

# 大坪 竜太 論文内容の要旨

## 主 論 文

Novel diagnostic procedure for determining metastasis to sentinel lymph nodes in breast cancer using a semi-dry dot-blot method.

SDB 法を用いた乳癌センチネルリンパ節転移検出における新規診断手技

大坪竜太、及川将弘、平川 宏、柴田健一郎、安倍邦子、林 徳真吉、木下直江、重松和人、畑地登志子、矢野 洋、松本 恵、高木克典、土谷智史、朝重耕一、中島正洋、谷口英樹、大曲武征、糸柳則昭、永安 武

International Journal of Cancer 2013, in press

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 医療科学専攻  
(主任指導教員：永安 武 教授)

### [緒 言]

乳癌における臨床的転移陰性症例に対するセンチネルリンパ節生検 (SLNB) は確立した手技であるが、凍結標本による術中迅速病理診断と永久標本による診断の乖離や病理医の業務増加が問題となっている。通常センチネルリンパ節は術中の凍結標本を用いた病理組織診、捺印細胞診や両者の併用によって行われるが、術中病理組織診では偽陰性率が 5-52%あると言われている。永久標本による病理診断でセンチネルリンパ節に転移が認められた場合、その後に腋窩リンパ節郭清のための再手術が必要となる場合がある。また捺印細胞診も感度が低い事が問題となっている。このためリンパ節転移診断において新たな診断手技が必要とされており、Cytokeratin 19 の mRNA をマーカーにした One-step nucleic acid amplification (OSNA 法) などが臨床応用されているが、高価であることやマーカー陰性乳癌の存在が問題となっている。以前平川らは dot-blot 法を応用した Semi-dry dot-blot (SDB) 法を開発し、洗浄液中の 20 個の癌細胞も検出可能であった事を報告している。今回我々は SDB 法が乳癌、胃癌、大腸癌手術において郭清されたリンパ節中の癌細胞を検出する精度を検証し (Trial1)、更に乳癌センチネルリンパ節転移診断における効果を評価した (Trial2)。

#### [対象と方法]

病理部提出前に摘出したリンパ節の断面をリン酸緩衝生理食塩水で洗浄し、洗浄液内に遊離した細胞を遠心して細胞集塊を得る。この細胞集塊を溶解させ、漏出した蛋白質に含まれる上皮細胞に特異的な蛋白であるサイトケラチンを **pan-cytokeratin antibody(AE1/AE3)**により膜上で免疫染色を行い、癌細胞の存在を可視化する事が **SDB** 法のリンパ節転移診断の原理である。また、洗浄後のリンパ節組織は病理学的診断に使用し、**SDB** 法の結果と比較した。

Trial 1 : 2010 年に聖フランシスコ病院外科で手術が行われた乳癌、胃癌、大腸癌患者 29 症例の郭清リンパ節 180 個を対象とした。SDB 法による郭清リンパ節中の癌細胞検出の精度を検証するため、最終病理診断に対する SDB 法の感度、特異度、一致率を評価した。

Trial 2 : 2011 年 7 月から 2012 年 6 月にかけて、長崎大学病院腫瘍外科と日赤長崎原爆病院外科で前方視的多施設共同臨床研究を行った。超音波と MRI で臨床的にリンパ節転移陰性と判断された連続する 100 症例、174 個の乳癌センチネルリンパ節を対象とした。乳癌センチネルリンパ節に対する SDB 法の有効性を検証するため、最終病理診断に対する SDB 法の感度・特異度・一致率を評価した。また、判定は病理結果などを知らされていない他施設の者が行った。

#### [結 果]

Trial1:32 個の病理学的転移陽性リンパ節の全てを SDB 法で転移陽性と判断した。148 個の病理学的転移陰性リンパ節中の 145 個を SDB 法で転移陰性と判断し、感度 100%、特異度 98.0%、一致率 98.3%であった。

Trial2 : 15 個の病理学的転移陽性リンパ節の 14 個を SDB 法で転移陽性と判断した。159 個の病理学的転移陰性リンパ節中の 154 個を SDB 法で転移陰性と判断し、感度 93.3%、特異度 96.9%、一致率 96.6%であった。術中病理診断と同時に行った 22 例の平均検査時間は SDB 法 43.3 分、術中迅速病理 42.8 分であった。また 1 回の SDB 法で 2 個のリンパ節を検査した時の費用は、約 900 円であった。

#### [考 察]

SDB 法は正確、迅速、安価であり、リンパ節組織を喪失する事なく乳癌センチネルリンパ節の術中転移診断を安全に施行できる。また、従来組織診との併用や他癌腫への応用も可能である。現在キット化を行っており、キット化が実現すれば多数の手術を行う施設での病理医の負担軽減や、病理医が不足している発展途上国や僻地でも有用であると思われる。