

令和元年6月20日現在

機関番号：32622

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K19904

研究課題名(和文)ゲノム医療への応用を可能にする乳腺針生検における革新的分子蛍光イメージングの確立

研究課題名(英文) Establishment of Revolutionary Molecular Fluorescence Imaging Method in core needle biopsy of breast cancer for Genome and Precision Medicine

研究代表者

高丸 智子 (Takamaru, Tomoko)

昭和大学・医学部・講師

研究者番号：00404624

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円

研究成果の概要(和文)：癌を短時間で可視化する方法として、蛍光プローブの有用性が報告されている。乳腺針生検検体で、蛍光プローブの一つである Glu-HMRGを用いた良悪性の診断能を検証した。その結果、癌と良性の鑑別能は感度70%、特異度61%であった。浸潤癌と非浸潤癌および良性腫瘍と非浸潤癌の鑑別は困難であったが、浸潤癌と良性腫瘍との鑑別は可能であった。また、浸潤癌ではER陰性、ki67高値、HER2タイプで蛍光強度が高かった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本蛍光プローブを用いることにより、検体採取後直ちに目的とする部位(癌組織)が含まれていることを確認することができる。これはサンプリングエラーを防ぐことにつながり、不要な再生検を防ぐことができる。また、治療方針決定に有用なサブタイプやバイオマーカー等の推定も可能となり、早期に治療を開始可能となることが期待される。

研究成果の概要(英文)：Fluorescence imaging has now attracted a great interest as a new method of real-time cancer diagnosis. The aim of this study is to evaluate the diagnostic performance of the probe for breast cancer. We investigated the Glu-HMRG activity using the specimens obtained by core needle biopsy (CNB) or vacuum-assisted breast biopsy (VAB). The differential ability between cancer and benign was 70% in sensitivity and 61% in specificity. It was possible to distinguish between invasive cancer and benign tumor, while differential diagnosis between invasive cancer and non-invasive cancer, or benign tumor and non-invasive cancer was difficult. In addition, ER negative, ki67 high value, and HER2 type had high fluorescence intensity in invasive cancer.

研究分野：乳腺外科

キーワード：蛍光プローブ 分子イメージング

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

乳房の病変に対する病理学的診断の精度向上は治療およびゲノム医療への応用の両面で重要である。乳癌には分子病理学的に4つのサブタイプが存在し、このサブタイプに基づいて治療方針を決定する。サブタイプ別に予後予測や薬物療法の効果予測が可能であり、術前薬物療法の適否、薬物の選択を行う。サブタイプを確定するためには組織診が必須であり、主に針生検が施行されている。このため乳癌の治療方針を決定するうえで針生検は重要である。

針生検の癌に対する感度は86~96%、特異度は89~99%とその精度は高い。一方で、針生検と最終診断とが一致しない症例も少なからず存在する。診断不一致の原因としては、臨床医によるサンプリングエラー、病理医による病変の見落とし、圧挫などのアーティファクトで詳細な観察が困難、細胞や少量の組織のみでは診断困難な病変の存在、などが挙げられる。

サンプリングエラーや組織量の点では、採取標本数・量を増やせば診断能は上昇する。しかしそのためには複数回穿刺を行うか、より太い針を用い、かつ専用機器を必要とする吸引式乳房組織生検(Vacuum-assisted breast biopsy: VAB)を行う必要があり、患者への侵襲が大きくなる。そのため、針生検での少ない穿刺回数で確実に目的とする病変部位を採取することが重要と考えられる。

また、近年遺伝子情報を基にして個別化医療を行う、いわゆるゲノム医療がすすんでおり、そのためには病理組織検体の使用が不可欠である。ホルマリン固定・パラフィン包埋標本を用いた場合、顕微鏡を用いて病理標本上の病変部位を確認し、レーザーマイクロダイセクションという方法により、組織中の関心領域のみを回収する。近年ではパラフィン包埋標本からのDNA抽出は可能になっているものの、品質保持が常に問題となる。一方で、凍結組織検体ではDNA・RNA・タンパク質等の変性を最小限にし、高い品質保持が可能であるが、顕微鏡での部位確認ができず、関心領域(検査すべき癌細胞)が確実に含まれているかどうかの確認は困難である。ゲノム医療に向けた高い品質を保持した検査という側面からも質の高いサンプリングを行うことが重要である。

検体を採取直後に目的とする部位が含まれていることを確認することはサンプリングエラーを防ぐことにつながる。しかしながら、肉眼で癌部が含まれているか確認するのは困難である。このような場合に、癌の存在を針生検検体で確認する方法として蛍光プローブが有用である。有機化合物である蛍光プローブは、癌細胞に特異的に発現する酵素によって非蛍光性の状態から蛍光性へと変化する機能性分子であり、リアルタイムに癌を可視化する。研究協力者らによって近年開発された蛍光プローブは、ごく少量のプローブ散布後、約数十秒で癌の部位が選択的に蛍光を発する技術であり(Urano Y. et al. Sci. Transl. Med. 2011)、多岐にわたる臨床応用が期待される。現在、培養細胞および摘出ヒト癌組織での有効性が検討されている。

### 2. 研究の目的

本研究は短時間で癌の存在部位を同定する蛍光プローブを用いて、適切な病理診断のために針生検の精度を上げることを目的としている。このことは、不要な再検査の低下とその後の速やかな治療の開始に結びつき、ひいては予後改善とコスト削減にも貢献することが期待される。

### 3. 研究の方法

針生検検体に蛍光プローブの一つであるGlu-HMRGを散布し、専用の自動蛍光撮影装置を用いて10分間30秒毎に蛍光イメージの撮影を行う(図1)。撮影で得られた画像と病理標本との対比を行い、蛍光イメージ内の癌部および非癌部を同定し、そこからROI(Region of Interest)を設定し、ROI内の平均蛍光強度を測定する。



### 4. 研究成果

#### (1) 良性と悪性の鑑別

針生検検体64症例(非癌39症例、癌25症例)を対象とした。病理標本との対比によりROIを160ヶ所設定した。良性腫瘍30ヶ所、正常部分80ヶ所、浸潤癌44ヶ所、非浸潤癌6ヶ所とした。

蛍光プローブを散布すると癌、非癌共に時間経過とともに蛍光強度の増強を認めたがその上昇度合いに差を認めた(図2左)。

癌と非癌では蛍光強度に差を認めた(図2右)。癌と非癌は感度70%、特異度61%で鑑別可能であった(図3)。しかし、癌のうち浸潤癌と非浸潤癌の蛍光強度の間に差は認めなかった(図4)。

図 2

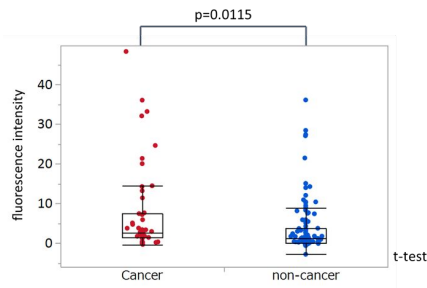
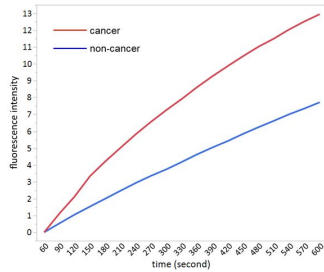


図 3

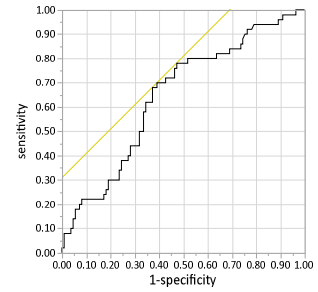
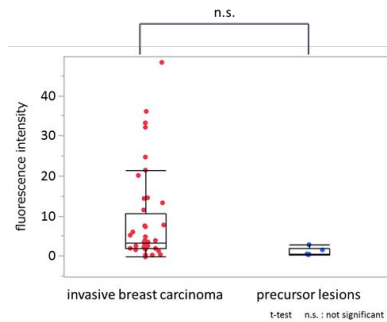
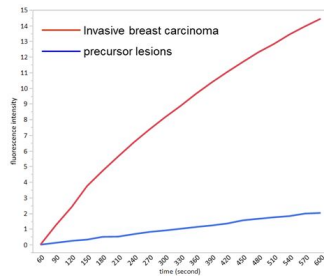


図 4

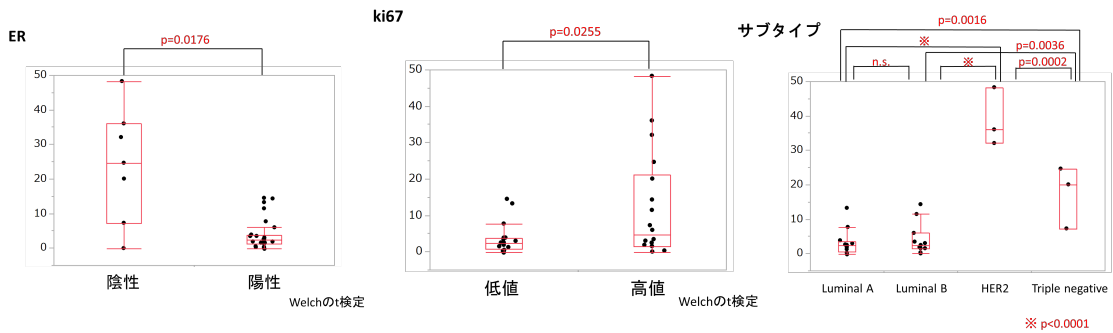


(2) 蛍光強度と各種臨床病理学的因子との関連

浸潤癌に対して、ER、HER2 の発現状況、核異型度(NG)、ki67、サブタイプごとの蛍光強度を検討した。

ER 陰性、ki67 高値で蛍光強度が高かった。サブタイプごとに蛍光強度に差がみられ、特にHER2 タイプは他のサブタイプに比べ蛍光強度が高かった。(図 5)

図 5



5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 4 件)

Tomoko Takamaru, Akashi ST, Kuwayama T, Sawada T, Hirota Y, Urano Y, Nakamura S  
g-glutamyl hydroxymethyl rhodamine green (gGlu-HMRG) is promising fluorescence probe for rapid diagnosis of breast cancer, San Antonio Breast Cancer Symposium, 2016

高丸 智子、明石 定子、高丸博之、神谷真子、浦野泰照、中村清吾  
Novel application of fluorescence probe for breast cancer ; -Rapid diagnosis with realtime imaging-、第 75 回日本癌学会学術総会、2016

高丸 智子、明石定子、阿多亜里紗、殿内 祐美、池田 紫、増田紘子、井手 佳美、大山宗士、繁永 礼奈、小野田 敏尚、垂野香苗、橋本 梨佳子、吉田 玲子、森 美樹、桑山 隆志、榎戸 克年、吉田 美和、沢田 晃暢、広田 由子、中村 清吾 乳腺領域における蛍光プローブを用いた革新的がん可視化技術の開発 - 針生検と手術検体の総合的検討 -、第24回日本乳癌学会学術総会、2016

高丸智子、明石定子、池田紫、小杉奈津子、橋本梨佳子、桑山隆志、沢田 晃暢、広田由子、中村清吾 intrinsic subtype を考慮した蛍光分子イメージングの臨床応用、第25回日本乳癌学会学術総会、2017

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕  
出願状況(計 0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年：  
国内外の別：

取得状況(計 0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号(8桁)：

### (2) 研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。