厚生労働科学研究費補助金（がん臨床研究事業）

分担研究報告書

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

研究分担者　永藤　裕　杏林大学医学部耳鼻咽喉科頭頸科学教室　助教

研究要旨

センチネルリンパ節生検術を行うにあたり微小転移を正確にかつ迅速に診断することは重要なことである。分子生物学的手法を用いたOSNA(One-Step Nucleic Acid Amplification)法では遺伝子診断が30分以内で可能であり、手術中にリンパ節転移を判定することができる迅速性を有している。前回までにこの手法での術中診断の有用性を報告した。そこで今回は頭頸部扁平上皮癌における新たな特異性のあるマーカーを検索するために、舌癌原発巣に対して4サイトケラチン(CK19,CK903,CK8/18,AE1/AE3)とp63による免疫組織学的検討を行った。その結果頭頸部扁平上皮癌においてp63はCK19,CK903,CK8/18より特異性の高いマーカーであると考えられた。

A．研究目的

現在OSNA法では転移リンパ節術中診断に対してCK19のmRNAをマーカー遺伝子として使用しているが、24リンパ節の検討で偽陰性を4.1%に認めた。乳癌領域で偽陰性の原因として原発巣でCK19の発現が少ないことが報告されている。今回早期舌癌の原発巣でのCK19とその他サイトケラチン，p63の発現を比較することで、頭頸部扁平上皮癌における転移リンパ節を検索するためのマーカーとしてのCK19妥当性と、更なる特異性の高いマーカーの検索を行う。また将来その新たなマーカーを使用することで、OSNA法での診断精度の改善を目的とした。

B．研究方法

早期舌癌17例を対象に、CK19，CK903，CK8/18，AE1/AE3，p63の5種類のマーカーを用いて原発巣での免疫染色学的検討を行った。対象症例は2002年から2009年までに手術加療した17症例で、術前に化学療法や放射線治療をしていない症例のみとした。免疫染色の評価はAllred Scoreに準じ、intensityとproportionを併せて検討した。

（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、患者の個人情報は完全に保護された状態で使用した。

C．研究結果

早期舌癌17症例におけるCK19，CK903，p63，CK8/18，AE1/AE3のそれぞれの平均Proportion score，Intensity score，Total scoreはそれぞれ1/1/3，5/2/7，5/3/8，0/0/0/，5/3/8であった。AE1/AE3とp63は全てのケースで強く発現されており、CK903はそれらと比較するとやや弱く発現していた。CK19，CK8/18は有意差を持ってその他のものより弱く発現していることがわかった。

D．考察

頭頸部扁平上皮癌における転移リンパ節を検索するマーカーとしてのCK19の妥当性、さらに新たな特異性のあるマーカーの検討したところ、p63はCK19，CK903，CK8/18より特異性の高いマーカーであると考えられた。しかし今回の検討した舌

癌 17 症例は、分化度の低い癌が含まれておらず、その結果 CK19 の発現が低かった可能性が残る。今後この点に関しては更なる検討が必要と思われた。

E．結論

頭頸部扁平上皮癌における転移リンパ節を検索するマーカーの検討したところ、舌癌 17 症例の検討では、CK19 より P63 が妥当なマーカーであると考えられた。

G．研究発表

1．論文発表

① Yamauchi K, Fujioka Y, Kogashiwa Y, Kohno N. Quantitative expression study of four cytokeratins and p63 in squamous cell carcinoma of the tongue: suitability for sentinel node navigation surgery using one-step nucleic acid amplification. J Clin Pathol. 64(10):875-9, 2011.

2．学会発表

① 小倉 慶雄、山内 宏一、永藤 裕、藤岡 保範、小柏 靖直、甲能 直幸：舌癌の免疫染色学的検討 －OSNA 法における最適遺伝子 第 13 回ＳＮＮＳ研究会学術集会(2011/12/2.3)

厚生労働科学研究費補助金（がん臨床研究事業）

分担研究報告書

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

研究分担者　吉崎　智一　金沢大学附属病院耳鼻咽喉科頭頸部外科　教授

研究要旨

頭頸部癌のリンパ節転移は重要な予後因子であり、その制御は治療成績の向上を期待できる。ナノテクノロジーのシンポに伴い、頭頸部癌治療のキードラッグであるシスプラチンを内包したシスプラチン内包ミセルが開発され従来と同等以上の抗腫瘍効果と有害事象の軽減が期待される。マウスの舌癌、頸部リンパ節転移モデルを用いて、それらの解析し、薬剤の体内動態を調べることが本研究の目的である。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。

A．研究目的

頭頸部癌の局所制御率向上に化学療法への期待は大きく、キードラッグであるシスプラチンの役割は依然として大きい。第二世代抗癌剤としてのミセル化シスプラチンは抗腫瘍効果の向上、有害事象の軽減するとの報告が主に胃癌など消化器癌で報告がある。本研究では頭頸部癌での治療応用に関して、センチネルリンパ節と絡めて薬剤動態（リンパ移行性など）、抗腫瘍効果、有害事象についてマウスモデルにおいて検討する。

B．研究方法

ミセル化ナノ粒子（高分子ミセル）技術を用いて、薬剤をブロックコポリマーで封入したものが開発された（*Cancer Res* 2003）。ミセル化したシスプラチン（NC-6004）、および従来のシスプラチンを用いて、舌癌の頸部リンパ節転移を起こしたマウスに投与することで、その抗腫瘍効果とリンパ移行性を従来のシスプラチンと比較検討する。

C．研究結果

ヌードマウスにヒト舌癌細胞株（OSC-19）を移植した舌癌モデルマウスを作製。シスプラチン、ミセル化シスプラチン投与後（舌局所）に頸部リンパ節の転移を比較し後者で優位に転移が抑制された。また頸部リンパ節内の Pt 濃度を測定しミセル化シスプラチン投与群で優位に Pt 濃度が高かった。

D．考察

ミセル化シスプラチンに特徴的な血中安定性と Drug Delivery System(DDS)に基づく癌組織に選択的に集積する効果により、舌局所に投与した薬剤がリンパ移行性に頸部リンパ節（センチネルリンパ節）に移行が確認された。口腔癌化学療法において、選択的に原発巣だけでなく潜在的リンパ節転移をターゲットとした治療に応用できるかもしれない。

E．結論　今後の展開

ミセル化シスプラチンの口腔癌においてセンチネルリンパ節転移をターゲットとした抗腫瘍効果とリンパ移行性を検証し、従来のシスプラチンより良好な結果が得られた。

G．研究発表

1.　論文発表

なし

2.　学会発表

2011 年 6 月 10 日　日本頭頸部癌学会にて発表（名古屋市）

厚生労働科学研究費補助金（がん臨床研究事業）

分担研究報告書

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
～磁性体造影剤を用いたMRIによる頸部リンパ節転移診断～

研究分担者　上村 裕和　大阪府立成人病センター頭頸部外科　副部長

研究要旨
アイソトープを用いないセンチネルリンパ節同定法を開発する目的で、SPIO(超常磁性体)を腫瘍周囲粘膜下に注射しMRIで同定を試みた。

A．研究目的

アイソトープを用いないセンチネルンパ節同定法を開発することを目的とした。

B．研究方法

2例の舌癌患者に対して以下の研究方法を行った。

①臨床的に頸部転移が無い（N0）と判断された舌癌患者に99mTcフチン酸を用いてセンチネルリンパ節をSPECT・CTで検索した。

②同一患者の腫瘍周囲粘膜下にSPIO(超常磁性体)を注射したのちに、30分程度でMRIを撮像してSPECT・CTの結果と比較した。

③術中にセンチネルリンパ節を摘出し、癌細胞の有無を検索すると同時に鉄染色を行い、SPIO(超常磁性体)がセンチネルリンパ節に取り込まれたかを確認した。

C．研究結果

①MRIでSPIO(超常磁性体)が取り込まれたリンパ節とSPECT・CTで指摘されたセンチネルリンパ節は画像上の解剖学的位置から同一のリンパ節であると推測された。

②さらに、摘出されたセンチネルリンパ節の鉄染色の結果からSPIOが取り込まれたことが確認された。

D．考察

SPIOは99mTcフチン酸と同様にセンチネルリンパ節に取り込まれ、MRIによって検出された(T2強調画像で信号が抑制された)と考えられた。

E．結論

SPIOを用いたMRIによる撮像法はアイソトープを用いないセンチネルリンパ節同定法の一つとなりうると考えられた。

G．研究発表

1.　論文発表

なし

2.　学会発表

8th International Conference on Head and Neck Cancer, July 21-25 2012 in Toronto, Canada

厚生労働科学研究費補助金（がん臨床研究事業）

分担研究報告書

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の研究

研究分担者　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

研究要旨
「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」を行った。臨床的にリンパ節転移を認めない口腔癌症例についてアイソトープ(RI)を用いたセンチネルリンパ節(SN)同定および生検を行い、SNナビゲーション頸部郭清術の有用性を５症例にて評価することができた。

A．研究目的

臨床的にリンパ節転移を認めない口腔癌についてRIを用いたSN同定および生検を行い、SNナビゲーション頸部郭清術の有用性を評価する。主要エンドポイントはSNナビゲーション領域郭清術におけるSN領域のリンパ節転移偽陰性率とする。

B．研究方法

LateT2－3N0　舌癌に対してSNナビゲーション頸部郭清術の安全性と有用性を評価する第Ⅱ相試験。SNを認めるJNDSGリンパ節分類亜区域を一括切除する。その領域の偽陰性率で妥当性を評価。各々症例は２年間追跡を行う。分担された各施設でそれぞれに登録を行い全体で56症例を目標症例数に行う。

（倫理面への配慮）

ヘルシンキ宣言および臨床研究に関する倫理指針の厳守、被験者へ文章および同意書を作成、個人情報の保護、施設のプロトコール倫理審査委員会の承認を得る。

C．研究結果

5症例を登録できた。偽陰性率、予後などは今後経過観察とともに評価を加える。

D．考察

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同定および生検を行い、SNナビゲーション頸部郭清術の有用性を評価することができた。

E．結論

「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」を行い、5症例を登録した。

G．研究発表

1.　論文発表

なし

2.　学会発表

なし

厚生労働科学研究費補助金（がん臨床研究事業）

分担研究報告書

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に関する研究

研究分担者　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

研究要旨

埼玉医科大学国際医療センターにて、口腔がんに対するSN生検手術を２症例集積した。新たに、“インドシアニングリーン蛍光法と放射線同位元素法を用いた口腔咽頭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、倫理委員会の承認を得て、開始し１例施行した。これら３例の結果から，リンパ節シンチ、γプローブ、インドシアニングリーン(ICG)蛍光法ともセンチネルリンパ節の同定は可能であり、大きな差は認めなかった。

口腔がん領域では，センチネルリンパ節生検は有用であり、日常臨床でも施行可能であると結論した。

A．研究目的

頭頸部癌特に口腔がんにおいて、乳がんと同様Sentinel node navigation surgeryが成立するかどうか検証すると共に、日常診療で容易に実行可能かどうか，より簡便なセンチネルリンパ節同定法は無いかを検討することである。

B．研究方法

口腔がんlateT2,T3N0症例に対して、センチネルリンパ節マッピングを行った後、頸部郭清術を施行し、SNLを検証する。

手術前日99mTC標識フチン酸を注入、SPECT撮影を行う。当日、センチネルリンパ節生検後、頸部郭清を施行し、摘出標本組織においてもSNの取り残しが無いか確認した。SNの同定率、転移頻度、再発率など検討する。

同時にICGを腫瘍周囲に局中し、γプローブ法とICG局注法間の感度差、簡便さなど比較した。

（倫理面への配慮）

院内、倫理委員会の承認(10-039)(11-110)を受け、文書による患者の了承を得て施行している。

連結可能匿名化によりデータは処理されており、プライバシーは保護されている。

C．研究結果

SN生検は２例に施行し、ICG蛍光法を１例合計３例にSN生検を施行した。リンパ節シンチで平均２個、γプローブで3.3個同定されたICG蛍光法で２個確認された。2mmスライスで迅速、HE,CK免疫染色を行い、いずれでも転移を認めなかった。

D．考察

リンパ節シンチ、術中のγプローブによる検索で、大きな差は認めなかった。注目すべきは３例注２例で健側にセンチネルリンパ節が認められた。シンチとガンマプローブ間でリンパ節の同定個数に若干差は認めたが、リンパ節領域の拡がりでは差を認めなかった。

ICG法はリンパ節シンチと同様に感度であると予想されるが、操作を迅速に行わないと、色素の流失が予想以上に早く、２次リンパ節をセンチネルリンパ節と誤

認するリスクがあると思われた。しかし、操作は簡便であり、被曝も認めないことから、更に症例を増やし従来法と比較検討したい。問題は、多領域にセンチネルリンパ節を認める症例があったことで、SN 生検のみ施行した場合、万が一、後発転移をきたした時、瘢痕で発見が遅れることが懸念される。又、多数個の生検は、予防的郭清と侵襲が変わらない可能性もあり、今後の前向き研究で、是非が問われるところである。

E．結論

当院に於いて口腔がんＮＯ症例に対して SN 生検を施行する体制を構築した。２例にγプローブ法１例に ICG 局注法による SN 生検を施行した。
ICG 法とγプローブ法で感度に差はなく、ICG 局注法は実務的で有用な方法と思われた。

G．研究発表

1.　論文発表

① 徳丸裕，藤井正人，家根旦有，菅澤正　他：中咽頭癌におけるヒト乳頭腫ウイルスの関与に関する多施設共同研究. 頭頸部癌. vol37 (3) 398-404, 2011.

②中平光彦，菅澤正：口腔咽頭領域　放射線・抗癌剤による口腔咽頭の粘膜障害. JOHNS. Vol27(9)1417-1419, 2011.

① Shimamura Y, Abe T, Nakahira M, Yoda T, Murata S, Sugasawa M: Immunohistochemical analysis of oral dysplasia: diagnostic assessment by fascin and podoplanin expression. Acta Histochem Cytochem. 28:239-45. 2011.

④ Nishijima H, Asakage T, Sugasawa M. Malignant carotid body tumor with systemic metastases. Ann Otol Rhinol Laryngol. 120(6):381-5. 2011.

⑤ Higo R, Nakahira M, Sugasawa M, Nakatsuka T. Manometric assessment of pharyngeal swallowing pressure after mandibular reconstruction. Eur Arch Otorhinolaryngol. 268(6):941-4. 2011.

⑥ 菅澤　正：中咽頭癌と EBM. JHONS 28, 205-208, 2012.

2.　学会発表

なし

別添５

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
本間明宏	超選択的動注化学療法の EBM とは？	池田勝久、武田憲昭、井之口昭、原渕保明、丹生健一	EBM 耳鼻咽喉科・頭頸部外科の治療	中外医学社	東京	2010	446-449

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
平川仁、長谷川泰久	舌のすべて　早期舌癌の診断	MB ENT (Monthly Book ENTONI)	134	45-50	2011
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	65-70	2012
吉本世一	本邦での頭頸部癌におけるセンチネルリンパ節生検の現状.	頭頸部癌	37	359-361	2011
松塚　崇、鈴木政博、三浦智広、横山秀二、國井美羽、西條　聡、大森孝一	シンポジウムⅡ　口腔癌治療の新展開センチネルリンパ節生検.	頭頸部外科	in press		2012
三浦智広、松塚　崇、大森孝一	ここまで変わった頸部郭清術　頸部郭清術の新しい考え方センチネルリンパ節生検.	JOHNS	27	187-190	2011
松塚　崇、三浦智広、鈴木政博　他	シンポジウム　センチネルリンパ節生検の概要.	頭頸部癌	27	355-358	2011
Yamauchi K, Fujioka Y, Kohno N	Sentinel node navigation surgery versus observation as a management strategy for early tongue carcinoma.	Head & neck	34	568-72	2012

Yamauchi K, Nagafuji H, Nakamura T, Sato T, Kohno N	Feasibility of ICG fluorescence-guided sentinel node biopsy in animal models using the HyperEye Medical System.	Ann Surg oncol	18	2042-7	2011
Yamauchi K, Fujioka Y, Kogashiwa Y, Kohno N.	Quantitative expression study of four cytokeratins and p63 in squamous cell carcinoma of the tongue: suitability for sentinel node navigation surgery using one-step nucleic acid amplification.	J Clin Pathol	64	875-9	2011
Kano S, Homma A, et al.	Superselective arterial cisplatin infusion with concomitant radiation therapy for base of tongue cancer.	Oral Oncol	47	665-70	2011
Homma A, et al.	Concomitant weekly cisplatin and radiotherapy for head and neck cancer.	Jpn J Clin Oncol	41	980-6	2011
Taki S, Homma A, et al.	Combined Modality Therapy for Locally Advanced Laryngeal Cancer with Superselective Intra-arterial Cisplatin Infusion with Concomitant Radiotherapy.	Int J Clinical Oncol	Epub ahead of print		2011

Homma A	Superselective Arterial Cisplatin Infusion with Concomitant Radiation Therapy for Advanced Nasal and Paranasal Sinus Carcinoma.	Recent advances and research updates	12	197-211	2011
Sakashita T, Homma A, et al.	Evaluation of Nodal Response after Intra-arterial Chemoradiation for Node-Positive Head and Neck Cancer.	Eur Arch Otorhinolaryngol	Epub ahead of print		2011
Yamashita T, Tomifuji M, Araki K, Kurioka T, Shiotani A.	Endoscopic transoral oropharyngectomy using laparoscopic surgical instruments.	Head Neck	33	1315-21	2011
Shiotani A, Tomifuji M, Araki K, Yamashita T.	Transoral videolaryngoscopic surgery for en bloc resection of supraglottic and hypopharyngeal cancers.	Otolaryngol Head Neck Surg	144	288-289	2011
Ito S, Yokoyama J, Yoshimoto H, Yazawa M, Kubota K, Hanaguri M, Ohba S	Usefulness of Choline-PET for the detection of residual hemangiopericytoma in the skull base comparison with FDG-PET.	Head & Face Medicine	8	3-8	2012
横山純吉、伊藤 伸, 大峡慎一、他	頭頸部進行癌に対する上腕動脈経由の超選択的動注療法の適応とその有用性.	日耳鼻会報	in press		2012

Yokoyama J, Ito S, Ohba S, Fujimaki M, Ikeda K.	A novel approach to translymphatic chemotherapy targeting sentinel lymph nodes of patients with oral cancer using intra-arterial chemotherapy - preliminary study.	Head & Neck Oncology	3	42-47	2011
Yokoyama J, Yoshimoto H, Ito S, et al.	Successful Function-Preserving Therapy for Chondroblastoma of the Temporal Bone Involving the Temporomandibular Joint.	Case Rep Oncol	4	74-81	2011
Fujimaki M, Fukumura Y, Saito T, Mitani K, Uchida S, Yokoyama J, et al.	Oncocytic mucoepidermoid carcinoma of the parotid gland with CRTC1-MAML2 fusion transcript: report of a case with review of literature.	Hum Pathol	42	May-52	2011
Ohba S, Matsumoto F, Fujimaki M, Ito S, Yokoyama J	Embryonal rhabdomyosarcoma of the head and neck in an adult.	Auris nasus larynx	Epub ahead of print		2011
横山純吉、伊藤 伸, 大峡慎一、他	頭頸部進行がんに対する超選択的動注療法にシメチジン併用の有用性の検討.	頭頸部癌	37	149-152	2011
横山純吉、伊藤伸、大峡慎一、他	進行咽頭・頸部食道がんに対する治療戦略超選択的動注療法を用いた臓器温存療法.	気管食道科会報	62	100-101	2011
伊藤伸、横山純吉、大峡慎一、他	Submental Island Flap で咽頭再建した中・下咽頭癌 4 症例.	口咽科	24	103-109	2011

横山純吉	頭頸部癌領域におけるICG蛍光法によるセンチネルリンパ節検出の有用性.	耳鼻臨床	104	770-771	2011
Kitamura N, Kosuda S, Araki K, Tomifuji M, Mizokami D, Shiotani A, Shinmoto H, Fujii H, Ichihara K,	Comparison of Animal Studies between Interstitial Magnetic Resonance Lymphography and Radiocolloid SPECT/CT Lymphoscintigraphy in the Head and Neck Region.	Ann Nucl Med	Epub ahead of print		2012
菅澤 正	中咽頭癌と EBM	JHONS	28	205-208	2012
徳丸裕，藤井正人，家根旦有，菅澤正他	中咽頭癌におけるヒト乳頭腫ウイルスの関与に関する多施設共同研究.	頭頸部癌	37	398-404	2011
中平光彦，菅澤正	口腔咽頭領域 放射線・抗癌剤による口腔咽頭の粘膜障害.	JOHNS	27	1417-19	2011
Shimamura Y, Abe T, Nakahira M, Yoda T, Murata S, Sugasawa M.	Immunohistochemical analysis of oral dysplasia: diagnostic assessment by fascin and podoplanin expression.	Acta Histochem Cytochem	28	239-245	2011
Nishijima H, Asakage T, Sugasawa M.	Malignant carotid body tumor with systemic metastases.	Ann Otol Rhinol Laryngol	120	381-385	2011
Higo R, Nakahira M, Sugasawa M, Nakatsuka T.	Manometric assessment of pharyngeal swallowing pressure after mandibular reconstruction.	Eur Arch Otorhinolaryngol	268	941-944	2011