

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年5月25日現在

機関番号：72602

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009～2011

課題番号：21791264

研究課題名（和文） 個別化医療に向けた新規乳癌リンパ節転移診断法の臨床応用

研究課題名（英文） A novel molecular assay of lymph node metastases in breast cancer

研究代表者

大迫 智（OSAKO TOMO）

公益財団法人がん研究会・有明病院病理部・研究員

研究者番号：70535442

研究成果の概要（和文）：乳癌において One-Step Nucleic Acid Amplification（OSNA）法による分子生物学的リンパ節転移診断法は、従来行われてきた病理組織学的診断法と比較して、より多くの転移（特に微小転移）を検出できる。また、OSNA 法により定量化されたセンチネルリンパ節転移腫瘍量は、非センチネルリンパ節転移（特にマクロ転移）と強く相関する。

研究成果の概要（英文）：In breast cancer, the one-step nucleic acid amplification (OSNA) whole-node assay detects more lymph node metastases, particularly micrometastases than conventional histopathological examinations. Sentinel node tumor burden quantified using the OSNA assay predicts non-sentinel node metastases, particularly macrometastases.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2010年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2011年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・外科学一般

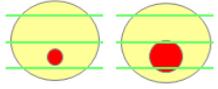
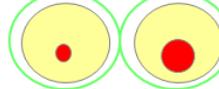
キーワード：乳腺外科学、乳癌、リンパ節転移、病理診断、分子生物学

1. 研究開始当初の背景

早期乳癌において、センチネルリンパ節生検による腋窩リンパ節ステージングが普及している。センチネルリンパ節が転移陰性であれば腋窩リンパ節郭清は省略され、転移陽性であれば郭清が追加される。腋窩リンパ節郭清によるリンパ浮腫などの合併症で患者の Quality of Life は著しく低下するため、腋窩リンパ節の取扱いは乳癌外科的治療において重要課題の一つである。センチネル転移陽性症例の中から郭清不要群を術中に抽出できれば、その臨床的意義は非常に大きい。従来行われてきた病理組織学的リンパ節

転移診断法はリンパ節の一部断面のみの評価であり、転移量の正確な評価が困難であった。その欠点を克服するために、分子生物学的手法を用いた新規のリンパ節転移診断法が開発されてきた。その中で One-Step Nucleic acid Amplification assay (OSNA 法) はリンパ節全体の転移量がサイトケラチン19の mRNA コピー数により定量的に評価可能である（図1）。OSNA 法をセンチネルと非センチネルリンパ節の双方に用いることで、両者のより正確な関係が明らかになり、腋窩郭清の個別化に貢献できる可能性がある。

図 1

病理組織診	OSNA法
リンパ節の一部のみの検索	リンパ節全体を簡便に検索
転移全体量の評価が困難 (転移巣サイズの2次的評価)	転移全体量の半定量的評価が可能 (転移巣サイズの3次的評価)
 微小転移 → “転移なし” マクロ転移 → “微小転移” 転移量が過小評価される可能性	 (+) 微小転移 (++) マクロ転移 転移量の正確な評価
検索方法が標準化されていない (施設間差、判定者間差)	検索方法の標準化が可能

2. 研究の目的

(1) 従来の病理組織学的検索法と OSNA 法のリンパ節転移検出能を比較する。

(2) センチネルリンパ節転移腫瘍量と非センチネルリンパ節転移の関連を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 下記①～③のリンパ節転移陽性率を、病理組織診を用いた症例群と whole lymph node を OSNA 法で検索した症例群で比較した。

①浸潤癌におけるセンチネルリンパ節転移検出能: 2008 年 1～12 月に 2mm スライス組織診で検索した 617 例と 2009 年 4 月～2010 年 3 月に OSNA 法で検索した 531 例。

②非浸潤癌におけるセンチネルリンパ節転移検出能: 2007 年 1 月～2009 年 3 月に 2mm スライス組織診で検索した 338 例と 2009 年 4 月～2011 年 3 月に OSNA 法で検索した 285 例。

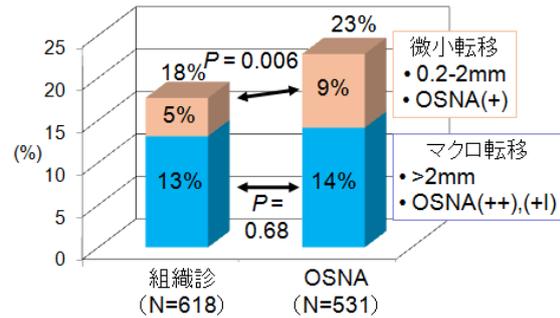
③浸潤癌における非センチネルリンパ節転移検出能: 2009 年 4 月～2010 年 9 月にセンチネルリンパ節転移陽性で腋窩リンパ節郭清を行い、郭清した非センチネルリンパ節すべてを 1 割面組織診で検索した 64 例と OSNA 法で検索した 119 例。

(2) 2009 年 9 月～2011 年 4 月にセンチネルリンパ節生検が行われ、術中に OSNA 法でセンチネル転移陽性と診断後、腋窩リンパ節郭清が追加され、すべての非センチネルリンパ節が OSNA 法で検索された 185 症例を対象とした。センチネルと非センチネルの転移腫瘍量の関係を探した。さらに、非センチネル転移と関連するセンチネル転移状況や原発巣の臨床病理学的因子を、多変量ロジスティック回帰モデルにより解析した。

4. 研究成果

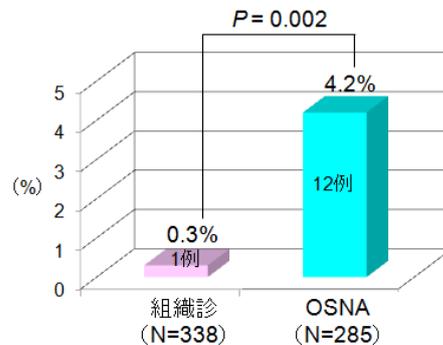
(1) ①転移検出能は、2mm スライス組織診 18% (109/618)、OSNA 法 23% (121/531) であり、OSNA 法が 5% 高率であった。特に OSNA 法は微小転移をより多く検出した (図 2)。OSNA 法は、従来の病理組織学的検索法では割面に現れなかった転移巣を検出したと考えられる。

図 2



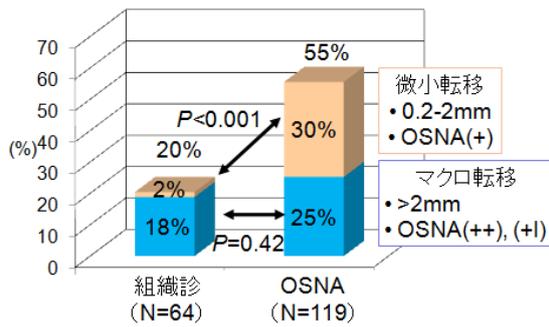
②転移検出能は、2mm スライス組織診 0.3% (1/338)、OSNA 法 4.2% (12/285) であった (図 3)。定義上は転移をしない非浸潤癌でも 4% にリンパ節転移が見られた。その原因を探るため、今後原発巣における潜在浸潤巣の検索と転移陽性症例の予後調査を行う。

図 3



③転移検出能は、1 割面組織診 20% (13/64)、OSNA 法 56% (66/119) であり、OSNA 法が約 3 倍高率であった。特に OSNA 法は微小転移をより多く検出した (図 4)。OSNA 法は、従来の病理組織学的検索法では割面に現れなかった転移巣を検出したと考えられる。OSNA 法で検出された非センチネルリンパ節微小転移の臨床的意義は不明であり、今後予後を含めた解析を行う。

図 4



(2) センチネルリンパ節転移腫瘍量 (最大コピー数、コピー数平均) は非センチネルリンパ節転移と正の相関があった (図 5, 6)。特に、コピー数平均は非センチネルリンパ節マクロ転移の有意な予測因子であった。今後、腋窩リンパ節郭清不要群を術中に抽出するため、非センチネルリンパ節転移を予測する簡易計算図表 (ノモグラム) を開発する。

図 5

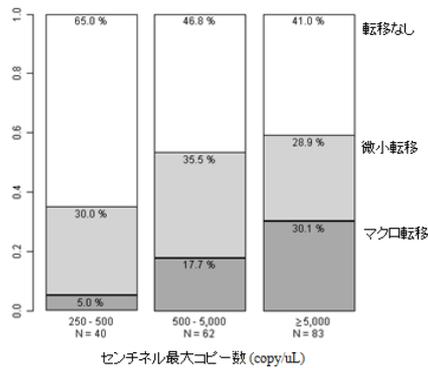
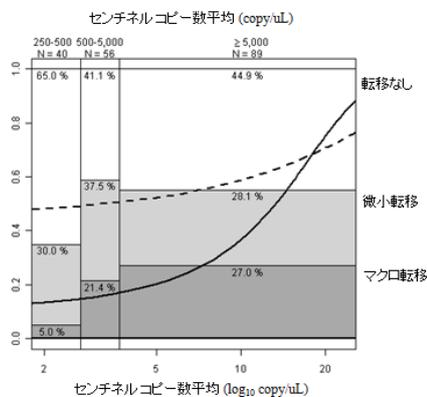


図 6



5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕 (計 3 件) いずれも査読有

① Osako T, Iwase T, Kimura K, Masumura K, Horii R, Akiyama F. Incidence and possible pathogenesis of sentinel node micrometastases in ductal carcinoma in situ of the breast detected using molecular whole lymph node assay. *Br J Cancer.* 2012; 106:1675-1681. DOI: 10.1038/bjc.2012.168

② Osako T, Iwase T, Kimura K, Yamashita K, Horii R, Akiyama F. Accurate staging of axillary lymph nodes from breast cancer patients using a novel molecular method. *Br J Cancer.* 2011; 105: 1197-1202. DOI: 10.1038/bjc.2011.350

③ Osako T, Iwase T, Kimura K, Yamashita K, Horii R, Yanagisawa A, Akiyama F. Intraoperative molecular assay for sentinel lymph node metastases in early stage breast cancer: A comparative analysis between one-step nucleic acid amplification whole node assay and routine frozen section histology. *Cancer.* 2011; 117: 4365-4374. DOI: 10.1002/cncr.26060

〔学会発表〕 (計 10 件)

① 第 34 回サンアントニオ乳癌シンポジウム
ポスター発表 平成 23 年 12 月 8 日 サンアントニオ, 米国
Osako T, Iwase T, Kimura K, Yamashita K, Horii R, Akiyama F.
Accurate staging of axillary lymph nodes from breast cancer patients using a novel molecular method. *Cancer Res* 2011; 71: 358s

② 第 49 回日本癌治療学会学術集会
ワークショップ「乳腺 1」 平成 23 年 10 月 27 日 名古屋
演題名: 非浸潤性乳管癌における OSNA 法によるセンチネルリンパ節転移診断

③ 第 19 回日本乳癌学会学術集会
口演 58「センチネル 7」 平成 23 年 9 月 3 日 仙台
演題名: OSNA 法による乳癌センチネル・非センチネルリンパ節検索の課題

④ 第 48 回日本癌治療学会学術集会
口演 61「乳腺診断 1」 平成 22 年 10 月 29

日 京都

演題名：OSNA 法による乳癌リンパ節全検索法と病理組織学的な部分的検索法の転移陽性率の比較

⑤ 第 36 回日本外科系連合学会学術集会
パネルディスカッション「センチネルリンパ節における微小転移の意義」平成 23 年 6 月 17 日 浦安

演題名：乳癌センチネルリンパ節微小転移症例における OSNA 法による郭清リンパ節転移診断

⑥ 第 33 回サンアントニオ乳癌シンポジウム

ポスター発表 平成 22 年 12 月 10 日 サンアントニオ, 米国

Osako T, Iwase T, Horii R, Kimura K, Yamashita K, Ito Y, Akiyama F.

Molecular detection of micrometastasis in sentinel lymph nodes using one-step nucleic acid amplification assay for breast cancer patients - comparison with routine pathological examination. Cancer Res 2010; 70: 252s

⑦ 第 18 回日本乳癌学会学術集会

パネルディスカッション「センチネルリンパ節生検の診断と長期成績に関する問題点」平成 22 年 6 月 24 日 札幌

演題名：OSNA 法を用いた乳癌センチネルリンパ節転移量による非センチネルリンパ節転移予測の可能性

⑧ 第 35 回日本外科系連合学会学術集会
シンポジウム「乳癌に対する外科的治療戦略」平成 22 年 6 月 17 日 浦安

演題名：乳癌センチネルリンパ節転移診断への OSNA 法導入

⑨ 第 47 回日本癌治療学会学術集会

口演 90「乳腺診断 2」平成 21 年 10 月 24 日 横浜

演題名：乳癌センチネルリンパ節転移診断への OSNA 法導入

⑩ 第 17 回日本乳癌学会学術集会

パネルディスカッション「センチネルリンパ節生検の諸問題」平成 21 年 7 月 4 日 東京

演題名：乳癌センチネルリンパ節転移診断への OSNA 法導入

〔図書〕(計 1 件)

① 大迫智,他、日本医事新報社, センチネルリンパ節生検 手技・エビデンス・ピットフォール, 2012, 173-178

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

大迫 智 (Osako Tomo)

公益財団法人がん研究会 有明病院病理部

研究者番号：70535442

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし