

	<p>(2)病理組織検査（術迅速組織検査および永久標本確定検査）</p> <p>迅速組織診断および永久標本を H&E 染色に付し、病理組織顕微鏡検査を行い、転移陽性、陰性を判定する。</p> <p>① 陽性：「マクロ転移」「ミクロ転移」が観察された場合</p> <p>③ 陰性：「ITC」のみが観察された場合、または、癌細胞が全く観察されなかった場合</p>
研究課題と評価方法	<p>試験法によるリンパ節転移判定の性能の確認と臨床的意義の検討</p> <p>エンドポイント</p> <p>① 病理組織診断転移検出能と OSNA 法診断検出能に関する一致率</p> <p>② CK19 マーカーのカットオフ値</p>
目標症例数	395 リンパ節 (131 例)
研究実施期間	2010 年 12 月 1 日～2012 年 11 月 30 日
研究を実施する医療機関	1. 杏林大学 2. 福島医科大学 3. 愛知県がんセンター 4. 群馬大学 5. 防衛医科大学校

略号および用語の定義一覧

1) 略号

CK19	Cytokeratin 19
mRNA	Messenger Ribonucleic Acid
DNA	Deoxyribonucleic Acid
H&E	Hematoxylin-Eosin
RT-LAMP	Reverse-Transcription Loop-Mediated Isothermal Amplification
ND	Not Detected
TNM	Tumor Node Metastasis
OSNA	One-Step Nucleic Acid Amplification
UICC	International Union Against Cancer

2) 用語の定義一覧

用語	説明
RD-100 <i>i</i>	サンプル中の標的遺伝子を増幅し、検出する遺伝子増幅検出装置
OSNA 法	被検リンパ節の可溶化から遺伝子増幅反応までを1段階で行う方法。遺伝子増幅原理として、RT-LAMP法を利用している。
センチネルリンパ節	腫瘍周囲のリンパ流を最初に受けるリンパ節。リンパ節転移は、まずセンチネルリンパ節に生じると考えられている。
病理組織検査	乳癌センチネルリンパ節の最大断面から病理組織検査用の組織切片を作製、H&E染色し、顕微鏡検査により転移陽性・陰性を判定する方法。

1. はじめに

1.1 頭頸部センチネルリンパ節生検の現状

現在、頭頸部癌に対する治療法は主に画像等による臨床診断（進行病期）と病理組織診断により決定されている。治療上、頸部リンパ節転移の制御は極めて重要である。しかしながら、画像や生検組織の病理組織学的所見より頸部リンパ節の微小転移を正確に診断することは極めて困難である。そこで、われわれは、色素法と RI 法によるセンチネルリンパ節微小転移診断を実施し、その有用性を明らかにしてきた。しかしながら、迅速病理組織診断および準連続切片作製は術中応用が可能なレベルにまで達してきたが、従来法による摘出リンパ節からの遺伝子診断法は、診断に約 2~3 時間を要することが最大の臨床応用における障壁となっているのが現状である。

近年、栄研化学が考案した Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP 法) は、標的遺伝子の 6 つの領域に対して 4 種類のプライマーを設定し、鎖置換反応を利用して一定温度で反応させることにより、サンプル、プライマー、鎖置換型 DNA 合成酵素、基質等を混合し、一定温度 (65°C 付近) で保温することによって反応が進み、検出までの工程を 1 ステップで行うことができ、増幅効率が高いことから DNA を 15 分~1 時間で $10^9 \sim 10^{10}$ 倍に増幅することができ、また、極めて高い特異性から増幅産物の有無で目的とする標的遺伝子配列の有無を判定することができる特徴を有している。この LAMP 法を応用した遺伝子抽出から増幅、検出までを約 20 分で終える One Step Nucleic acid Amplification (OSNA 法) は、遺伝子診断に要する時間がリンパ節摘出より 30 分以内となっており、乳癌のセンチネルリンパ節微小転移診断に既に臨床診断に適用されている。

1.2 分子生物学的手法を用いた新しいリンパ節転移検査法 OSNA 法

新しいリンパ節転移検査法である OSNA (One-Step Nucleic Acid Amplification) 法は、分子生物学的手法により、リンパ節転移を迅速、正確、かつ簡便に診断することを可能にした画期的かつ革新的な方法である。

OSNA 法は、図 2 に示すとおり、リンパ節の可溶化およびマーカー遺伝子 (CK19 mRNA) の増幅という二つの工程から成っている。検体からの RNA の抽出・精製の工程を経ずに直接遺伝子増幅を行い、また、遺伝子増幅原理として RT-LAMP を用いて迅速に遺伝子増幅を行うため、術中にリンパ節転移を判定することのできる迅速性を有している。

OSNA 法のもう一つの特徴は、リンパ節全体を検索して転移陽性、陰性の判定を行うことである。これにより、リンパ節の一部 (剖面) しか転移を検索、観察できないという現行の病理組織検査の欠点が解消される。

さらに、OSNA 法は、専用の装置 (RD-100 *i*) を用いて簡便な操作でリンパ節転移検査を行うことができる。現行のリンパ節転移検査では病理医の熟練度や主観にも左右されるが、OSNA 法を導入することにより、簡便かつ客観的にリンパ節転移検査を行うことができ、リンパ節転移検査の均てん化に貢献できると期待されている。

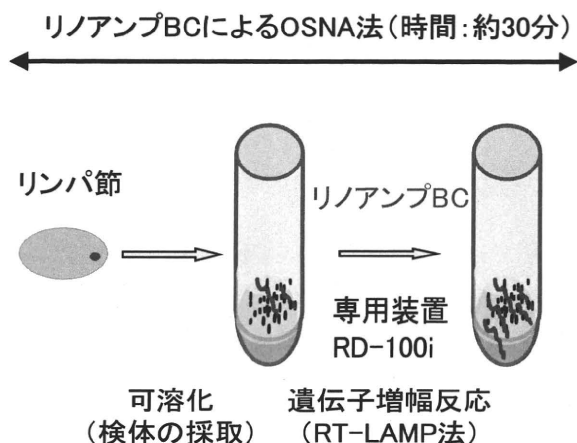


図2 OSNA法の概要

これまでに行われた臨床性能試験において、乳癌患者から摘出されたリンパ節を用いて、リンパ節の半分を術中に行われるOSNA法に、残りの半分を術後に行われる永久標本を用いた3割面病理組織検査に供して、両者の判定を比較することにより、以下のことが示された。

- 1) OSNA法は、3割面病理組織検査と同等の判定精度(一致率93.1%)
- 2) OSNA法により「++」と判定された場合、2mm以上の転移巣がある可能性が高い(マクロ転移的中率96.4%)
- 3) 転移陰性リンパ節を陽性と判定する確率は非常に低い(特異度97.1%)
- 4) 稀にCK19タンパクを発現していない、あるいは低発現の症例があり、これを原因として偽陰性を生じることがある(転移陽性率を20%と仮定した場合の偽陰性率0.4%)

この臨床性能試験の結果により、OSNA法の臨床的な有用性が示され、乳癌リンパ節におけるOSNA法に用いる試薬リノアンプBCが、2008年6月に体外診断用医薬品として製造販売承認を受け(承認番号22000AMX01627000)、OSNA法を乳癌リンパ節転移検査に用いることが可能となった。

本研究においては、OSNA法の普及に向けて、OSNA法の実運用モデルを設定し、その臨床上の有用性を明らかにすることを目的とした。

2. OSNA法の原理および使用する試薬、機器等

2.1 OSNA法の原理

OSNA法は、被検リンパ節の可溶化から遺伝子増幅反応までを1段階で行うリンパ節転移検査法である。遺伝子増幅原理として、RT-LAMP法を利用している。

被検リンパ節をグリシン緩衝液(リノアグ)にて可溶化して採取したリンパ節可溶化液と、6種類のCK19プライマー、4種類のデオキシヌクレオチド三リン酸、逆転写酵素、DNA合成酵素及び硫酸マグネシウムとを混合し、65℃の一定温度下で反応させる。リンパ節可溶化液中のCK19 mRNAをもとに、逆転写酵素によりcDNAが合成される。このcDNAをもとにDNA合成酵素により増幅反応が進行する。

DNA増幅の検出は、反応副産物であるピロリン酸マグネシウム(白色沈殿物質)による濁度が所定の閾値を越えるまでの時間を測定することにより行う。CK19 mRNA濃度と反応開始から濁度が所定の閾値を越えるまでの時間とは直線関係が成立することから、既知のCK19 mRNA濃度より検量線を作成し、この検量線をもとに、測定試料中のCK19 mRNA濃度を算出するこ

とができる。この算出された CK19 mRNA 濃度をあらかじめ設定したカットオフ値と比較することにより、リンパ節転移の陽性又は陰性を判定する。

2.2 使用する試薬・機器等

2.2.1 リノアンプBC（詳細は添付文書を参照すること）

シスメックス社製

(1) 一般名

サイトケラチン19mRNAキット

(2) 承認番号

22000AMX01627000

(3) 使用目的

摘出された乳癌所属リンパ節中の CK19 mRNA の検出（乳癌におけるリンパ節転移診断の補助に用いる）

(4) キットの構成

- ・CK19プライマー溶液
- ・酵素溶液
- ・キャリブレーション レベル1
- ・キャリブレーション レベル2
- ・キャリブレーション レベル3
- ・CK19陽性コントロール
- ・CK19陰性コントロール

(5) 貯蔵方法、有効期間

貯蔵方法 -20℃

有効期間 12ヶ月間

2.2.2 リノアーク

シスメックス社製

(1) 使用目的

遺伝子増幅検出装置 RD-100*i* 用測定サンプルの調製

(2) 開封後の貯蔵方法、有効期間

貯蔵方法 2～8℃で遮光保存

有効期間 1ヶ月以内

2.2.3 遺伝子増幅検出装置 RD-100*i*

シスメックス社製

(1) 使用目的

標的遺伝子を LAMP 法で増幅させ、増幅に伴い発生する溶液の濁度を測定する汎用分光光度分析装置

(2) 測定項目、演算項目

測定項目 mRNA 定性判定値

演算項目 mRNA 立ち上がり時間、mRNA 濃度

3. 研究の方法

(2) 試験法

“試験法に用いるリンパ節ブロック”にリノアグ 4mL を添加し、ホモジナイザーを用いて可溶化する。その後、室温にて遠心し、上清をリンパ節可溶化液とする。リンパ節可溶化液を用いて測定サンプル、希釈サンプルを調製し、リノアンプ B C に付し、専用装置 RD-100 i を用いて CK19 mRNA の遺伝子増幅および検出を行う。具体的な手順および操作方法は下記の通りである。

- ① リンパ節可溶化液をリノアグにて 10 倍希釈し、測定サンプルとする。また、測定サンプルの一部をさらにリノアグにて 10 倍希釈し、希釈サンプルとする。測定サンプル、希釈サンプル、CK19 陽性コントロール、CK19 陰性コントロール、キャリブレータ レベル 1、キャリブレータ レベル 2 およびキャリブレータ レベル 3 を試料とする。
- ② CK19 プライマー溶液 20 μ L、酵素溶液 3 μ L および試料 2 μ L を検出セルに分注し、混合した後、65°C まで昇温し、同温度にて 16 分間反応させる。
- ③ 検出セル中の反応液の濁度を波長 465nm の透過光量にてモニターする。
- ④ 反応開始から濁度が所定の閾値を越えるまでの時間 (分) を計測し、これを立ち上がり時間とする。
- ⑤ キャリブレータ レベル 1、キャリブレータ レベル 2 およびキャリブレータ レベル 3 を試料としたときの立ち上がり時間および既知の CK19 mRNA 濃度より検量線を作成し、測定サンプルおよび希釈サンプルの CK19 mRNA 濃度を算出し、リノアンプ B C 添付文書に記載された判定基準に従い、転移の陽性、陰性を判定する。
- ⑥ 測定に際し、取得した精度管理データが規格の範囲内であることを確認し、試験法の判定を固定する。なお、精度管理データが規格の範囲外である場合、操作手順が不適切であったことが判明した場合は、該当するリンパ節は解析の対象としない。
- ⑦ 全てのセンチネルリンパ節についての検査終了後に、試験法陽性症例、陰性症例の判定を行う。

(3) 病理組織検査法

- ① “病理組織検査用ブロック”をホルマリン固定し、パラフィン包埋する
- ② 病理組織標本 (H&E、CK19、CKAE1/3 (センチネルリンパ節の場合) 染色) を作製する。
- ③ 病理組織標本について、実施施設の病理医が病理組織顕微鏡検査を実施し、転移陽性、陰性を判定する。なお、病理組織標本において、リンパ節組織が確認されない場合は、解析の対象としない。
- ④ 全てのリンパ節についての検査終了後に、病理組織検査陽性症例、陰性症例の判定を行う。

4. 検査数の設定及び設定根拠

乳がんでの結果より、頭頸部がんで OSNA 法は、感度 95%、特異度 93% が期待される。感度、特異度の信頼区間の幅が $\pm 10\%$ となる為に必要なリンパ節の数は感度では病理検査陽性リンパ節 19 個、特異度では病理検査陰性リンパ節 25 個である。したがって、10% の不適合を考慮して予定リンパ節の数は感度では病理検査陽性リンパ節 21 個、特異度では病理検査陰性リンパ節 28 個とした。

5. エンドポイント

- ① 病理組織診断転移検出能と OSNA 法診断検出能に関する一致率
- ② CK19 マーカーのカットオフ値

6. 倫理

6.1 プライバシーの保護

調査票の作成、被験者のデータの取り扱い等において、被験者は被験者識別番号(症例番号)で特定し、被験者のプライバシーの保護について配慮する。なお、作成された調査票は本研究の目的以外には使用しない。

6.2 被験者の同意取得

本研究への参加について、被験者本人の文書による同意取得を行う。

6.2.1 同意の取得手順

責任医師および代理の担当医師は、本研究の実施に先立ち、予め実施医療機関の臨床研究審査委員会の承認が得られた説明文書に基づいて、被験者に対して本研究の内容等を十分に説明する。被験者には質問をする機会および本研究に参加するか否かを判断するのに十分な時間を与え、本研究の内容をよく理解したことを確認した上で、研究開始前に本研究への参加について被験者本人の自由意志による同意を文書により得る。

6.2.2 説明内容

被験者への説明文書には以下の内容を含む。

- 1) 研究の目的
- 2) 研究の方法
- 3) 予期される利益および不利益
- 4) 同意しない場合でも不利益を受けないこと
- 5) 同意後もしくは経過観察開始後でも随時撤回できること
- 6) 本研究における被験者の費用負担について
- 7) 被験者の人権(秘密保持)について、被験者個人の情報が外部へ漏出しないこと、および不利益を受けないこと
- 8) 本研究の結果等が、学会や論文等で発表される可能性があること、および、その際に個人識別情報とはリンクされないこと
- 9) 研究責任医師の氏名、職名および連絡先

6.3 研究実施計画書の審査

研究実施に先立ち、研究実施計画書、調査票、被験者への説明文書および同意文書ならびにその他の説明文書の記載内容について、各実施医療機関の臨床研究審査委員会において、その倫理的、科学的妥当性について十分審議を行い、承認された後に研究を実施する。

6.4 患者の保護

本研究は、「ヘルシンキ宣言」を遵守して実施する。

6.5 研究実施計画書の変更等

6.5.1 研究実施計画書の変更

研究実施計画書の変更を余儀なくされた場合、研究責任医師はその変更内容を文書にて実施医療機関の長に報告する。

6.5.2 研究実施計画書からの逸脱

研究責任医師は、実施中の研究が研究実施計画書から逸脱した場合、文書により実施医療機関の長にその内容を報告する。

6.5.3 研究中止の報告

研究の途中で研究全体を中止せざるを得なくなった場合、責任医師は、速やかに中止理由を添付して所属する実施医療機関の長に報告する。

7. 公表に関する取り決め

本研究実施計画書に含まれる情報は、被験者から同意を得る場合を除き、これらの情報を第三者に開示することはできない。また、本研究の結果の一部または全部を学会、雑誌等外部に公表する場合には、OSNA 法研究会で決定され従う。

資料 1 OSNA 法説明文書

「分子生物学的手法による頭頸部癌センチネルリンパ節転移診断の臨床的意義の検討」 に関する説明文書

この説明文書は、「分子生物学的手法による頭頸部癌センチネルリンパ節転移診断の臨床的意義の検討」に関する臨床研究についてご説明するためのものです。

臨床研究へご参加いただけるかどうかにつきましては、臨床研究責任医師または担当医師からの説明を受け、十分にご理解・ご納得されたうえで、患者さまご自身の意思によりご判断ください。

もし参加にご同意いただけない場合でも、なんら不利益を受けることはありません。また、参加に同意された後でも、いつでも自由に同意を取り下げることができます。

ご質問やその他ご不明な点がございましたら、担当の医師にご遠慮なくお尋ねください。

《臨床研究に関する主な説明内容》

1. 本臨床研究では、頭頸部所属リンパ節へのがん転移診断において分子科学的手法（以下 OSNA 法）の応用とその有用性について評価することを研究目的としています。
2. 頸部郭清術（頸部のリンパ節を摘出する手術）を受けられた患者さまより摘出されたリンパ節を用いて、OSNA 法によりがん転移の有無について検査を行います。
3. この新しい検査法である OSNA 法は、体外診断用医薬品として製造承認を取得した試薬と専用の解析装置により、既に乳癌所属リンパ節のがん転移検査において厚生労働省より保険適用を受け、国内の診療施設にて普及が進んでいます。
4. 患者さまがこの臨床研究にご参加していただく事により、通常の診療行為における危険性や不利益は一切発生しません。

1) 本臨床研究の目的

これまで、リンパ節へのがん転移の有無は、手術で取り出された摘出リンパ節に試薬を用いて染色を施し、顕微鏡下で観察することによって判断が行われてきました。

このたび、リンパ節に含まれるがん細胞に関連する遺伝子の有無を短時間かつ正確に検査する新しい分子学的手法（以下 OSNA 法）に用いる試薬が、厚生労働省により体外診断用医薬品としての製造承認を取得し、乳癌所属リンパ節のがん転移検査に用いることが可能となりました。

この臨床研究では、この新しい OSNA 法を用いた頭頸部所属リンパ節の転移検査の結果と、現在一般的に行われている従来法（以下 病理組織顕微鏡検査）の結果とを比較して、OSNA 法が、病理組織顕微鏡検査と比較してより正確かつ迅速に検査結果を得ることを確認します。

なお、この研究は、あなたご自身の遺伝子情報等を解析するものではありません。

本研究に関しては、当院の倫理審査委員会で審査され、承認を受けています。

2) 本臨床研究の方法

本臨床研究では、摘出された頭頸部所属リンパ節の半分を病理組織顕微鏡検査に用い、残り半分のリンパ節をホモジナイズ(リンパ節を破砕して可溶化する作業のこと)し、その溶液からがんの特異的な遺伝子(名称: サイトケラチン 19) を取り出して OSNA 法にて検査を行い、がんリンパ節転移の有無について病理組織顕微鏡検査と OSNA 法の結果を比較検討します。

この比較検討結果により、頭頸部所属リンパ節のがん転移検索における OSNA 法の有用性を確認します。

3) 本臨床研究によって予期される利益および不利益

患者さまの治療方針は、本臨床研究への参加・不参加、OSNA 法による検査結果に関わらず従来通り担当医師によって決められるため、治療の全般について患者さまに有害な事象が生じることは一切ありません。

但し、通常は摘出リンパ節の一部だけを用いて検査を行い、残った大部分のリンパ節を半永久的に保存し、病院や医師の判断により手術後に再確認のため追加の検査に用いる場合がありますが、OSNA 法では摘出したリンパ節を破砕して可溶化した試料を用いるため、残るリンパ節の量が通常と比較して少なくなることにより、追加の検査に十分な量のリンパ節が保存・確保できない場合があります。

4) 本研究に伴う補償について

この試験の参加中または終了後に、試験に参加したことが原因で、予測できなかった重い副作用などの健康被害が生じる可能性があります。その場合は、通常の診療における健康被害に対する治療と同様に適切に対処いたします。本試験では、お見舞い金や各種手当など、健康被害に対する特別な経済的な補償は準備していません。

5) 人権保護(秘密保持)

本臨床研究に参加された場合、その治療履歴や検査、診断結果は研究目的以外には使用しませんが、研究成果について関連する学会や研究会などにおいて発表を行う場合があります。

但し、いかなる場合においても、お名前を含め患者さまの個人情報公表されることは一切ありません。

6) 本臨床研究への参加同意の有無および撤回について

本臨床研究へ不参加とご判断された場合でも、不利益を被ることは一切ありません。本臨床研究への参加・不参加に関わらず、検査方法や治療方法は通常通り実施されます。

また、本臨床研究への参加に同意いただいた後でも、または、既に検査を実施した後でも、患者さまのご意思によりいつでも参加を取り下げることができます。参加を取り下げた場合には、その時点より患者さまの治療履歴や検査結果は本臨床研究の目的に一切使用いたしません。

参加を途中で取りやめられた場合でも、不利益を受けることはありません。

7) 質問の自由

本臨床研究の実施中、何かご不明な点などがありましたら、いつでもご遠慮なく担当医師または下記の責任医師へご相談ください。

8) 資金源と利益相反について

本研究は厚生労働科学研究費補助金がん臨床研究事業による補助金を資金源としております。従いまして資金提供による利害関係は生じることはなく、研究者の関連組織との関わりもありません。さらに、愛知県がんセンター利益相反審査委員会において、外部との経済的な利益関係等によって公正かつ適正な判断が損なわれるおそれがない旨、承認されています。

愛知県がんセンター中央病院 頭頸部外科部長
長谷川 泰久

問い合わせ： 愛知県がんセンター中央病院 頭頸部外科
名古屋市千種区鹿子殿1番1号
Tel(代表) 052-762-6111

資料1 OSNA 法同意書

[様式5]

同意書

平成 年 月 日

愛知県がんセンター総長 殿

(研究課題名)

分子生物学的手法による頭頸部癌センチネルリンパ節転移診断の臨床的意義の検討

上記研究の実施に当たり、 から説明文書を用いて説明を受け、以下の項目について十分理解しましたのでその実施に同意します。

説明を受け理解した項目 (□の中に自分で✓を付けてください。)

- 頭頸部癌におけるリンパ節転移検査
- 本研究の目的および方法
- 予測される利益および不利益
- 参加への同意拒否または同意撤回
- 本研究に伴う補償
- 人権保護(秘密保持)
- 質問の自由
- 資金源と利益相反について

平成 年 月 日
本人の氏名 署名 _____

住所 _____

説明年月日 平成 年 月 日
説明者の所属・職名 _____
説明者の氏名 署名 _____

資料2 ICG 研究計画書

平成 22 年度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
(H21-がん臨床-一般-016)

インドシアニンググリーン蛍光法と放射線同位元素法を用いた
口腔咽喉頭癌センチネルリンパ節生検術の実行可能性の検討

研究実施計画書 ver1.3

研究代表者：愛知県がんセンター中央病院 頭頸部外科 長谷川泰久
愛知県名古屋市千種区鹿子殿1番1号
TEL：052-762-6111
FAX：052-764-2944
E-mail:hasegawa@aichi-cc.jp

研究事務局：愛知県がんセンター中央病院 頭頸部外科
愛知県名古屋市千種区鹿子殿1番1号
TEL：052-762-6111
FAX：052-764-2944
E-mail:hnsurg@aichi-cc.jp

2011年1月9日 第1.0版作成
2011年1月23日 第1.1版作成
2011年2月18日 第1.2版作成
2011年3月6日 第1.3版作成

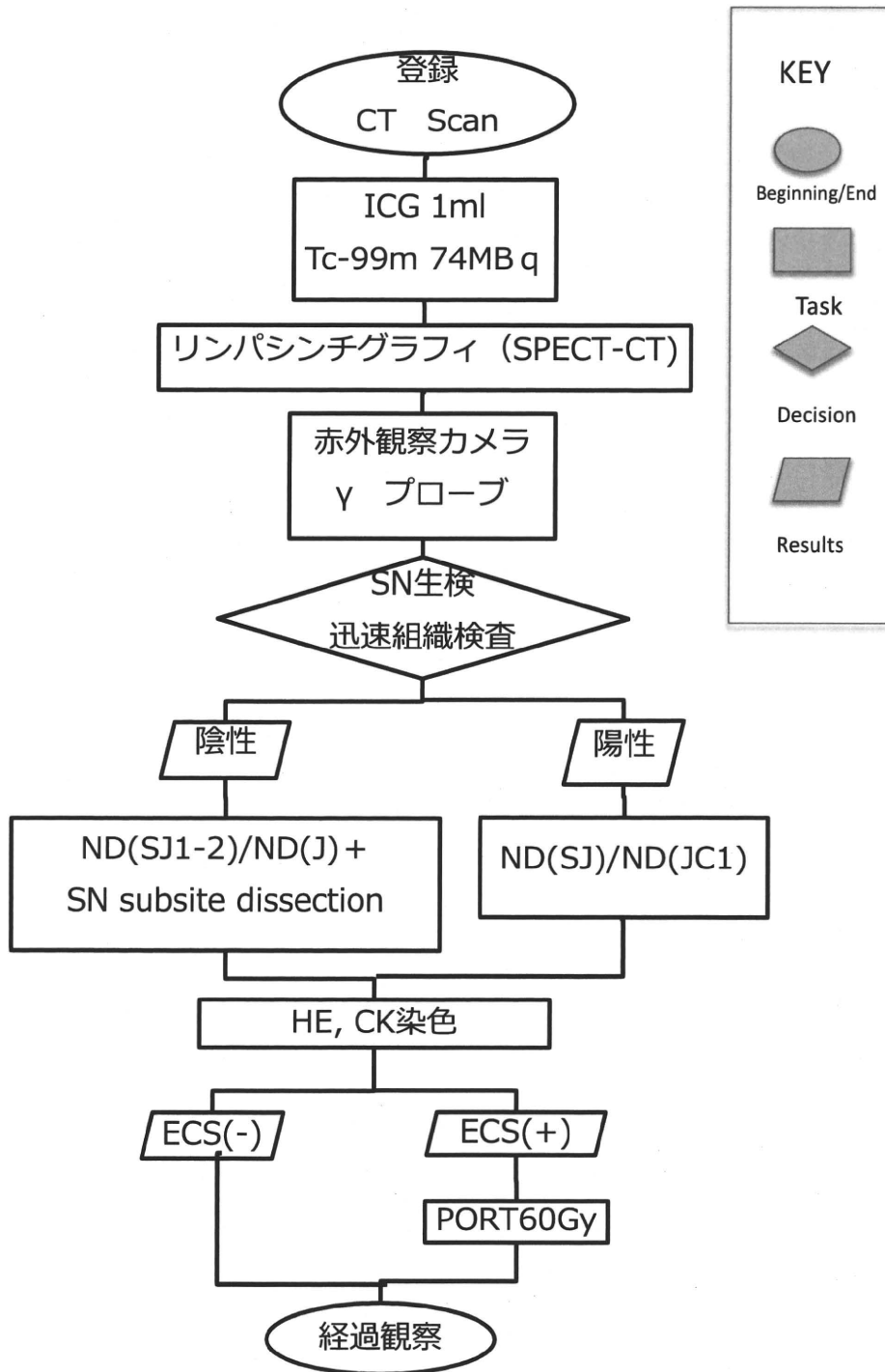
目次

0	研究の概要	- 35 -
0.0	シェーマ	- 35 -
0.1	目的	- 36 -
0.2	対象	- 36 -
0.3	適格基準	- 36 -
0.4	実施計画	- 36 -
0.5	予定登録数と研究期間	- 36 -
0.6	問い合わせ先	- 36 -
1.	目的	- 37 -
2.	背景	- 37 -
3.	試験計画の根拠	- 37 -
3.1.	頭頸部癌に対する本邦における feasibility study	- 37 -
3.2.	咽喉頭癌における SN 生検法と非 RI 法の必要性	- 38 -
3.3.	ICG 蛍光法	- 38 -
3.4.	SN 生検法の医療経済的効果[13]	- 38 -
3.5.	多断面迅速凍結病理診断	- 39 -
3.6.	選択的（予防的）頸部郭清術	- 39 -
4.	試験のデザイン	- 39 -
4.1.	本試験の位置付け	- 39 -
4.2.	SN ナビゲーション領域頸部郭清術	- 39 -
4.3.	エンドポイントの設定根拠	- 40 -
5.	診断基準と用語の定義	- 40 -
5.1.	UICC TNM 分類	- 40 -
5.2.	リンパ節領域の定義と名称（JNDSG 分類）	- 41 -
5.3.	NO 診断基準	- 43 -
5.4.	用語の定義	- 44 -
6.	対象症例	- 44 -
6.1.	適格基準	- 44 -
6.2.	除外基準	- 44 -
7.	登録	- 44 -
7.1.	登録の手順	- 44 -
8.	実施計画	- 45 -
8.1.	SN 同定および生検	- 45 -
8.2.	頸部郭清術	- 46 -
8.3.	SN および郭清組織における病理組織学的検索	- 47 -
9.	有害事象の評価	- 49 -
9.1.	薬剤情報と予想される有害事象	- 49 -
9.2.	有害事象の定義と評価	- 50 -
10.	観察および評価項目	- 51 -
10.1.	登録前の観察・評価項目	- 51 -
10.2.	術前・術後の観察・評価項目	- 51 -
10.3.	経過観察	- 52 -
11.	有害事象の報告	- 52 -

11.1.	報告義務のある有害事象	- 52 -
11.2.	報告手順	- 52 -
11.3.	研究代表者/試験事務局の責務	- 53 -
11.4.	効果安全性評価委員会での検討	- 53 -
12.	目標症例数と研究期間	- 53 -
13.	エンドポイントの定義	- 53 -
13.1.	主要エンドポイント	- 53 -
14.	統計学的考察	- 53 -
15.	効果安全性評価委員会	- 53 -
16.	症例報告書 (Case Report Form:CRF)	- 54 -
16.1.	CRF の種類と提出期限	- 54 -
16.2.	CRF の送付方法	- 54 -
16.3.	CRF の修正	- 54 -
17.	倫理的事項	- 54 -
17.1.	ヘルシンキ宣言及び臨床研究に関する倫理指針の遵守	- 54 -
17.2.	被験者の同意	- 54 -
17.3.	個人情報の保護	- 56 -
18.	プロトコル倫理審査委員会の承認	- 56 -
19.	プロトコルの変更	- 56 -
19.1.	プロトコルの改訂	- 56 -
19.2.	プロトコルの内容変更について	- 56 -
20.	試験の中止・中断・終了	- 57 -
20.1.	試験の中止・中断	- 57 -
20.2.	試験の終了	- 57 -
21.	記録の保存	- 57 -
21.1.	倫理審査委員会	- 57 -
21.2.	医療機関	- 58 -
21.3.	試験責任医師	- 58 -
21.4.	試験事務局	- 58 -
22.	研究組織	- 58 -
22.1.	研究代表者	- 58 -
22.2.	研究者分担者	- 58 -
22.3.	試験事務局	- 58 -
23.	成果の公表	- 59 -
24.	文献	- 59 -

0 研究の概要
0.0 シェーマ

ICG実行可能性試験シェーマ



0.1 目的

インドシアニンググリーン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れば、従来はトレーサーに放射線同位元素を使用していたため、医療従事者および被験者の被曝、施設の制限、手続きの煩雑などが解消され、どの施設でも行うことが可能となり、医療のきんてん化に役立つことが期待される。また低コストのため医療費の削減にも寄与できる。臨床的にリンパ節転移を認めない口腔咽喉頭癌症例について ICG を用いた SN 同定および生検術の有用性を検討する。

0.2 対象

口腔咽喉頭扁平上皮癌

0.3 適格基準

- 1) リンパ節転移を認めない口腔癌 lateT2～T3 症例、中下咽頭および声門上癌 T1～T3 症例、但し明らかな上皮内癌は除く
- 2) 前治療のない初回手術治療例
- 3) 同意取得時の年齢が 18 歳以上の症例
- 4) 本人より文書による同意が得られている症例

0.4 実施計画

lateT2～T3N0 口腔癌と T1～T3N0 咽喉頭癌を対象に、インドシアニンググリーン蛍光法と RI 法によるセンチネルリンパ節生検術を行う。その結果に従い、原則的頸部郭清範囲に加え、センチネルリンパ節を認めた亜区域の郭清を行う。インドシアニンググリーン蛍光法によるセンチネルリンパ節同定を検討する。

0.5 予定登録数と研究期間

目標症例数：20 例、登録期間：2 年間(2011 年～2013 年)、追跡期間：2 年間

0.6 問い合わせ先

愛知県がんセンター頭頸部外科 (代表：長谷川泰久)
名古屋市千種区鹿子殿 1 番 1 号

1. 目的

頭頸部癌において、センチネルリンパ節理論によるリンパ節微小転移機構の解明と個別的低侵襲治療法の開発を目指す。センチネルリンパ節生検術の概念に基づく診断法は、転移する最も可能性の高いリンパ節を直接同定し、微小段階で治療することを可能にし、予後不良な後発転移再発を防ぐことができる。

これまでの SN 生検術には放射線同位元素(以下 RI)を必要とした。

インドシアニン・グリーン(以下 ICG)の蛍光特性を利用して頭頸部領域の SN を同定できれば、従来はトレーサーに RI を使用していたため、医療従事者および被験者の被爆、施設の制限、手続きの煩雑さなどが解消され、どの施設でも行うことが可能となり、医療のきんてん化に役立つことが期待される。また低コストのため医療費の削減にも寄与できる。

臨床的にリンパ節転移を認めない口腔咽喉頭癌症例について ICG を用いた SN 同定および生検術の有用性を検討する。

2. 背景

臨床的にリンパ節転移を認めない口腔癌においても潜在的リンパ節転移が約 20~30%あるといわれている。従来、T1, T2 口腔癌においては、原発部位のみ切除し頸部リンパ節については経過観察をする wait and see と、初回手術時に選択的頸部郭清をする方法がなされ、いずれにおいてもその benefit についての報告がなされてきた。しかしながら、経過観察中に見出されたリンパ節転移が既に進行した状態である症例を時に経験することや、選択的頸部郭清施行群においては約 7 割の pN0 が存在することから、初回治療時の頸部リンパ節ステージングの重要性が再認識され、従来の画像診断を超える精度の高い新たなステージング法の開発が望まれているのが現状である。

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(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、従来の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。

3. 試験計画の根拠

3.1. 頭頸部癌に対する本邦における feasibility study

2001 年より頭頸部癌微小転移研究会で SN 生検法が検討された。防衛医科大学[1-2]、杏林大学[3]、福島医科大学[4]、群馬大学[5]で feasibility study が行われ、口腔咽喉頭癌で SN 理論が成立することが示唆され、診断手技が研究された。

愛知県がんセンター頭頸部外科では、リンパシンチを併用したγプローブによる検出で放射線活性の高い 3 つの SN が重要であり、それらリンパ節の病理組織診断により頸部の状態が反映されうると報告した[6]。99mTC フチン酸をトレーサーとした術中γプローブのカウントと同定された頸部リンパ節のレベル、ならびにバックアップ頸部郭清術による郭清組織内リンパ節転移を行った研究で、SN 転移 6 個中 4 個が微小転移であったとして確実な術中診断の必要性が示唆された。さらに術中 SN 生検術の診断にもとづく頸部郭清術適応決定の臨床治験においては、微小転移の診断には 2mm スライスによる多断面凍結迅速診断の正

診性が高く、SN 生検術による術中病理組織診断の有効性を示し、リンパ節の検出には SPECT と CT の併用が有効であることも示した。

さらに口腔癌に対して SN 生検法を用いて、頸部郭清の適応決定について研究を行った[7]。SN 生検法を行い、頸部郭清の適応を SN の術中迅速診断で決定した臨床的に T1-2N0 の口腔癌 45 例を対象とした。臨床的偽陰性率は 7.9%であった。SN 生検法を用いた頸部郭清適応の決定の妥当性が示唆された。

3.2. 咽喉頭癌における SN 生検法と非 RI 法の必要性

過去の研究において咽喉頭領域においても頸部外切開を必要とする症例においてセンチネルリンパ節概念が成立することを報告してきた。頸部外切開を必要とする症例においても一側の頸部郭清とするか、両側の頸部郭清とするかの判断にセンチネルリンパ節の同定は有用であり、また通常の頸部郭清範囲外にセンチネルリンパ節が存在する場合には術後治療の方針決定に寄与しうることを報告した。一方喉頭全摘術など頸部外切開をもともと必要とする術式においてはセンチネルリンパ節ナビゲーション手術によって頸部郭清を省略しても結局のところ原発巣切除のために頸部に切開は必要である。また原発巣に対する手術侵襲も大きく、術後の機能障害による QOL (quality of life) の低下のほうが問題であるため頸部郭清の省略によるメリットは少ないと考えられる。近年報告されるようになってきた咽喉頭癌に対する経口的アプローチによる手術ならば、原発巣に対して低侵襲手術が可能であり、さらに潜在的リンパ節転移に対してもセンチネルリンパ節ナビゲーション頸部郭清術を行うことによってリンパ節に対する最適かつ低侵襲な治療ができるものと期待される[8-9]。今後重点的に取り組むべき課題としては経口的アプローチによる原発巣切除術とセンチネルリンパ節ナビゲーション頸部郭清術の組み合わせが実際に可能であるかを検証する必要がある。

咽喉頭癌において RI 法を行い場合、経口的に可能な範囲は中咽頭に留まり、下咽頭および喉頭では内視鏡下注入が必要とされ、技術的および設備的課題により医療のきんてん化は制限される。そこで、特に咽喉頭癌において非 RI 法の開発が必要とされる。

3.3. ICG 蛍光法

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 RI 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。ICG は人体に投与可能な肝臓や眼底などの検査試薬であるが、赤外光(760-780nm)によって励起され、波長の異なる近赤外蛍光(800-850nm)を発する。どちらも生体を透過しやすい波長域の光である。ICG を体内に注入し、赤外線検出カメラで検出することで、組織表面下の動態を非侵襲的に観察することができる。

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 SN 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。杏林大学での基礎実験においてウサギにて経皮的に頸部リンパ節の存在部位が視認できた。豚では皮膚、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[10]。

乳癌[11]および胃癌[12]においては SN 生検法への応用が既に報告されている。

3.4. SN 生検法の医療経済的効果[13]

SN 生検法は医療の質の高さの向上のみならず、医療経済にも寄与すると期待される。具体例として、N0 例において不必要な頸部郭清術が避けられれば、SN 生検法の経費を引いて、一症例あたり 146,000 円の医療費削減効果が見込まれると試算される。

3.5. 多割面迅速凍結病理診断

頭頸部癌における SN ナビゲーション手術の実現可能性研究を、N0 口腔癌を対象に行いその実現性を既に報告した[6]。

これに続く研究として、N0 口腔癌を対象に術中診断として多割面迅速凍結病理診断と捺印細胞診を用い、頸部郭清の適応は迅速凍結診断の結果に基づいて行う臨床試験を実施し、その成果を報告した[14]。迅速凍結病理診断、捺印細胞診、術後の永久標本の結果との比較を行い、それぞれの感度、特異度、精度等を検討した。また、微小転移の検出の検討も併せて行った。その結果、術中診断および微小転移の検出には凍結迅速診断が捺印細胞診より優れるという結果が得られた。さらに迅速凍結病理診断について 45 例の T1-2N0 口腔扁平上皮癌を検討し、感度、特異度、精度はそれぞれ 71.4%、100%、95.6%であると報告した[7]。

3.6. 選択的（予防的）頸部郭清術

口腔癌は化学療法に低感受性であり、これまでに根治切除不能な口腔癌に対して化学放射線療法が有用であるという報告はない。前述のごとく N0 口腔癌においても 20-30%の潜在的頸部転移があり、特に lateT2 (3-4cm) 以上においてはその転移率の高さから、予防的頸部郭清術が標準的治療に組み込まれている。「頭頸部がんのリンパ節転移に対する標準的治療法の確立に関する研究」班の報告[15]では lateT2N0 症例では潜在転移率は 31%で、earlyT2N0 症例の後発転移と差は認めなかったが、N 死率は 23%と高率であった。また T3N0 の潜在転移率は 36%と高率であり大半は舌半切以上の切除が行われ、遊離組織移植による再建術が施行されることが多い。そのため頭部操作がどうしても必要となり、それに併せて予防的頸部郭清術が多く施設で施行されてきた。そこで lateT2N0, T3N0 症例に対して選択的（予防的）頸部郭清術を施行するのは妥当であると考えられた。

また、防衛医大では経口的切除法を行った 40 例の N0 咽喉頭癌の検討で深達度が 1mm を超えるか静脈浸潤のある症例では選択的頸部郭清の適応であり、また 0.5-1mm の症例では十分な観察が必要であることから、SN 生検法の適応が明らかとなった[16]。

4. 試験のデザイン

本試験は、lateT2~T3N0 口腔癌、中下咽頭および声門上癌 T1~T3N0 症例（明らかな上皮内癌は除く）に対して、ICG 蛍光法による SN 同定の安全性と有用性を評価する実行可能性試験である。

4.1. 本試験の位置付け

ICG の蛍光特性を利用して頭頸部領域の SN を同定できるとなれば、医療従事者および被験者の被曝、施設の制限、手続きの煩雑さなどが解消され、どの施設でも行うことが可能となり、医療のきんてん化に役立つことが期待される。また低コストのため医療費の削減にも寄与できる。

4.2. SN ナビゲーション領域頸部郭清術