

令和 7 年 5 月 11 日現在

機関番号：32636

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2024

課題番号：21K08586

研究課題名（和文）細胞診における迅速で簡便な蛍光プローブ法による甲状腺癌検出法の確立

研究課題名（英文）Establishment of quick and simple thyroid cancer detection method by fluorescent probe in cytology

研究代表者

日野 るみ（Hino, Rumi）

大東文化大学・スポーツ健康科学部・教授

研究者番号：60451770

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,000,000円

研究成果の概要（和文）：今回の研究で用いている蛍光プローブ法は癌特異的、短時間かつ簡便で検出できる方法である。これまで甲状腺乳頭癌特異的に光る蛍光プローブを見出してきた。今回は甲状腺濾胞癌に特異的な蛍光プローブを検討する。臨床検体については、やました甲状腺病院に協力を得ている。濾胞癌特異的な蛍光プローブを見出すために、300種以上のプローブについて検討を行った。その結果、300種類以上のプローブの中から、濾胞癌と濾胞腺腫、さらに腺腫様甲状腺腫を区別できるようなプローブを見出せる可能性が見えてきた。濾胞癌の診断は組織診断に加え細胞診でも極めて困難である。濾胞癌特異的な蛍光プローブを見出せば、臨床検査学的意義は高い。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今回、濾胞癌特異的な蛍光プローブを見出すために、300種以上のプローブについて検討を行った結果、濾胞癌と濾胞腺腫、さらに腺腫様甲状腺腫を区別できるようなプローブを見出せる可能性が見えてきた。これまで、濾胞腺腫や腺腫様甲状腺腫と診断されたにも関わらず、骨転移をきたした症例が存在してきた。これは甲状腺濾胞癌の診断が極めて困難で、現状のHematoxylin Eosin (HE) 染色や免疫染色では、濾胞癌と濾胞腺腫、さらに腺腫様甲状腺腫との区別が困難である場合がある。このような甲状腺病理診断の困難な点を濾胞癌特異的な蛍光プローブが克服できる可能性があるという意味で極めて臨床病理学的意義は高い。

研究成果の概要（英文）：The fluorescent probe method used in this study is cancer-specific, quick, and simple to detect cancer. Previously, we have found fluorescent probes specific to papillary thyroid carcinoma. This time, we will be examining fluorescent probes specific to follicular thyroid carcinoma. We received cooperation from Yamashita Thyroid Hospital for clinical specimens. In order to find a fluorescent probe specific to follicular carcinoma, we examined over 300 types of probes. As a result, we have discovered the possibility of finding a probe from among the over 300 types of probes that can distinguish between follicular carcinoma, follicular adenoma, and even adenomatous goiter. Diagnosis of follicular carcinoma is extremely difficult not only by tissue diagnosis but also by cytology. Finding a fluorescent probe specific to follicular carcinoma would be of great clinical significance.

研究分野：甲状腺病理

キーワード：甲状腺癌 濾胞癌 蛍光プローブ 検出法 癌特異的

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

東京大学医学部大学院医学系研究科生体情報学教室浦野泰照教授らが開発された蛍光プローブが癌特異的に光ることが報告され、共同研究に至った。報告者は甲状腺癌を主体とした甲状腺疾患の病理診断を専門としている為、蛍光プローブを甲状腺癌に応用し研究を進めた。研究は甲状腺原発悪性腫瘍の中でも最も頻度の高い乳頭癌を対象にし、300種以上ある蛍光プローブの中から甲状腺乳頭癌特異的蛍光プローブを選定した。報告者は倫理申請が受理され、甲状腺乳頭癌手術検体に対して蛍光プローブ法を実施した。その結果、甲状腺乳頭癌に特異的に光る蛍光プローブが存在し、臨床検体に応用出来る事を見出し報告した (Hino R et al, Rapid detection of papillary thyroid carcinoma by fluorescence imaging using a  $\gamma$ -glutamyltranspeptidase-specific probe: A pilot study. Thyroid Research 2018)。

この研究で見出した蛍光プローブは、乳頭癌と正常甲状腺を区別できるのみならず、腺腫様甲状腺腫や慢性甲状腺炎などの非腫瘍性疾患とも区別可能であり乳頭癌特異的蛍光性が明確になった。そこで、次の段階として、この乳頭癌特異的蛍光プローブの大規模な研究に発展させると共に、甲状腺濾胞癌への応用、さらに未だ検討されていない細胞診への応用が必要であると判断した。細胞診検査は低侵襲的で、比較的容易に入手可能である事から、一般的に病院や検査センターでは非常に検体数が多い。蛍光プローブ法の判定は容易である事から修練が必要な細胞検査士でなくても判定可能であり、検体を採取後すぐに、簡便、迅速に細胞診断が得られ、検査学的意義は高い。

### 2. 研究の目的

本研究課題の目的は、申請者が見出した甲状腺乳頭癌特異的蛍光プローブについて、乳頭癌に対する蛍光プローブの特異性をより確かなものにする為に300症例以上の甲状腺腫瘍について蛍光プローブ法を検討すること、濾胞癌への応用、そして細胞診検体へ応用し、臨床的実用化に向けてさらに研究を進めていく事である。

### 3. 研究の方法

すでに申請者が見出している甲状腺乳頭癌に対する特異的蛍光プローブについて、多数の腫瘍あるいは非腫瘍性疾患を用いた検討を追加し、蛍光プローブの癌特異性を確認する。症例については、複数の病院に協力いただく予定であり、既に倫理申請は済んでいる。外科的切除症例数は300例を目標として取り組む。蛍光プローブ法の甲状腺癌への特異性が示された後、濾胞癌検体、さらに細胞診検体への応用を試みる。外科的切除症例と細胞診症例はいずれも臨床病理診断に支障のない範囲で行う。細胞診では、癌細胞が少数しか採取れてない場合が想定されるので、あらかじめ細胞株を用い、蛍光プローブ法が有効な癌細胞数を検討しておく。外科的切除症例の蛍光プローブのイメージングは腫瘍部と非腫瘍部を5x5x3mm大に切離し、イメージングを行う。イメージャーは研究協力者の東京大学生体情報学教室から貸与を受けている。イメージングを行ったあと、HE (Hematoxylin-Eosin) 染色で腫瘍部と非腫瘍部を確認する。その後、免疫染色によるGGT1発現確認を行うことで、イメージングの部位とGGT1発現部位との一致を確認する。蛍光イメージングについては、感度・特異度の検討を行う。最終的には、今まで外科的切除検体のみで証明されてきた蛍光プローブ法を細胞診へ応用する事を目指す。細胞診は低侵襲的で検体採取が比較的容易で、病院や検査センターで広く行われている検査法である。細胞診で蛍光プローブ法が確立すれば、検体採取直後に検査可能で、簡便、迅速かつ安価な新しい癌検出法の確立となり、医療検査法的あるいは社会福祉的貢献度は高い。

#### 4 . 研究成果

これまで、甲状腺乳頭癌に対する癌特異的蛍光プローブを見出したが、甲状腺病理診断学の面から考慮すると、甲状腺濾胞癌に特異的な蛍光プローブを見出すことが重要であると考えた。そこで、甲状腺濾胞癌について研究を進めていった。濾胞癌の発症頻度は4 . 8 %と、乳頭癌の9 2 %と比較して圧倒的に低く、外科的切除検体を入手することによりかなり時間がかかった。さらに、新型コロナ感染流行時期と重なり、手術数も減り、濾胞癌検体がなかなか集まらない時期が続いた。それでも濾胞癌が少しずつ集まり、一連の研究を行うことが出来た。濾胞癌は乳頭癌と比較し、組織形態学的、遺伝子発現的にも異なる腫瘍である。乳頭癌に特異的な蛍光プローブは蛍光性を有するものの、濾胞腺腫や腺腫様甲状腺腫と区別がつかないことが判明し、濾胞癌に特異的な蛍光プローブを見出すことがまずは肝要であると考えた。3 0 0種類以上の蛍光プローブの中から、濾胞癌と濾胞腺腫を区別できるプローブの候補を得た。つまり濾胞癌と濾胞腺腫、さらに腺腫様甲状腺腫を区別できるようなプローブを見出せる可能性が見えてきた。濾胞癌の診断は組織診断に加え細胞診でも極めて困難である。濾胞癌特異的蛍光プローブを見出せば、臨床検査学的意義は極めて高い。

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 0件）

1. 著者名 Kuriki Yugo, Yoshioka Takafusa, Kamiya Mako, Komatsu Toru, Takamaru Hiroyuki, Fujita Kyohei, Iwaki Hirohisa, Nanjo Aika, Akagi Yuki, Takeshita Kohei, Hino Haruaki, Hino Rumi, Kojima Ryosuke, Ueno Tasuku, Hanaoka Kenjiro, Abe Seiichiro, Saito Yutaka, Nakajima Jun, Urano Yasuteru	4. 巻 13
2. 論文標題 Development of a fluorescent probe library enabling efficient screening of tumour-imaging probes based on discovery of biomarker enzymatic activities	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Chemical Science	6. 最初と最後の頁 4474 ~ 4481
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/d1sc06889j	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kawashima Shun, Yoshida Daisuke, Yoshioka Takafusa, Ogasawara Akira, Fujita Kyohei, Yanagiya Masahiro, Nagano Masaaki, Konoeda Chihiro, Hino Haruaki, Kitano Kentaro, Sato Masaaki, Hino Rumi, Kojima Ryosuke, Komatsu Toru, Kamiya Mako, Urano Yasuteru, Nakajima Jun	4. 巻 12
2. 論文標題 Rapid imaging of lung cancer using a red fluorescent probe to detect dipeptidyl peptidase 4 and puromycin-sensitive aminopeptidase activities	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 12665-9
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-022-12665-9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 日野るみ
2. 発表標題 新WHO分類分化型高異型度がんについての症例検討
3. 学会等名 第36回日本内分泌外科学会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 三ツ木啓晃、吉橋諒太、日野るみ
2. 発表標題 ヒト癌細胞株における -グルタミルトランスペプチダーゼ ( -GTP) の癌特異的経路の病理学的検討
3. 学会等名 第56回日本医療検査科学会
4. 発表年 2024年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
研究 分担 者	大城 聡  (Oshiro Satoru)  (30160485)	大東文化大学・スポーツ健康科学部・教授   (32636)	削除:2022年5月10日

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------