

T3では郭清なしが1例、片側郭清が4例、両側郭清が1例、T4では片側郭清が1例、両側郭清が1例であり、原発巣が早期であればSN生検のみもしくはSN領域郭清のみで、予防的郭清は行っていない施設が多いようであった。舌癌の口内法切除で頸部郭清も再建も行わなかった90例中、詳細不明の3例を除いた87例では、手術時間は27分~237分で中央値は105分、出血量は少量~320mlの中央値20mlであった。術後合併症については、口腔癌157例のうち137例(87%)に認めていなかったが、創部感染が7例、出血が3例、瘻孔が3例、皮弁壊死が2例、胃潰瘍が2例、肺炎が1例、せん妄が1例、その他が1例認められた。また舌癌の口内法切除で頸部郭清も再建も行わなかった90例中、術後合併症も術後治療もない83例の入院期間の中央値は9日であった。また口腔癌157例で術後治療なしが141例(90%)、放射線治療が4例、化学放射線治療が3例、CDDP動注が3例、経口抗癌剤が4例、不明が2例であった。N0であった153例中、最終的に頸部転移陽性と判断されたのは27例あり、術前診断における偽陰性率は27/153=17.6%となった。

SNに関する基本情報としては、トレーサーは7施設全てアイソトープであり、6施設が<sup>99m</sup>Tc標識フチン酸、残り1施設はレニウムもしくは<sup>99m</sup>Tc標識フチン酸が使われていた。トレーサーの放射線量および注入量は施設により様々であり、35~592MBq/mlを0.2~0.8mlの範囲で使用されていた。また注入箇所および分注数は全て粘膜下および4分注であり、注入法は喉頭・下咽頭の症例が内視鏡下だった以外は直視下で注入されていた。注入日は6施設が前日、1施設が前日もしくは当日であった。ガンマプローブによるSN同定およびリンパシンチグラフィは全施設で行われていたが、SPECTが行われていたのは2施設のみであった。ガンマプローブに関してはneo2000使用が3施設、Navigator™GPSが4施設であった。また3施設がシンチレーションカウンター測定を行っており、2施設では一部の症例のみ測定されていた。

Shine-through現象対策は、原発先行切除を行ったのが2施設、原発先行切除と遮蔽物の両方を行ったのが1施設、他の4施設は特に対策は取られていなかった。同定されたSNの診断法であるが、ほとんど全ての症例で凍結標本による術中迅速診断が行われていたが、その際の切片の作成は1mm間隔が2施設、2mm間隔が1施設、正中のみが4施設

であった。術後病理診断についてはHEのみが6施設で、1施設のみサイトケラチン免疫染色を行っていた。またその際の切片の作成法は1mm間隔が1施設、2mm間隔が3施設、正中のみが3施設であった。その中で1施設のみOSNA法が併用されていた。非SNに関しては、ほとんど全てが正中のみの切片で、HE染色のみが行われていて、RT-PCRはどの施設でも行われていなかった。

リンパシンチグラフィによるSN同定に関しては、口腔癌(157例中不明の20例を除いた137例)では合計363個が描出されており、1例あたりの描出リンパ節数の平均値は2.6個、中央値は2個であった。領域別では患側J1が最多であった。喉頭および下咽頭癌の20例では合計51個が描出されており、1例あたりの描出リンパ節数の平均値は2.6個、中央値は2個で、領域別ではやはり患側J1が最多であった。

SPECTによるSN同定に関しては、口腔癌(157例中結果が確認された71例)では合計190個が描出されており、1例あたりの描出リンパ節数の平均値は2.7個、中央値は3個であった。また領域別ではやはり患側J1が最多であった。

最終的なガンマプローブによるSN同定に関しては、口腔癌157例では3症例を除く154例で合計458個が同定されており(SN同定率98.1%)、1例あたりの描出リンパ節数の平均値は2.9個、中央値は3個であった。喉頭および下咽頭癌の20例では全例で合計75個が同定されており(SN同定率100%)、1例あたりの描出リンパ節数の平均値は3.8個、中央値は3個であった。

描出方法別の比較を行うと口腔癌に関しては、リンパシンチグラフィ、SPECT、ガンマプローブの間に1例あたりの描出リンパ節数の有意差はなかった(Median検定)。また領域別の描出リンパ節数の分布に差はなかった。喉頭および下咽頭癌でもリンパシンチグラフィとガンマプローブの間に1例あたりの描出リンパ節数の有意差はなく(Median検定)、領域別の描出リンパ節数の分布にも差はなかった。

リンパシンチグラフィやSPECTは果たしてSN同定の補助手段として有効なのであろうか?非SN転移症例は5例あり、3例はSNにも転移があったが、2例はSNが全て転移なく、非SNのみに転移を認めていた。その詳細を検討すると、症例4以外はSN領域内ではなく、非SN領域であったがバックアッ

プ郭清した部位にあったことになり、バックアップ郭清の方がむしろ重要と考えられた。

ガンマプローブで同定されたSNは口腔癌で458個、喉頭および下咽頭癌では75個あり、その合計533個のうち病理学的診断が不明の13個を除いた520個中に病理学的転移あったのが40個で7.7%（症例数では30例で17.2%）となり、その内訳は口腔癌445個中33個（16.2%、症例数では25例で

16.2%）、喉頭および下咽頭癌75個中7個（9.3%、症例数では5例で25%）となっていた。口腔癌と喉頭および下咽頭癌での転移頻度に有意差はなかった。病理学的転移のあった40個は、凍結切片を検索せずHEのみの検索で転移を認めたのが3個、凍結切片で転移があったが、それが2mm以上の転移だったものは25個、それ未満の微小転移であったものが6個、凍結切片では転移がなかったものが6個であった。凍結切片で微小転移と診断された6個は、迅速病理診断を1mm切片で行っていた施設で1個、2mm切片で行っていた施設で3個、多切片法を行っていなかった施設で2個であった。またこれらのうち3個がHEでは転移が確認できず、全て永久標本の検索に2mm切片で多切片を作成していた施設で認められていた。凍結切片で転移がなかったものの最終的に転移ありと診断された6個のうち、1個は術中のスタンプ細胞診のみで陽性、1個はサイトケラチンの免疫染色のみ陽性、残りの4個はHEで陽性となっていた。したがって最終的に転移ありと診断された40個のうち5個

（12.5%）は迅速診断では同定されなかったという結果になった。

ガンマプローブのカウントと病理学的転移の関係では、40個の転移のうち、SNの中で最大のカウント数だったもの17個、2番目のカウント数だったもの11個（うち4個は最大のもが陽性）、3番目のカウント数だったもの6個（うち3個は2番目のものが陽性）、4番目のカウント数だったもの1個、5番目のカウント数だったもの2個、カウント数不明だったもの3個となり、結局37個中13個が、カウント数が自分より大きいものの中に転移陰性であるものがあったても、転移陽性であった。これらのカウント状況の詳細をみると、中には転移陰性だったものとのカウント数の差が大きいものもあった。

術後治療が177例中22例に行われており、その内訳は放射線治療が19例（うち化学放射線同時併用6例）、化学療法が3例であった。また放射線治療

の対象は、原発に対し4例、頸部に対し5例、原発と頸部両方が10例であった。術後治療を行った22例の予後は、再発なしが14例、再発ありが8例となった。一方、術後治療を行わなかった155例の予後は、再発なしが124例、再発ありが31例となった。再発のあった合計39例（22.0%）中、原発再発が18例（原発再発か頸部再発か不明の3例を含む）で、予後は非担癌生存12例、原病死4例、他癌および他病死2例であった。頸部再発は17例で、予後は非担癌生存11例、担癌生存1例、原病死3例、他病死1例、死因不明1例であった。遠隔転移は4例で、原病死3例、担癌生存1例であった。頸部再発17例の詳細は、患側郭清領域内再発は3例で、うち2例は手術±術後治療で制御、1例は化学放射線同時併用のみで非制御、患側郭清領域外再発は6例で、うち4例は手術±術後治療で制御、2例は手術できず非制御、対側郭清領域外再発は3例で、うち2例は手術+術後治療で制御、1例は化学放射線同時併用のみで非制御、再発領域不明が4例で、うち3例は手術±術後治療で制御、1例は死因不明であった。頸部再発に関しては、手術で切除できれば制御が可能と考えられ、最終的な頸部の制御率は97.5%に達していた。口腔癌157例の5年累積生存率は81.8%、無病再発5年累積生存率は92.2%であり、喉頭および下咽頭癌20例ではどちらも89.4%であった。

SN生検についての偽陰性率は、SNが同定された174例中SN陰性例144例あり、非SN転移症例数と後発転移症例数があわせて10例（6.9%）あった。また、SNナビゲーション領域NDにおけるSN領域のリンパ節転移偽陰性率（郭清範囲内のSN領域(-)SN領域外(+)転移例+後発転移例/SN陰性例)も、SNナビゲーションNDにおけるSN転移偽陰性率（郭清範囲内のSN(-)SN外(+)転移例+後発転移例/SN陰性例)も同様に6.9%となった。

#### D. 考察

SN生検に関して偽陰性率は6.9%となったが、文献的な比較ではやや高いと思われた。この背景には各施設の learning curve、原発巣の大きさ、shine-through 対策、患者の年齢的要素などが考えられるが、特定ものは同定できなかった。

#### E. 結論

7施設、計177症例のSN生検術の実態調査を行った結果、SN同定率は口腔癌では98.1%、喉頭および

び下咽頭癌では100%となった。全体の40個(7.7%)のSNに何らかの病理学的転移を認め、そのうち5個は術中診断が困難であった。ガンマプローブのカウント数では、自分よりカウント数が大きいものに転移陰性のものがあるにもかかわらず、転移陽性であったリンパ節を認めていた。郭清範囲に関しては、術前のリンパシンチやSPECTによる補助よりも、バックアップ郭清が重要と考えられた。口腔癌157例の5年累積生存率は81.8%、無病再発5年累積生存率は92.2%であり、喉頭および

下咽頭癌20例ではどちらも89.4%となった。頸部再発を17例(10.7%)に認めたが、手術で切除できれば制御できる可能性があり、最終的な頸部の制御率は97.5%に達していた。本研究によるSN生検の偽陰性率は6.9%であった。

#### G. 研究発表

研究発表は現在準備中であり、近日中の発表を予定している。

分担研究報告書

「分子生物学的手法による頭頸部癌リンパ節転移診断の臨床的意義の検討」に関する研究

研究分担者 松塚 崇 福島県立医科大学耳鼻咽喉科学講座 講師

研究要旨

センチネルリンパ節生検は、従来病理検査で転移の有無を確認するため病理医の協力が不可欠である。OSNA 法(One Step Nucleic Acid Amplification)は遺伝子学的手法を用いてリンパ節転移を診断する方法で、約 30 分で処理が可能である。既に乳癌で保険医療が可能であるが、今回頭頸部癌症例を対象に OSNA 法での解析結果を従来の病理検査結果と比較した。

頸部郭清あるいはセンチネルリンパ節生検で得られたリンパ節を、採取されたリンパ節を分割し断面から標本を作製し従来の病理検査を行い、残りを OSNA 法として CK19mRNA を直接増幅・検出した。

これまで 8 症例、20 リンパ節を解析し、OSNA 法での解析はリンパ節 20 個中 5 個が転移陽性、従来の病理検査では 20 個中 6 個が転移陽性の結果であり、検査結果は 95% (19/20 個) で一致していた。

OSNA 法は術中のリンパ節転移が従来の病理検査と同等に診断できる可能性がある。

A. 研究目的

現在、癌治療学においてセンチネルリンパ節の同定が脚光を浴び、その有用性に関する研究が進められている。

OSNA 法(One Step Nucleic Acid Amplification)は遺伝子学的手法を用いてリンパ節転移を精度よく診断する方法で、乳がんの領域では OSNA 法のエビデンスが集積し保険医療となっている。

従来の迅速病理診断法に代わる可能性を秘めた診断法であるが乳癌以外の領域ではその有用性は確認されてない。本研究は頭頸部癌における OSNA 法の有用性を検討し臨床上的エビデンスを集積し、臨床での有用性を拡大することにより、術中のリンパ節転移診断が従来法に比べ簡便にできるようになる可能性がある。

今回の研究では手術で採取したリンパ節から OSNA 法での解析結果を従来の病理検査結果と比較することにより検証する。

B. 研究方法

1. 頭頸部癌患者を対象にリンパ節生検や頸部

隔清術で摘出したリンパ節を直ちに 4 分割し現行法として、得られた 3 断面から凍結標本を作製し、鏡検による診断を行う。

2. OSNA 法として、4 分割のうち隣接しない 2 分割分の検体を用いて、リンパ節を可溶化し、該試料中に内在する RNA を抽出・精製することなく、CK19mRNA を直接増幅・検出し、転移診断を行う。

3. 現行の病理検査と OSNA 法を比較し転移診断の一致率を比較し OSNA 法の性能を検討する。

(倫理面への配慮)

本研究で得られた情報は匿名化し、名前等の個人情報が公表しない。また、この臨床試験で得られた情報を取りまとめるために、個人を特定できる情報は記載しない。取りまとめられた情報を医学雑誌などに発表する場合も、個人が特定できないように配慮する。

本研究への参加に同意した後でも、既に経過観察を開始している場合でも、自由に同意を撤回でき、研究用の試料や解析の結果は廃棄する。診療記録も、それ以降は、本研究の目的に用いない。

### C. 研究結果

頭頸部扁平上皮癌の治療および診断目的で採取した13症例の31リンパ節でOSNA法での解析結果を従来の迅速病理結果と比較した。内訳は迅速病理で転移陽性のリンパ節が7個、転移陰性リンパ節が24個であった。

迅速病理で転移陽性であった7個のリンパ節のうち6個はOSNA法で陽性で1個は陰性であった。迅速病理で転移陰性であった24個のリンパ節のうちOSNA法で陽性はなく、24個すべてが陰性であった。

迅速病理で転移陽性、OSNA法で転移陰性の偽陰性が1リンパ節存在したが、このリンパ節の肉眼および病理切片は壊死で占められていた。

### D. 考察

壊死リンパ節は乳癌では検査対象外とされている。そこで、壊死リンパ節を除いた30リンパ節において、OSNA法と従来法で転移陽性6、転移陰性24と全てのリンパ節で一致していた。

リンパ節内のがん細胞量をCK19のmRNA量のコピー数に換算し、OSNA法ではそれに相当する濁度を検量線から算出することにより定量的な検査結果が得られる。乳がんにおいては250copy/ $\mu$ l以上を陽性とし、腫瘍細胞の体積が2mm<sup>3</sup>にあたる5,000copy/ $\mu$ l以上を強陽性とする。今回の頭頸部扁平上皮癌における結果では偽陽性はなかったため特異度の高い検査であることはいえるが、従来法で転移ありと判っていたリンパ節のなかで、OSNA法で陰性となった、いわゆる偽陰性のリ

ンパ節が存在した。

壊死した細胞はCK19mRNAの発現がないため、乳がん領域では肉眼上壊死で占めるリンパ節はOSNA法の適応外とされている。本研究の対象から壊死リンパ節を除くと従来法である迅速病理検査結果とOSNA法の結果はすべてのリンパ節で一致していた。本研究の目的のひとつには、OSNA法が従来法では検出できない転移を検出できる可能性を検証することがある。

### E. 結論

現在のところ、従来法で検出できずにOSNA法で陽性となっている例はないが、乳がんにおけるOSNA法の取り扱い規約に準じて検査を行うと従来法と同等の結果を得られる可能性はある。

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

- ① 松塚崇, 三浦智広, 横山秀二, 鈴木政博, 國井美羽, 岡野渉, 他. センチネルリンパ節生検と頸部郭清術. 耳鼻と臨床 55(Suppl. 1):S55-S62, 2009.
- ② 松塚崇, 大森孝一. 舌癌 T1-2N0 症例の頸部リンパ節に対する治療方針は? センチネルリンパ節生検にて決定する立場から. JOHNS 25:1511-4, 2009.

#### 2. 学会発表

- ① 松塚 崇, 三浦智広, 鈴木政博, 他: OSNA法は術中のリンパ節転移を検出できるか. 第20回日本頭頸部外科学会, 2010, 東京

分担研究報告書

近赤外蛍光カラーイメージングを使用した頭頸部センチネルリンパ節同定への応用に関する研究

研究分担者 甲能 直幸 杏林大学医学部耳鼻咽喉科教授

研究要旨

センチネルリンパ節生検を行う際、従来であればトレーサーは放射性同位元素がリンパ節の同定に使用されていた。しかし、この手法は被曝するというデメリットがあるため改善が必要である。インドシアニングリーン（ICG、人体に投与可能な肝臓や眼底などの検査試薬）は、760-780nmの励起光を照射すると800-850nmの近赤外蛍光を発する。ICGはリンパ流に沿ってリンパ節に集積するため、ICGの蛍光特性を利用してセンチネルリンパ節の同定が可能であると考えられる。このICG蛍光リンパ節造影法によって、経皮的なセンチネルリンパ節の同定および術中におけるICG集積リンパ節の可視化が可能となれば、リンパ節生検の手法が大幅に簡略化されることが期待される。

A. 研究目的

ICGの蛍光特性を利用して頭頸部領域のセンチネルリンパ節を同定できるかどうか検証する。

B. 研究方法

ウサギ・豚を麻酔後、舌、喉頭、咽頭にICG 1ccを注入し、経皮的にセンチネルリンパ節の存在部位を視認してリンパ節を摘出する。

C. 研究結果

ウサギ6羽にICGをそれぞれ注入したところ4羽で経皮的にリンパ節の存在部位が視認できた。豚8頭にも同様な実験を行ったところ、皮膚、脂肪層が厚く経皮的にはリンパ節の存在部位を同定できなかった。しかしリンパ節自体は蛍光発光しており脂肪層の中でICG集積リンパ節の可視化が可能であった。

D. 考察

リンパ節の存在部位を経皮的に視認できる深度は平均2.5cmぐらいであり、それ以上の深度があると経皮的にはリンパ節の存在部位を視認で

きないと考えられた。

E. 結論

ICGの蛍光特性を利用して頭頸部領域のセンチネルリンパ節を経皮的に同定できると考えられ、人体への応用も十分に可能と考えられた。またこの手法によりセンチネルリンパ節生検が大幅に簡略化されることが期待できると考えられた。

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

①永藤裕、甲能直幸：耳鼻咽喉科頭頸科領域におけるOSNA法臨床研究の展開。第11回Sentinel Node Navigation Surgery研究会学術集会, 2009, 東京

②甲能直幸、永藤裕：喉頭癌に対するセンチネルリンパ節ナビゲーション手術の検討。第22回日本喉頭科学会総会・学術総会, 2010, 山口

分担研究報告書

「センチネルリンパ節理論による頭頸部微小転移の解明と個別的治療法の開発」  
に関する研究

研究分担者 本間 明宏 北海道大学病院耳鼻咽喉科 講師（診療准教授）

研究要旨

近年、注目されている超選択的動注療法を口腔癌の原発巣に対して行い、動注した薬剤がセンチネルリンパ節に高率に移行しているかどうかを検討するプロトコルを作製した。平成 22 年度に症例を登録し、実施する予定である。

A. 研究目的

シスプラチンを口腔癌の原発巣に超選択的に動注を行い、その薬剤がセンチネルリンパ節に高率に移行しているかどうかを検討する。

B. 研究方法

口腔癌に対して術前にシスプラチンの超選択的動注療法を行い、手術時に原発巣の切除と頸部郭清術を行う。その際にセンチネルリンパ節生検も行い、リンパ節内のプラチナ組織内濃度を測定し、センチネルリンパ節への薬剤の移行性を検討する。また、超選択的動注療法によるリンパ節への組織学的効果についても検討する。

（倫理面への配慮）

「ヘルシンキ宣言（2008 年 10 月修正）」および「臨床研究に関する倫理指針（平成 20 年 7 月 31 日改正、以下臨床研究倫理指針）」を遵守して実施する。

C. 研究結果

本研究は、北海道大学病院の自主臨床研究審査委員会にて承認され（平成 21 年 10 月 30 日）、平成 22 年度に症例を登録し、実施予定である。

D. 考察

今後登録し、実施予定である。

E. 結論

今後登録し、実施予定である。

G. 研究発表

1. 論文発表

- ① 本間明宏, 鈴木章之, 福田 諭: 舌癌 T 1-3 症例の原発部位に対する治療法の選択は? 一超選択的動注療法の立場から一. *JOHNS* 25: 1503-1506, 2009

2. 学会発表

- ① Homma A, Suzuki F, Taki S, Mizumachi T, Kano S, Oridate N, Fukuda S: Round Table 7 Oral cavity cancer: assessment and treatment. Rapid Superselective Cisplatin Infusion with Concomitant Radiotherapy for Base of Tongue Cancer. 1st Meeting of European Academy of ORL-HNS, 2009, Mannheim
- ② 本間明宏, 鈴木章之, 瀧 重成, 水町貴諭, 福田 諭: シンポジウム 1 頭頸部癌治療における化学放射線療法の役割「鼻副鼻腔癌治療における化学放射線療法の役割」. 第 19 回日本頭頸部外科学会, 2009, 名古屋,
- ③ 本間明宏, 折館伸彦, 鈴木章之, 原 敏浩, 真栄田栄行, 加納里志, 水町貴諭, 瀧 重成, 稲村直哉, 古沢 純, 福田 諭: シンポジウム 第一部 化学放射線治療. 下咽頭がんに対する超選択的動注化学療法第 2 回喉頭機能温存治療研究会, 2009, 東京
- ④ 本間明宏, 折館伸彦, 鈴木章之, 鈴木清護, 原 敏浩, 真栄田裕行, 水町貴諭, 稲村直哉, 福田 諭: 化学放射線療法後の救済手術における皮膚切開デザインの工夫. 第 20 回日本

頭頸部外科学会総会ならびに学術講演会,  
2010, 東京

⑤本間明宏, 折館伸彦, 鈴木章之, 原 敏浩, 真  
栄田栄行, 加納里志, 水町貴諭, 瀧 重成, 稲

村直哉, 古沢 純, 福田 諭: 下咽頭癌—手術可  
能症例に対する治療—超選択的動注療法. 第  
15 回頭頸部癌化学療法研究会, 2010, 博多



自主臨床研究

口腔癌における動注化学療法によるセンチネルリンパ節への薬剤の移行性と  
その臨床的意義の解明

研究実施計画書

研究責任者 北海道大学病院 耳鼻咽喉科 本間 明宏

作成日

2009年9月14日 計画書案 第1 版作成  
2009年9月26日 計画書案 第1.1版作成  
2009年10月28日 計画書案 第1.2版作成

1. 研究の背景

口腔癌は、早期であっても予後は良好とはいえず、5年生存率はステージIで70-80%、ステージIIで60-70%である。その最大の理由の一つに頸部リンパ節転移がある。臨床的にリンパ節転移を認めないステージI-IIにおいても潜在的リンパ節転移が約20-40%あり、原発巣の治療後に出現するリンパ節転移を早期に発見し、治療することが課題である。

また、当科では口腔癌を含む頭頸部癌に対して超選択的動注療法を1999年より導入している。その方法は、腫瘍の栄養血管に選択的にカテーテルを挿入し、シスプラチンを中和するチオ硫酸ナトリウムを併用することにより、大量のシスプラチンを週一回動注するものである。この治療により、それまでの成績を大きく上回る良好な結果が得られている<sup>1-3</sup>。超選択的動注療法は、原発巣に対する治療であるが、照射を同時併用した症例ではリンパ節転移に対しても高い効果が得られていた<sup>4</sup>。

口腔癌は、手術主体の治療となることが多いが、術前に超選択的動注療法を原発巣に対して行うことにより、リンパ節転移へも効果が得られれば、原発巣のみならずリンパ節転移の制御にもつながり、新たな治療戦略となる可能性がある。

頸部リンパ節ステージングの方法として、センチネルリンパ節生検がある。原発巣からリンパ流が最初に流れ込むリンパ節をセンチネルリンパ節(sentinel lymph node、以下SN)といい、癌の転移は最初にSNにおこり、その後、次のリンパ節へと拡がって行くと考えられている。この概念が成立する腫瘍であれば、通常画像診断で臨床的に領域リンパ節に転移を認めない場合においてもSNにおける微小な転移の有無を調べれば、画像診断では知ることができないが既に転移が起こりつつあるのか否かを知ることが可能となる。乳癌、皮膚悪性腫瘍などでは、すでに一般的に成りつつあるが、口腔癌においても、センチネルリンパ節理論が成り立ち、センチネルリンパ節生検の有用性が確立されている<sup>5,6</sup>。

2. 研究の目的

口腔癌に対して術前にシスプラチンの超選択的動注療法を行い、手術時に原発巣の切除と頸部郭清術を行う。その際にセンチネルリンパ節生検も行い、リンパ節内のプラチナ組織内濃度を測定し、センチネルリンパ節への薬剤の移行性を検討する。

### 3. 対象患者および適格性の基準

(1) 対象患者のうち、(2) 選択基準をすべて満たし、かつ(3) 除外基準のいずれにも該当しない場合を適格とする。

#### (1) 対象患者

北海道大学病院耳鼻咽喉科に通院または入院中の未治療口腔癌患者で、術前にシスプラチンの超選択的動注療法を行い、手術時に原発巣の切除と頸部郭清術を行う患者を対象とする。

#### (2) 選択基準

- ① 同意取得時において年齢が20歳以上の患者
- ② 組織学的に扁平上皮癌と診断されている
- ③ 原発巣に対する根治手術を予定している
- ④ 本研究の参加にあたり十分な説明を受けた後、十分な理解の上、患者本人の自由意思による文書同意が得られた患者

#### (3) 除外基準

- ① 遠隔転移がある
- ② 原発巣切除後に遊離皮弁による再建を予定している
- ③ その他、研究責任者が被験者として不適当と判断した患者

### 4. 研究の方法

#### (1) 研究の種類・デザイン

前向き観察研究（検体による探索的研究）

#### (2) 被験者からの検体の採取とその測定項目

- ① 検体の採取 手術時に摘出したリンパ節
- ② 測定項目 組織内プラチナ濃度、組織学的にリンパ節への転移の有無、動注療法の治療効果を検討する。組織学的にリンパ節への転移の有無については、分子生物学的手法も用いて検討する。

#### (3) 利用する被験者の診療情報

以下の項目について、被験者の診療録から情報を入手し利用する。

- ① 患者基本情報：年齢、性別、身長、体重
- ② 疾患情報：疾患名、癌の進行度分類、手術名、治療内容
- ③ 血液検査結果：一般血、肝機能、腎機能、電解質、血糖値
- ④ 画像検査所見：CT、（超音波検査、MRI、PET-CT）

#### (4) 被験者の研究参加予定期間

各被験者は同意後、超選択的動注療法施行日、放射性薬剤（トレーサー）の投与日（手術前日）、検体採取日（手術日）に参加する。

### 5. 予想される利益および不利益

#### (1) 予想される利益

本研究は日常診療において検体の提供を受ける観察研究であり、被験者に直接の利益は生じない。研究成果により将来の医療の進歩に貢献できる可能性がある。

## (2) 予想される不利益

当科における標準的な治療を行い、その際に採取するリンパ節の提供を受けて行う研究であり、被験者に不利益は生じないものと考えられる。

## 6. 評価項目（エンドポイント）

### (1) 主要評価項目

センチネルリンパ節のプラチナ組織内濃度

### (2) 副次的評価項目

- ① センチネルリンパ節への転移の有無
- ② 転移が確認されたセンチネルリンパ節へのシスプラチンの組織学的効果

## 7. 個々の被験者における中止基準

### (1) 研究中止時の対応

研究責任者または研究分担者（以下、研究担当者）は、次に挙げる理由で個々の被験者について研究継続が不可能と判断した場合には、当該被験者についての研究を中止する。その際は、必要に応じて中止の理由を被験者に説明する。また、中止後の被験者の治療については、被験者の不利益とならないよう、誠意を持って対応する。

### (2) 中止基準

- ① 被験者から研究参加の辞退の申し出や同意の撤回があった場合
- ② 本研究全体が中止された場合
- ③ その他の理由により、研究担当者が研究の中止が適当と判断した場合

## 8. 研究の変更、中止・中断、終了

### (1) 研究の変更

本研究の研究実施計画書や同意説明文書の変更または改訂を行う場合は、あらかじめ北海道大学病院自主臨床研究審査委員会（以下、審査委員会）の承認を必要とする。

### (2) 研究の中止、中断

研究担当者は、以下の事項に該当する場合は、研究実施継続の可否を検討する。

- ① 被験者の組み入れが困難で、予定症例数に達することが極めて困難であると判断されたとき。
- ② 予定症例数または予定期間に達する前に、研究の目的が達成されたとき。
- ③ 審査委員会により、実施計画等の変更の指示があり、これを受入れることが困難と判断されたとき。

研究責任者は、審査委員会により中止の勧告あるいは指示があった場合は、研究を中止する。また、研究の中止または中断を決定した時は、速やかに病院長にその理由とともに文書で報告する。

### (3) 研究の終了

研究の終了時には、研究責任者は速やかに研究終了報告書を病院長に提出する。

## 9. 研究実施期間

承認日～平成23年3月31日（登録締切日：平成23年3月31日）

## 10. 目標症例数とその設定根拠および統計解析方法

### (1) 目標症例数とその設定根拠

10例

【設定根拠】本研究は検体の提供を受けて行う探索的研究であり、上記の研究期間内での実施可能数として設定した。

### (2) 統計解析方法

すべてのセンチネルリンパ節と、数個の非センチネルリンパ節におけるシスプラチンの組織内濃度を比較する。1症例から複数個のリンパ節を摘出するが、小標本のためMann-WhitneyのU検定を用いて比較する。

## 11. 被験者の人権に対する配慮および個人情報の保護の方法

本研究のすべての担当者は、「ヘルシンキ宣言（2008年10月修正）」および「臨床研究に関する倫理指針（平成20年7月31日改正、以下臨床研究倫理指針）」を遵守して実施する。

研究実施に係る試料等を取扱う際は、被験者の個人情報とは無関係の番号を付して管理し、被験者の秘密保護に十分配慮する。試料等を研究事務局等の関連機関に送付する場合はこの番号を使用し、被験者の個人情報が院外に漏れないよう十分配慮する。また、研究の結果を公表する際は、被験者を特定できる情報を含まないようにする。研究の目的以外に、研究で得られた被験者の試料等を使用しない。

## 12. 同意取得方法

研究担当者は、審査委員会で承認の得られた同意説明文書を被験者に渡し、文書および口頭による十分な説明を行い、被験者の自由意思による同意を文書で取得する。

研究担当者は、被験者の同意に影響を及ぼす情報が得られたときや、被験者の同意に影響を及ぼすような実施計画等の変更が行われるときは、速やかに被験者に情報提供し、研究に参加するか否かについて被験者の意思を予め確認するとともに、事前に審査委員会の承認を得て同意説明文書等の改訂を行い、被験者の再同意を得ることとする。

同意説明文書には、以下の内容を含むものとする。

- ① 研究への参加は任意であること、同意しなくても不利益を受けないこと、同意は撤回できること
- ② 研究の意義（背景）、目的、対象、方法、実施期間、予定被験者数
- ③ 研究に参加することにより期待される利益、起こりえる不利益
- ④ 個人情報を含めた試料等の取扱い、保存期間と廃棄方法、研究方法等の閲覧
- ⑤ 研究成果の発表および特許が発生した場合の取扱い
- ⑥ 研究に係る被験者の費用負担、研究資金源と利益相反
- ⑦ 研究の組織体制、研究に関する問い合わせ、苦情等の相談窓口（連絡先）
- ⑧ 被験者に健康被害が発生した場合の対応と補償の有無

## 13. 被験者の健康被害に対する補償

本研究は観察研究であり、日常診療を行いつつ被験者から手術後の遺残検体の提供を受けてそれを利用するものである。したがって、本研究による健康被害は発生しないと考えられることから、特別の補償は行わない。

## 14. 被験者の費用負担

本研究のうち、シスプラチンの組織内濃度測定は厚生労働科学研究費補助金（がん臨床研究

事業)「センチネルリンパ節理論による頭頸部癌微小転移の解明と個別的治療法の開発」で賄う。それ以外は通常の保険診療内で行われるため、研究に参加することによる被験者の費用負担は発生しない。

#### 15. 記録の保存と研究結果の公表

研究責任者は、研究等の実施に係わる重要な文書(申請書類の控え、病院長からの通知文書、各種申請書・報告書の控、同意書、その他データの信頼性を保証するのに必要な書類または記録等)を、研究の中止または終了後5年が経過した日までの間保存し、その後は個人情報に注意して廃棄する。

研究担当者は、本研究の成果を関連学会等において発表することにより公表する。

#### 16. 研究資金および利益相反

本研究は、厚生労働科学研究費補助金(がん臨床研究事業)「センチネルリンパ節理論による頭頸部癌微小転移の解明と個別的治療法の開発」で実施する。また、本研究の研究担当者は、「北海道大学病院における臨床研究に係る利益相反マネジメント内規」の規定に従って、利益相反審査委員会に必要事項を申告し、その審査と承認を得るものとする。

#### 17. 研究実施体制

本研究は以下の体制で実施する。

##### 【研究責任者】

本間 明宏 北海道大学病院耳鼻咽喉科・講師

##### 【シスプラチンの組織内濃度測定施設】

株式会社 ナック

住所：〒115-0042 東京都北区志茂3丁目31番12号

連絡先：TEL 03-3598-5274

担当者：五十嵐 弘一

##### 【本院における実施体制】

###### <研究分担者>

○本間 明宏	北海道大学病院耳鼻咽喉科・講師
折館 伸彦	北海道大学大学院医学研究科 耳鼻咽喉科・頭頸部外科学分野 准教授
鈴木 章之	北海道大学病院耳鼻咽喉科・助教
加納 里志	北海道大学大学院医学研究科 医学教育支援室 教育助教
水町 貴論	北海道大学病院耳鼻咽喉科・助教
原 敏浩	北海道大学病院耳鼻咽喉科・医員
吉田 大介	北海道大学病院放射線科・医員
竹井 俊樹	北海道大学大学院医学研究科 核医学分野・助教
鈴木 清護	北海道大学病院 卒後臨床研修センター 特任講師

(○ 研究責任者)

###### <連絡先>

耳鼻咽喉科	医局	011-706-5958・(内線) 5958
同	病棟	011-706-5814・(内線) 5813, 5814
同	外来	011-716-1161・(内線) 5768, 5769

18. 参考資料・文献リスト

1. 本間明宏, 古田康, 鈴木章之, 浅野剛, 古沢純, 折館伸彦, 畠山博充, 永橋立望, 鈴木恵士郎, 西岡健, 白土博樹, 福田諭: 超選択的動注療法+照射の同時併用療法におけるリンパ節転移への効果 頭頸部癌 33(1) : 39-42, 2007
2. Homma A, Oridate N, Suzuki F, Taki S, Asano T, Yoshida D, Onimaru R, Nishioka T, Shirato H, Fukuda S. Superselective high-dose cisplatin infusion with concomitant radiotherapy in patients with advanced cancer of the nasal cavity and paranasal sinuses: a single institution experience. *Cancer*(in press)
3. Homma A, Furuta Y, Suzuki F, Oridate N, Hatakeyama H, Nagahashi T, Ushikoshi S, Asano T, Nishioka T, Shirato H, Fukuda S. Rapid superselective high-dose cisplatin infusion with concomitant radiotherapy for advanced head and neck cancer. *Head Neck*. 2005 Jan;27(1):65-71.
4. 本間明宏, 古田 康, 鈴木章之, 浅野 剛, 永橋立望, 古沢 純, 畠山博充, 鈴木恵士郎, 西岡健, 白土博樹, 福田 諭: 北海道大学病院における超選択的動注療法+照射の同時併用療法の治療成績, 頭頸部癌 32(1) : 87-92, 2006
5. Matsuzuka T, Kano M, Ogawa H, Miura T, Tada Y, Matsui T, Yokoyama S, Suzuki Y, Suzuki M, Omori K. Sentinel node mapping for node positive oral cancer: potential to predict multiple metastasis. *Laryngoscope*. 2008 Apr;118(4):646-9.
6. Terada A, Hasegawa Y, Goto M, Sato E, Hyodo I, Ogawa T, Nakashima T, Yatabe Y. Sentinel lymph node radiolocalization in clinically negative neck oral cancer. *Head Neck*. 2006 Feb;28(2) :114-20.

分担研究報告書

センチネルリンパ節理論による頭頸部微小転移の解明と個別的治療法の開発に関する研究

研究分担者 塩谷 彰浩 防衛医科大学校耳鼻咽喉科学講座教授

研究要旨

本年度においては、我々が過去に施行した咽喉頭原発の扁平上皮癌で臨床的に頸部リンパ節転移を認めない症例に対してセンチネルリンパ節生検を行った研究に関し、調査を行った。2002年から2004年までの間にセンチネルリンパ節の同定、生検、及び頸部郭清術を施行した声門癌14例、声門上癌2例、下咽頭癌4例を対象例とし、施設内において症例の匿名化を行った。研究班のデータベース登録形式に沿って年齢、性別、既往治療、腫瘍の原発部位、亜部位、TN分類、手術術式、頸部郭清の領域、再建の有無、手術時間、出血量、術後合併症、手術日、退院日、術後治療、病理所見(迅速、永久、免疫染色)、センチネルリンパ節生検の手技、トレーサーの種類、トレーサーの量、注入箇所、注入方法、病理診断法、リンパシンチグラムにおけるセンチネルリンパ節の同定部位と個数、ガンマプローブのカウント、術後治療、再発の有無、再発治療、転帰などの情報をまとめ、データを研究代表者に提出した。

また本班研究において新たに策定されたプロトコルに基づいた口腔癌、及び咽喉頭癌に対するセンチネルリンパ節ナビゲーション頸部郭清術の臨床研究を開始した。

A. 研究目的

治療前に画像診断上明らかに頸部リンパ節転移を認めないと判断された頭頸部癌に対して、放射性同位元素を用いセンチネルリンパ節を同定する。さらに、センチネルリンパ節を同定し得た症例に対して、転移の有無を組織学的に検討し、センチネルリンパ節概念の正診率を検討する。

B. 研究方法

手術前日にアイソトープ管理区域内にて直視下あるいは内視鏡下に腫瘍周囲に3-4箇所アイソトープ(テクネシウムフチン酸)を注入する。注入より1~3時間後にリンパシンチグラフィ(SPECT)を撮影し、センチネルリンパ節の位置、数を確認する。手術は癌原発巣の切除および予防的頸部リンパ節郭清を施行する。術中にガンマプローブをもちいてセンチネルリンパ節を同定し摘出する。センチネルリンパ節については連続切片を作成し微小転移の有無、非センチネルリンパ節においては通常の1切片にて転移の有無を検証する。通常の頭頸部癌診療と同様に5年間は再発や転移の

有無につき経過観察を行う。得られたデータよりセンチネルリンパ節の同定率、センチネルリンパ節概念の正診率を算出する。

(倫理面への配慮)

被験者の秘密は保全されることを被験者に説明し、遵守する。本研究で得られた情報は匿名化し、被験者の名前等の個人情報公表されることが無いように十分注意をする。

C. 研究結果

過去に我々が施行した咽喉頭癌におけるセンチネルリンパ節理論の精度は95%であり、咽喉頭領域においてもセンチネルリンパ節理論が成立することが示唆された。

D. 考察

センチネルリンパ節理論は乳癌、悪性黒色腫をはじめとして近年消化器癌、口腔癌などでも研究されてきている。当科では過去に施行した咽喉頭癌におけるセンチネルリンパ節理論の精度に関し

て調査し、良好な精度を得ることができた。現状では施設間で検査方法、手術療法に相違があるが、検査、治療の標準化、多数の症例集積により将来的にはセンチネルリンパ節ナビゲーション手術により頸部リンパ節郭清の施行に関して最適化が計れると期待される。

#### E. 結論

頭頸部領域においてもセンチネルリンパ節理論が高い精度で成立することが示された。今後は多施設共同研究により施設間のプロトコルの標準化、症例数の集積による大規模調査を行うことが

必要と考えられる。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- ①山下拓、富藤雅之、齋藤康一郎、甲能直幸、塩谷彰浩：がん治療におけるセンチネルリンパ節の基礎的・臨床的知見 頭頸部がんに対するセンチネルリンパ節研究. リンパ学, 32 巻 1 号, P28-32, 2009.

##### 2. 学会発表

なし



分担研究報告書

頭頸部癌におけるセンチネルリンパ節 (SN) 理論による lymphatic chemotherapy の確立に関する研究

研究分担者 横山純吉 順天堂大学医学部耳鼻咽喉科・頭頸科准教授

研究要旨

頭頸部癌の最大の予後因子である転移リンパ節の制御にセンチネルリンパ節(SN)理論に基づきリンパ管を利用した lymphatic chemotherapy を頭頸部癌で確立し、侵襲を与えずに、転移リンパ節に持続的に強力な治療効果を発揮する治療の実用化を目指した基礎研究である。好転移性のハムスターの口腔に扁平上皮癌を作製し頸部リンパ節転移巣を確認後、liposome に配合した化学療法剤を腫瘍内に局所投与し、投与後 1 日、3 日、7 日、14 日にリンパ節を採取し、化学療法剤の濃度を HPLC 法により測定し、治療効果と安全性を判定する。

一方、臨床的には頭頸部進行癌に予後の改善と臓器温存目的に腫瘍局所に大量の抗癌剤の動注療法を施行してきたが、原発巣に投与された抗癌剤が SN 理論によりリンパ管を經由し、頸部リンパ節に移行しリンパ節で治療効果を発揮していることを提唱した。本理論の確定には原発巣に動注した薬剤がリンパ節中の抗がん剤の濃度の測定が必要である。

A. 研究目的

頭頸部癌の最大の予後因子である転移リンパ節の制御にセンチネルリンパ節(SN)理論に基づきリンパ管を利用した lymphatic chemotherapy を頭頸部癌で確立し、侵襲を与えずに、転移リンパ節制御する治療の実用化を目指すこと。

B. 研究方法

好転移性のハムスターの口腔に扁平上皮癌を作製し頸部リンパ節転移巣を確認後、liposome に配合した化学療法剤を腫瘍内に局所投与し、投与後 1 日、3 日、7 日、14 日にリンパ節を採取し、化学療法剤の濃度を HPLC 法により測定し、治療効果と安全性を判定する。

（倫理面への配慮）

実験動物（ハムスター等）は愛護的に苦痛を与えないように取り扱い、実験終了後は速やかに安楽死させる。

C. 研究結果

基礎研究の方はまだ基礎検討中で結果がで

ていない。局所投与方法である動注療法においては 1995 年より実施し、原発巣効果による機能温存だけでなくリンパ節制御効果が得られているため、予後の改善が得られている。

D. 考察

原発巣に投与して局所効果と頸部リンパ節の制御が得られ、予後の改善効果は、SN 理論によるリンパ管経由の効果と考えている。しかし、これを確定するにはリンパ節中に含まれている抗がん剤濃度の検討が必要と考えている。

E. 結論

原発巣に局所投与が SN 理論により頸部リンパ節の制御が得られる最適の Drug Delivery System(DDS)の確立が必要で、更なる研究が必要と考えている。

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

- ①横山純吉: 縦隔リンパ節転移症例に対する超選択的動注療法. 第 110 回日本耳鼻咽喉科学会, 2009, 東京
- ⑤ 横山純吉: 局所進行声門癌に対する浅側頭動脈経由の超選択的動注療法の有用性の検討. 第 22 回日本喉頭科学会, 2010, 下関

分担研究報告書

口腔癌のセンチネルリンパ節（SN）検索の基礎的研究

研究分担者 藤岡 保範 杏林大学医学部病理学教室教授

研究要旨

腫瘍におけるセンチネルリンパ節(SN)転移の検索は、通常の凍結ないしパラフィン切片標本による組織学的および免疫組織化学的検索が基本的な方法であるが、乳癌や大腸癌などでSN転移の検索にOSNA (one step nucleic acid amplification) 法の応用が試されている。口腔癌のSN転移の検索にOSNA法を応用についての基礎的研究を行った。

A. 研究目的

口腔癌は組織学的に殆どが扁平上皮癌であり、そのSN転移の検索にOSNA法を応用する場合には、乳癌や大腸癌などの腺癌とは異ったmRNAマーカー遺伝子が必要と考えられ、扁平上皮癌に最適なmRNAマーカー遺伝子を選択するための基本的検討を行った。

B. 研究方法

2002年から2009年に杏林大学医学部付属病院耳鼻咽喉科で手術された舌癌の症例17例およびそのリンパ節転移2例を検索対象とした。通常の方法で病理検体のホルマリン固定パラフィン切片を作製し、H-E染色、Elastica-Masson染色（静脈侵襲の評価）および免疫組織化学的検索を行

った。

免疫染色に用いた一次抗体は、CKAE1/AE3、CAM5.2、CK19、CK903(34Eβ12)およびp63で、その他にリンパ管侵襲の検索にD2-40を使用した。

(倫理面への配慮)

手術材料は診断、研究に用いられることが同意されており、病理番号のみを用いて連結可能な匿名化を行い、患者の個人情報とは完全に保護された状態で使用した。

C. 研究結果

CKAE1/AE3、CK903およびp63は何れも全例で同程度の明瞭な陽性を示した。CKAE1/AE3とCK903は腫瘍細胞の細胞質および細胞膜に陽性を示し、核発現を示すp63は分化度の低い腫瘍細胞が優位に陽性であった。CAM5.2およびCK19はごく少数の腫瘍細胞に陽性を示す症例が半数程度みられた。

D2-40はリンパ管内皮の他に非腫瘍性粘膜上皮（重層扁平上皮）の基底側の細胞と癌巣の辺縁部の低分化な腫瘍細胞の細胞膜に陽性像を認めた。

D. 考察

口腔癌は組織学的にその殆どが扁平上皮癌であり、免疫組織化学的なマーカーとしてCKAE1/AE3およびCK903、p63が最適であることが確認された。乳癌および大腸癌の様な腺癌でのOSNA法によるSN転移の検索ではCK19のmRNAをマーカー遺伝子として用いられているが、口腔癌では殆どCK19陽性像がみられないので、SN転移の検索にOSNA法を用いる場合には乳癌や大腸癌とは異なるCKAE1/AE3、CK903およびp63のmRNAをマーカーとする必要があることが確認された。

また、癌細胞のリンパ管侵襲の評価にはD2-40による免疫染色が有用であるが、扁平上皮癌の癌細胞も陽性となるので、その点を考慮して判断することが重要であることが明らかとなった。

#### E. 結論

口腔癌の免疫組織化学的マーカーとしてCKAE1/AE3、CK903 および p63 が有用であり、CK19 はごく少数の腫瘍細胞が陽性を示す例が半数程度であるので、SN 転移の検索に OSNA 法を応用する場合には、CKAE1/AE3、CK903 および p63 の mRNA をマーカー遺伝子とすることが必要である。

#### G. 研究発表

1. 論文発表  
なし
2. 学会発表  
なし