

令和 5 年 6 月 4 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K07634

研究課題名（和文）センチネルリンパ節リアルタイムモニタリングによる新しい乳癌腋窩リンパ節治療の開発

研究課題名（英文）Development of axillary lymph node treatment by real-time monitoring of sentinel lymph node

研究代表者

島津 研三（Shimazu, Kenzo）

大阪大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：30448039

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：今回の研究で、体表からセンチネルリンパ節を同定し、なおかつその転移状況を核種からの放射活性あるいは蛍光物質による発光で診断し、転移がない場合にはセンチネルリンパ節生検すら行わないことを最終的な目的としている。まず、マウスによるXenograftモデル（TNBC株MDA-MB-468を使用）を作成し、それがセンチネルリンパ節生検を行えるか検証した。その後、EGFR抗体を付加したアイソトープ（ ^{64}Cu -Cetuximab）をマウスの尾静脈から投与し、転移リンパ節（後に摘出し病理学的に転移を確認）に集積があることを体外から確認することができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

乳癌において腋窩リンパ節は最も重要な予後因子である。現状ではセンチネルリンパ節生検によってこれが陰性の場合には従来の腋窩リンパ節郭清を省略することができるようになり大きく侵襲は減ったが、センチネルリンパ節生検自体の侵襲がないわけでない。今回の研究目的である体外からセンチネルリンパ節の転移状況を正確に診断することができるようになれば、診断の正確性を損なわず、全く侵襲のない診断法に繋がるためにその社会的意義を大きい。また、乳癌でこのことが実証されれば他臓器にも応用ができる可能性が高いため学術的な意義も高い。

研究成果の概要（英文）：The ultimate goal of this study is to identify the sentinel lymph node (SLN) from the outside of the body. If the status of SLN can be diagnosed by radiotracer or luminescence using fluorescent substances, SLN biopsy itself can be omitted if there is no metastasis in SLN. At first, we created a mouse Xenograft model (using the TNBC cell line, MDA-MB-468) and tested its feasibility for SLN biopsy. After that, an isotope, ^{64}Cu -Cetuximab (an antibody for EGFR) was administered through the tail vein of mice, and accumulation in the metastatic lymph nodes (later removed and confirmed pathologically) was confirmed from outside the body.

研究分野：乳癌外科学

キーワード：乳癌センチネルリンパ節生検 パテントブルー PET マウスXenograftモデル MDA-MB-468（TNBC株）
 ^{64}Cu 標識Cetuximab抗体

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、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

腋窩リンパ節転移の有無は乳癌における最大の予後予測因子である。現在、腋窩ステージングの方法として、センチネルリンパ節生検が広く普及している。その診断方法は乳腺の特定の部位に ^{99m}Tc スズコロイドなどの RI (放射性同位元素) や ICG などの色素をトレーサーとして投与して、それが流れ着くリンパ節をセンチネルリンパ節として摘出し、それを当科が開発した One-step nucleic acid amplification (OSNA) や病理学的に転移を検索するというものである。そして、転移がない場合には従来の腋窩リンパ節郭清を省略する。これによって従来の腋窩リンパ節郭清が原因となる合併症を回避できるようになり QOL の向上につながった。しかし、センチネルリンパ節生検単独においても全く侵襲がないわけではなく、痛み、しびれ、感覚鈍麻などの合併症が少なからず発生する。また、センチネルリンパ節に転移を認めた場合には、追加の腋窩リンパ節郭清が必要となるため、一生涯にわたって QOL を低下させるリンパ浮腫などの大きな侵襲が発生する。

2. 研究の目的

センチネルリンパ節を体表から同定し、かつその転移状況を正確に診断することを目指す。それによって転移陰性であれば「切らず」に腋窩リンパ節の転移状況を把握することができる。すなわち従来であれば上述の決して少なくない侵襲が不可避であったところが、全く侵襲なくしかも正確な診断が可能となる。当初、超音波造影剤によりセンチネルリンパ節生検を行って、それを体表から評価し、それに対して針生検を行い、採取されたリンパ節を OSNA で評価する予定であった。しかし、この薬剤がこの用途での保険適応外であるため、特定臨床研究の対象となってしまうことが判明し、ソナゾイドに代わる新しいトレーサーによる上記目的の達成に方針を変更した。具体的には乳癌細胞に特異的な抗体に核種、あるいは蛍光、発行物質を結合させたトレーサーを開発し、体表からの放射性活性や蛍光、発光によって転移診断を行えるようにする。さらには転移がある場合には、アスタチンなどの線放出核種などによる抗腫瘍効果のある核種を用いることによって、治療効果も期待できる新しい腋窩リンパ節転移治療法の開発につなげる。そのような試みは世界的に見ても成功しておらず、学術的にその意義は高い。

3. 研究の方法

1) マウス乳癌センチネルリンパ節モデルの作成

- A) 乳癌細胞株による Xenograft の作成
- B) 色素を用いたマウスセンチネルリンパ節生検モデルの作成
- C) 転移リンパ節の病理学的評価

2) ^{64}Cu -Cetuximab によるセンチネルリンパ節の転移評価

- A) 尾静脈からの投与による評価
- B) 集積リンパ節の転移の評価
- C) ^{64}Cu -Cetuximab による抗腫瘍効果の判定

4. 研究成果

乳癌特異抗体を発現している JIMT-1 (HER2 陽性株) と MDA-MB-231 (TNBC 株) 乳癌細胞株を正着させたマウス Xenograft モデルを作成した。そのモデルマウス第 1 から 5 乳腺において、アイソトープの投与部位としては第 3 乳腺が適しており、これをモデルとすることとなった。このマウスにおいて第 3 乳腺に JIMT-1 (HER2 陽性株) と MDA-MB-231 (TNBC 株) 乳癌細胞株を正着させ、その近傍リンパ節に転移を認めるか検討した。2 つの細胞株に発光物質である nano-lantern を遺伝子導入しており、近傍のリンパ節においてその発光を認めた。しかしこれらの 2 つの細胞株による転移は病理学的評価に適していないことが判明したため、病理学的評価に適している MDA-MB-468, SKBR3, BT474 を用いて Xenograft モデルを作成した。そ

これらのモデルでは0.1mmの転移までそれぞれの抗体で転移が確認できた。このマウスモデルに対して⁶⁴Cu-Cetuximab投与を行った。まずTNBC株 MDA-MB-468を移植したXenograftモデルにて、尾静脈より⁶⁴Cu-Cetuximabを投与し、腫瘍への集積を確認できた。また37.5%の割合で同側腋窩リンパ節への集積を確認できた。これによって、当初目的としていた「切らない」センチネルリンパ節生検について、最大のマイルストーンとなる体外から転移センチネルリンパ節を同定することが可能であることが実証された。今後はこのマウスモデルをヒトに応用するための大型動物さらには第1相臨床試験に向けて準備を進めたい。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 島津研三
2. 発表標題 センチネルリンパ節生検：現状と今後の展望、大阪大学での取り組み
3. 学会等名 第19回日本乳癌学会近畿地方会（招待講演）
4. 発表年 2021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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------