

# 論 文 要 旨

## Rapid intraoperative visualization of breast lesions with $\gamma$ -glutamyl hydroxymethyl rhodamine green

### gGlu-HMRG を用いた、術中における 乳腺腫瘍の可視化に関する研究

新田 吉陽

#### 【序論および目的】

乳癌は罹患率の高い疾患であり、患者の多くは外科手術を受ける。乳癌手術の約半数を占める乳房部分切除術においては、切除断端の腫瘍の有無を確認する必要がある、術中迅速病理診断が非常に重要である。一方で癌細胞を可視化する技術も求められており、浦野らによって開発された新規蛍光物質 gGlu-HMRG( $\gamma$  glutamyl hydroxymethyl rhodamine green)は細胞膜表面に存在する GGT( $\gamma$  glutamyltranspeptidase)と特異的に反応して蛍光を発するため、GGT 蛋白を発現する癌細胞をリアルタイムに可視化できる物質として期待されている (Urano *et al. Sci Transl Med* 2011)。

今回我々は乳腺腫瘍に対して gGlu-HMRG を用いた蛍光法を適応して、乳腺腫瘍の識別能を評価し、乳癌手術における本蛍光法の意義を検討した。

#### 【材料および方法】

- ①4 種類の乳癌細胞株と 1 種類の乳腺上皮細胞株に gGlu-HMRG 溶液を滴下し、蛍光顕微鏡で蛍光強度を測定した。
- ②35 例の乳腺手術で摘出された検体 (良性、悪性を含む) の腫瘍中心部で割を入れ、gGlu-HMRG 溶液を滴下し、腫瘍部、正常乳腺部、脂肪部分の蛍光強度を測定した。試薬滴下 5 分後での蛍光強度の上昇値を定量化し、最終病理診断と比較することでカットオフ値を設定し、腫瘍の識別能を評価した。
- ③乳腺腫瘍の GGT 蛋白質の発現を確認するために 49 例の乳腺腫瘍、20 例の乳腺組織と脂肪組織の GGT 蛋白質の発現を確認した。
- ④ ②で設定したカットオフ値を用いて、乳房部分切除での断端診断に対する本蛍光法の有用性について検討した。乳癌に対する乳房部分切除 5 例から得た 7 つの検体の断端に割を入れて gGlu-HMRG 溶液を滴下し、蛍光法による評価と、術後の病理診断とを比較した。

#### 【結 果】

- ①乳癌細胞株 4 種と乳腺上皮細胞株 1 種の全ての細胞株で gGlu-HMRG 溶液滴下数分後に時間と共に増強する蛍光を観察した。

②ヒト手術検体を用いた検討では、乳腺腫瘍部で時間と共に増強する蛍光を観察でき、周囲組織と明瞭に区別することが可能であった。gGlu-HMRG 滴下後 5 分間での蛍光強度の増大分として蛍光強度を定量化し、カットオフ値を設定したところ、最終病理検査で確認された乳腺腫瘍部分（良性と悪性とを含む）と正常組織部分（正常乳腺組織、脂肪組織）とを感度 92%、特異度 94%で識別可能であった。

③GGT の免疫染色の結果、乳癌組織の 84%（36/43 例）、良性乳腺増殖性疾患の 83%（5/6 例）で細胞膜表面の GGT 蛋白発現が確認された。一方、正常乳腺、脂肪では GGT 蛋白発現を認めなかった。

④7 つの乳房部分切除における断端切片のうち、4 切片中に癌が存在した。その全ての切片で癌部を蛍光法により腫瘍部分と診断し得た。

#### 【結論及び考察】

gGlu-HMRG を用いた本蛍光法によって、乳腺腫瘍を蛍光標識することが可能で、周囲組織と比較して明瞭に腫瘍部分を可視化することが可能であった。腫瘍部と正常部の識別では感度 92%、特異度 94%と高い診断能力を有している。免疫染色、蛍光実験の結果から、本方法は乳癌のサブタイプや組織型と関係なく使用できるため、幅広く乳腺手術に対して応用可能であると考えた。乳房部分切除術の切除断端における蛍光実験では、約 1mm 浸潤性乳管癌の乳管内進展病変も蛍光陽性として描出可能であったため、実際の手術において問題となる微小な癌露出部分も描出しうる空間分解能を有していると考えた。

乳房部分切除における断端診断は摘出病変の全周を病理診断することが理想とされているが、病理部の労力を要するために実行できる施設は多くないのが現状である。本方法は乳腺腫瘍部分を短時間で簡便に描出することが可能であるため、蛍光陽性部分のみを病理診断へ依頼するなどすれば、術中病理診断の補助的検査法として有用であると思われる。

(Scientific Reports 誌 2015 年 掲載)