

原 著

腹部領域解析システムによる肥満と筋肉の関連性

篠原通浩<sup>\*1</sup>、木村 学<sup>\*1</sup>、黒沼典剛<sup>\*1</sup>、大澤 健<sup>\*1</sup>、渡邊 希<sup>\*1</sup>、大木洋美<sup>\*1</sup>、助川和也<sup>\*1</sup>  
芥川雄一<sup>\*1</sup>、草野 涼<sup>\*2</sup>、中川 徹<sup>\*2</sup>、色川正貴<sup>\*3</sup>、井上敦詞<sup>\*4</sup>、中島邦佳<sup>\*4</sup>、永尾朋洋<sup>\*4</sup>

現在、肥満症やメタボリック症候群（以下メタボ）の診断基準は腹囲や内臓脂肪面積などいくつかあげられる。しかし、筋肉質の体についてはそれらの診断基準に疑問が生じる。そこで腹部領域解析システム fatPointer $\alpha$  を用いて、年代別（30代～70代）に男性約1,000人、女性約500人の解析を行った。男女ともに年代が上がるにつれ、内臓脂肪、筋肉内脂肪は有意に増加し、筋肉は有意に減少を認めた。また、男性に限るが筋肉面積比（筋肉面積／全体面積）の平均値で二分すると筋肉が多い群は少ない群に比べて、メタボ関連因子が少ないことが示唆された。

キーワード：メタボリック症候群、内臓脂肪、筋肉、筋肉内脂肪、NCEP  
The Journal of the Japanese Society of CT Screening 2012; 19: 90-93

目 的

肥満症やメタボの診断基準に腹囲男性85cm、女性90cm以上、腹部CTにおいて内臓脂肪面積100cm<sup>2</sup>以上などがある<sup>[1]</sup>。そして、肉体労働者や日々運動をしている方の中にも、全体的に体格がよいことで上記診断基準項目に該当してしまう方が存在する。そこで、腹部領域解析システム fatPointer $\alpha$  を用いて腹部内の各部位（従来の皮下脂肪、内臓脂肪以外に内臓、筋肉、筋肉内脂肪等）を数値化した上で筋肉という観点から肥満について検討したので報告する。

対 象

2007、2008年に内臓脂肪CTを受診された方の画像の中から各世代（30、40、50、60、70代）

を無作為に約200例ずつ抽出した（女性は約100例ずつ）。

方 法

腹部領域解析システム fatPointer $\alpha$  を用いて計測を行い、各項目（内臓脂肪面積、筋肉面積、筋肉内脂肪面積）を世代間で評価した。また、全世代の筋肉面積比（筋肉面積／全体面積）の平均値で二分し、メタボ診断基準を基に評価した（マン・ホイットニーのU検定）。メタボ診断基準はNCEP（National Cholesterol Education Program）基準を採用し、中性脂肪値150mg/dl以上、HDLコレステロール値40mg/dl未満、血圧130mmHg以上/85mmHg以上、空腹時血糖値100mg/dl以上をそれぞれ1点とした。

結 果

内臓脂肪、筋肉、筋肉内脂肪の世代別評価の結果を Fig. 1～6 に示す。男性の内臓脂肪は30代に比べ、40代以上がそれぞれ有意に増加した。40代から70代の間では増加傾向はみられたものの有意差はなかった。筋肉は30代から各年代間

\*1 (株)日立製作所日立健康管理センタ放射線技術科

\*2 (株)日立製作所日立健康管理センタ放射線診断科

\*3 (株)日立製作所日立健康管理センタ健康管理科

〒317-0076 茨城県日立市会瀬町4-3-16

TEL: 0294-34-1020

E-mail: michihiro.shinohara.qh@hitachi.com

\*4 日立メディコ

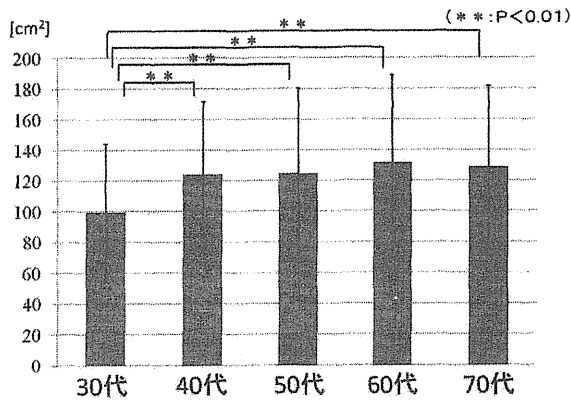


Fig. 1 世代別評価 (男性・内臓脂肪)

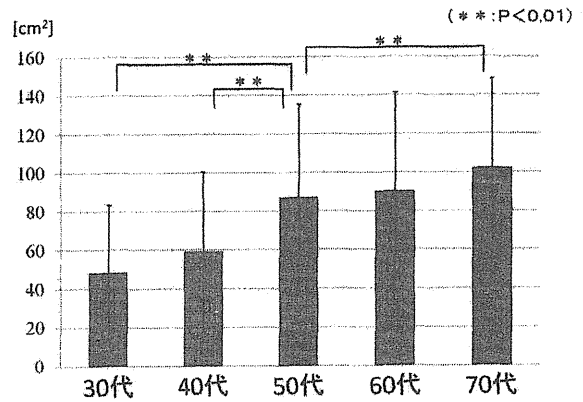


Fig. 4 世代別評価 (女性・内臓脂肪)

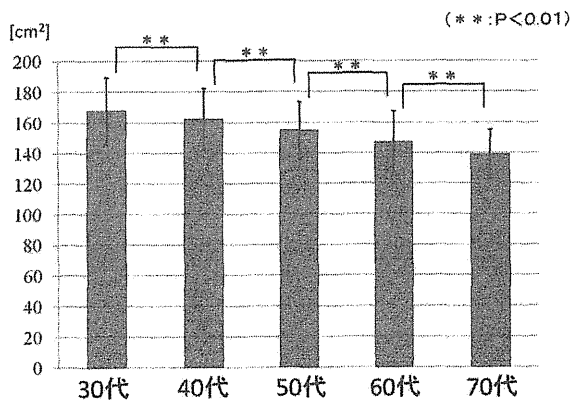


Fig. 2 世代別評価 (男性・筋肉)

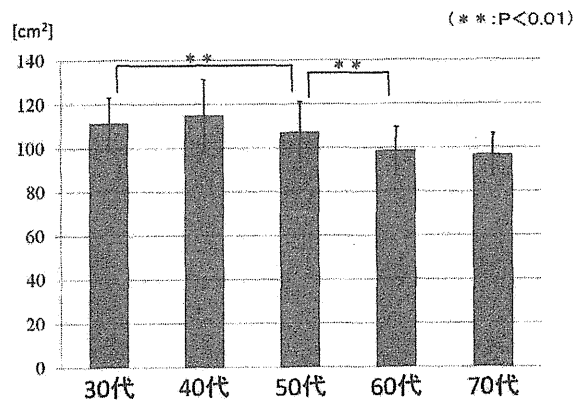


Fig. 5 世代別評価 (女性・筋肉)

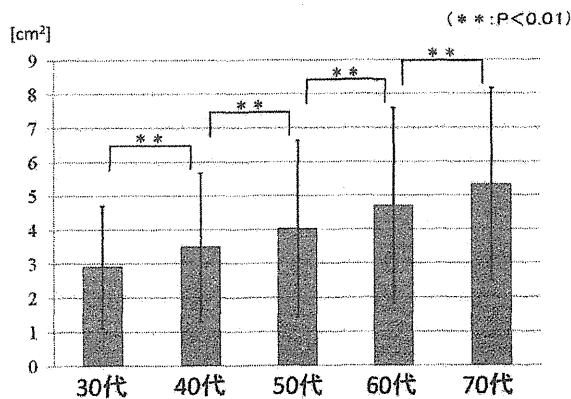


Fig. 3 世代別評価 (男性・筋肉内脂肪)

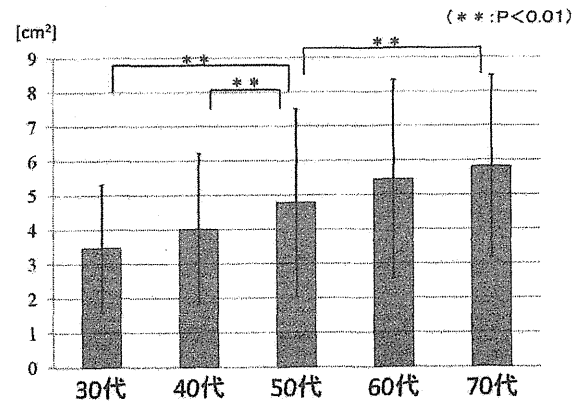


Fig. 6 世代別評価 (女性・筋肉内脂肪)

で有意に減少した。筋肉内脂肪は30代から各年代間で有意に増加した。女性は内臓脂肪、筋肉内脂肪が30、40代に比べ、50代以上がそれぞれ有意に増加した。筋肉は30、40代に比べ、50代以上がそれぞれ有意に減少した。男女ともに年

代が上がるにつれ、内臓脂肪、筋肉内脂肪は増加、筋肉は減少という結果となった。

次に、筋肉面積比の平均値で二分したときのメタボ診断基準の点数化の割合で、男性のみ全員を対象としたものの結果をTable 1に示す。平

均値より高値を筋肉多群、低値を筋肉少群とした。各世代で筋肉多群は少群に比べ、メタボ診断基準の点数が低く、特に60代を除いては1点にも満たない良好な結果となった。また、内臓脂肪面積 (VFA : visceral fat area) が100cm<sup>2</sup>以上のみを対象としたものの結果をTable 2に示す。筋肉多群の30、40代は1点に満たない結果であり、50代以上も筋肉少群に比べて低い点数

Table 1 筋肉量とメタボ診断基準 (男性のみ全員)

	筋肉少群			筋肉多群			P
	平均点	標準偏差	N	平均点	標準偏差	N	
30代	1.02	0.918	52	0.57	0.786	136	0.001
40代	1.33	1.106	89	0.64	0.778	103	0.000
50代	1.60	1.006	92	0.86	0.923	102	0.000
60代	1.51	1.043	111	1.12	0.939	89	0.013
70代	1.50	0.944	148	0.90	0.907	51	0.000

Table 2 筋肉量とメタボ診断基準 (VFA ≥ 100cm<sup>2</sup>のみ)

	筋肉少群			筋肉多群			P
	平均点	標準偏差	N	平均点	標準偏差	N	
30代	1.02	0.915	50	0.88	0.980	41	0.381
40代	1.43	1.095	81	0.90	0.878	51	0.006
50代	1.61	1.034	83	1.19	1.126	37	0.430
60代	1.54	1.053	106	1.44	1.013	45	0.796
70代	1.58	0.969	125	1.33	0.917	24	0.171

であった。

### 考 察

腹部領域解析システム fatPointer<sup>a</sup>を用いて男性約1,000例、女性約500例を解析した。筋肉、筋肉内脂肪という領域を数値化し、年代間でみられる筋肉の低下、さらには筋肉内脂肪の増加を有意に示すことができた。また、筋肉面積比の平均値で二分しての評価では、各世代で筋肉多群が少群に比べて、メタボ診断基準 (中性脂肪、HDLコレステロール、血圧、空腹時血糖) にあてはまる割合が有意に低かった。30～50代に至っては約2倍の違いがみられ、基準項目を一つももたない結果となった。さらに内臓脂肪面積が100cm<sup>2</sup>以上のみを対象にした場合でも、筋肉多群は少群に比べ、基準項目にあてはまる割合が低く、特に30、40代は基準項目を一つももたないという結果であった。

今研究では対象者の業務内容や運動の有無、食生活、喫煙歴、飲酒状況、病歴といった背景にとらわれず、無作為に抽出した。そうした中で「筋肉がある」ということでメタボと診断されるリスクは著しく減少することが示唆された。

### 文 献

- [1] 日本肥満学会：肥満症診断基準ガイドライン 2011

## Relevance of overweight and muscles by abdomen analysis system

Michihiro Shinohara <sup>\*1</sup>, Manabu Kimura <sup>\*1</sup>, Noritaka Kuronuma <sup>\*1</sup>, Ken Osawa <sup>\*1</sup>, Nozomi Watanabe <sup>\*1</sup>  
Hiromi Oki <sup>\*1</sup>, Kazuya Sukegawa <sup>\*1</sup>, Yuichi Akutagawa <sup>\*1</sup>, Suzushi Kusano <sup>\*2</sup>, Toru Nakagawa <sup>\*2</sup>  
Masataka Irokawa <sup>\*3</sup>, Atsushi Inoue <sup>\*4</sup>, Kuniyoshi Nakajima <sup>\*4</sup>, Tomohiro Nagao <sup>\*4</sup>

<sup>\*1</sup> Hitachi Health Care Center Department of Radiation Technology

<sup>\*2</sup> Hitachi Health Care Center Department of Radiodiagnosis

<sup>\*3</sup> Hitachi Health Care Center Department of Health Care administration

<sup>\*4</sup> Hitachi Medical Corporation

### Abstract

Currently, abdominal circumference and visceral fat area are used for the diagnostic criteria of obesity or metabolic syndrome. However, about the muscular body, a question arises in those diagnostic criteria. Then, we analyzed 1000 men and 500 women according to the age using the abdomen analysis system. Men and women with aging showed visceral fat and intramuscular fat increased significantly, and muscles decreased significantly. In addition, When divided into two at average of the ratio in the whole area of the muscle area, a lot of muscle group is small compared to the group, it was suggested that there are few metabolic related factors.

**Key words:** Metabolic syndrome, Visceral fat, Muscles, Intramuscular fat, National Cholesterol Education Program

The Journal of the Japanese Society of CT Screening 2012; 19: 90-93

原 著

## 内臓脂肪 CT における体格に応じた撮影条件の検討

篠原通浩<sup>\*1</sup>、木村 学<sup>\*1</sup>、黒沼典剛<sup>\*1</sup>、大澤 健<sup>\*1</sup>、渡邊 希<sup>\*1</sup>、大木洋美<sup>\*1</sup>  
助川和也<sup>\*1</sup>、芥川雄一<sup>\*1</sup>、草野 涼<sup>\*2</sup>、中川 徹<sup>\*2</sup>、色川正貴<sup>\*3</sup>

内臓脂肪CTにおいて、低線量での検査が望ましいが、体格のよい方に関しては画質の低下が顕著に現れる。さらに当施設では体格のよい方に関して、担当技師が任意の条件で検査を実施しており、任意の条件には基準がなく、過線量になっている可能性があった。そこで画質の低下と過線量を防ぐために体格に応じた撮影条件を検討した。任意条件で撮影したCT画像のSD値を体重、BMIで評価し、肥満とされるBMI25のSD値を基準に電流の増加を試みた。その結果、体格によらず一定のSD値を保ち、画質の低下、過線量例を減らすことができた。

キーワード： 内臓脂肪 CT、低線量、SD 値、BMI、電流

The Journal of the Japanese Society of CT Screening 2012; 19: 86-89

### 目 的

現在、内臓脂肪CT検査において、低線量(120kV、50mA、0.8s)条件で検査を施行しているが、明らかに肥満体型であろう腹部に低線量で検査を施行しても線量不足となり、よい画像が得られない。そのため、当施設では体格のよい方に対して、撮影条件の変更が認められており、画質低下例を極力減らしている。しかし、体格によつての撮影条件変更基準がないため、過線量となってしまう可能性があった。そこで、画像のSD値を基に体格に応じた撮影条件を検討したので報告する。

### 対象と方法

2011年4～5月の内臓脂肪CT検査受診者854名。その間の撮影条件は電圧が120kV固定で、

電流が50、75、100mA(稀に125、150mA)といったように担当技師の任意の条件であった。SD値の測定箇所は左右の内臓脂肪箇所をROIで囲み、その平均を体重別60kg未満、60～64.9kg、65～69.9kg、70～74.9kg、75～79.9kg、80～89.9kg、90kg以上、BMI別、21.9未満、22～22.9、23～23.9、24～24.9、25～25.9、26以上で評価した。その結果から肥満と判定されるBMI25以上<sup>[1]</sup>のSD値を基準に、体重を指標として撮影条件を検討し、2011年11月より内臓脂肪CT検査に使用した。その後、再びSD値のバラつきを評価した。

### 結 果

任意条件でのSD値をFig. 1～3に示す。いずれの撮影条件においても体重、BMIの増加とともにSD値の上昇を認めた。また、体重の軽い方、BMIの低い方に対し、75、100mAを使用していることも把握できた。まとめたものをTable 1に示す。この結果から、肥満と判定されるBMI25のSD値を基に、体重を指標とした撮影条件を検討した。74.9kg未満：50mA、75～

\*1 (株)日立製作所日立健康管理センタ放射線技術科

\*2 (株)日立製作所日立健康管理センタ放射線診断科

\*3 (株)日立製作所日立健康管理センタ健康管理科

〒317-0076 茨城県日立市会瀬町4-3-16

TEL : 0294-34-1020

E-mail: michihiro.shinohara.qh@hitachi.com

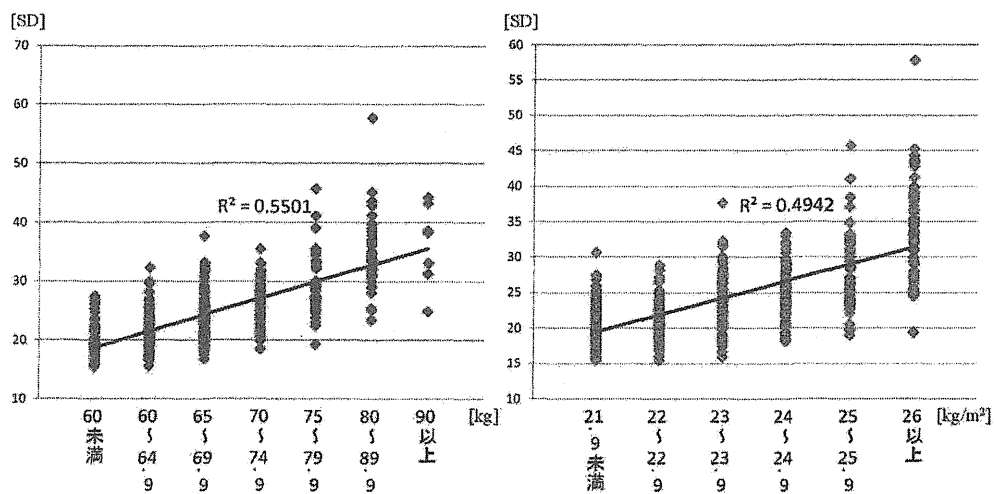


Fig. 1 体重・BMI別の任意条件でのSD値の平均 (50 mA)

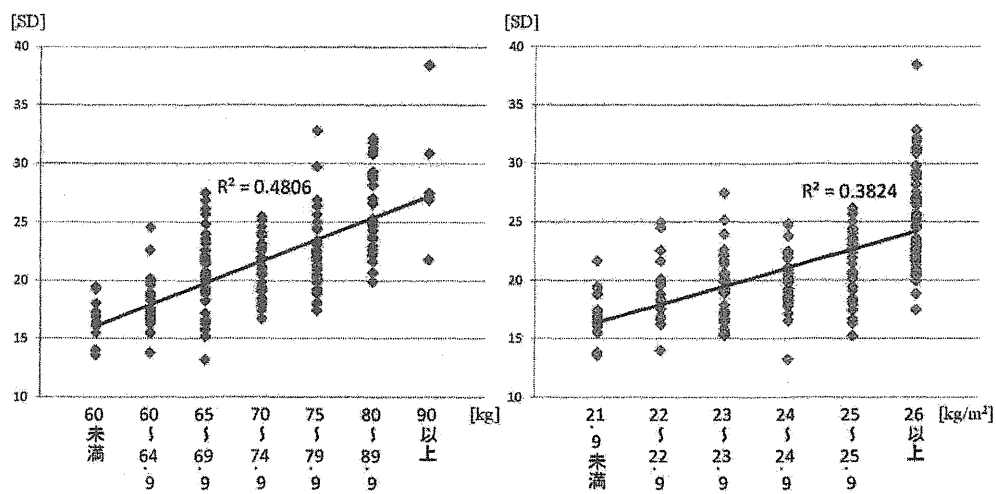


Fig. 2 体重・BMI別の任意条件でのSD値の平均 (75 mA)

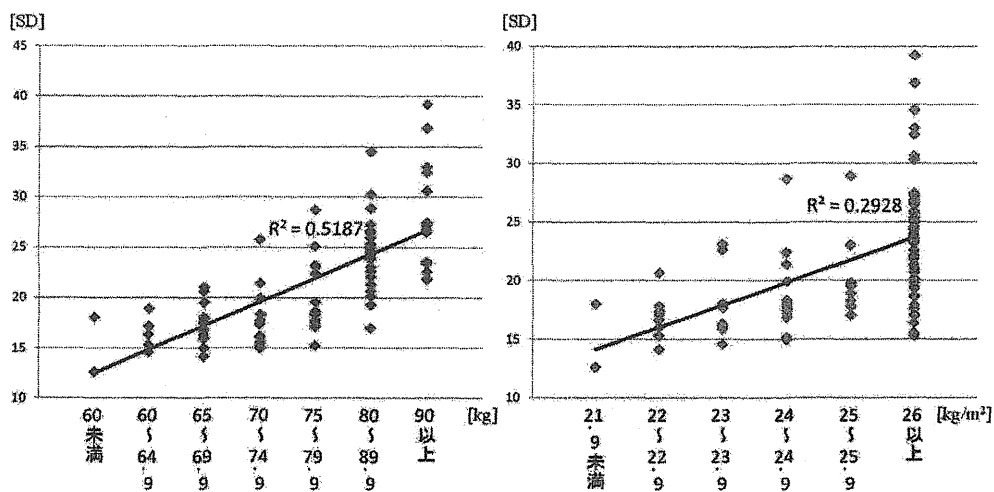


Fig. 3 体重・BMI別の任意条件でのSD値の平均 (100 mA)

Table 1 任意条件でのSD値の平均のまとめ

体重別 50mA

	60 未満	60～ 64.9	65～ 69.9	70～ 74.9	75～ 79.9	80～ 89.9	90 以上
SD 値	19.840	21.561	23.685	26.285	29.353	34.876	36.447
標準偏差	2.8284	3.0829	3.6974	3.8040	4.7859	6.0068	6.4539
N	84	128	129	73	51	44	8

BMI 別 50mA

	21.9 未満	22～ 22.9	23～ 23.9	24～ 24.9	25～ 25.9	26 以上
SD 値	20.472	21.297	24.023	25.010	28.043	33.353
標準偏差	2.8246	2.8384	3.9497	3.5701	5.3433	6.0862
N	126	93	83	85	55	75

体重別 75mA

	60 未満	60～ 64.9	65～ 69.9	70～ 74.9	75～ 79.9	80～ 89.9	90 以上
SD 値	16.614	17.843	20.437	20.715	22.403	26.227	28.769
標準偏差	1.7298	2.1314	3.2070	2.2906	3.3878	3.4967	5.5641
N	13	32	45	40	32	31	6

BMI 別 75mA

	21.9 未満	22～ 22.9	23～ 23.9	24～ 24.9	25～ 25.9	26 以上
SD 値	17.079	18.816	19.431	19.863	21.308	25.167
標準偏差	2.0120	2.8955	2.8043	2.4984	2.9503	4.1642
N	18	20	35	32	33	61

体重別 100mA

	60 未満	60～ 64.9	65～ 69.9	70～ 74.9	75～ 79.9	80～ 89.9	90 以上
SD 値	15.345	16.583	17.550	18.115	20.184	24.483	28.104
標準偏差	3.8396	1.5281	1.8213	2.8918	3.7589	3.8467	5.5778
N	2	6	16	15	14	22	14

BMI 別 100mA

	21.9 未満	22～ 22.9	23～ 23.9	24～ 24.9	25～ 25.9	26 以上
SD 値	15.343	16.954	17.853	18.634	20.441	24.022
標準偏差	3.8361	1.8152	3.0218	3.6446	3.8739	5.4547
N	2	9	9	14	8	47

79.9kg : 75mA、80 ~ 89.9kg : 100mA、90kg 以上 : 125または150mAという撮影条件を考案し、新しい撮影条件での結果を Fig. 4 ならびに Table 2 に示す。全体的にSD値の平均がやや低めとなったが体重による相関を受けず、一定の画質が得られた。

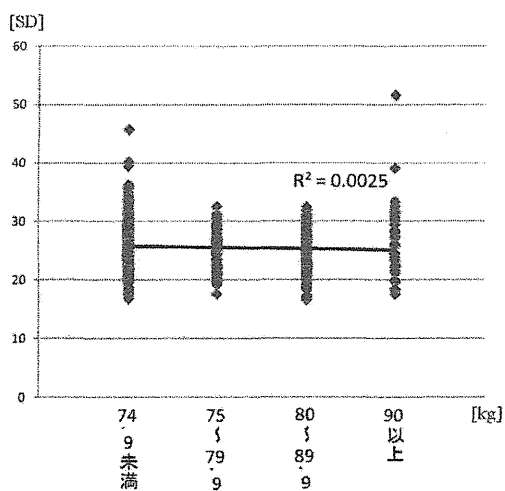


Fig. 4 体重別・電流指定条件でのSD値の平均

考 察

今研究では内臓脂肪CTにおいて、低線量で撮影を行い、ある体格から良好な画質を保つことが困難となる点と、画質の低下を避けるため感覚的に線量を上げたことによる過線量例について検討した。低線量条件(120kV、50mA、0.8s)で検査を行うことは非常に望ましいことだが、肥満体型の腹部に対し、ノイズが顕著に現れてしまう画像ではまったく意味がない。また、良好な画質を求めるあまり、視覚的要素のみで線量を上げては不要な被曝となってしまう。今研究でも任意条件での結果が示す通り、体重、BMI

Table 2 体重別・電流指定条件でのSD値の平均

	74.9 kg 未満 50 mA	75 ~ 79.9 kg 75 mA	80 ~ 89.9 kg 100 mA	90 kg 以上 125 or 150 mA
SD 値	26.042	24.787	24.564	27.484
標準偏差	4.2891	3.2939	3.4821	6.2517
N	389	99	104	36

の増加に伴い、SD値は右肩上がりとなり画質の低下は明らかであった。また、75、100 mAという条件で痩せ型の方に対し、過剰な被曝をさせていることも明らかとなった。

ここで撮影条件の変更基準について検討した。まず、肥満と判定されるBMI25以上に注目した。BMI別50 mAのBMI25～25.9のSD値の平均は28.043であった。次に、体重別50 mAでは75 kg以上でSD値の平均が28.043を上回ったため74.9 kgまでは50 mAを使用した。さらに体重別75 mA、100 mAともに90 kg以上でSD値の平均が28.043を上回ったため、125 mAまたは150 mAを使用した。これらのポイントを考慮し、74.9 kg未満：50 mA、75～79.9 kg：75 mA、80～89.9 kg：100 mA、90 kg以上：125 mAまたは150 mAという撮

影条件を考案した。結果はそれぞれのSD値の平均が26.042、24.787、24.564、27.484と基準とした28.043を下回り、体重増加による影響をまったく受けず、一定の画質が得られた。

今回、新しい撮影条件を設定したことにより、画質の低下、過線量例をなくすことに成功した。今後の課題として、電流のみの変更では画質向上が顕著に現れたため、撮影時間の変更での微調整がわずかながら被曝低減につながると考える。

#### 文 献

- [1] 日本肥満学会：肥満症診断基準ガイドライン 2011

## Examination of photography conditions according to the physique by visceral fat CT

Michihiro Shinohara<sup>\*1</sup>, Manabu Kimura<sup>\*1</sup>, Noritaka Kuronuma<sup>\*1</sup>, Ken Osawa<sup>\*1</sup>  
Nozomi Watanabe<sup>\*1</sup>, Hiromi Oki<sup>\*1</sup>, Kazuya Sukegawa<sup>\*1</sup>, Yuichi Akutagawa<sup>\*1</sup>,  
Suzushi Kusano<sup>\*2</sup>, Toru Nakagawa<sup>\*2</sup>, Masataka Irokawa<sup>\*3</sup>

<sup>\*1</sup> Hitachi Health Care Center Department of Radiation Technology

<sup>\*2</sup> Hitachi Health Care Center Department of Radiodiagnosis

<sup>\*3</sup> Hitachi Health Care Center Department of Health Care administration

#### Abstract

In the visceral fat CT, the inspection with a low dose is desirable. However, in the case of the good physique, decline of image quality appears notably. Furthermore, in the case of the good physique, in this institution, the engineer in charge is inspecting on arbitrary photography conditions. But it might become the overdose of radiation because arbitrary photography conditions did not have a standard. Therefore we examined photography conditions depending on the physique to prevent a decline of image quality and the overdose of radiation. We evaluated SD value of CT image photoed on arbitrary photography conditions by weight and BMI. And we tried the increase in current on the basis of SD value of BMI25 considered as overweight. As a result, SD value was able to be maintained regardless of the physique, and decline of image quality and the example of a low dose were able to be reduced.

**Key words:** Visceral fat CT, Low-dose, SD value, Body Mass Index, Current

The Journal of the Japanese Society of CT Screening 2012; 19: 86-89



原 著

### 腹部 CT 画像における腹部領域解析システムの開発

井上敦詞<sup>\*1</sup>、中島邦佳<sup>\*1</sup>、永尾朋洋<sup>\*1</sup>、篠原通浩<sup>\*2</sup>、草野 涼<sup>\*2</sup>、中川 徹<sup>\*2</sup>

2008年より開始されたメタボリックシンドロームの予防・改善を目的とする特定健診・保健指導では、内臓脂肪量が診断基準のひとつとなっており、腹部CT画像などによる内臓脂肪量の計測が推奨されている。一方、近年では腹部における内臓脂肪以外の領域についてもメタボリックシンドロームとの関係性が示唆されるようになった。そこで今回われわれは、内臓脂肪以外の領域にも注目し、腹部CT画像から5つの領域（皮下脂肪、内臓脂肪、内臓、筋肉、筋肉内脂肪相当の領域）を自動で分離、計測する腹部領域解析システムを開発した。これにより、内臓脂肪と他の領域によるメタボリックシンドロームの複合的な診断への寄与が期待される。

キーワード：メタボリックシンドローム、内臓脂肪、筋肉、腹部領域解析システム  
The Journal of the Japanese Society of CT Screening 2012; 19: 80-85

#### はじめに

2008年よりメタボリックシンドロームの予防・改善を目的とした特定健診・保健指導が開始された。内臓脂肪量はメタボリックシンドロームの診断基準のひとつとなっており、腹部CT画像などによる内臓脂肪量の測定が推奨されている<sup>[1]</sup>。

一方、脂肪以外の領域とメタボリックシンドロームの関係性についても近年、検討されるようになった。たとえば、篠原他を中心とした報告では筋肉量とメタボリックシンドロームとの関係が示唆されている<sup>[2]</sup>。すなわち、メタボリックシンドロームの診断には内臓脂肪量とその他の領域を複合的に診断することが効果的と考えられる。

しかし、複合的な診断を行うには、腹部CT画像に対して、手作業による対象領域の分離、計測が必要となるため、解析には多くの手間と時間を必要とする。また、計測は操作者に依存するため、結果の再現性に乏しい。われわれは内臓脂肪、皮下脂肪相当の領域を自動解析する fatPointer<sup>注)</sup> や、大腰筋、脊柱起立筋相当の領域を自動解析する musclePointer<sup>注)</sup> を既に開発済みであるが、筋肉全体の面積や他の領域を一度に解析するソフトはいまだ存在していない。

そこで今回われわれは、腹部CT画像を5つの領域（皮下脂肪、内臓脂肪、内臓、筋肉、筋肉内脂肪相当の領域）に自動で分離、計測する腹部領域解析システムを開発したので報告する。

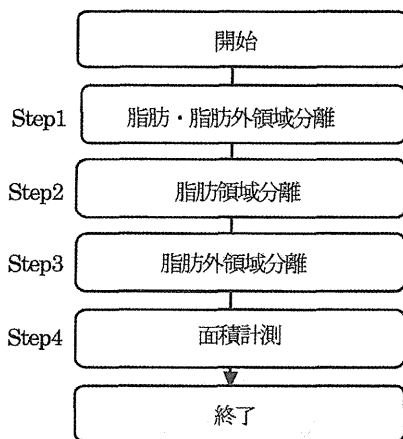


Fig. 1 解析アルゴリズムの流れ

<sup>\*1</sup>株式会社 日立メディコ  
(〒277-0804 千葉県柏市新十倉二 2-1)  
e-mail:inoue-a@kf.hitachi-medical.co.jp

<sup>\*2</sup>株式会社 日立製作所 日立健康管理センタ

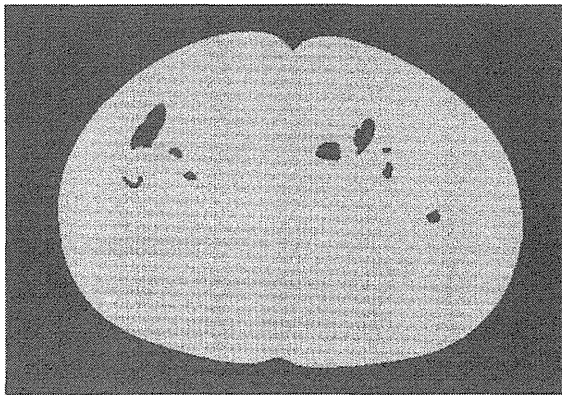


Fig. 2 体 (赤) 領域抽出結果

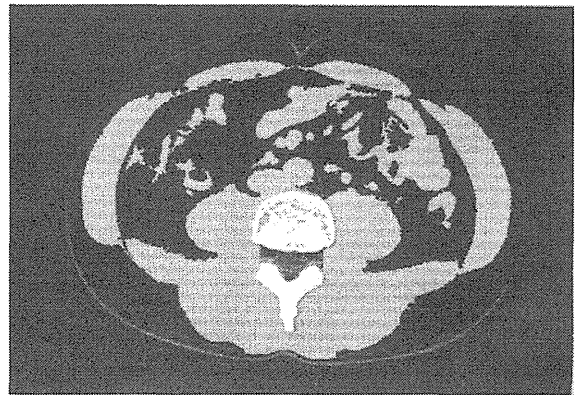


Fig. 4 骨領域を除去した脂肪外 (黄) 領域

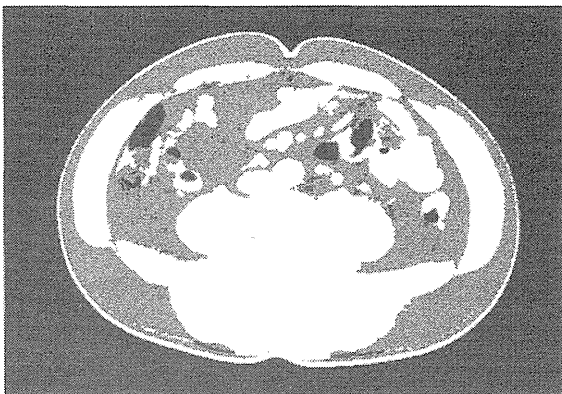


Fig. 3 脂肪 (赤)・脂肪外 (黄) 領域分離結果

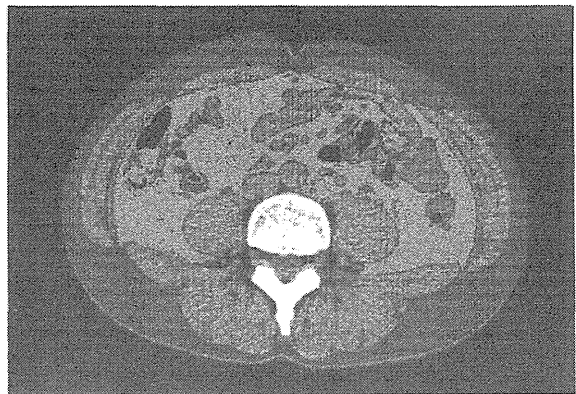


Fig. 5 内臓脂肪 (赤)・皮下脂肪 (青) 領域分離結果

## 1. 解析アルゴリズム

開発したシステムの解析アルゴリズムの流れを Fig. 1 に示す。画像を入力後、体領域から脂肪領域と脂肪外領域に分離 (Step1)、脂肪領域を皮下脂肪領域と内臓脂肪領域に分離 (Step2)、内臓脂肪領域の情報をもとに脂肪外領域を内臓、筋肉、筋肉内脂肪の領域に分離 (Step3) し、分離した各領域の面積を計測し、結果を表示する (Step4)。以降に詳細を記載する。

### 1-1. 脂肪・脂肪外領域の分離処理

入力された画像から閾値処理により、空気と軟部組織に区別する。その後、ラベリング処理を行い、体領域を抽出する。Fig. 2 に体領域抽出結果を示す。

体領域抽出後は、さらに閾値処理により脂肪外領域 (筋肉、内臓、骨、表皮相当の領域) を認

識し、脂肪領域と脂肪外領域に分離する。Fig. 3 に脂肪・脂肪外領域の分離結果を示す。

次に脂肪外領域に含まれる骨領域を閾値処理によって認識、除去する。Fig. 4 に骨領域を除去した脂肪外領域を示す。

### 1-2. 脂肪領域の分離処理

Step1 で得られた脂肪領域に対して、[3] の文献に示される、内臓脂肪・皮下脂肪領域に分離する処理を実施する。Fig. 5 に内臓脂肪・皮下脂肪領域の分離結果を示す。

### 1-3. 脂肪外領域の分離処理

次に Step1 で得られた脂肪外領域から内臓、筋肉、筋肉内脂肪の領域を分離する。

Fig. 6 に示す腹腔内境界設定アルゴリズムにより腹腔内の境界を自動で設定し、設定した境界情報をもとに内臓領域と筋肉領域に分離する。

腹腔内境界設定アルゴリズムの詳細は以下の通りである。

Step3-1では腹側の境界を設定する。まず、脂肪外領域の辺縁部を認識する。次に辺縁部の情報と内臓脂肪領域の位置情報をもとに、腹側の内臓と筋肉の境界を自動で設定する。

Step3-2では背側の境界を設定する。背側は骨領域の位置情報から大腰筋と骨の辺縁部を探索し、辺縁部を境界として設定する。

Step3-3では腹側と背側の境界を合成し、筋肉、内臓の境界となる腹腔内の境界線を設定する。設定した境界線をFig. 7に示す。

設定した腹腔内の境界情報をもとに筋肉領域と内臓領域に分離する。Fig. 8に筋肉・内臓領域の分離結果を示す。

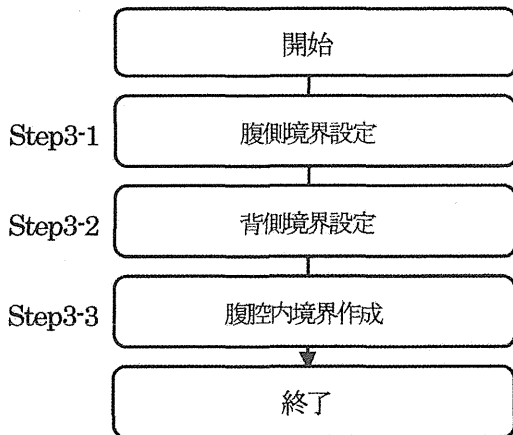


Fig. 6 腹腔内境界設定アルゴリズムの流れ

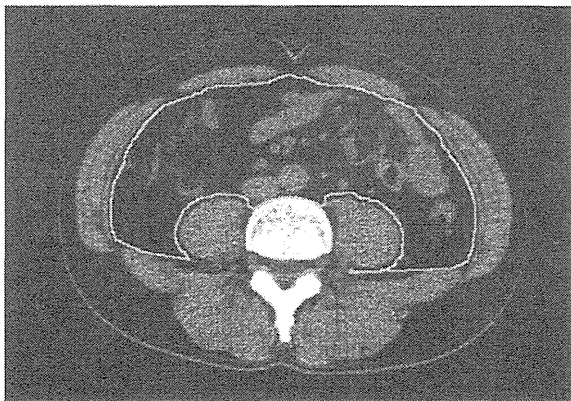


Fig. 7 腹腔内境界 (黄) 設定結果

#### 1-4. 筋肉内脂肪の分離処理

分離した筋肉領域に含まれる筋肉内脂肪領域を閾値処理によって認識、分離する。Fig. 9に筋肉内脂肪領域の分離結果を示す。

#### 1-5. 解析結果表示

Step1 ~ Step3で得られた各領域に対してStep4の面積計測処理により面積を算出し、結果を表示する。また、腹部CT画像上に各領域を分離した結果を色付けして表示する。Fig. 10に自動で分離した結果を示す。

## 2. 評価・測定

開発したシステムを用いて、分離精度の評価と、対象領域の分離から計測結果表示までの解析時間を測定した。

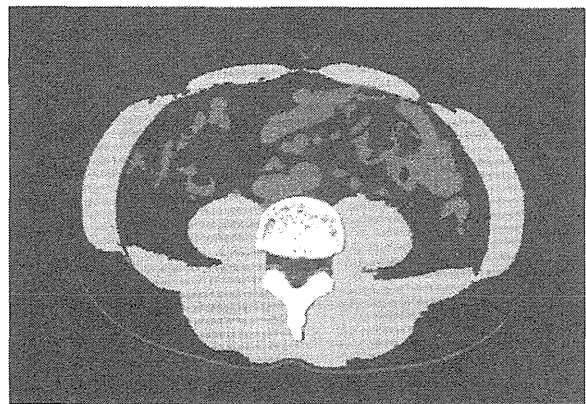


Fig. 8 筋肉 (黄)・内臓 (緑) 領域分離結果

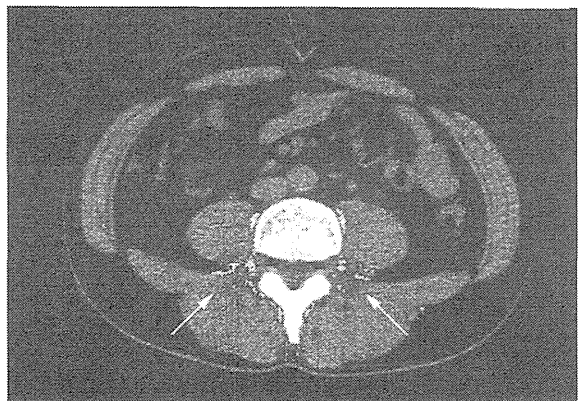


Fig. 9 筋肉内脂肪 (桃) 領域分離結果

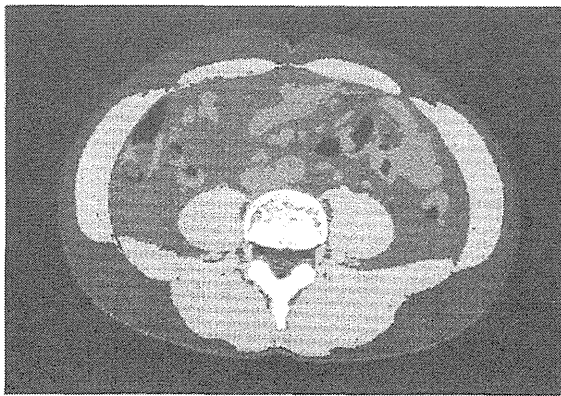


Fig. 10 自動分離結果



Fig. 11 自動分離結果 (一例)

2-1. 対象画像・撮影条件

対象画像は、日立メディコ社製マルチスライスCT装置で撮影された、30歳～70歳代の被検者のうち無作為に抽出した男女計100件を用いた。

撮影条件は、管電圧：120kV、管電流：50mA、スライス厚：5mmである。

2-2. 評価環境

評価に用いたPCはCPU：Intel Xeon 3.2GHz、メモリ：12GBである。

2-3. 評価・測定方法

1) 分離精度の評価

本評価では新規アルゴリズムである1-3の分離精度に対して評価する。自動分離した結果に対し、式(a)から面積誤差AE(%)を算出し、3段階で評価した。

$$AE[\%] = \frac{A_{RT}}{A_{ALL}} \times 100 \quad (a)$$

$A_{RT}$ ：修正した面積

$A_{ALL}$ ：脂肪外領域の面積

2) 解析時間の測定

対象画像に対し、解析アルゴリズムを用いた自動解析時間と、手作業での解析時間をそれぞれ測定した。

手作業による解析では、1-2、1-3の工程を手動で設定する本システムのマニュアル機能を使用

Table 1 分離精度評価結果

評価	面積誤差 [%]	件数 [件]
A	AE = 0	24
B	0 < AE < 5	71
C	5 ≤ AE < 10	5

Table 2 解析時間測定結果

解析方法	解析時間 (平均±SD)[sec]
自動解析 (A評価)	1.9 ± 0.1
自動解析 (B評価)	25.8 ± 7.0
自動解析 (C評価)	36.3 ± 14.8
手作業による解析	58.2 ± 9.2

した。また、自動解析結果の修正では指定した範囲を任意の領域に変更する本システムの修正機能を使用した。

3. 結果

Fig. 11に自動分離結果の一例を示す。

1) 分離精度の評価結果

評価結果をTable 1に示す。すべての画像に対し、面積誤差は10%未満に収まった。このうち面積誤差が5%未満の画像が95件という結果となった。

## 2) 解析時間の測定結果

測定結果をTable 2に示す。自動解析の解析時間は分離精度の評価別に分類した。BとC評価の画像については修正時間を含めた解析時間とした。

手作業による解析と比較して、自動解析は面積誤差5%未満であれば解析時間が半分以上短縮された。評価別の測定結果では面積誤差が大きくなるにつれ、解析時間が増える傾向があった。しかし、B評価とC評価の画像では解析時間のばらつきがあり、B評価の画像でもC評価の画像より修正時間がかかる場合があった。

## 4. 考 察

今回の分離精度の評価結果では90%以上の画像が面積誤差5%未満の分離精度で解析可能であった。また、解析時間については自動抽出結果に対して、修正の必要がなければ、約2sec、面積誤差5%未満であれば手作業と比較して約半分の時間で解析することが可能であり、自動解析による解析効率の向上が期待できる。

しかし、修正が必要と判断した画像も数多く存在した。特に、内臓脂肪量が少ない画像や内臓と筋肉の密着度が高い画像では、正確な腹腔内の境界を設定することができず、分離失敗する傾向があった。今後、検討したうえで改良する必要がある。その他、解析時間では面積誤差の大きさにかかわらず、修正時間がかかる場合があった。原因としては、面積誤差が小さい場

合でも修正箇所が複数存在すると修正する操作の回数が増えるためと考えられる。今後、面積誤差に加え修正回数を考慮して評価する必要がある。

## おわりに

腹部CT画像から5つの領域(皮下脂肪、内臓脂肪、内臓、筋肉、筋肉内脂肪相当の領域)を自動で分離・計測する腹部領域解析システムを開発した。本システムにより、内臓脂肪以外の領域も解析可能となり、他の領域を含めたメタボリックシンドロームの複合的な診断への寄与が期待できる。また自動分離による解析効率の向上が期待できる。

## 文 献

- [1] メタボリック診断基準検討委員会：メタボリックシンドロームの定義と診断基準. 日本内科学会雑誌 2005; 94(4): 794-809
- [2] 篠原通浩、青木久記、黒沼典剛、大澤健、渡邊希、大木洋美、助川和也、芥川雄一、井村等、草野涼、中川徹、色川正貴、松下由実：Fat pointer  $\alpha$ による肥満と筋肉の関連性について. 日本総合健診医学会誌 2012; 39(1): 189
- [3] 山本修一郎、中川徹、草野涼、高村雅札、服部敬、色川正貴：CTによる内臓脂肪面積自動診断ソフトの開発と初期使用経験. MEDIX 2004; 41: 15-20

注) fatPointer、musclePointerは株式会社日立メディコの日本における登録商標です。

## Development of abdomen analysis system for abdomen CT Images

Atsushi Inoue<sup>\*1</sup>, Kuniyoshi Nakashima<sup>\*1</sup>, Tomohiro Nagao<sup>\*1</sup>  
Michihiro Shinohara<sup>\*2</sup>, Suzushi Kusano<sup>\*2</sup>, Tohru Nakagawa<sup>\*2</sup>

<sup>\*1</sup> Hitachi Medical Corporation

<sup>\*2</sup> Hitachi, Ltd. Hitachi Health Care Center

### Abstract

For the purpose of prevention and improvement of metabolic syndrome, specific medical checkup and health guidance were initiated in 2008. The amount of visceral fat has become one of the diagnostic criteria of metabolic syndrome, and thus the measurement of the amount of visceral fat with the abdominal computed tomographic (CT) image has been recommended. On the other hand, in recent years the relationship between metabolic syndrome and areas other than visceral fat has been indicated. Therefore, with a focus on areas other than visceral fat, we developed an abdomen analysis system which can automatically separate objects in a CT image into five areas (subcutaneous fat, visceral fat, internal organs, muscle, and intramuscular fat) for measurement. The development of this system is expected to contribute to the comprehensive diagnosis of metabolic syndrome based on the measurement of visceral fat and other areas.

**Key words:** metabolic syndrome, visceral fat, muscle, abdomen analysis system

The Journal of the Japanese Society of CT Screening 2012; 19: 80-85



## EGFR mutations and human papillomavirus in lung cancer

Takuya Kato<sup>a</sup>, Chihaya Koriyama<sup>a,\*</sup>, Noreen Khan<sup>a</sup>, Takuya Samukawa<sup>b</sup>, Masakazu Yanagi<sup>c</sup>, Tsutomu Hamada<sup>b</sup>, Naoya Yokomakura<sup>c</sup>, Takeshi Otsuka<sup>c</sup>, Hiromasa Inoue<sup>b</sup>, Masami Sato<sup>d</sup>, Shoji Natsugoe<sup>c</sup>, Suminori Akiba<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Department of Epidemiology and Preventive Medicine, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Kagoshima University, 8-35-1 Sakuragaoka, Kagoshima 890-8544, Japan

<sup>b</sup> Department of Pulmonary Medicine, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Kagoshima University, 8-35-1 Sakuragaoka, Kagoshima 890-8544, Japan

<sup>c</sup> Department of Surgical Oncology and Digestive Surgery, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Kagoshima University, 8-35-1 Sakuragaoka, Kagoshima 890-8544, Japan

<sup>d</sup> Department of General Thoracic Surgery, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Kagoshima University, 8-35-1 Sakuragaoka, Kagoshima 890-8544, Japan

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 20 April 2012

Received in revised form 6 August 2012

Accepted 18 August 2012

#### Keywords:

Epidermal growth factor receptor

Mutation

Human papillomavirus

Adenocarcinoma

Gefitinib

### ABSTRACT

Our previous study reported a frequent detection of human papillomavirus (HPV) genome in primary lung adenocarcinomas of the recurrent patients who were responsive to epidermal growth factor receptor (EGFR)-tyrosine kinase inhibitor, suggesting that HPV presence in lung cancer may be related to a genetic background related to EGFR mutations. The present study examined the association between the HPV presence and mutations in exons 19 and 21 of EGFR gene in Japanese lung cancer patients. Thirteen (31%) out of 42 cases had EGFR mutations. Although these mutations were tended to be observed in females, non-smokers, or adenocarcinomas, there was no statistically significant associations. HPV DNA was found in 7/42 (17%) lung tumors. The frequency of HPV presence did not differ in histological types. The presence of HPV DNA was significantly related to EGFR mutations ( $P=0.021$ ), especially in adenocarcinomas of the lung ( $P=0.014$ ). HPV-positive lung tumors accounted for 38% and 7% of those with and without EGFR mutations, respectively. Our results suggest that EGFR mutations are associated with HPV presence in Japanese patients with lung cancer.

© 2012 Elsevier Ireland Ltd. All rights reserved.

### 1. Introduction

Human papillomavirus (HPV) is a well-established risk factor of cervical cancer [1]. HPV types 16 and 18 are classified as carcinogenic to humans (Group 1) by International Agency for Research on Cancer [2], and these HPV types were also detected in a part of lung cancer [3]. In spite of many studies reporting the HPV presence, its role in lung carcinogenesis is still unclear. Although HPV-16 integration in host genome has been reported in the most of HPV-16-positive lung squamous cell carcinomas (SQCs) [4], its low viral load makes it difficult to determine the etiological significance.

A Taiwanese study reported a significant association between HPV-16/18 and lung adenocarcinomas (ACs) among nonsmoking female patients [5]. We also reported a higher prevalence of high-risk HPV in ACs (30%, 9/30) than that of SQCs (7%, 2/27) [6]. Furthermore, high-risk HPV genome was more frequently observed in lung ACs with response to gefitinib (75%, 6/8) than that of those without response to the treatment (0%, 0/12) [6].

Clinical responsiveness to gefitinib is associated with somatic mutations in the tyrosine kinase domain of the epidermal growth factor receptor (EGFR) gene [7,8], which are most frequently observed in lung ACs of non-smoking women in far-East Asian countries [9]. It is worth noting that these clinicopathological features, non-smoking female lung ACs, are similar to that observed in the Taiwanese study [5].

In the present study, we investigated the association between EGFR mutations and the presence of HPV DNA in Japanese lung cancer. Furthermore, viral load and physical status of high-risk HPV-16 were examined.

### 2. Materials and methods

#### 2.1. Clinical specimens

The present study examined a total of 42 paraffin-embedded tissue samples of lung cancer cases, including 26 ACs, 12 SQCs and 4 other histological types, diagnosed at Kagoshima University Hospital during the period from December 2007 to December 2008. Institutional Review Boards of Kagoshima University Hospital, Japan, approved the present study.

\* Corresponding author. Tel.: +81 99 275 5298; fax: +81 99 275 5299.

E-mail address: [fiy@m.kufm.kagoshima-u.ac.jp](mailto:fiy@m.kufm.kagoshima-u.ac.jp) (C. Koriyama).

**Table 1**  
Clinicopathological features of lung tumors by the presence of EGFR mutation and HPV genome.

	Total	EGFR		HPV	
		Mutated	P-Value <sup>a</sup>	Positive	P-Value <sup>a</sup>
Total	42 (100%)	13 (31%)		7 (17%)	
Age			0.505		1.000
<70	17 (100%)	4 (24%)		3 (18%)	
≥70	25 (100%)	9 (36%)		4 (16%)	
Sex			0.082		0.197
Female	14 (100%)	7 (50%)		4 (29%)	
Male	28 (100%)	6 (21%)		3 (11%)	
Smoking			0.181		1.000
Never	21 (100%)	9 (43%)		4 (19%)	
Ever	21 (100%)	4 (19%)		3 (14%)	
Histology			0.471		0.839
Adenocarcinoma	26 (100%)	10 (38%)		4 (15%)	
Squamous cell ca.	12 (100%)	2 (17%)		2 (17%)	
Others <sup>b</sup>	4 (100%)	1 (25%)		1 (25%)	
Clinical stage			0.739		1.000
I	27 (100%)	9 (33%)		5 (19%)	
II–IV	15 (100%)	4 (27%)		2 (13%)	
Tumor size			0.043		1.000
≤3 cm	21 (100%)	10 (48%)		4 (19%)	
>3 cm	21 (100%)	3 (14%)		3 (14%)	
Histological differentiation <sup>c</sup>			0.870		0.809
Well	27 (100%)	10 (37%)		5 (19%)	
Moderate	6 (100%)	2 (33%)		1 (17%)	
Poor	5 (100%)	1 (20%)		0 (0%)	
Lymph node metastasis			0.127		0.160
No	30 (100%)	12 (40%)		7 (23%)	
Yes	11 (100%)	1 (9%)		0 (0%)	
Unknown	1 (100%)	0 (0%)		0 (0%)	
Distant metastasis			0.529		0.309
No	40 (100%)	12 (30%)		6 (15%)	
Yes	2 (100%)	1 (50%)		1 (50%)	

<sup>a</sup> P-Values were obtained by Fisher's exact test.

<sup>b</sup> Other histology: 2 carcinoids and 2 adenosquamous carcinomas.

<sup>c</sup> Histological differentiation was not available.

## 2.2. HPV detection, typing and physical status

The HPV genome was detected by PCR with broad-spectrum SPF10-biotinylated primers [10]. HPV typing was performed using the INNO-LiPA HPV Genotyping CE test (Innogenetics, Ghent, Belgium). To determine the presence and physical status, as well as estimate the viral load of HPV-16, the quantitative real-time PCR was performed using 2× QuantiTect SYBR Green PCR kit (QIAGEN, Hilden, Germany). The physical status of HPV-16 was determined by the method proposed by Peitsaro et al. [11], assuming that: (i) preferential disruption of E2 causes absence of E2 gene sequence in the PCR product following integration and (ii) the copy number of both E2 and E6 genes should be equal when viral DNA presents in episomal form.

## 2.3. Examination of EGFR mutations

The sensitivity of lung ACs to gefitinib is associated with EGFR mutations, which include (i) exon 19 deletion of amino acids 747–750, accounting for 45% of mutations and (ii) exon 21 mutation resulting in L858R substitution, accounting for 40–45% of mutations [12]. Mutations in exons 19 and 21 were detected on the basis of the method using PCR proposed by Sugio et al. [13]. The results of PCR assay for exon 21 L858R was confirmed using a base sequence analysis.

## 3. Results

Among 42 lung tumors, 13 cases (31%) had mutations in either exon 19 or 21 of the EGFR gene (Table 1). Exon 19 deletion and exon 21 L858R were detected in 7 (54%) and 6 (46%) out of 13 mutations,

respectively. These mutations were mutually exclusive. The frequency of the mutations was significantly higher in smaller tumors (Table 1,  $P=0.043$ ).

HPV DNA was detected in 7/42 (17%) lung tumors (Table 1). HPV-16 was the most frequently detected type ( $n=5$ ). High-risk HPV-58 was detected in the remaining two cases. The geometric mean of HPV-16 viral load was 0.003 per cell (shown in a supplement) and was much lower than that observed in cervical cancer (geometric mean of HPV-16 = 333 copies per cell; unpublished data). None of the clinicopathological factors was related to the HPV presence (Table 1).

The presence of HPV DNA was significantly related to EGFR mutations (Table 2,  $P=0.021$ ). This association was significant in ACs of the lung ( $P=0.014$ ). All HPV-16-positive ACs ( $n=3$ ) were considered to have HPV integration into the host genome, and all of them had exon 19 deletion (shown in a supplement).

## 4. Discussion

The present study showed a significant association between high-risk HPV detection and EGFR mutations in Japanese lung cancer cases ( $P=0.021$ ). Similar results were described in a Taiwanese study [14]. On the other hand, EGFR mutations were quite rare in cervical cancer [15], and the EGFR mutations were not related to HPV presence in SQCs of the tongue and tonsil [16]. These findings suggest that the association between EGFR mutations and HPV presence is restricted to lung cancer.

HPV-16 integration was observed in tumors with exon 19 deletion mutant. Although both exon 19 deletion and exon 21 L858R increase phosphorylation of EGFR leading to cell survival promotion through AKT pathway [17], the response rate to gefitinib was



**Table 2**  
The prevalence of HPV DNA in lung tumors with and without EGFR mutations.

Histology	EGFR mutations	HPV+/total	P-Value <sup>a</sup>
All	Exon 19 deletion		0.077
	Mutated	3/7 (43%)	
All	Wild type	4/35 (11%)	0.257
	Exon 21 L858R		
All	Mutated	2/6 (33%)	0.021
	Wild type	5/36 (14%)	
Adenocarcinomas	Either in exons 19/21		0.014
	Mutated	5/13 (38%)	
Squamous cell carcinomas	Wild type	2/29 (7%)	0.318
	Either in exons 19/21		
Squamous cell carcinomas	Mutated	4/10 (40%)	0.014
	Wild type	0/16 (0%)	
Squamous cell carcinomas	Either in exons 19/21		0.318
	Mutated	1/2 (50%)	
Squamous cell carcinomas	Wild type	1/10 (10%)	0.318

<sup>a</sup> P-Values were obtained by Fisher's exact test.

highest in exon 19 deletions (81%) followed by exon 21 L858R (71%) [17]. In this study, the response rate to gefitinib was not able to evaluate because all subjects were primary lung cancer and underwent surgery without gefitinib administration. In the previous study, however, all cases with HPV-16 integrated form were responsive to gefitinib [6]. These findings suggest a possible association between HPV-16 integration and exon 19 deletion although the sample size was too small to draw a conclusion.

HPV-58, a high-risk type of HPV, was detected in two cases but this type was not observed in our previous study [6]. A possible explanation is the difference in the version of INNO-LiPA HPV Genotyping kits between the present and previous studies, in which INNO-LiPA HPV Genotyping CE test and INNO-LiPA HPV Genotyping v2 test was used [6], respectively. It is quite likely that the sensitivity and specificity of the recent kit is improved. Although a false-positive detection of HPV-58 might be concerned, a significant association between HPV presence and EGFR mutations remained ( $P=0.026$ ) even these two cases were counted as HPV-negative cases.

EGFR mutations in the normal respiratory epithelium were frequently found in patients with EGFR mutant ACs (43%) but not in wild-type tumors [18], which indicate that EGFR mutations are an early event in the pathogenesis of lung ACs. Frequent EGFR mutations in smaller tumors and tumors without lymph node metastasis were consistent with this hypothesis (Table 1). Regarding HPV DNA in the normal lung tissue, the HPV absence in normal lung tissue surrounding the HPV-positive tumors was reported [5,19], suggesting that lung carcinomas with EGFR mutations may be susceptible to HPV infection.

Both EGFR mutations and HPV detection were more frequently observed in Asian lung cancer patients than non-Asian patients [17,20], except Finland. Relatively higher HPV presence (33%, 4/12) and EGFR mutations (11%, 8/73) were reported in Finnish lung ACs [20,21]. Thus, HPV-positive lung ACs may share the ethnic/geographical distribution with lung ACs with EGFR mutations. In non-far-East Asian countries, on the other hand, predominant HPV detections in SQCs of the lung, rather than ACs, were reported [4,22]. Further studies are required to clarify the difference in the etiological role of HPV between, potentially, EGFR-mutation-related lung ACs and SQCs from non-far-East Asian countries.

Wu et al. [14] demonstrated that HPV-16 E6 upregulated cIAP2, cellular inhibitor of apoptosis 2, via EGFR/PI3K/AKT cascade, and cIAP2 expression was positively related to EGFR mutations. Since the activation of PI3-kinase signaling was essential for HPV-induced transformation [23], the EGFR/PI3K/AKT cascade may play

a pivotal role in carcinogenesis of HPV-related lung cancer with EGFR mutations.

The low viral load, as observed in the present study, casts doubt on the etiological role of HPV in lung carcinogenesis. However, the low viral load may be sufficient if HPV infection targets on cancer stem cells. Another possible explanation is the chromosomal instability induced by high-risk HPV E6-E7, leading to a selective growth advantage of malignant cells [24,25].

The transmission route of HPV in lung tumors is yet unclear. HPV detection in cancers of the oral cavity and oropharynx suggested a possibility of sexual transmission [26], indicating HPV infection of the lung through the upper aero-digestive tract. Another possible explanation is that there might be the transmission via the air stream carrying infected cell complexes or particles to the periphery of the lung [3].

The origins of lung ACs arising in smokers and never-smokers might travel down different pathways [27]. Tobacco-related carcinogens favor KRAS mutations in smokers, while unidentified carcinogens induce EGFR mutations in never-smokers. EGFR mutations predominantly activated phosphorylated AKT-mediated downstream pathways, rather than phosphorylated MAPK-mediated ones [28]. Thus, never-smokers may have distinct characters dependent on more simple signaling pathways like EGFR/AKT for survival of tumor cells.

In conclusion, the present study suggests a significant association between high-risk type HPVs and EGFR mutations in Japanese patients with lung cancer. The EGFR/PI3K/AKT cascade may play a pivotal role in carcinogenesis of HPV-related lung cancer with EGFR mutations.

#### Conflict of interest

None declared.

#### Acknowledgements

This study was supported by Grants-in-Aid for Scientific Research on Priority Areas (17015037) of the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology, Japan. We thank Ms. Yoshie Minakami for excellent technical work and Joint Research Laboratory, Kagoshima University Graduate School of Medical and Dental Sciences, for the use of their facilities.

#### Appendix A. Supplementary data

Supplementary data associated with this article can be found, in the online version, at doi:10.1016/j.lungcan.2012.08.011.

#### References

- [1] Durst M, Gissmann L, Ikenberg H, zur Hausen H. A papillomavirus DNA from a cervical carcinoma and its prevalence in cancer biopsy samples from different geographic regions. *Proc Natl Acad Sci USA* 1983;80:3812–5.
- [2] Human papillomaviruses. IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum 2007;90:476–7.
- [3] Klein F, Amin Kotb WF, Petersen I. Incidence of human papilloma virus in lung cancer. *Lung Cancer* 2009;65:13–8.
- [4] Aguayo F, Castillo A, Koriyama C, Higashi M, Itoh T, Capetillo M, et al. Human papillomavirus-16 is integrated in lung carcinomas: a study in Chile. *Br J Cancer* 2007;97:85–91.
- [5] Cheng YW, Chiou HL, Sheu GT, Hsieh LL, Chen JT, Chen CY, et al. The association of human papillomavirus 16/18 infection with lung cancer among nonsmoking Taiwanese women. *Cancer Res* 2001;61:2799–803.
- [6] Baba M, Castillo A, Koriyama C, Yanagi M, Matsumoto H, Natsugoe S, et al. Human papillomavirus is frequently detected in gefitinib-responsive lung adenocarcinomas. *Oncol Rep* 2010;23:1085–92.
- [7] Paez JG, Janne PA, Lee JC, Tracy S, Greulich H, Gabriel S, et al. EGFR mutations in lung cancer: correlation with clinical response to gefitinib therapy. *Science* 2004;304:1497–500.

- [8] Lynch TJ, Bell DW, Sordella R, Gurubhagavatula S, Okimoto RA, Brannigan BW, et al. Activating mutations in the epidermal growth factor receptor underlying responsiveness of non-small-cell lung cancer to gefitinib. *N Engl J Med* 2004;350:2129–39.
- [9] Mitsudomi T, Kosaka T, Yatabe Y. Biological and clinical implications of EGFR mutations in lung cancer. *Int J Clin Oncol* 2006;11:190–8.
- [10] Kletter B, van Doorn LJ, ter Schegget J, Schrauwen L, van Krimpen K, Burger M, et al. Novel short-fragment PCR assay for highly sensitive broad-spectrum detection of anogenital human papillomaviruses. *Am J Pathol* 1998;153:1731–9.
- [11] Peitsaro P, Johansson B, Syrjänen S. Integrated human papillomavirus type 16 is frequently found in cervical cancer precursors as demonstrated by a novel quantitative real-time PCR technique. *J Clin Microbiol* 2002;40:886–91.
- [12] Sharma SV, Bell DW, Settleman J, Haber DA. Epidermal growth factor receptor mutations in lung cancer. *Nat Rev Cancer* 2007;7:169–81.
- [13] Sugio K, Uramoto H, Ono K, Oyama T, Hanagiri T, Sugaya M, et al. Mutations within the tyrosine kinase domain of EGFR gene specifically occur in lung adenocarcinoma patients with a low exposure of tobacco smoking. *Br J Cancer* 2006;94:896–903.
- [14] Wu HH, Wu JY, Cheng YW, Chen CY, Lee MC, Goan YG, et al. cIAP2 upregulated by E6 oncoprotein via epidermal growth factor receptor/phosphatidylinositol 3-kinase/AKT pathway confers resistance to cisplatin in human papillomavirus 16/18-infected lung cancer. *Clin Cancer Res* 2010;16:5200–10.
- [15] Arias-Pulido H, Joste N, Chavez A, Muller CY, Dai D, Smith HO, et al. Absence of epidermal growth factor receptor mutations in cervical cancer. *Int J Gynecol Cancer* 2008;18:749–57.
- [16] Na II, Kang HJ, Cho SY, Koh JS, Lee JK, Lee BC, et al. EGFR mutations and human papillomavirus in squamous cell carcinoma of tongue and tonsil. *Eur J Cancer* 2007;43:520–6.
- [17] Mitsudomi T, Yatabe Y. Mutations of the epidermal growth factor receptor gene and related genes as determinants of epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors sensitivity in lung cancer. *Cancer Sci* 2007;98:1817–24.
- [18] Tang X, Shigematsu H, Bekele BN, Roth JA, Minna JD, Hong WK, et al. EGFR tyrosine kinase domain mutations are detected in histologically normal respiratory epithelium in lung cancer patients. *Cancer Res* 2005;65:7568–72.
- [19] Ciotti M, Giuliani L, Ambrogi V, Ronci C, Benedetto A, Mineo TC, et al. Detection and expression of human papillomavirus oncogenes in non-small cell lung cancer. *Oncol Rep* 2006;16:183–9.
- [20] Chen YC, Chen JH, Richard K, Chen PY, Christiani DC. Lung adenocarcinoma and human papillomavirus infection. *Cancer* 2004;101:1428–36.
- [21] Sihto H, Pupunni M, Pulli L, Tynninen O, Koskinen W, Aaltonen LM, et al. Epidermal growth factor receptor domain II, IV, and kinase domain mutations in human solid tumors. *J Mol Med (Berl)* 2005;83:976–83.
- [22] Yousem SA, Otori NP, Sonmez-Alpan E. Occurrence of human papillomavirus DNA in primary lung neoplasms. *Cancer* 1992;69:693–7.
- [23] Henken FE, Banerjee NS, Srijders PJ, Meijer CJ, De-Castro Arce J, Rosl F, et al. PIK3CA-mediated PI3-kinase signalling is essential for HPV-induced transformation in vitro. *Mol Cancer* 2011;10:71.
- [24] Vinokurova S, Wentzensen N, Kraus I, Klaes R, Driesch C, Melsheimer P, et al. Type-dependent integration frequency of human papillomavirus genomes in cervical lesions. *Cancer Res* 2008;68:307–13.
- [25] Masuda A, Takahashi T. Chromosome instability in human lung cancers: possible underlying mechanisms and potential consequences in the pathogenesis. *Oncogene* 2002;21:6884–97.
- [26] Smith EM, Ritchie JM, Summersgill KF, Klusmann JP, Lee JH, Wang D, et al. Age, sexual behavior and human papillomavirus infection in oral cavity and oropharyngeal cancers. *Int J Cancer* 2004;108:766–72.
- [27] Gazdar AF, Shigematsu H, Herz J, Minna JD. Mutations and addiction to EGFR: the Achilles 'heel' of lung cancers? *Trends Mol Med* 2004;10:481–6.
- [28] Hosokawa S, Toyooka S, Fujiwara Y, Tokumo M, Soh J, Takigawa N, et al. Comprehensive analysis of EGFR signaling pathways in Japanese patients with non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 2009;66:107–13.

