

201119016B

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21年度～平成23年度 総合研究報告書

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21年度～平成23年度 総合研究報告書

研究代表者 長谷川泰久

平成24（2012）年 5月

別紙2

目 次

I. 総合研究報告		
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	-----	2
長谷川 泰久		
(1) 全体（多施設共同）研究	-----	5
(2) 分担研究	-----	24
II. 研究成果の刊行に関する一覧表	-----	49
III. 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

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。ラジオアイソトープ (RI) を用いたセンチネルリンパ節 (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 法としてのインドシアニングリーン (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。

(1) 全体（多施設共同）研究

研究 1) センチネルリンパ節生検術手法の施行案の提案

調査研究：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

研究 2) 口腔癌に対する研究

① 臨床試験 (UMIN000004951)：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

② 臨床試験 (UMIN000006510)：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 3) 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

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

研究 4) 非 RI 画像診断法の開発

臨床試験 (UMIN000006509) : インドシアニングリーン (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

(2) 分担研究

研究 3) 咽喉頭癌に対する研究

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治療法の開発に関する研究

研究 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 頭頸部癌のセンチネルリンパ節検索の基礎的研究
- ② 分子標的手法による頭頸部癌頸部リンパ節転移診断に関する研究
- ③ OSNA 法による頭頸部癌リンパ節転移判定に関する研究

研究 5) 非 RI 画像診断法の開発

- ① 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
- ② 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 — 動物実験による比較検討
- ③ 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 6) SN 標的薬物療法の研究

- ① 「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治療法の開発」に関する研究成果
- ② 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
- ③ 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
藤岡 保範
杏林大学医学部
病理学 前教授
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
古屋 信彦
群馬大学医学部
耳鼻咽喉科・頭頸部外科 前教授
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

(1) 全体（多施設共同）研究

（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。

研究 1) センチネルリンパ節生検術手法の施行案の提案

調査研究：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

A. 研究目的

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。

B. 研究方法

「臨床研究に関する倫理指針」に従い調査研究計画「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」を実施した。計画書で 1. 目的、2. 対象と方法(1)連結可能匿名化について(2)データの種類(3)初期データフォーマット、3. 研究の医学的意義、4. 研究の社会的意義、5. 倫理的問題点、6. 研究組織、7. 研究資金等を明らかにし、研究代表施設で倫理委員会の承認を得た。口腔咽喉頭癌でこれまでに各施設でセンチネルリンパ節生検を行った症例を調査対象とした。協力施設および症例数は、愛知県がんセンター（87 例）、福島県立医大（30 例）、防衛医大（20 例）、

群馬大（17 例）、杏林大（11 例）、東京医大（10 例）、鳥取大（2 例）の計 7 施設、177 例が対象となった。このうち防衛医大の 20 例は喉頭癌または下咽頭癌であったが、それ以外の 157 例は全例口腔癌であった。これらの症例につき実態調査を行った結果の集計を行った。

C. 研究結果

日本国内において、これまでに頭頸部領域における SN 生検の有用性はすでに示されてきたが一部の施設を除き広く普及するに至ってない。日本における SN 生検は術前に同定を行い、術中に多割面凍結病理による迅速診断を行い、頸部郭清を行うかすべてを一期的に行っている。今回われわれは、日本国内における SN 生検の実態を明らかにし、その有用性および問題点を検証した。

対象は 7 施設で SN 生検が施行された頭頸部癌 177 例である。喉頭癌および下咽頭癌の SN 生検は 1 施設でのみ施行されていた。性別は男性が 124 例で女性が 53 例であった。平均年齢は 63 歳（21-92

歳)であった。原発部位は157例が口腔癌であり重部位は舌が125例、口腔底が16例、頬粘膜が7例、歯肉が7例、口蓋が2例であった。口腔以外では喉頭が16例、下咽頭が4例であった。術前のSNの同定はリンパシンチおよびSPECT/CTにて行われた(図1)。術中のSNの同定はガンマカウンターを用いて行われた。また術中病理診断を連続凍結切片にて行った。すべての施設で^{99m}Tc-フチン酸がトレーサーとして用いられた。口腔癌症例では腫瘍周囲に直接^{99m}Tc-フチン酸を局所注入した。喉頭癌または下咽頭癌症例では内視鏡を併用し、局所注入を行った。トレーサーの放射線量は35-592Mq/mlのものを0.2-0.8ml使用し腫瘍の周囲に4か所の粘膜下に局所注入を行った。この操作は7施設いずれでも手術の前日に行われた。リンパシンチとガンマプローブはすべての施設で用いられたが、SPECT/CTは付加的なものとしそのある施設でのみ用いられた。ガンマプローブは3施設でneo2000(Neoprobe, OH, USA)が用いられ、4施設でNavigator™ GPS(RMD Instruments, MA, USA)が用いられた。シャインスルー対策は1施設でシールドを用いており、2施設では原発切除を先行させることで行っていた。他の4施設では特別な対策は行っていなかった。凍結切片のスライス幅に関し、3施設では1-2mm間隔の切片で、その他の施設ではリンパ節の最大断面における1スライスの切片で行われていた。術後の病理診断は6施設でHE染色のみにて行われており、1施設では免疫染色(サイトケラチン)を併用し行われていた。術後病理のための標本切片は4施設では1-2mmのスライス幅で作成され、他の施設ではリンパ節の最大断面における1スライスで作成されていた。1施設では分子生物学的診断法であるOSNA(One-Step Nucleic Acid Amplification)が用いられていた。非センチネルリンパ節は大部分が最大断面における1スライスの切

片のみ作成されHE染色で診断されていた。RT-PCR(reverse transcription polymerase chain reaction)法はいずれの施設でも用いられていなかった。

口腔癌におけるリンパシンチ、SPECT/CT、ガンマプローブを用い検出したSNのそれぞれの個数を図2に示す。リンパシンチでは平均2.6個、中央値2個(0-10個)が検出された。SPECT/CTでは平均2.7個、中央値3個(0-6個)が検出された。最終的に458個のSLNが同定された。SLNの同定率は98.1%であった。1症例あたり平均2.9個、中央値3個(0-10個)であった。口腔癌におけるSNの同定に関し、リンパシンチ、SPECT/CT、ガンマプローブの間で検出率に有意差は認めなかった。喉頭、下咽頭癌ではSNの同定率は100%であった。表1に157例の臨床的および病学的TNM分類を示す。臨床的にリンパ節転移を認めない口腔癌症例は153例で、そのうち病理学的に頸部リンパ節転移を認めた症例は27例であり、臨床病期における偽陰性率は18%であった。ガンマプローブで同定された口腔癌のSNは458個で喉頭、下咽頭癌は75個であった。病理学的所見が記録されていなかった13個のSNは除外された。520個のSNのうち40個(8%)は病理学的転移を認めた。30人の患者(17%)口腔癌症例445個中33個に転移を認め、喉頭、下咽頭癌症例75個中7個に転移を認めた。40個のSN転移陽性症例のうち17個はガンマプローブで最も高い測定値を示していた。11例は2番目に、6例は3番目、1例は4番目、1例は5番目に高い値を示していた。3個のSNでガンマプローブの測定値が記録されていなかった。37個のSN中13個にガンマプローブで他の陰性のSNの測定値が高いにもかかわらず病理学的陽性を認めた。いくつかの陽性SNは陰性よりかなり低い測定値を示した。40個のSN病理学的転移陽性のうち3個は凍結病理診断がなされずHEでのみ診断された。他の37個のSNのう

ち 25 個は 2 mm 以上の大きさの転移を認め、6 個は 2 mm 以下の微小転移を認めた。残りの 6 個は術中凍結診断で転移は判明しなかった。6 個の微小転移を認めた SN の凍結標本における 1 例は 1 mm 幅のスライスで標本を作成している 1 施設で、3 例は 2 mm 幅のスライスで行っている施設で、2 例は多割面迅速凍結病理を行っていない施設で診断された。6 個の SN は凍結診断では陰性であり、術後病理で陽性と診断された。1 個は術中捺印細胞診でのみ陽性であった。1 個は免疫組織学的検査(サイトケラチン染色)でのみ陽性であった。他の 4 個は HE 染色の多割面で陽性と診断された。60 例が多割面迅速凍結病理診断を 1 施設にて行われた。術中凍結診断は 7 例、12 個の SLN が陽性でいずれにおいても頸部郭清がなされた。術中凍結診断は 3 例、3 個の SLN で永久病理標本の診断と異なった(偽陰性)。多割面迅速凍結病理診断における感度は 70%、特異度は 100%、正診率は 95%であった。術後治療は 177 例中 22 例で施行された。19 例は術後照射(同時化学放射線療法 6 例を含む)を、3 例は化学療法を受け

た。放射線治療は原発部に 4 例、頸部に 5 例、原発部及び頸部に 10 例行われた。頸部再発は 17 例に認めた。患側の郭清野に再発を認めた症例が 3 例(2 例は手術にて救済、1 例は化学放射線治療を受けたが救済されず)であった。患側の郭清野外再発は 6 例(4 例は手術で救済、2 例は切除不能)、3 例は健側における郭清野外の再発例(2 例は手術および術後照射で救済、1 例は化学放射線療法施行も救済できず)であった。4 例は再発部位不明であった(3 例は手術で救済、1 例の死亡は原因不明であった)。その結果、11 例は非担癌生存、1 例は担癌生存、3 例は原病死(原発死)、1 例は他病死、1 例は原因不明の死亡であり頸部制御率は 98%であった。頸部再発は手術が可能であれば制御され得ると考えられた。174 例中、144 例は SN 陰性であった。このうちの 2 例は非 SN に転移が認められた。8 例は非郭清例で頸部後発転移を認めた。その結果、偽陰性率は 6.9%であった。口腔癌に関し T1 は 3.0%、T2 は 6%、T3 は 33%であった。偽陰性率において T1 と T3 の間には統計学的有意差を認めた (Fisher' s exact test: p=0.03)。

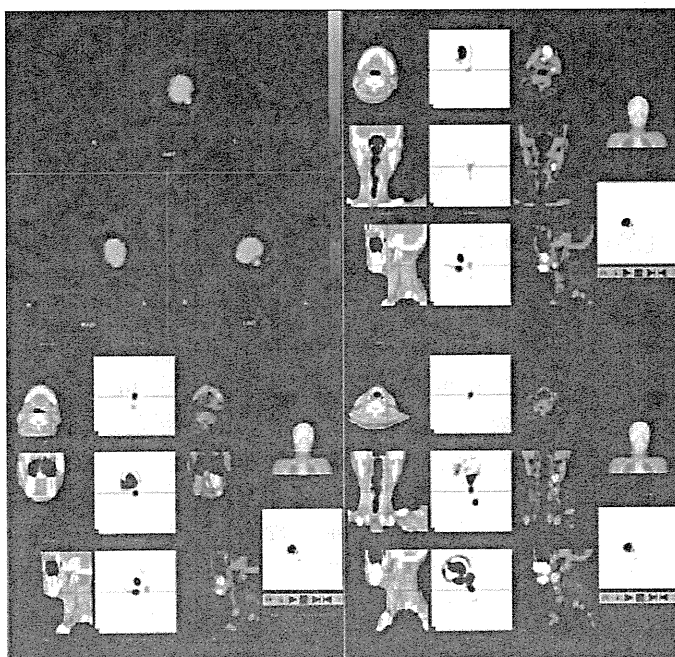


図 1. リンパシンチグラム及び SPECT/CT

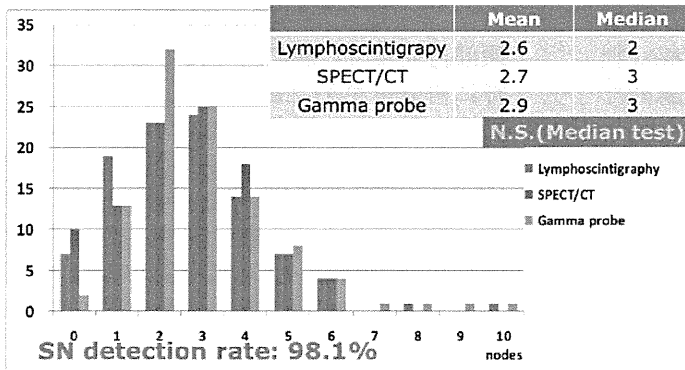


図 2. 口腔癌におけるリンパシンチ、SPECT/CT、ガンマプローブを用い検出した SN

表 1. 口腔癌 157 例の臨床的および病理学的 TNM 分類

	N0	N1	N2a	N2b	N2c	N3	Total
T1	65	1	0	0	0	0	66
T2	80	2	0	1	0	0	83
T3	6	0	0	0	0	0	6
T4a	2	0	0	0	0	0	2
T4b	0	0	0	0	0	0	0
Total	153	3	0	1	0	0	157

	pN0	pN1	pN2a	pN2b	pN2c	pN3	Total
pT1	68	7	0	2	0	0	77
pT2	53	13	0	6	0	0	72
pT3	3	0	0	1	0	0	4
pT4a	2	1	0	1	0	0	4
pT4b	0	0	0	0	0	0	0
Total	126	21	0	10	0	0	157

D. 考察

SN 生検は日本では乳腺、皮膚メラノーマではすでに広く普及している。しかし頭頸部領域では未だ広く普及しているとはいえない。臨床的にリンパ節転移を認めない舌癌でも約 20-30%の潜在的頸部リンパ節転移がある。3 mmスライス幅の CT と US ガイド下細胞診を施行したとしても微小転移を含むすべてのリンパ節転移を術前に診断するのは不可能である。

日本では比較的多くの施設で臨床的 N0 例に対し wait-and-see policy をとっている。その理由の一つとして日本の医療

保険制度下では患者が容易に医療機関を受診でき、外来での慎重な経過観察が可能であることがあげられる。もし頸部リンパ節転移が見つければ、迅速に頸部郭清術を受けることが可能である。しかしそれでも頸部後発転移を認めた場合、生存率は有意に低下してしまう。それに対しては選択的（予防的）頸部郭清術を行うことにより解決され得る。しかしこれにも問題があり、臨床的 N0 症例の全例に頸部郭清がなされた場合約 70%の pN0 例が存在するため不必要な手術がなされることになる。さらには選択的頸部郭清術でも顔面神経下顎縁枝の麻痺

や、副神経損傷による肩の挙上障害などの合併症の危険性は一定の割合で存在する。wait-and-see か選択的頸部郭清術を行うのが良いかはいまだ議論の余地がある。頸部後発転移の危険性を術前に予測することが重要である。

wait-and-see は危険性の低い症例には適切であり、選択的頸部郭清術は危険性の高い症例には適切な治療法である。しかし実際には、頸部後発転移の危険性を予測することは容易ではない。腫瘍深達度は広く認められているパラメーターであるがそれも完全なものではない。SN生検を行うことによりこれらの問題点は解消され得ると考える。

しかしこれが広く普及していない理由の一つとして、手技がやや煩雑になること（二次的手術が必要）があげられる。もし術中診断がより信頼性の高いものであるならばより広い普及が予想される。術中凍結迅速診断の信頼性に対し懐疑的な報告もあるが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。一期的な手技は患者の身体的、心理的負担を軽減することができ、二回の全身麻酔より合併症が減らせ合理的である。

今回の調査で、偽陰性率はこれまでの報告よりやや高い値であった。偽陰性の起こる原因として年齢、T-stage、原発部位、ラーニングカーブなどが報告されている。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SN生検の必ずしもよい適応とならないことが示唆された。ラーニングカーブの観点からガンマプローブの使用にはやや熟練が必要と思われる。われわれはSPECT/CTとガンマプローブを併用することにより原発巣のShine throughを避け、確実にSLNを摘出することができた。

今回の調査から5症例の非SN転移例は3例のSN転移を含むものと、2例の非SLNのみの転移例が認められた。さらなる検討の結果、それらは1例を除き、センチネル流域に存在するのではなくバックアップ郭清領域に存在していたことが示された。

SPECT/CTの有用性に統計学的有意差を認めることはできなかったが、SN生検はSPECT/CTを併用することにより容易で正診率の高い、信頼性の高い診断法となることが示唆された。

E. 結論

7施設、177例の頭頸部癌症例に対しSLN生検を行った。ガンマプローブにて533個のSNを検出した。口腔癌458個、喉頭癌、下咽頭癌75個のSLNの同定率はそれぞれ98.1%、100%であった。533個のSLNのうち520個（病理結果が不明な13個のSLNを除く）を検討した。40個（7.7%）は永久病理診断で陽性であり、37個中5個（12.5%）において術中凍結迅速診断では診断できなかった。多割面迅速凍結病理診断の正診率は95%であった。37個中13個の陽性であったSNで陰性のSNよりガンマプローブの測定値が低かった。再発は17例10.7%に認めたが手術により救済できた。頸部の制御率は97.5%であり、偽陰性率は6.9%であった。多割面迅速凍結病理診断による分析は信頼性の高いものといえる。われわれはSNの術中迅速診断による陽性例には一期的に速やかに頸部郭清術を行うことができた。これにより患者の身体的、心理的負担を二期的に行うことより軽減することができたと考えられる。

F. 研究発表

1. 論文発表

① Terada A, Hasegawa Y, Yatabe Y, Hanai N, Ozawa T, Hirakawa H, Maruo T, Kawakita D, Mikami S, Suzuki A, Miyazaki T, Nakashima T: Follow-up

after intraoperative sentinel node biopsy of N0 neck oral cancer patients. Eur Arch Otorhinolaryngol. 268:429-435, 2010.

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: 65-70, 2012.

③ Yamauchi K, Fujioka Y, Kohno N. Sentinel node navigation surgery versus observation as a management strategy for early tongue carcinoma. Head Neck. 34(4):568-72, 2012.

④ 吉本世一: 低侵襲と個別化を目指す頸部郭清術 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(3): 359-361, 2011.

⑤ 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. 学会発表

① Hasegawa Y, Yoshimoto S, Matsuzuka T, Kohno N, Shiotani A, Furuya N, Yoshida T, Kitano H: Sentinel node biopsy for oral and laryngopharyngeal scc: a retrospective observational study on 177 patients. 4th International Conference on Sentinel

Node Biopsy and Radioguided Head & Neck Surgery, 2010, Copenhagen, DENMARK.

② 吉本世一、長谷川泰久、松塚 崇、塩谷彰浩、古屋信彦、甲能直幸、吉田知之、北野博也: 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: 177例の解析. 第12回SNS研究会, 2010, 横浜

③ Yoshimoto S, Hasegawa Y, Matsuzuka T, Shiotani A, Furuya N, Kohno N, Yoshida T, Kitano H: Sentinel node biopsy for oral and laryngopharyngeal squamous cell carcinoma: A retrospective study on 177 patients in Japan. 7th International Sentinel Node Society Meeting, 2010, Yokohama.

④ 吉本世一、長谷川泰久、松塚 崇、塩谷彰浩、高橋克昌、甲能直幸、吉田知之、北野博也: 本邦での頭頸部癌センチネルリンパ節生検における臨床の現状. 第35回日本頭頸部癌学会シンポジウム, 2011, 名古屋.

⑤ 吉本世一: センチネルナビゲーション頸部郭清術. 頸部郭清講習会, 名古屋.

⑥ S. Yoshimoto: Management of neck for early tongue cancer and actual status of sentinel node biopsy in Japan. 11th Japan-Taiwan Conference on Otolaryngology-Head and Neck Surgery, 2011, Kobe.

研究 2) 口腔癌に対する研究

① 臨床試験 (UMIN000004951 : 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)

A. 研究目的

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。これまで、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方法と、初回手術時に選択的頸部郭清をする方法が行われた。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、選択的頸部郭清施行群においては約 7 割の病理組織学転移陰性が存在すること、さらに郭清領域外リンパ節に再発を認める例があることから、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。

B. 研究方法

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。

C. 研究結果

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が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。

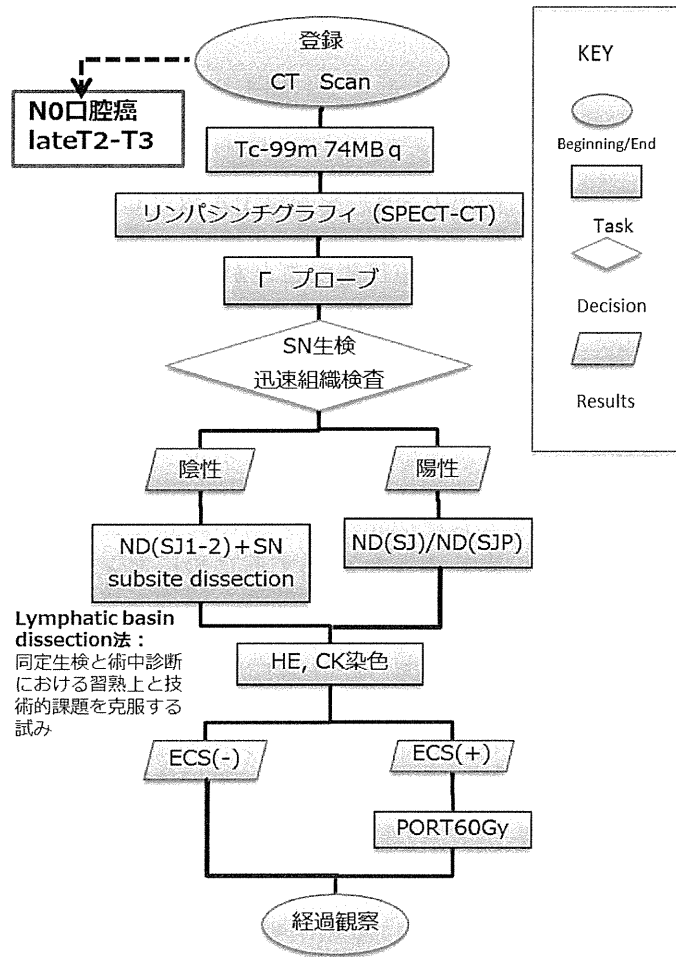


図 3. 臨床試験のシエーマ

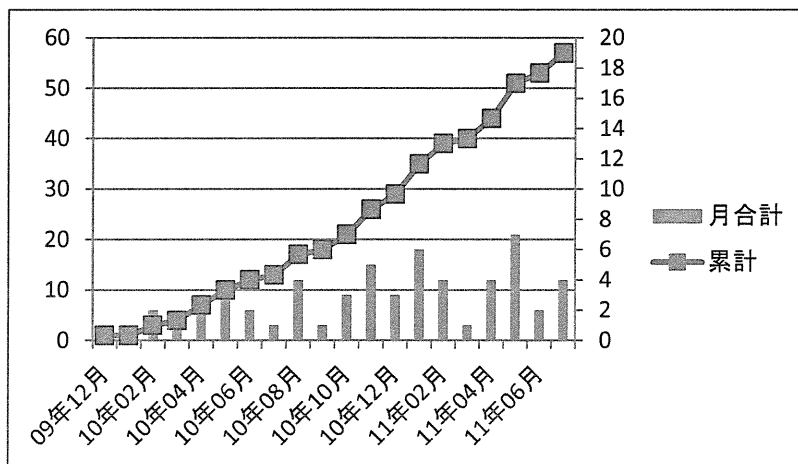


図 4. 症例集積の進捗状

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- nonSN+) 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 2. 症例の内訳

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

表 3. 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%)

D. 考察

観察期間は短いですが、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ールによる 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。

E. 結論

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。

F. 研究発表

1. 論文発表 なし

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。

② 臨床試験(UMIN000006510) : 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

A. 研究目的

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。

B. 研究方法

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した。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。

C. 研究結果

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、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、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

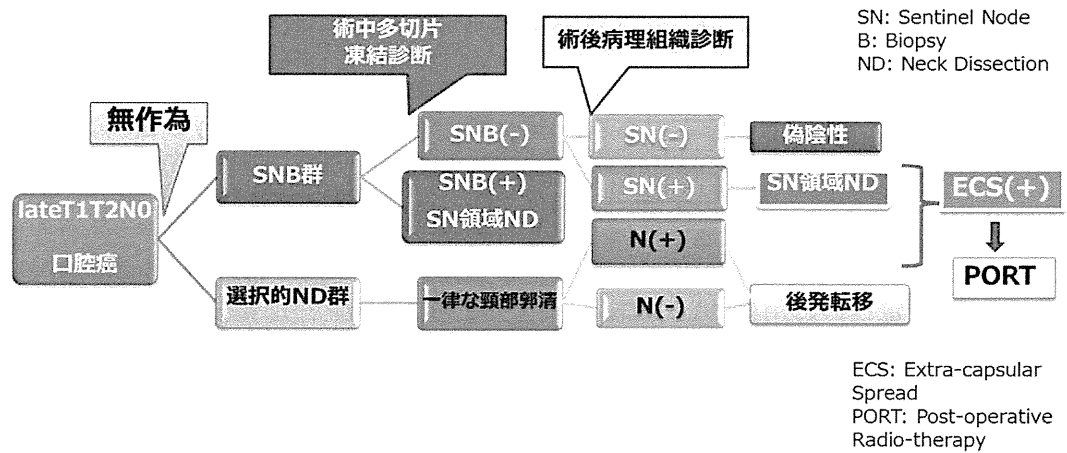


図 5. 無作為化比較試験シエーマ

D. 考察

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る。

E. 結論

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。

F. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

研究 3) 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

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

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郭清術で摘出したリンパ節を直ちに 4 分割し隣接しない 2 分割分の検体を病理部へ提出し、得られた 3 割面か

ら、現行の病理検査としてパンサイトケラチン (AE1/3) で免疫染色を施し鏡検により癌転移の有無を診断した。

2. OSNA 法として、以下の手順で CK19 の mRNA 量を計測した。

2-1. で提出した残りの 2 分割分の検体へ専用の溶媒を加えたのちにホモジナイズして検体を可溶化した。

2-2. 2-1 で作製した可溶化液を 10000G で 60 秒間遠心し中間層を 500 μ l 分注し、測定サンプルを調製した。

2-3. あらかじめキャリブレーション、既成試薬を用いて検量線を作成した RD-100i (シスメックス社) へ②で調整したサンプルをセットし LAMP 法を全自動で行い濁度を測定、検量線から濁度を規定量あたりのコピー数 (copy/ μ l) に換算した。測定下限は 250 copy/ μ l でこの値より濁度が低い場合は >250 copy/ μ l と示された。

2-4. 乳癌における OSNA 法の判定基準は 5000 copy/ μ l 以上を強陽性 (++)、250 copy/ μ l 以上を陽性 (+)、250 copy/ μ l 未満を陰性と定めており、本研究ではこの判定基準を用いた。

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 法の性能を検討した。

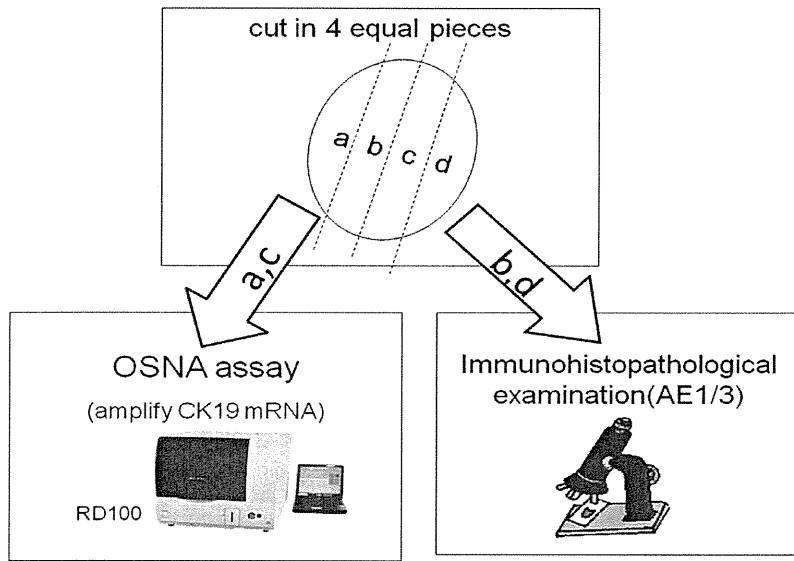


図 6. OSNA（直接遺伝子増幅法）法と免疫組織学的病理診断

C. 研究結果

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。

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

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。

Primary site	n	(%; N=178)
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.