

令和 2 年 6 月 3 日現在

機関番号：11101

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2016～2018

課題番号：16H02894

研究課題名（和文）乳がん外科手術における切除断端部残存乳がん細胞検出のための術中画像診断技術の開発

研究課題名（英文）Development of intraoperative diagnostic imaging technology for detecting residual breast cancer cells

研究代表者

野坂 大喜（NOZAKA, HIROYUKI）

弘前大学・保健学研究科・講師

研究者番号：80302040

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 10,900,000円

研究成果の概要（和文）：乳がん再発防止においては、切除断端における残存乳がん細胞の有無を高感度に検出可能かつ遠隔医療システムにも対応可能な新たな術中迅速診断技術の技術開発が求められていることから、本研究では切除断端部の微少残存乳がん細胞検出や良悪性鑑別困難症例判定を補助する乳がん切除断端部組織画像診断技術の研究開発を行った。

化学発光法と画像形態解析技術とをハイブリッド化させた新たな画像診断システムを開発し、その有用性を評価した結果、本システムは感度に優れており、新たながんスクリーニング技術として応用化が期待できることが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究によりCLEIA技術を用いたCIHC法は感度と特異性に優れており、乳がん細胞のスクリーニングに有用であることが示唆された。化学発光の減衰は蛍光色素に比較して非常に遅く、最大24時間維持され、測定には励起光源やバンドパスフィルターを必要としないことが大きなメリットである。そのため、システムの小型化も容易である。今後この化学発光技術は術中迅速診断分野の進歩に貢献できるものと考えられ、さらにAI技術を加えることで、より小型のスマートポイントオブケアテスト（POCT）デバイス化も期待できる。

研究成果の概要（英文）：Chemiluminescence is one of highly sensitive technology for protein expression assay in immunobiochemistry. Chemiluminescent Enzyme Immunoassay (CLEIA) is more sensitive than fluorescent enzyme immunoassays, and it is used as a diagnostic technology for the detection of infectious diseases. On the contrast, pathological diagnosis also requires highly sensitive antigen detection technology, but chemiluminescence technology has not been applied to immunohistochemistry. The aim of this study is the development of a new highly sensitive screening system for cancer cells and the application of chemiluminescence method. CIHC method has excellent sensitivity and specificity, and it was useful for screening of cancer cells. This screening system has a simple structure and can be easily downsized. Our system contributes to the advancement of immunohistochemistry.

研究分野：医用情報工学

キーワード：病理診断学 乳がん 迅速診断

様式 C-19, F-19-1, Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

我が国のがん患者増加対策として、「がん診療連携拠点病院」が全国に設置された結果、がん治療成績は向上しつつあるものの、がん診療連携拠点病院間での治療成績に格差が生じていることが明らかとなり、外科的がん治療においては手術時の切除範囲決定に有用な術中迅速検査システムの開発は、再発患者を減少させ、さらに患者 QOL の向上を図る上で喫緊の課題となっている。

現在の乳がん治療においては、内科的治療と外科的治療とが併用されるが、外科的治療では切除断端部における残存がん細胞と他臓器転移の有無が最も重要な再発がん防止因子であり、治療成績の向上には確実な乳がん組織の切除が必要不可欠である。

外科的切除範囲決定のための乳がん切除断端部術中迅速診断の技術的課題としては、乳がん組織の特性上、良悪性の鑑別困難な症例があることに加え、標本作製時にアーチファクトを生じやすく微少残存乳がん細胞を見逃す可能性があるため診断精度 83.8~98.0%とバラツキを生じることが研究報告されており、高精度な迅速検査技術が求められているものの、その実現にはリンパ節転移検査向け高感度術中迅速診断技術とは異なる新たな画像処理診断技術の確立が必要となる。これらのことから乳がん再発防止においては、切除断端における残存乳がん細胞の有無を高感度に検出可能かつ遠隔医療システムにも対応可能な新たな術中迅速診断技術の技術開発が求められている。

2. 研究の目的

乳がん再発防止においては、切除断端における残存乳がん細胞の有無を高感度に検出可能かつ遠隔医療システムにも対応可能な新たな術中迅速診断技術の技術開発が求められていることから、本研究では切除断端部の微少残存乳がん細胞検出や良悪性鑑別困難症例判定を補助する乳がん切除断端部組織画像診断技術の研究開発を行い、新たな術中迅速診断支援技術を確立することで、がん医療水準均てん化に向けた遠隔画像診断システムへの臨床応用化を目指すこととした。

3. 研究の方法

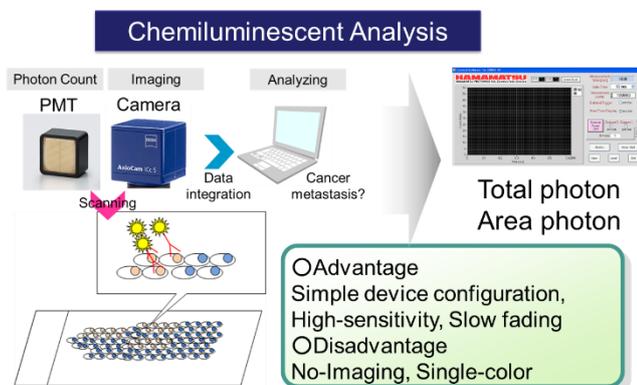
本研究では、乳がん外科手術における切除断端部残存乳がん細胞の術中迅速検出技術として、以下の4テーマについて研究開発を実施した。

- (1) 残存乳がん細胞3次元画像処理アルゴリズムの研究とマルチパラメータ検出技術の研究
少数の細胞クラスターや個々の細胞レベルでの核内3次元構造解析により乳がん細胞特有の形態学的特徴を抽出する3次元画像処理アルゴリズムと得られた形態データを基に残存乳がん細胞の組織型を考慮して悪性度判定するマルチパラメータ解析技術の研究開発
- (2) マルチミックス蛍光抗体法を用いた切除断端部残存乳がん細胞補助検出技術の研究
複数のバイオマーカーとマルチスペクトルイメージングによる残存乳がん細胞検出を検討し、残存乳がん細胞補助検出技術として応用するとともに、3次元画像処理解析とのハイブリッド化技術の研究開発
- (3) 術中迅速標本と永久診断用標本との比較による乳がん残存細胞検出アルゴリズムの検証
術前と術後での診断判定不一致症例について偽陰性例と偽陽性例の原因を特定し、乳がん残存細胞検出アルゴリズムに改良を加え高感度化と高精度化を研究
- (4) 乳がん術中迅速診断における臨床技術評価

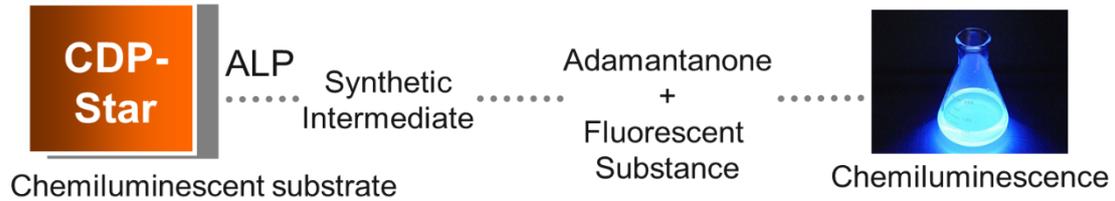
臨床評価を通じて診断技術及び応用アプリケーションの改良を行い、乳がん外科手術における切除断端部残存乳がん細胞検出のための術中画像診断技術を確立
以上の検討により、微少残存乳がん細胞や良悪性鑑別困難な組織分類タイプ乳がんに対しての画像診断支援機能を備えた次世代型遠隔術中画像診断システムの基盤技術の研究開発を行った。

4. 研究成果

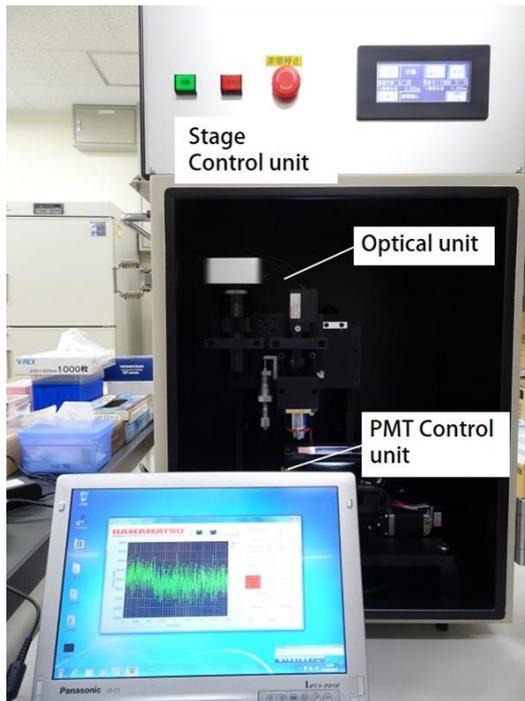
図に本研究にて開発した化学発光法 (CLEIA 法) による新たな乳がん術中画像診断システムを示す。システムは、① Automatic X/Y/Z slide stage unit, ② Objective lens unit, ③ Area scan CMOS camera, ④ Photomultiplier tube (PMT), ⑤ Camera/PMT exchanger, ⑥ Transmitted light unit から構成される。本システムでは、マルチミックス蛍光抗体法の検討において選定した抗体について CLEIA 法を用いた検出系で対象を発光させ、PMT によって単位エリア毎にフォトン量を測定することで、微弱ながん抗原について光学的に定量化を図った。一方、エリアカメラユニットで得られた画像については画像処理により、機械学習に基づく形態学的特徴量を検出し、両者のデータを付き合わせることで、形態情報と光学的定量情報とのハイブリッド化を行った。臨床的評価の結果、永久標本においては、本システムは蛍光抗体法に比較して感度、特異度ともに良好であったものの、迅速標本においては形態学的情報の解析面で新たな追加技術の必要性が示唆された。



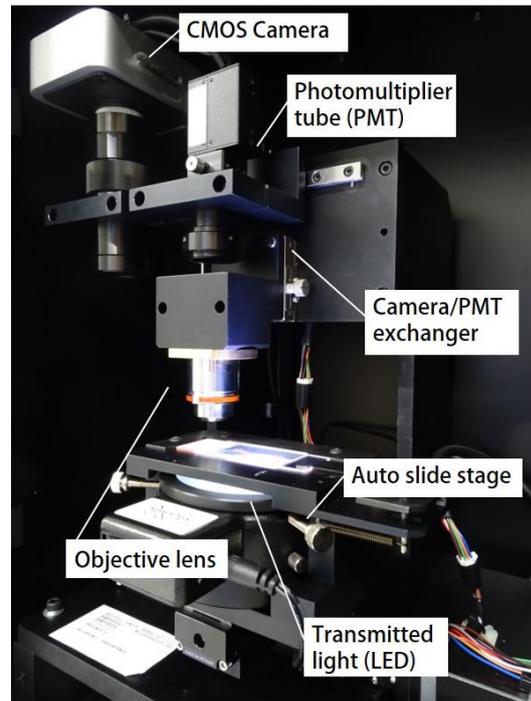
Principle of CLEIA technology



System configuration



Internal structure



本研究により CLEIA を用いた CIHC 法は感度と特異性に優れており、乳がん細胞のスクリーニングに有用であることが示唆された。化学発光の減衰は蛍光色素に比較して非常に遅く、最大 24 時間維持され、測定には励起光源やバンドパスフィルターを必要としないことが大きなメリットである。そのため、システムの構造は簡単で小型化も容易である。今後この化学発光技術は術中迅速診断分野の進歩に貢献できるものと考えられ、さらに AI 技術を加えることでスマートポイントオブケアテスト (POCT) デバイス化も期待できる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 小田未来 佐々木亜実 野坂大喜 中野学 藤岡美幸 高見秀樹	4. 巻 10(2)
2. 論文標題 深層学習法(Deep learning)による末梢白血球分類AIモデルの検討	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 保健科学研究	6. 最初と最後の頁 17-24
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 佐々木亜実 小田未来 野坂大喜 中野学 藤岡美幸 高見秀樹	4. 巻 10(2)
2. 論文標題 畳み込みニューラルネットワーク(CNN)を用いた末梢白血球分類スクリーニング技術の検討	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 保健科学研究	6. 最初と最後の頁 25-33
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 3件）

1. 発表者名 Hiroyuki Nozaka
2. 発表標題 Development of highly sensitive screening system for metastasis cancer cells with Chemiluminescence immunohistochemistry technology
3. 学会等名 109th Annual meeting of United States & Canadian Academy of Pathology
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Hiroyuki Nozaka, Kentaro Endo, Akifumi Mayama, Yayoi Takahashi, Noriyuki Uesugi, Kazuyuki Ishida, Tamotsu Sugai
2. 発表標題 TP53 mRNA splice variants suppress miR-34a expression and relate to metastases in human colorectal cancer
3. 学会等名 The 10th Congress of Asia Pacific International Academy of Pathology (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Hiroyuki Nozaka
2. 発表標題 Development of variable wavelength band-pass filter with liquid crystal for microscope Application to virtual slide imaging system in histopathology -.
3. 学会等名 MEDLAB Asia-Pacific 2017 (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Hiroyuki Nozaka
2. 発表標題 Development of virtual slide imaging system with liquid crystal band-pass filter
3. 学会等名 The 10th Congress of Asia Pacific International Academy of Pathology (国際学会)
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>科学研究費研究成果公開ホームページ http://www.mt.hirosaki-u.ac.jp/hp1/</p>

6. 研究組織		
氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考