

(様式 6-A) A. 雑誌発表論文による学位申請の場合

XIEYI ZHANG 氏から学位申請のため提出された論文の審査要旨

題 目 Activatable fluorescence detection of epidermal growth factor receptor positive mediastinal lymph nodes in murine lung cancer model (activatable 蛍光イメージングを用いたマウス肺癌モデルの EGFR 陽性縦隔リンパ節転移検出の検討)

雑誌名 Public Library of Science

著者名全員 Xieyi Zhang, Takahito Nakajima, Mai Kim, Aiko Yamaguchi, Oyunbold Lamid-Ochir, Huong Nguyen-Thu, Anu Bhattarai, Hirofumi Hanaoka, Yoshito Tsushima

論文の要旨及び判定理由

肺癌患者におけるリンパ節転移の検出は、治療効果や生存率の向上に重要である。今回、蛍光物質であるインドシアニングリーン (ICG) を標識した抗 EGFR 抗体を用いた activatable 蛍光イメージングの技術を用いて、マウス肺癌モデルの EGFR 陽性リンパ節転移の検出を試みた。

癌細胞には EGFR 陽性細胞である H226 と EGFR 陰性細胞である H520 を *in vitro* および *in vivo* 実験に用いた。病変検出に用いた薬剤は、抗 EGFR 抗体であるパニツムマブ (Pan) に ICG を 1:8 の割合で標識することで、ICG の蛍光能を消失させた activatable 抗体 (Pan-ICG) を作成した。

in vitro の実験として、細胞培養液中に Pan-ICG を添加した状態で 1 時間・6 時間インキュベーションした後、flowcytometry (FACS) および蛍光顕微鏡で EGFR 陽性癌細胞への特異的な Pan-ICG の結合を確認した。

in vivo 実験では、H226 および H520 のいずれかを直接肺に移植して、肺癌マウスを作成した (H226 群 5 匹・H520 群 5 匹)。肺癌モデル確立の確認には毎週 CT を撮像することで行った。腫瘍径が 8mm を超える・片側肺の 1/2 以上が無気肺になる、のいずれか一方を満たした段階で安楽死させ、瀉血した後、開胸して蛍光イメージングを行った。蛍光イメージングには Maestro (BD 社製) を用いて、励起光 (700nm)・蛍光フィルタ (800nm) を使用した。それぞれのマウスでは縦隔リンパ節の明るいものから上位 5 つを選択して、蛍光強度を計測した。またリファレンスには肝臓の蛍光強度を使用した。

FACS の結果では、EGFR 陽性癌細胞のみで蛍光が検出され、EGFR 陰性細胞では蛍光が検出されなかった。蛍光顕微鏡では、1 時間・6 時間後の両方で EGFR 陽性癌細胞のみで蛍光が検出された。

肺癌マウスモデルを用いた蛍光イメージングでも EGFR 陽性リンパ節 25 個 (5 リンパ節/マウス) のすべてで強い蛍光シグナルが得られた。EGFR 陰性リンパ節転移ではほとんど蛍光シグナルを得られなかった。蛍光シグナルの病変-肝臓比では EGFR 陽性群と陰性群に統計的な有意差を持って明らかな違いが認められた ($p < 0.05$)。病変の大きさと蛍光シグナルには統計的相関を認めなかった (Fig 7, $r = 0.36$, $p = 0.08$) これらの結果については、摘出リンパ節および免疫染色を含めた病理学的検討でも、同様の所見が認められた。私たちは activatable 蛍光物質 Pan-ICG を合成し、EGFR 陽性癌細胞に対して統計的有意差を持って、強い蛍光シグナルを得ることに成功した。このことは、実際の胸腔鏡を使った手術にも応用が可能であると考えられる。博士 (医学) の学位に値するものと判定した。

(平成 30 年 7 月 27 日)

審査委員

主査	群馬大学教授 (医学系研究科) 応用生理学分野担任	鯉淵 典之	印
副査	群馬大学教授 (医学系研究科) 肝胆膵外科 学分野担任	調 憲	印
副査	群馬大学教授 (生体調節研究所) 腫瘍放射線 学分野担任	中野 隆史	印

参考論文

なし