

201119016A

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

平成23年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 長谷川泰久

平成24（2012）年 5月

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

平成23年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 長谷川泰久

平成24（2012）年 5月

I. 総括研究報告	
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	
長谷川 泰久	----- 3
	(資料1)「N0 口腔癌における選択的頸部郭清術とセンチネルリンパ節ナビゲーション手術の無作為化比較試験」計画書」研究計画書
II. 分担研究報告	
1. 当院における舌がんセンチネルリンパ節生検術についての研究報告	
吉本 世一	-----74
2. 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	
松塚 崇	-----78
3. 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	
甲能 直幸	-----81
4. 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	
本間 明宏	-----83
5. 口腔癌、咽喉頭癌における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	
塩谷 彰浩	-----85
6. 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	
横山 純吉	-----88
7. 頭頸部癌のセンチネルリンパ節検索の基礎的研究	
大倉 康男	-----90
8. 頭頸部領域における間質内 MR リンパ造影と放射性コロイドによる SPECT/CT リンパシンチグラフィー—動物実験による比較検討	
小須田 茂	-----92
9. OSNA 法による頭頸部癌リンパ節転移判定に関する研究	
高橋 克昌	-----95
10. 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に関する研究	
吉田 知之	-----98
11. 分子標的手法による頭頸部癌頸部リンパ節転移診断の研究	
永藤 裕	-----99
12. 口腔癌に対するセンチネルリンパ節薬物療法に関する研究	
吉崎 智一	-----101
13. 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～磁性体造影剤を用いた MRI による頸部リンパ節転移診断～	

上村 裕和	-----	102
14. 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の研究		
三浦 弘規	-----	103
15. 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		
菅澤 正	-----	104
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	-----	106
IV. 研究成果の刊行物・別刷		

別添3

厚生労働科学研究費補助金（がん臨床研究事業）

総括研究報告書

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

研究代表者 長谷川 泰久 愛知県がんセンター 頭頸部外科部長

研究要旨

頭頸部癌治療において、低侵襲と機能温存を目指す個別化医療の開発が求められている。予後因子である頸部リンパ節転移について頸部郭清術でそれを実現し、さらに新たな診断および治療法を開発することが目的である。

1) センチネルリンパ節 (SN) 生検術手法の施行案の提案：

調査研究計画「頭頸部がんセンチネルリンパ節生検術についての多施設における実態調査」を集計し、本邦における生検術を解析した。その実態を論文公表した。この論文にて施行法を示し、今後の口腔癌第3相試験計画書に反映させた。

2) 口腔癌に対する研究：

①「口腔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研究」を実施し、平成23年7月に登録予定症例数56例の登録を終了した。試験を継続し再発等を追跡する。CRFを集計し、一次報告を国際学会にて行う予定である。

②「NO 口腔癌における選択的頸部郭清術とセンチネルリンパ節ナビゲーション手術の無作為化比較試験」の研究計画をまとめた。臨床的にリンパ節転移を認めない口腔癌症例について、RIを用いたSN生検法に基づくナビゲーション手術の予防的頸部郭清術が一律の選択的頸部郭清術に対して生存率は非劣性であるが、術後機能障害および合併症において優位性、すなわち低侵襲性を有することを検証する。対象はリンパ節転移を認めない口腔癌 lateT1～T2 症例で、主エンドポイントは3年全生存率である。目標症例数は274例、登録期間は3年間である。代表者施設の倫理委員会の承認を受け、平成23年11月よりこれまでに分担研究者所属施設を含む5施設で登録を開始した。

3) 咽喉頭癌に対する研究：

経口的切除法可能な咽喉頭癌に対するSN生検法を非ラジオアイソトープ(RI)法で行うことが咽喉頭癌ではより簡便で的確性が高く低侵襲であると考えられる、その実行可能性を遡及的に研究した。経口的切除法のアプローチと手技、さらに早期咽喉頭癌の潜在的リンパ節転移について研究報告した。非RI法は5)で述べる。

4) 分子生物学的手法によるSN微小転移検出とその臨床応用

①「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」を4施設で実施し、10月に目標検体数に達し登録を終了した。サイトケラチン(CK)19mRNAをマーカーとしてOSNA法(One Step Nucleic Acid Amplification)を用いた。48症例148リンパ節を解析し、カットオフ値が131 Copies/ μ lの設定で、感度82.4%、特異度99.3%の結果を得た。論文にて公表する。

② 頭頸部癌におけるさらに特異性の高いマーカーを求めて、4サイトケラチンマーカー(CK19, CK903, CK8/18, AE1/AE3)とp63を免疫組織学的な検索した。p53ファミリーに属するp63が頭頸部癌センチネルリンパ節生検術の分子生物学的マーカーと

して有用であることを結果として得、論文報告した。

5) 非 RI 画像診断法の開発：

インドシアニングリーン(ICG)蛍光リンパ節造影法による経皮的な頸部 SN 同定の基礎研究を論文報告した。この成果を基に、「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」を開始した。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。主エンドポイントは ICG 蛍光法に拠る SN 同定率で、登録予定症例数を 20 例とした。これまで 17 例にて同定可能であった。

6) SN 標的薬物療法の研究：

センチネルリンパ節を標的とするリンパ行性化学療法について、舌癌動注例を対象に検討し、抗癌剤 (CDDP) 濃度が非 SN に比し SN で有意に高値であることを論文報告した。

センチネルリンパ節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する。これは後発リンパ節転移が大きな予後因子である頭頸部癌では根治の上で極めて重要である。

口腔癌外科治療においては長らく NO 例に対する予防的頸部郭清術の功罪について議論が行われてきた。この議論に対して本研究はこれまでの研究成果を踏まえた上で、結論的到達点に達することができる臨床第 3 相試験を計画するに至った。RI を用いた SN 生検法に基づくナビゲーション手術の予防的頸部郭清術は一律の選択的頸部郭清術に対して生存率は非劣性であるが術後機能障害および合併症において優位性を有すること、すなわち低侵襲性を今後の検証で明らかにする。

また、近年の早期咽喉頭癌に対する経口的アプローチによる手術では、原発部位に対して低侵襲手術が可能であり、さらに潜在的頸部リンパ節転移に対しても SN 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。また、RI 法では経口的に注射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、非 RI 法としての ICG 蛍光法は咽喉頭癌 SN ナビゲーション手術に極めて有用であるばかりでなく、頭頸部癌治療のきんてん化と経済性の観点からも期待される技術である。SN 標的薬物療法の研究ではリンパ行性化学療法の可能性が示された。今後の新たな薬物療法としての発展が期待される。

研究分担者

吉本 世一
国立がん研究センター中央病院
頭頸部腫瘍科 医長

松塚 崇
福島県立医科大学
耳鼻咽喉科・頭頸部外科 講師

甲能 直幸
杏林大学医学部
耳鼻咽喉科・頭頸部外科 教授

本間 明宏
北海道大学医学部
耳鼻咽喉科・頭頸部外科 准教授

塩谷 彰浩
防衛医科大学校
耳鼻咽喉科 教授

横山 純吉
順天堂大学医学部
耳鼻咽喉科・頭頸部外科 准教授

大倉 康男
杏林大学医学部
病理学 教授

小須田 茂
防衛医科大学校
核医学 教授

高橋 克昌
群馬大学医学部
耳鼻咽喉科・頭頸部外科 講師

吉田 知之
東京医科大学八王子医療センター
耳鼻咽喉科・頭頸部外科 教授

永藤 裕
杏林大学医学部
耳鼻咽喉科・頭頸部外科 助教

吉崎 智一
金沢大学医学部
耳鼻咽喉科・頭頸部外科 教授

上村 裕和
大阪府立成人病センター
頭頸部外科 副部長

三浦 弘規
国際医療福祉大学三田病院
頭頸部腫瘍センター 准教授

菅澤 正
埼玉医科大学国際医療センター
頭頸部腫瘍科 教授

A. 研究目的

1) SN 生検術手法の施行案の提案

各施設で実行可能性の研究が行われたが、標準的手法が確立されていない。調査研究を実施した。得られた情報の解析から、SN 生検術手法の適応と手技を整理し、本邦の実状に適した施行方法を提案する。

2) 口腔癌に対する研究

口腔癌は SN 生検法の良い適応であり、頸部郭清術の省略に期待が持たれているが、十分な確証が得られていない。これまでの研究の限界を打破するため、省略も含めた個々の症例の個別的な頸部郭清範囲の決定への応用について研究を行う。まず同定生検と術中診断の習熟上と技術的課題を克服するため、SN 領域郭清術の考えを計画に取り入れた臨床第 2 相研究を実施した。その後、第 3 相試験を実施し、SN 生検法に基づく治療の有用性を検証する。

3) 咽喉頭癌に対する研究

経口的切除法の NO 咽喉頭癌で深達度が 1mm を超える症例で頸部郭清の適応を明らかにした。咽喉頭癌に対する経口法は低侵襲機能温存手術が可能であり、潜在的リンパ節転移にも 5) で述べる ICG 法による SN 生検法を行うことでリンパ節に対する最適かつ低侵襲の新たな治療法が確立できると期待される。

4) 分子生物学的手法による SN 微小転移検出とその臨床応用

OSNA 法はリンパ節転移を迅速に診断できる新しい分子生物学的手法で、乳癌を対象に開発された。他の領域では OSNA 法の有用性は確認されていない。頭頸部癌の術中頸部リンパ節転移診断において、OSNA 法が迅速病理診断に比べ

精確で簡便にできるかを検証する。扁平上皮の各種マーカーを用いても病理組織学的に検討する必要がある。

5) 非 RI 画像診断法の研究

頸部は腔がなく、色素法による頸部全体の同定は困難で RI 法が標準である。RI を用いない ICG 蛍光リンパ節造影法による経皮的頸部 SN 同定は画期的である。同法による頸部 SN 同定は国内外で行われていない。よってこの方法は非常に独創的である。頭頸部癌で磁性体造影剤を用いた SN 同定の試みは殆どない。

6) SN 標的薬物療法の研究

SN 標的薬物治療への展開は新たな研究である。動注化学療法および DDS による SN への薬剤の移行性と効果について基礎的および臨床的解明が必要である。

B. 研究方法

1) SN 生検術手法の施行案の提案

調査研究計画を引き続き実施する。集積した症例情報の解析より本邦の実状に即した SN 生検術手法の施行案を提案する。本研究項目は研究代表者長谷川、研究分担者甲能、吉本が行った。

2) 口腔癌に対する SN 生検術の研究

① 臨床第 2 相試験 (UMIN00004951)

「口腔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研究」
T2/T3N0 口腔癌症例について RI トレーサーによる SN 生検法を行い、SN ナビゲーション領域頸部郭清術の有用性を検証する。エンドポイントは SN 領域のリンパ節転移偽陰性率である。登録期間 2 年で、計 56 例 (SN 同定率 95%、 $\alpha=0.05$ 、検出力 80%) を登録予定数とした。平成 22 年 1 月に試験を開始し、中間解析で試験継続可能なことが明らかになった。平成 23 年中に症例登録を完了し、解析結果を第 3 相試験に反映させる。本研究項目は研究代表者長谷川、研究分担者吉田、三浦、菅澤を中心に、研究者全員が

行った。

② 臨床第 3 相試験 (UMIN00006510)

「N0 口腔癌における選択的頸部郭清術とセンチネルリンパ節ナビゲーション手術の無作為化比較試験」(資料 1)
早期口腔癌の選択的頸部郭清術群に対する SN 生検術群の非劣性について、検証試験の実施計画の立案を平成 22 年度後半から開始した。平成 23 年度前半までに施設内承認を得、平成 23 年度後半の開始を目指す。予定症例数およびその算定根拠: 主エンドポイントである 3 年全生存率について、SN ナビゲーション頸部郭清術施行群および選択的頸部郭清術施行群はともに 85% と想定される。両群の間で臨床許容できる 3 年生存率の差を 12% とし、これを片側 $\alpha=0.05$ と検出力 80% の条件下に非劣性を証明するのに必要な症例数は一群 130 名となる。10% の不適合症例の可能性を考慮し、登録期間 3 年で予定症例数は 274 名とした。本研究項目は研究代表者長谷川、研究分担者吉本、吉田、三浦、菅澤を中心に、研究者全員が行う。

3) 咽喉頭癌に対する研究

近年の咽喉頭癌の外科治療の展開に対応し、経口的切除法可能な咽喉頭癌に対する SN 生検法の実行可能性を検証する計画する。非 RI 法である ICG 蛍光法を経口的到達法で行うことが咽喉頭癌ではより簡便で的確性が高く低侵襲であると考えられる。5) の ICG 蛍光法実行可能性研究後に試験開始を目指す。研究代表者長谷川、研究分担者塩谷を中心に、研究分担者と協力者を含めて行う。

4) 分子生物学的手法による SN 微小転移検出とその臨床応用

OSNA 法を用いて、頭頸部扁平上皮癌で精度の高い術中微小転移診断法の確立を目指す。OSNA 法で CK19 を増幅し、病理転移診断と比較検討する研究を開始した。乳がんでの結果より、頭頸部がんでも 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±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。引き続き研究を続け23年度内の終了を予定する。さらに頭頸部扁平上皮癌に対するCK19以外のマーカーについても研究する。研究代表者長谷川、研究分担者松塚、高橋、甲能が臨床研究を、研究分担者大倉が基礎研究を行った。

5) 非 RI 画像診断法の開発

ICG 蛍光法については基礎研究を進め、口腔咽喉頭癌を対象に実行可能性臨床研究を開始する。

臨床試験(UMIN000006509)「インドシアニンググリーン(ICG)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」RI法とICG法を併用し、集積の一致性を検証する。本研究は登録予定症例数を20例とし、評価可能と想定される18例中のSN同定率の95%信頼区間の上限が、90%を下回るか否かにより検証する。23年度前半の登録終了を目指す。

磁性体造影剤でのMRIによる頸部リンパ節転移診断の有用性について、RI法を併用した症例で同一のリンパ節を磁性体造影剤で同定できたかを検討する。頭頸部癌におけるSPECT/MRIによるSN生検法に関して基礎的および臨床的に研究する。

研究分担者甲能、永藤がICG法基礎研究を、研究代表者長谷川、研究分担者横山、菅澤が臨床研究を行った。研究分担者上村と小須田がMRI法の研究を行った。

6) SN 標的薬物療法の研究

口腔癌における動注化学療法によるSNへの薬剤の移行性の臨床研究を引き続き行う。効果的な経リンパ管的化学療法確立に向けDDSの基礎的研究を行う。23年度後半に研究成果をまとめる。研究分担者吉崎、横山、本間を中心に行う。

(倫理面への配慮)

本研究で行う研究はヘルシンキ宣言を遵守し「臨床研究に関する倫理指針」と「疫学研究に関する倫理指針」に従い実施する。研究の遂行に当たっては研究計画について倫理委員会に人権への配慮、不利益および危険性の排除を諮り、その承認の下に行う。手術前に「同意説明文・同意書」に基づき、研究の内容などを患者に説明し、その後患者に十分な時間を与え文書により自由意思による同意を得る。この中で、研究の目的と方法、予測される危険性、本研究に同意されない場合でも不利益を受けないこと、同意後にいつでも撤回できることを、さらにプライバシーの保護と人権擁護について、文書に基づき説明する。症例報告書の作成、取り扱い等において、被験者の機密保護に配慮する。研究成果を発表する際には利益相反を明らかにし、さらに個人を識別できる情報は一切入れない。また、動物実験を行う場合は「厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針」に従い、動物愛護の観点に配慮しつつ、適切に維持管理された施設及び設備において科学的観点に基づく適正な動物実験を行う。

C. 研究結果

1) SN 生検術手法の施行案の提案調査研究計画「頭頸部がんセンチネルリンパ節生検術についての多施設における実態調査」を集計し、本邦における生検術を解析した。その実態を論文公表した(Auris Nasus Larynx, 2011, Head Neck, 2011, Eur Arch Otorhinolaryngol, 2011)。この論文にて施行法を示し、今後の口腔癌第3相試験計画書に反映させた。

2) 口腔癌に対するSN 生検術の研究

① 「口腔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研究-臨床第2相試験-」本試験ではセンチネルリンパ節転移陰性例においても予防的郭清術を行い、さらに同定生検と術中

診断における技術的課題を克服するためにセンチネルリンパ節領域の郭清を追加して本試験が患者さんにとって不利益となることのないように計画した。

主要エンドポイント：

(1)SNナビゲーション領域頸部郭清術におけるSN領域リンパ節転移偽陰性率

副次エンドポイント：

(2)SNナビゲーション頸部郭清術におけ

るSN転移リンパ節転移偽陰性率

(3)無病再発生存期間および全生存期間

(4)SN同定率

(5)術中迅速診断正診率

目標症例数は56例で、10施設で2009年12月から登録を開始し、2011年7月に57例の登録を終了し、現在追跡調査中である。

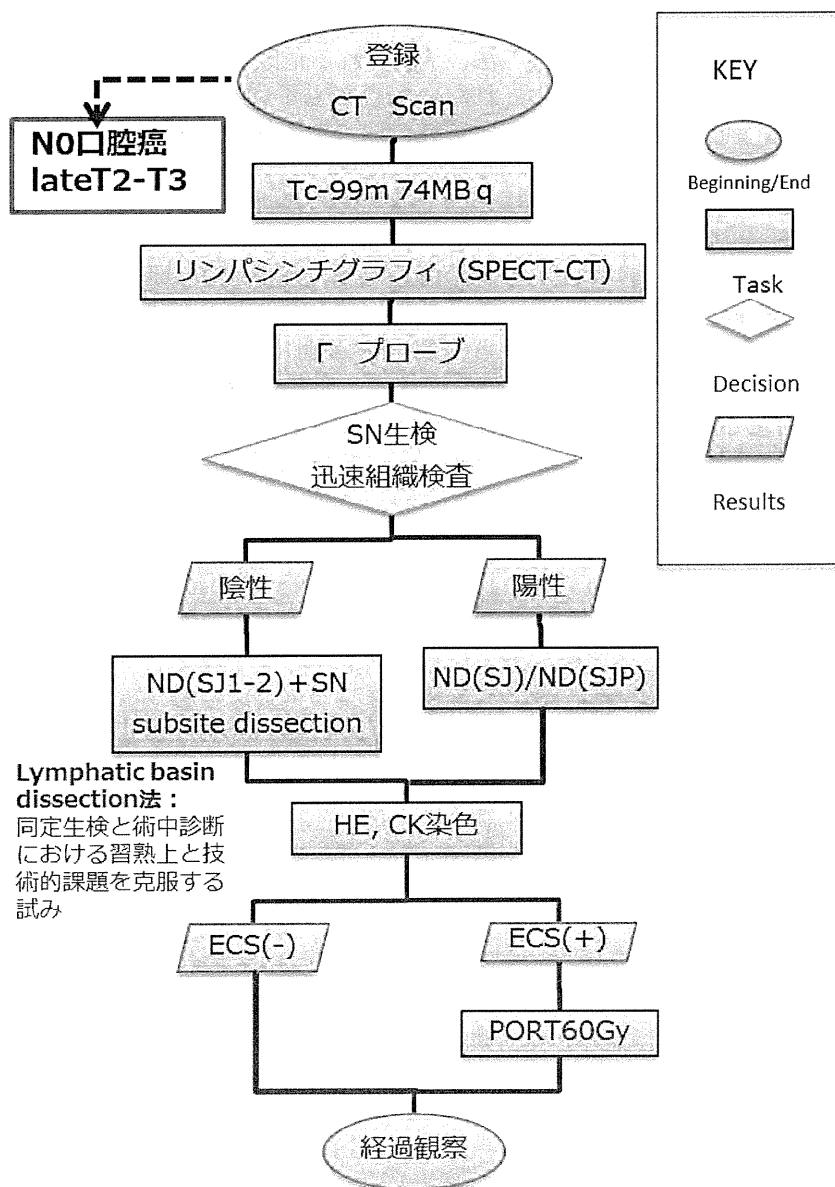


図1. 臨床試験のシエーマ

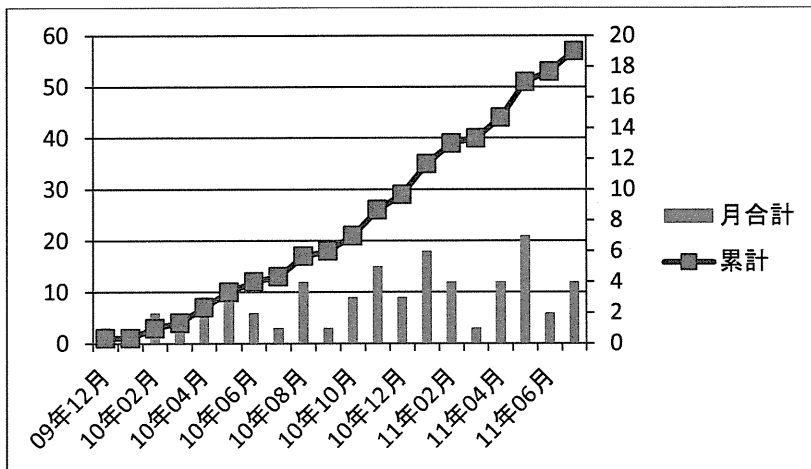


図2. 症例集積の進捗状況

症例の内訳は、男性 42 例、74%、女性 15 例、26%で、年齢の中央値は 63 歳であった。原発部位は舌が 49 例、86%であった。

センチネルリンパ節の結果では 57 例で 200 個のセンチネルリンパ節を確認した。1 症例平均 3 個で、同定率は 100%であった。

20 例、35%にセンチネルリンパ節への転移を認め、その内約 1/3 は 2 mm以下の微小転移であった。さらに別に 0.2 mm以下の isolated tumor cell が 5%に認め

られた。

観察期間の中央値は 13 ヶ月で予備解析結果であるが、主要エンドポイントである SN 領域リンパ節転移偽陰性率は 2/36, 5.6%、SN 領域陰性リンパ節転移率は 2/57, 3.5%、副エンドポイントの SN リンパ節転移偽陰性率は 3/37, 8.1%、SN 陰性リンパ節転移率 (SN-non SN+) は 3/57, 5.2%、術中迅速診断の正診率は 93%で、これまでの経過では全例生存である。

表 1. 症例の内訳

症例内訳	n (57 例)	%	切除範囲	部切			
性	男	42	74%	頸部郭清	部切	44	77%
	女	15	26%		半切以上	13	23%
年齢 (歳)	中央値	63		術後合併症	片側	48	84%
	範囲	30-85			両側	9	16%
原発部位	舌	49	86%	術後治療	なし	50	88%
	その他口腔	8	14%		あり	7	12%
T	T2	50	88%		なし	51	89%
	T3	7	12%		あり(照射)	5	9%
					(化療)	1	2%

表 2. センチネルリンパ節の病理結果

センチネルリンパ節 n (57 例) (%)		
SN/57 例	200 個	
SN 個数 /1 例	3 個	
SN 同定率	57 例	(100%)
SN 陽性	20 例	(35%)
微小転移 /ITC	7 /3 例	(12%/5%)
対側転移	2 例	(4%)

② 「N0 口腔癌における選択的頸部郭清術とセンチネルリンパ節ナビゲーション手術の無作為化比較試験」を計画した。代表者施設の倫理委員会の承認を受け、平成 23 年 11 月よりこれまでに分担研究者所属施設を含む 5 施設で登録を開始した。

<研究概要>

0.1 目的

頭頸部癌において、センチネルリンパ節 (SN) 理論によるリンパ節微小転移機構の解明と個別的な低侵襲治療法の開発を目指す。SN 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。

臨床的にリンパ節転移を認めない口腔癌症例について、ラジオアイソトープ (radioisotope, RI) を用いた SN 生検法に基づくナビゲーション手術の予防的頸部郭清術が一律の選択的頸部郭清術に対して生存率は非劣性であるが、術後機能障害および合併症において優位性、すなわち低侵襲性を有することを検証する。

0.2 対象

口腔扁平上皮癌

0.3 適格基準

- 1) リンパ節転移を認めない口腔癌 lateT1~T2 症例
- 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

本試験は、lateT1-T2N0 口腔癌において、選択的頸部郭清術群に対する SN ナビゲーション頸部郭清術群の非劣性を評価する多施設共同無作為化比較試験 (第Ⅲ相試験) である。

0.5 エンドポイント

主要エンドポイント：3 年全生存率

副次エンドポイント：1) 頸部郭清術による術後機能障害

2) 頸部郭清術による術後頸部合併症

3) 3 年無再発生存率

4) 対側頸部再発率と偽陰性率

5) 術中凍結診断正診率と SN 同定率

0.6 予定登録数と研究期間

目標症例数：274 例、登録期間：3 年間 (2011 年～2013 年)、追跡期間：3 年間

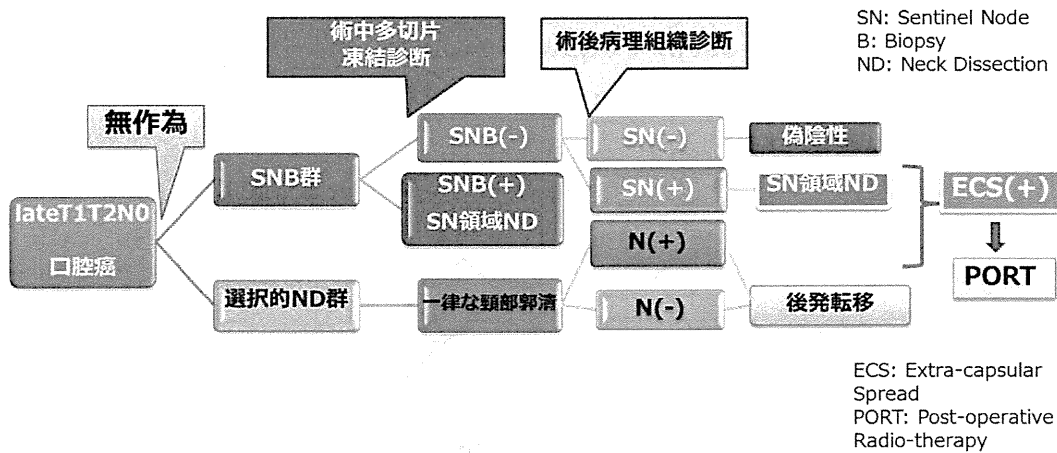


図 3. 無作為化比較試験シエーマ

3) 咽喉頭癌に対する研究

経口的切除法可能な咽喉頭癌に対する SN 生検法を非 RI 法で行うことが咽喉頭癌ではより簡便で的確性が高く低侵襲であると考えられる、その実行可能性を遡及的に研究した。経口的切除法のアプローチと手技、さらに早期咽喉頭癌の潜在的リンパ節転移について研究報告した(Ann Surg Oncol, 2011)。非 RI 法は 5) で述べる。

4) 分子生物学的手法による SN 微小転移検出とその臨床応用

① 臨床試験 (UMIN000006508) 「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」を 4 施設で実施した。従来の病理組織学的検査に匹敵する分子生物学的リンパ節転移の診断法として、OSNA (One Step Nucleic Acid Amplification) 法と免疫組織学的病理診断法を比較検討した。サ

イトケラチン (CK) 19mRNA をマーカーとして OSNA 法を用いた。OSNA 法では標本を精製することなく直接遺伝子の増幅を行うため 30 分位で判定が可能である。乳腺以外の領域では今の所保険適応は無く、頭頸部癌の報告はない。方法はリンパ節を 4 分割し、半分をサイトケラチン 19mRNA をマーカーとした OSNA 法に供し、半分を HE 染色とサイトケラチン染色を行い転移の有無を比較検討した。2011 年 10 月に目標検体数に達し登録を終了した。57 症例 178 リンパ節で、症例の内訳は、男性 52 例、91%、女性 5 例、9%で、年齢の中央値は 64 歳であった。原発部位は口腔が 25 例、44%であった。病理診断陽性例が 33 検体、陰性が 145 検体であった。カットオフ値を検討した。131 コピー/u1 のカットオフ値にした場合、感度 83%、特異度 99%の結果が得られた。

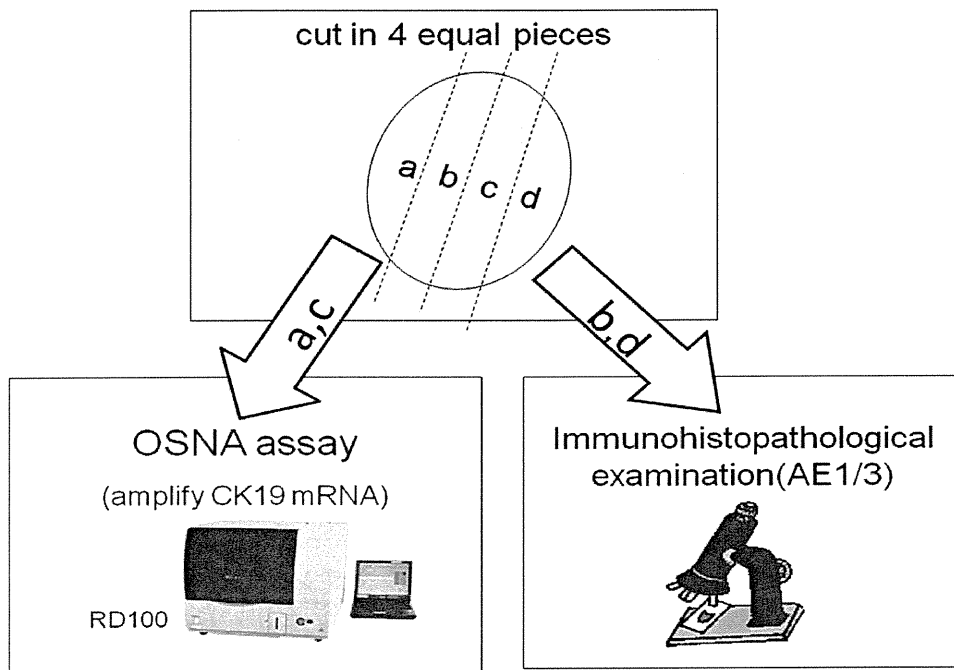


図 4. OSNA（直接遺伝子増幅法）法と免疫組織学的病理診断

表 3. 症例の内訳

症例内訳	n	(%; N=57)
Age		
Median: 64 years		
(range, 29-81)		
Sex		
Male	52	91
Female	5	9
T classification		
0	3	5
1	3	5
2	22	39
3	15	26
4a	14	25
N classification		
0	27	47
1	7	12
2a	4	7
2b	13	23
2c	5	9
3	1	2

Primary site

Oral cavity	25	44
Oropharynx	5	8
Hypopharynx	15	26
Larynx	9	16
Maxillary sinus	1	2
Salivary	1	2
Unknown	1	2
Institute		
Fukushima Medical University	22	39
Gunma University	23	40
Kyorin University	8	14
Aichi Cancer Center	4	7

*T and N classifications were defined using the 7th edition of the Union for International Cancer Control TNM staging system.

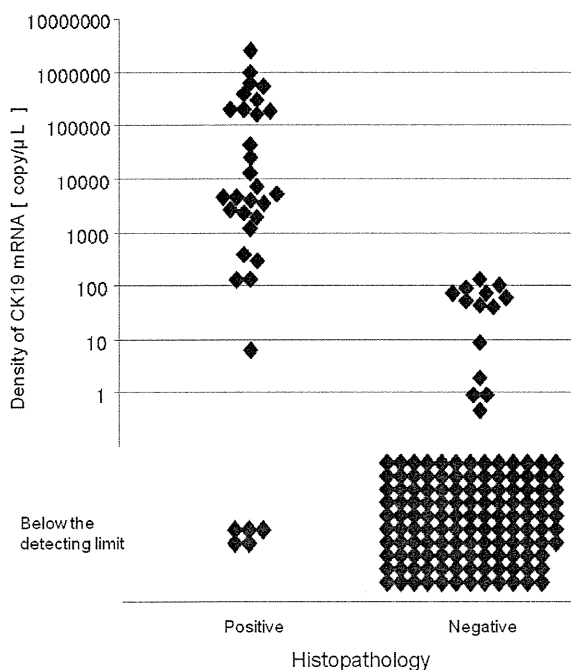


図 5. CK19mRNA コピー値と病理診断の比較

表 4. コピー値と感度特異度

Copies / μ l	Sensitivity	95% CI	Specificity	95% CI	LR+	LR-
100	82.9	66.4-93.4	98.6	95.0-99.8	59.2	0.2
131	82.9	66.4-93.4	99.3	96.2-100.0	118.5	0.2
300	77.1	59.9-89.6	100.0	97.5-100.0	Not estimated	0.2

② 頭頸部癌におけるさらに特異性の高いマーカーを求めて、4 サイトケラチンマーカー (CK19, CK903, CK8/18, AE1/AE3) と p63 を免疫組織学的な検索した。p53 ファミリーに属する p63 が頭頸部癌センチネルリンパ節生検術の分子生物学的マーカーとして有用であることを結果として得、論文報告した (J Clin Pathol, 2011)。

5) 非 RI 画像診断法の開発

ICG の蛍光特性を利用して頭頸部領域の SLN を同定できるかを基礎的に検証し報告した (Ann Surg Oncol, 2011)。ICG 蛍光法については基礎研究を進め、口腔咽喉頭癌を対象に実行可能性臨床研究を計画した。RI 法と ICG 法を併用し、集積の一致性を検証する。本研究は登録予定症例数を 20 例とし、評価可能と想定される 18 例中の SN 同定率の 95% 信頼区間の上限が、90% を下回るか否かにより検証した。

目標症例数は20例で、これまで16例登録し、内15例、94%でRI法のセンチネルリンパ節をICG法で同定できた。

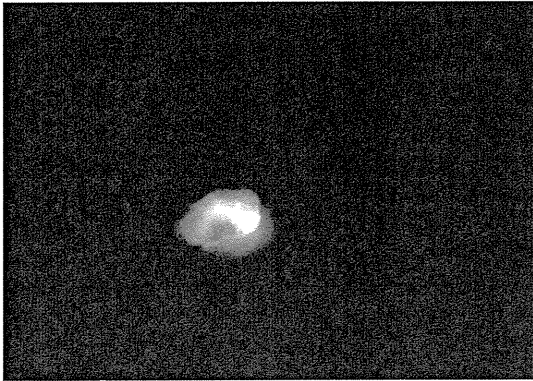


図6. ICG 蛍光法

ICG実行可能性試験シエーマ

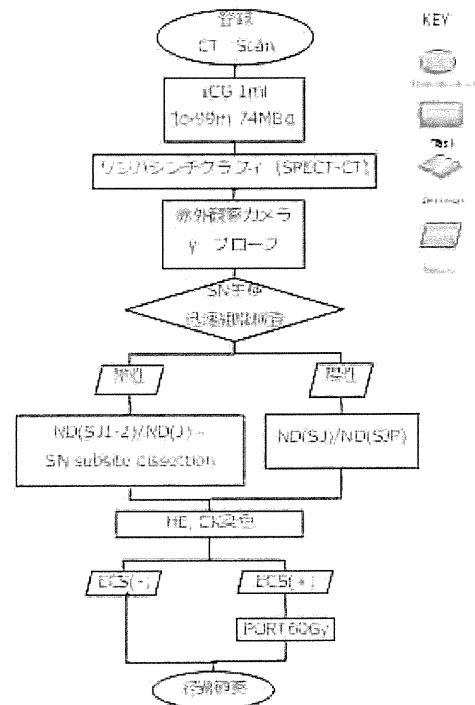


図7. ICG 実行可能性試験のシエーマ

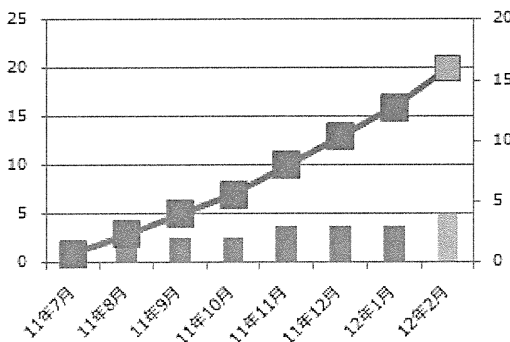


図8. 症例登録の進捗状況

MRI法の検討では、マウスを用いた比較試験で、頭頸部センチネルリンパ節描出能に関して、放射性コロイド SPECT/CT リンパシンチグラフィは間質内 MR リンパ造影よりも優れた結果が得られた。しかし、頭頸部領域で SPIO もしくは ferucarbotran を用いた間質内 MR リン

パ造影はセンチネルリンパ節生検に用いられる可能性が示された。

6) SN 標的治療 (薬物療法) の研究
シスプラチンの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 (SN) に高率

に移行しているかどうかを検討した。非SNに比べSNに高い濃度のプラチナが検出され、動注した薬剤がSNに移行している可能性が示唆された。また、ミセル化シスプラチンは従来のシスプラチンに比べて、頸部リンパ節転移の抑制効果、リンパ移行性が優位に高かった。

D. 考察

1) SN生検術手法の施行案の提案

今回の調査からは多割面凍結標本による術中迅速診断は信頼性の高い診断法といえる。そのため、われわれはSN陽性例においては速やかに一期的に頸部郭清を行うことが可能であった。今回の検討ではT3症例がT1症例に比べ、偽陰性率は有意に高かった。このことからT3症例はSLN生検の必ずしもよい適応とならないことが示唆された。

2) 口腔癌に対する研究

① 観察期間は短い、低い偽陰性率と高い迅速診断正診率から、口腔癌に対するセンチネルリンパ節ナビゲーション一期的頸部郭清術の妥当性が示唆された。さらに1) 多施設での共通プロトコルによるSN生検術の施行が可能、2) 多施設のラーニングカーブの均一化、3) SN生検術施行施設の拡大、4) センチネルリンパ節ナビゲーションによる一期的頸部郭清術が示され、第3相試験を行う準備が整った。

② 本研究の最も大きな成果は、早期頭頸部癌において、個別的、さらに低侵襲かつ機能温存の治療法が行われることである。本研究は必要とされる症例と領域に適切な頸部郭清術を行い、不必要な症例と領域には行わない。治療は個々の病態に応じて行われ、一般に言う体にやさしい治療を行うことである。

3) 咽喉頭癌に対する研究

経口的切除法のNO咽喉頭癌で深達度が1mmを超える症例で頸部郭清の適応を明らかにした。咽喉頭癌に対する経口法は低侵襲機能温存手術が可能であり、潜在的リンパ節転移にもICG法によるSN生検法を行うことでリンパ節に対する最適かつ低侵襲の新たな治療法が確立できると期待される。

4) 分子生物学的手法によるSN微小転移検出とその臨床応用

転移陽性率を縦軸、偽陽性率を横軸にして、ROC曲線を求めた。AUCは0.92であった。一般的には、AUCの値に基づいて予測能・診断能を判断するが、OSNA法による診断能は良好と判定された。また、乳癌、胃癌、大腸癌のOSNA法のカットオフ値は250コピー/u1であるが、これらは腺癌系であり、扁平上皮癌である頭頸部癌では131コピー/u1でほぼ同様の診断精度が得られた。

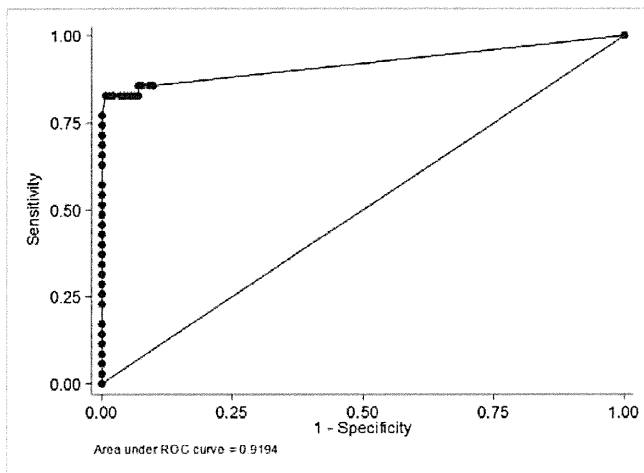


図 OSNA 法の ROC 曲線

表 診断精度の他癌との比較

Cancer site	Cutoff (copies/ μ l)	Sensitivity	95% CI	Specificity	95% CI
Head and neck	131	82.9	66.4-93.4	99.3	96.2-100.0
Breast					
Tamaki et al.	250	95.0	75.1-99.9	97.1	91.8-99.4
Schem et al.	250	98.1	93.3-99.8	89.0	84.3-92.7
Visser et al.	250	95.3	86.9-99.0	94.7	91.3-97.0
Stomach ⁴⁾	250	88.9	75.9-96.3	96.6	91.5-99.0
Colorectal ⁵⁾	250	95.2	88.1-98.7	97.7	95.3-99.1

5) 非 RI 画像診断法の開発

SN 生検術には一般にトレーサーに RI を使用するため、不足する放射線診断医への対応、施設の制限、手続きの煩雑などが生じる。一方、非 RI 法では放射線防護設備器機と要員のない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、早期咽喉頭癌の診断が内視鏡特殊強観察の技術により可能となってきたが、治療法の確立は十分でない。特に潜在的リンパ節転移に対する低侵襲治療の開発は行われていない。咽喉頭癌に RI 法を行う場合、内視鏡下注入が必要で制限がある。経口的切除法に非 RI の SN 生検法を併用する治療法は、最適かつ低侵襲な治療ができると期待される。

6) SN 標的薬物療法の研究

SN 標的薬物治療への展開は新たな研究である。動注化学療法および DDS による SN への薬剤の移行性と効果について、更なる基礎的および臨床的解明が必要である。

E. 結論

1) SN 生検術手法の施行案の提案

調査研究計画「頭頸部がんセンチネルリンパ節生検術についての多施設における実態調査」を集計し、本邦における生検術を解析した。その実態を論文公表した。この論文にて施行法を示し、今後の口腔癌第 3 相試験計画書に反映させた。

2) 口腔癌に対する研究

- ① 平成 23 年 7 月に登録予定症例数

57 例の登録を終了した。試験を継続し再発等を追跡する。CRF を集計し、一次報告を国際学会にて行う予定である。

② 臨床第 2 相に続き、3 相試験を開始した。これにより口腔癌の治療における SN ナビゲーション領域頸部郭清術の有効性を明らかにする。

3) 咽喉頭癌に対する研究

経口的切除法のアプローチと手技、さらに早期咽喉頭癌の潜在的リンパ節転移について遡及的に研究報告した。

4) 分子生物学的手法による SN 微小転移検出とその臨床応用

従来の病理組織学的検査に匹敵する分子生物学的リンパ節転移の診断法として、OSNA 法と免疫組織学的病理診断法を比較検討した。131 コピー/ul のカットオフ値にした場合、感度 83%、特異度 99%の結果が得られた。

5) 非 RI 画像診断法の開発

SN 同定のために非 RI 法である ICG 蛍光法の有用性が示唆された。

6) SN 標的薬物療法の研究

動注化学療法および DDS による SN 標的薬物療法の可能性が示唆された。

F. 健康危険情報

これまでの研究で健康に危険を生じた報告はない。

G. 研究発表

1. 論文発表

1) 平川仁、長谷川泰久：舌のすべて早期舌癌の診断. MB ENT 124; 45-50, 2011.

2) Yoshimoto S, Hasegawa Y, Matsuzuka T, Shiotani A, Takahashi K, Kohno N, Yoshida T, Kitano H: Sentinel node biopsy for oral and laryngopharyngeal squamous cell carcinoma: A retrospective study of 177 patients in Japan. Auris Nasus Larynx 39; 45-50, 2012.

2. 学会発表

1) 長谷川泰久、吉本世一、松塚崇、甲能直幸、本間明宏、塩谷彰浩、横山純吉、大倉康男、小須田茂、高橋克昌、吉田知之、永藤裕、吉崎智一、上村裕和、三浦弘規、菅澤正：頭頸部癌に対するセンチネルリンパ節ナビゲーション手術. 第 13 回 Sentinel Node Navigation Surgery 研究会学術集会, 2011. 東京.

2) 長谷川泰久：口腔癌におけるセンチネルリンパ節の生検術の検討. 第 51 回日本核医学会, 2011. つくば.

3) 長谷川泰久：頭頸部に対するセンチネルリンパ節ナビゲーション手術. 口腔顎顔面核医学フォーラム, 2011. つくば.

資料 1 NO 口腔癌における選択的頸部郭清術とセンチネルリンパ節ナビゲーション手術の無作為化比較試験計画書

平成 21 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
(H 2 1 -がん臨床-一般-0 1 6)

NO 口腔癌における選択的頸部郭清術とセンチネルリンパ節ナビゲーション手術の無作為化比較試験 研究実施計画書 ver1.4

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 4 月 30 日 第 1.0 版作成
2011 年 7 月 19 日 第 1.3 版作成
2011 年 9 月 2 日 倫理委員会承認
2011 年 10 月 17 日 UMIN-CTR 登録(UMIN000006510)
2011 年 12 月 14 日 第 1.4 版作成 第 1 回改訂および第 1 回改正
2012 年 1 月 10 日 効果安全性評価委員会承認
2012 年 1 月 27 日 倫理委員会承認