

令和 2 年 9 月 5 日現在

機関番号：32636

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K01824

研究課題名(和文) 蛍光プローブを用いた迅速で簡便な甲状腺癌検出法の確立

研究課題名(英文) Establishment of rapid and simple test for detection of thyroid cancer

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・准教授

研究者番号：60451770

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：申請者は、東京大学生体情報学教室浦野教授らが開発した癌特異的蛍光プローブに着目し共同研究に至った。申請者は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。研究は甲状腺悪性腫瘍の中で最も頻度の高い乳頭癌を対象にし、複数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。国家公務員共済組合連合会虎の門病院で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、甲状腺乳頭癌特異的な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, Thyroid Research 2018)。

研究成果の学術的意義や社会的意義

東京大学生体情報学教室浦野教授が開発した蛍光プローブが癌特異的に光ることが報告され、申請者も共同研究で甲状腺癌特異的に光る蛍光プローブを見出し、倫理申請を経て、臨床的に研究を進めた。その結果、甲状腺乳頭癌に特異的な蛍光プローブを見出し、臨床応用可能な事を証明し報告した。蛍光プローブ法は、試薬をかけるだけで、数分で癌細胞が光る簡便で画期的な方法であり、甲状腺癌早期発見、予防、あるいは福島原発事故後の甲状腺癌検査法への貢献という意味から、検査学的、医学的あるいは社会的貢献度は極めて高い。

研究成果の概要(英文)：Fluorescence imaging with γ -glutamyl hydroxymethyl rhodamine green (gGlu-HMRG) uses γ -glutamyltranspeptidase (GGT) is overexpressed in several cancers. This imaging method is rapid and useful for detecting cancers. In this study, we tried to develop a rapid fluorescence detection method for clinical samples of thyroid cancer, especially papillary carcinoma. Fluorescence imaging with gGlu-HMRG was performed to detect PTC using surgically resected clinical samples. A portable imaging device conveniently captured images. Hematoxylin-eosin (HE) staining was used to evaluate cancer tissue, and immunohistochemical examination was used to detect GGT expression. All 16 PTC samples exhibited fluorescence after topical application of gGlu-HMRG, whereas the normal sections of each sample showed no fluorescence. HE staining revealed that each fluorescent region corresponded to a region with carcinoma. The PTC samples also exhibited GGT expression, as confirmed by immunohistochemistry.

研究分野：病理(甲状腺)

キーワード：甲状腺癌 蛍光プローブ イメージング 甲状腺乳頭癌

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

- (1) 蛍光プローブ法は組織に噴霧するだけで、癌細胞のみに特異的かつ短時間で検出できる画期的な技術であり、東京大学大学院生体情報学教室の浦野泰照教授の研究に基づく方法である。
- (2) 蛍光プローブの臨床学的研究は、乳癌、卵巣癌、前立腺、食道癌、脳腫瘍(膠芽腫)、肺癌など、複数の臓器で基礎的研究ならびに臨床応用に向けての開発が進んでいる検討され積極的に進んでいる。
- (3) 東京大学の浦野研究室との共同研究で、開発された蛍光プローブ約 300 種のうちいくつかは甲状腺癌に対し特異的である可能性を見出していた。
- (4) 甲状腺をめぐる背景には、福島原子力発電所事故後、放射線誘発による甲状腺癌発症の問題があり、迅速かつ簡便な甲状腺癌検出方法が求められている。

2. 研究の目的

研究者は病理専門医であり、特に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。蛍光プローブ法は複数の臓器に応用されているが、甲状腺では未だに検討されていない。今回、甲状腺手術検体を用いて乳頭癌に対する蛍光プローブ法の有効性を検討した。

3. 研究の方法

- (1) 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。
- (2) 蛍光プローブの有効性をヒト癌細胞株で確認した。
- (3) 研究者が非常勤医師として勤務する国家公務員共済組合連合会虎の門病院で倫理申請が受理された(受理番号 936)。
- (4) 術中迅速診断で甲状腺癌(特に甲状腺乳頭癌)と診断されたものについて、腫瘍部と非腫瘍部を各々 5x3x3mm 程度切離し、イメージングを行った。
- (5) イメージングにはイメージャー(Discovery)を用い、癌部と非腫瘍部の組織の両方に蛍光プローブ液を噴霧し、3 秒、10 秒、30 秒、1 分、3 分、5 分、10 分と経時的に得られた画像を得た。
- (6) 蛍光プローブ法に用いた甲状腺乳頭癌と非腫瘍組織について HE(Hematoxylin & Eosin)染色を施行した。
- (7) 蛍光プローブで蛍光性を有した細胞に GGT 発現検討をする為に免疫染色を用いた。
- (8) 実験結果のまとめ、総括を行った。

4. 研究成果

- (1) 甲状腺乳頭癌 16 例すべて癌特異的にプローブによる蛍光性が確認された(代表例; 図 1)

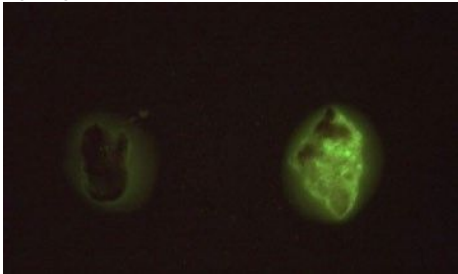


図 1 (左) 正常組織、(右) 癌組織、蛍光 (+)

一方、非癌部の検体ではプローブによる蛍光は確認されなかった。慢性甲状腺炎や腺腫様甲状腺腫では蛍光が見られなかった。

- (2) 蛍光プローブ法に用いた甲状腺乳頭癌と非腫瘍組織について HE 染色を用い、採取した組織が適切に採取されているか確認した(図 2)

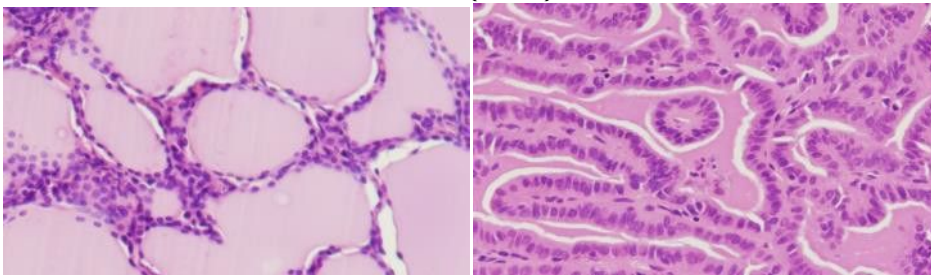


図 2 : HE 染色 (左) 正常組織、(右) 癌組織

- (3) 蛍光プローブ法では、プローブ液噴霧後、3 秒から癌に蛍光性がみられ、蛍光プローブ法による癌検出が迅速である事が分かった。
- (4) 用いる検体は、癌部と非腫瘍部各々について、5x3x3mm 程度の小組織片で十分検出可能である事が判明した。
- (5) 蛍光プローブ液は一つの組織片に対して 50-100 μm と少量で検出可能である事が明らか

になった。

(6) 蛍光性を有した癌細胞において免疫染色を施行して GGT の発現が確認された。一方、蛍光性が見られない細胞については GGT の発現が認められなかった。

(7) 本研究では迅速、簡便な蛍光プローブ法で、甲状腺乳頭癌全例に蛍光性が見られ、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 γ -glutamyltranspeptidase-specific probe: A pilot study. Thyroid Research 2018)

(8) 本結果は国内外の学会で発表した。

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 2件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Hino R, Inoshita N, Yoshimoto T, Ogawa M, Miura D, Watanabe R, Watanabe K, Kamiya M, Urano Y.	4. 巻 11
2. 論文標題 Rapid detection of papillary thyroid carcinoma by fluorescence imaging using a - glutamyltranspeptidase-specific probe: a pilot study.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Thyroid Research	6. 最初と最後の頁 16-
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s13044-018-0060-y. eCollection 2018.	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 該当する

1. 著者名 Hino R, Motoi N, Toda K, Ebina A, Yamada K, Higuchi M, Hirokawa M, Ishikawa Y	4. 巻 68
2. 論文標題 Stromal tiny black dots, like "sugar-coated", of von Kossa stain is a diagnostic clue to hyalinizing trabecular tumor of the thyroid gland.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Pathology international	6. 最初と最後の頁 176-182
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/pin.12638	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 該当する

〔学会発表〕 計7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 癌特異的蛍光プローブによる甲状腺乳頭癌の検出に関する検討
3. 学会等名 第7回日本甲状腺病理学会総会・学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 日野るみ
2. 発表標題 扁平上皮分化を豊富に伴う未分化癌の症例
3. 学会等名 第5回甲状腺病理学会総会・学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 日野るみ
2. 発表標題 癌特異的蛍光プローブによる甲状腺乳頭癌の検出に関する検討
3. 学会等名 第7回日本甲状腺病理学会総会・学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 日野るみ
2. 発表標題 癌特異的蛍光プローブによる甲状腺乳頭癌の検出に関する検討
3. 学会等名 第52回日本内分泌外科学会学術大会（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Rumi Hino
2. 発表標題 Rapid detection of papillary thyroid carcinoma by fluorescence imaging using a γ -glutamyltranspeptidase-specific probe: A pilot study
3. 学会等名 第13回アジアオセアニア甲状腺学会議ESA-SRB-AOTA2019（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 日野るみ
2. 発表標題 濾胞癌におけるWHO分類第4版の改訂点
3. 学会等名 第51回日本甲状腺外科学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 日野るみ
2. 発表標題 甲状腺結節性病変の病理：CPC
3. 学会等名 第23回日本臨床内分泌病理学会学術総会
4. 発表年 2019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 (Ooshiro Satoru) (30160485)	大東文化大学・スポーツ健康科学部・教授 (32636)	
研究協力者	浦野 泰照 (Urano Yasteru)		
研究協力者	神谷 真子 (Kamiya Mako)		
研究協力者	井下 尚子 (Inoshita Naoko)		
研究協力者	三浦 大周 (Miura Daisyu)		

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 協力 者	渡辺 健太 (Watanabe Kenta)		