷基化劑(alkylation agent)、抗代謝藥、微管抑制劑(microtubule inhibitor)、抗生素抗癌劑、拓樸異構酶(topoisomerase)抑制劑、鉑製劑、分子標靶藥、激素劑、生物製劑等。作為烷基化劑，例如可列舉：環磷醯胺(cyclophosphamide)、異環磷醯胺(ifosfamide)、亞硝

基脲(nitrosourea)、達卡巴嗪(dacarbazine)、替莫唑胺(temozolomide)、尼莫司汀(nimustine)、白消安(busulfan)、美法侖(melphalan)、丙卡巴肼(procarbazine)、雷莫司汀(ranimustine)等。作為抗代謝藥，例如可列舉：依諾他濱(enocitabine)、卡莫氟(carmofur)、卡培他濱(capecitabine)、替加氟(tegafur)、替加氟-尿嘧啶(uracil)、替加氟-吉瑪瑞西-歐特拉西(Tegafur-Gimeracil-Oteracil)、吉西他濱(gemcitabine)、阿糖胞苷(cytarabine)、阿糖胞苷十八烷基磷酸鹽(cytarabine ocfosphate)、奈拉濱(nerabine)、氟尿嘧啶(flourouracil)、氟達拉濱(fludarabine)、培美曲塞(pemetrexed)、噴司他汀(pentostatin)、甲胺喋呤(methotrexate)、克拉屈濱(cladribine)、去氧氟尿苷(doxifluridine)、羥基脲(hydroxycarbamide)、巯嘌呤(mercaptapurine)等。作為微管抑制劑，例如可列舉：長春新鹼(vincristin)等生物鹼系抗癌劑；多烯紫杉醇(docetaxel)、太平洋紫杉醇(paclitaxel)等紫杉烷系抗癌劑。作為抗生素抗癌劑，例如可列舉：絲裂黴素 C、阿黴素(doxorubicin)、泛艾黴素(epirubicin)、道諾黴素(daunorubicin)、博來黴素(bleomycin)、放線菌素(actinomycin)D、阿克拉黴素(aclacinomycin)、艾達黴素(idarubicin)、吡喃阿黴素(pirarubicin)、培普黴素(peplomycin)、米托蒽醌(mitoxantrone)、胺柔比星(amrubicin)、地諾他汀斯替馬拉姆(zinostatin stimalamer)等。作為拓樸異構酶抑制劑，可列舉：具有拓樸異構酶 I 抑制作用之 CPT-11、伊立替康(irinotecan)、諾吉替康(nogitecan)，具有拓樸異構酶 II 抑制作用之依託泊苷(etoposide)、索布佐生(sobuzoxane)。作為鉑製劑，例如可列舉：順鉑(cisplatin)、奈達鉑(nedaplatin)、奧沙利鉑(oxaliplatin)、卡鉑(carboplatin)等。作為激素劑，例如可列舉：地塞米松

(dexamethasone)、非那雄胺(finasteride)、他莫昔芬(tamoxifen)、阿司洛唑(astrozole)、依西美坦(exemestane)、乙炔基雌二醇、氯地孕酮(chlormadinone)、戈舍瑞林(goserelin)、比卡魯胺(bicalutamide)、氟他胺(flutamide)、普賴蘇濃(prednisolone)、亮丙瑞林(leuprorelin)、來曲唑(letrozole)、雌莫司汀(estramustine)、托瑞米芬(toremifene)、磷烯雌酚(phosfestrol)、米托坦(mitotan)、甲基睾固酮(methyltestosterone)、甲羥孕酮(medroxyprogesterone)、美雄烷(mepithiostane)等。作為生物製劑，例如可列舉：干擾素  $\alpha$ 、 $\beta$  及  $\gamma$ 、介白素 2、烏苯美司(ubenimex)、乾燥 BCG 等。作為分子標靶藥，例如可列舉：納武利單抗(nivolumab)、帕博利珠單抗(pembrolizumab)、利妥昔單抗(rituximab)、阿倫單抗(alemtuzumab)、曲妥珠單抗(trastuzumab)、西妥昔單抗(cetuximab)、帕尼單抗(panitumumab)、伊馬替尼(imatinib)、達沙替尼(dasatinib)、尼羅替尼(nilotinib)、吉非替尼(gefitinib)、厄洛替尼(erlotinib)、坦羅莫司(temsirrolimus)、貝伐單抗(bevacizumab)、VEGF 捕獲劑(trap)、舒尼替尼(sunitinib)、索拉非尼(sorafenib)、托西珠單抗(Tocilizumab)、硼替佐米(bortezomib)、吉妥珠單抗-奧佐米星(gemtuzumab-ozogamicin)、伊立莫單抗-奧佐米星(ibritumomab ozogamicin)、替伊莫單抗-替伊坦(ibritumomab tiuxetan)、他米巴羅汀(tamibarotene)、視網酸(tretinoin)等。除此處所特定之分子標靶藥以外，亦可包含人類上皮生長因子受體 2 抑制劑、上皮生長因子受體抑制劑、Bcr-Abl 酪胺酸激酶抑制劑、上皮生長因子酪胺酸激酶抑制劑、mTOR 抑制劑、血管內皮生長因子受體 2 抑制劑( $\alpha$ -VEGFR-2 抗體)等以血管新生為標靶之抑制劑、MAP 激酶抑制劑等各種酪胺酸激酶抑制

劑、以細胞激素為標靶之抑制劑、蛋白酶體(proteasome)抑制劑、抗體-抗癌劑調配體等分子標靶藥等。此等抑制劑亦包括抗體。治療藥可為單獨 1 種，亦可為 2 種、或 3 種以上之組合。

#### 【0060】 4. 前列腺癌之檢查藥

本揭示於其一態樣係關於一種前列腺癌檢查藥(於本說明書中，有時亦表示為「本揭示之檢查藥」)，其包含選自由戊二酸二甲酯、2,6-二甲苯胺、2-羥基-2-甲基苯丙酮、2,6-二(丙-2-基)苯酚、琥珀酸二甲酯、苯乙酮、2-苯基-2-丙醇、及 3,5,5-三甲基-2-環己烯酮所組成之群中之至少 1 種標準試樣及/或檢測劑。以下，對此進行說明。

【0061】 標準試樣係選自戊二酸二甲酯、2,6-二甲苯胺、2-羥基-2-甲基苯丙酮、2,6-二(丙-2-基)苯酚、琥珀酸二甲酯、苯乙酮、2-苯基-2-丙醇、及 3,5,5-三甲基-2-環己烯酮所成群之至少 1 種化合物、或其修飾物，只要於此範圍內即無特別限制。例如，標準試樣可在定量對象生物標記時用於製作校準曲線。標準試樣為公知化合物、或可藉由現有的化合物修飾方法而自公知化合物獲得者。

【0062】 檢測劑只要為能夠用於檢測對象生物標記者，則並無特別限制。就檢測劑而言，當對象生物標記具有於藉由化學反應而轉換為其他化合物之情形時會顯色之結構(基團等)時，係可使用引起該化學反應之物質(顯色試劑)來作為檢測劑。作為顯色試劑，例如可列舉：磷鉬酸、大茴香醛(anisaldehyde)、鈾/鉬酸銨、硫酸、茛三酮(ninhydrin)、碘化鉍鉀試劑(Dragendorff's reagent)、二硝基苯基肼、氯化鈮、鹼性過錳酸鉀、溴甲酚

綠、氯化鐵(II)等。又，對於構成對象生物標記之化合物之抗體、輔助藉由質譜分析進行之對象生物標記之檢測之檢測標籤等亦可用作檢測劑。

【0063】本揭示之檢查藥可呈包含標準試樣及/或檢測劑之組成物的形式。該組成物中，視需要亦可包含其他成分。作為其他成分，例如可列舉：基劑、載體、溶劑、分散劑、乳化劑、緩衝劑、穩定劑、賦形劑、黏合劑、崩解劑、潤滑劑、增黏劑、保濕劑、著色料、香料、螯合劑等。

【0064】本揭示之檢查藥可用於包含標準試樣及/或檢測劑之套組。該套組亦可包含於可使用於實施本揭示之檢查方法之器具、試劑等。

#### [實施例]

【0065】以下，基於實施例對本發明進行詳細說明，但本發明並不限定於該等實施例。

#### 【0066】參考例 1. 尿試樣之準備

以下之實施例 1 及實施例 2 中所採用之受檢者[健康者 6 名、前列腺癌患者(以下，有時亦僅表示為「患者」)14 名]之尿試樣，係由獲得知情同意書之男性所提供之 5 天分的尿。各受檢體之年齡、前列腺癌分期及治療史係顯示於表 2 中。

【0067】 [表 2]

| 識別編號      | 年齡      | 前列腺癌分期           | 手術前治療史 |
|-----------|---------|------------------|--------|
| 健康者 1     | 52-75 歲 | -                | 無      |
| 健康者 2     |         |                  | 無      |
| 健康者 3     |         |                  | 無      |
| 健康者 4     |         |                  | 無      |
| 健康者 5     |         |                  | 無      |
| 健康者 6     |         |                  | 無      |
| 前列腺癌患者 1  | 62-78 歲 | II               | 無      |
| 前列腺癌患者 2  |         |                  | 無      |
| 前列腺癌患者 3  |         |                  | 無      |
| 前列腺癌患者 4  |         |                  | 無      |
| 前列腺癌患者 5  |         |                  | 無      |
| 前列腺癌患者 6  |         |                  | 無      |
| 前列腺癌患者 7  |         |                  | 無      |
| 前列腺癌患者 8  |         |                  | 無      |
| 前列腺癌患者 9  | 58-80 歲 | II<br>(1 名為 III) | 內分泌治療  |
| 前列腺癌患者 10 |         |                  | 內分泌治療  |
| 前列腺癌患者 11 |         |                  | 內分泌治療  |
| 前列腺癌患者 12 |         |                  | 內分泌治療  |
| 前列腺癌患者 13 |         |                  | 內分泌治療  |
| 前列腺癌患者 14 |         |                  | 內分泌治療  |

【0068】 大多數患者係屬於第 II 期(侷限於前列腺內部之癌症)，其分類為前列腺癌分期當中之初期階段。

【0069】患者在接受全前列腺切除術之後，在手術後 3 個月的時間點之 PSA 測試中係被判定為前列腺癌陰性。將自該等患者採集之尿作為手術後尿。

【0070】將所有的尿試樣於採集後立即利用孔徑尺寸為 0.2 $\mu$ m 之過濾器進行過濾，藉此去除雜質、並進行殺菌後，於-80 $^{\circ}$ C 下保存直到用於測定。

【0071】實施例 1. 使用固相微萃取-氣相層析質譜法鑑別前列腺癌標記物

為了減低因飲食與遺傳性素因所致之個人臭味、潛血所引起之氣味，將 5 名患者[62 至 77 歲，癌症分期為 II，格里森分數(Gleason score)為 7.2(平均)]之 5 天分之尿以等量予以混合而製作成混合尿。也同樣地將 6 名健康者(52 至 75 歲)分為各 3 名健康者之 2 組，並於各組中將 3 名健康者 6 天分之尿以等量混合，而製作成混合尿。

【0072】於測定應用內分泌治療後之患者的尿之情形時，係將應用內分泌治療後之實施根治性全前列腺切除術之前的患者 5 名[58 至 80 歲，第 II 期 4 名，第 III 期 1 名，格里森分數 6.0(平均)]之 5 天分的尿以與上述同樣的方式混合。

【0073】於密閉之玻璃容器中放入混合尿，藉由加溫而大量捕集揮發性成分，並利用質譜儀進行成分分析。為了將稀薄成分濃縮，係使化合物吸附於塗覆有二乙烯苯/碳分子篩/聚二甲基矽氧烷(divinylbenzene/carboxen/polydimethylsiloxane, DVB/CAR/PDMS)(supelco, #57348-U, Sigma-Aldrich 製)之固相微萃取纖維上。

【0074】將 250 $\mu$ L 尿液置於 2mL 玻璃小瓶中，且在 40 $^{\circ}$ C 下培養 30 分鐘，插入上述纖維且保持 20 分鐘，以吸附化合物。將吸附有化合物之纖維插入至 GC-MS(GCMS-TQ8030，島津製)之注入口，使化合物脫附，進行揮發成分之測定。測定係對各試樣實施 2 次。作為分析時之品質控制 (quality control) 試樣，無論為健康者、患者，均係從用於解析之全部的尿中取出一部分來製作等量混合尿，並進行分析。GC-MS 之分析條件如下。

【0075】 <分析條件>

- 分析儀器：GCMS-TQ8030 系統(島津製作所製)
- 管柱：CP Sil 8CB (30 m  $\times$  0.25 mm 內徑  $\times$  0.25  $\mu$ m 膜厚，Agilent Technologies 製)
- 移動相氣體：氦氣、1.0mL/分鐘、流量固定
- 升溫條件：40 $^{\circ}$ C (0 分鐘) $\rightarrow$ 40 $^{\circ}$ C (5 分鐘) $\rightarrow$  240 $^{\circ}$ C (45 分鐘) $\rightarrow$  240 $^{\circ}$ C (50 分鐘)
- 注入條件：2 分鐘，240 $^{\circ}$ C，無分流
- 掃描範圍：m/z40-500，0.2 掃描/秒
- 離子源溫度：180 $^{\circ}$ C
- 介面溫度：300 $^{\circ}$ C
- 離子化電壓：70 eV。

【0076】基於藉由 QC 試樣之分析所獲得之所有譜峰之高度值，針對各譜峰算出每次分析之相對標準偏差(%RSD)。將 %RSD<30% 及與陰性對象相比為 5 倍以上之譜峰作為解析對象，排除因機器分析過程中之技術因素所致之檢測容易不均的譜峰和雜訊譜峰，獲得於每次分析時能夠再現性

良好地檢測出之譜峰的作為解析對象之 160 譜峰。繼而，利用 GC-MS 分別測定上述健康者及前列腺癌患者之手術前手術後之混合液，並將所獲得之譜峰之高度值作為變數，進行主成分分析，獲得新穎的第一主成分與第二主成分之合成變數。將第一主成分與第二主成分作為軸，將各混合尿之主成分得分進行作圖。

【0077】將從健康者檢體及前列腺癌患者檢體(手術前)獲得之檢體沿著 PC1 軸而描繪於不同位置，顯示揮發性成分之分佈(profile)係明確地有所不同。將健康者檢體與前列腺癌患者+內分泌治療患者檢體(手術前)進行比較，雖然亦描繪於不同位置，且揮發性成分之分佈明顯呈現出不同，但是其差異並不如從健康者檢體與前列腺癌患者檢體(手術前)獲得之檢體的差異，前列腺癌患者+內分泌治療患者檢體(手術前)係沿著 PC1 軸而更接近於健康者檢體。就第一主成分而言，健康者係正向變大，反之，前列腺癌患者則係負向變大，因此認為第一主成分為顯示出健康狀態之軸。基於此，咸認前列腺癌患者+內分泌治療患者檢體(手術前)會更接近於健康者之結果，可能是因為：藉由內分泌治療而抑制癌之進展之效果，使得自癌組織釋出之癌特有的揮發性化合物減少，而接近於自健康者之癌組織所釋出之揮發性化合物分佈。

【0078】關於摘除癌之後的患者之檢體[即前列腺癌患者檢體(手術後)及前列腺癌患者檢體+內分泌治療(手術後)之檢體]，與手術前癌患者相比，於作圖中其係沿著 PC1 軸而在正向落於更接近健康者之附近。咸認癌症之有無會導致釋放至尿中之揮發性成分之分佈發生變化。

【0079】同樣地，將藉由 GC-MS 分析所獲得之各個譜峰的主成分得分繪製於 PC1 軸-PC2 軸之圖表。根據上述結果，認為第一主成分得分為負向之大譜峰為賦予前列腺癌特徵之成分集團。將此成分集團中之八種化合物(戊二酸二甲酯、2,6-二甲苯胺、2-羥基-2-甲基苯丙酮、2,6-二(丙-2-基)苯酚、琥珀酸二甲酯、苯乙酮、2-苯基-2-丙醇、及 3,5,5-三甲基-2-環己烯酮)鑑別為前列腺癌標記。

【0080】實施例 2. 人類尿之揮發性有機化合物之定量分析(手術前後之尿中濃度推移)

使用 5 名癌症患者的手術前之尿、及該等 5 名癌症患者的手術後之尿，對實施例 1 中所鑑別之 7 種對象化合物(戊二酸二甲酯、2-羥基-2-甲基苯丙酮、2,6-二(丙-2-基)苯酚、琥珀酸二甲酯、苯乙酮、2-苯基-2-丙醇和 3,5,5-三甲基-2-環己烯酮)之濃度進行定量分析。各尿檢體係藉由等量混合 5 次份之尿而獲得。定量分析方法的詳細內容如下。

【0081】<測試溶液之調製>

(1) 標準原液

將對象化合物以 DMSO 稀釋，調製成 10、20、50、200、500、2000、5000、10000 及 20000ng/mL(試樣中的等效濃度為 1、2、5、20、50、200、500、1000 及 2000ng/mL)，作為標準原液。

(2) 標準溶液

於 20mL 容積之頂空小瓶(headspace vial)中添加精製水 250 $\mu$ L，並添加各校準曲線用標準原液 25 $\mu$ L。

(3) 試樣溶液及空白溶液

於 20mL 容積之頂空小瓶中加入檢體 250 $\mu$ L，並加入 DMSO 25 $\mu$ L。  
再者，將使用 TOC 精製水取代試樣進行相同之操作而調製成之溶液設為空白溶液。

#### (4) 添加試樣溶液

於 20mL 容積之頂空小瓶中加入檢體 250 $\mu$ L，並加入 200、500、2000ng/mL 的標準原液 25 $\mu$ L。

#### 【0082】 <裝置>

- GC-MS：GCMS-QP2010Ultra(島津製作所股份有限公司製)
- 自動取樣器：AOC-5000Plus(島津製作所股份有限公司製)

#### (SPME 部)

• SPME 纖維：二乙烯基苯分散與碳分子篩(Carboxen)分散、聚二甲基矽氧烷之 2 層(DVB/CAR/PDMS)

- 小瓶(vial)內平衡溫度：40 $^{\circ}$ C
- 小瓶內平衡時間：30 分鐘
- 萃取時間：20 分鐘
- 脫附時間：4 分鐘
- 纖維加熱清洗溫度：260 $^{\circ}$ C
- 纖維加熱清洗時間：10 分鐘

#### (GC 部)

• 管柱：InertCap Pure WAX 內徑 0.25mm、長度 30m、膜厚 0.5 $\mu$ m(GL Sciences 股份有限公司製)

- 管柱溫度：40 $^{\circ}$ C(維持 5 分鐘) $\rightarrow$ 5 $^{\circ}$ C/分鐘 $\rightarrow$ 240 $^{\circ}$ C(維持 5 分鐘)

- 注入口溫度：240°C
- 載體氣體控制模式：以載體氣體流量成為 1mL/分鐘之方式進行線速度控制。

- 試樣導入法：無分流
- 注入量：1  $\mu$ L

(MS 部)

- 離子化方法：EI 方法
- 介面溫度：240°C
- 離子源溫度：200°C
- 增益：自動調諧(auto-tuning)結果相對值 0.2kV
- 模式：掃描(scan)
- 掃描速度：0.2 scan/sec。

【0083】以 InertCap Pure WAX 分別測定標準溶液。獲得所得之總離子層析圖(Total Ion Chromatogram, TIC)後，根據所檢測出之譜峰之質譜來鑑定對象化合物之譜峰，選定監測離子(表 3)。

【0084】 [表 3]

| 化合物名稱            | 監測離子                     |
|------------------|--------------------------|
| 戊二酸二甲酯           | 定量：129<br>參照：59, 100     |
| 2-羥基-2-甲基苯丙酮     | 定量：105<br>參照：59, 77      |
| 2,6-二(丙-2-基)苯酚   | 定量：163<br>參照：178, 121    |
| 琥珀酸二甲酯           | 定量：115<br>參照：55, 59, 114 |
| 苯乙酮              | 定量：105<br>參照：77, 120     |
| 2-苯基-2-丙醇        | 定量：43<br>參照：121, 77      |
| 3,5,5-三甲基-2-環己烯酮 | 定量：138<br>參照：82, 54      |

【0085】 將結果示於圖 1 至 7。就 7 種對象化合物而言，與手術後檢體相比，於手術前檢體中係顯示出較高值之成分。由此可知，該等化合物係源自前列腺癌組織之化合物。

【0086】 實施例 3. 人類尿液之揮發性有機化合物之定量分析(健康者及患者之尿中濃度比較)

使用 6 名健康者之 4 天分之尿(合計為 24 試樣)、及 4 名前列腺癌患者之 2 至 5 天分之尿(合計為 13 個試樣)，就實施例 1 中所鑑別之 8 種對象化合物(戊二酸二甲酯、2-羥基-2-甲基苯丙酮、2,6-二(丙-2-基)苯酚、琥珀酸

二甲酯、苯乙酮、2-苯基-2-丙醇、3,5,5-三甲基-2-環己烯酮和 2,6-二甲苯胺)之濃度進行定量分析。定量分析方法係與實施例 2 相同。

【0087】在實施例 2 中未選定之 2,6-二甲苯胺之監測離子如下。

【0088】[表 4]

| 化合物名稱    | 監測離子                 |
|----------|----------------------|
| 2,6-二甲苯胺 | 定量：121<br>參照：106, 91 |

【0089】將結果示於圖 8 至 15。就 8 個對象化合物而言，與健康正常者之檢體相比，係於前列腺癌患者之檢體中顯示出較高值之成分。由此可知，該等化合物係源自前列腺癌組織之化合物。

【符號說明】

無。