

24. 文献

1. Muto, M., et al., Early detection of superficial squamous cell carcinoma in the head and neck region and esophagus by narrow band imaging: a multicenter randomized controlled trial. *J Clin Oncol*, 2010. 28(9): p. 1566-72.
2. Machtay, M., et al., Factors associated with severe late toxicity after concurrent chemoradiation for locally advanced head and neck cancer: an RTOG analysis. *J Clin Oncol*, 2008. 26(21): p. 3582-9.
3. Zeitels, S.M., et al., Endoscopic treatment of supraglottic and hypopharynx cancer. *Laryngoscope*, 1994. 104(1 Pt 1): p. 71-8.
4. Kohno, N., et al., Feasibility of sentinel lymph node radiolocalization in neck node-negative oral squamous cell carcinoma patients. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec*, 2003. 65(1): p. 66-70.
5. Tomifuji, M., et al., Sentinel node concept in clinically n0 laryngeal and hypopharyngeal cancer. *Ann Surg Oncol*, 2008. 15(9): p. 2568-75.
6. Ohno, Y., et al., [Identification of sentinel lymph node in neck-node-negative oral and pharyngeal carcinoma study of patients, its feasibility, and problems]. *Nippon Jibiinkoka Gakkai Kaiho*, 2005. 108(5): p. 522-7.
7. Kano, M. and T. Matsuzuka, [Sentinel lymph node biopsy in oral cancer]. *Gan To Kagaku Ryoho*, 2004. 31(6): p. 971-8.
8. Chikamatsu, K., et al., A preliminary study on sentinel lymph node biopsy: feasibility and predictive ability in oral cavity cancer. *Ann Nucl Med*, 2004. 18(3): p. 257-62.
9. Terada, A., et al., Sentinel lymph node radiolocalization in clinically negative neck oral cancer. *Head Neck*, 2006. 28(2): p. 114-20.
10. Terada, A., et al., Follow-up after intraoperative sentinel node biopsy of N0 neck oral cancer patients. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 2010.
11. Shiotani, A., et al., Videolaryngoscopic transoral en bloc resection of supraglottic and hypopharyngeal cancers using laparoscopic surgical instruments. *Ann Otol Rhinol Laryngol*, 2010. 119(4): p. 225-32.
12. Yamashita, T., et al., Endoscopic transoral oropharyngectomy using laparoscopic surgical instruments. *Head Neck*, 2010.
13. Yamauchi, K., N. Kohno, and e. al., Feasibility of ICG fluorescence-guided sentinel node biopsy in animal models using the Hyper Eye Medical System. *Ann Surgl Oncol*, 2011. in press.
14. Tagaya, N., et al., A novel approach for sentinel lymph node identification using fluorescence imaging and image overlay navigation surgery in patients with breast cancer. *World J Surg*, 2011. 35(1): p. 154-8.
15. Tajima, Y., et al., Sentinel node mapping guided by indocyanine green fluorescence imaging during laparoscopic surgery in gastric cancer. *Ann Surg Oncol*, 2010. 17(7): p. 1787-93.
16. Kosuda, S., et al., Feasibility and cost-effectiveness of sentinel lymph node radiolocalization in stage N0 head and neck cancer. *Arch Otolaryngol*

- Head Neck Surg, 2003. 129(10): p. 1105-9.
17. Spector, J.G., et al., Delayed regional metastases, distant metastases, and second primary malignancies in squamous cell carcinomas of the larynx and hypopharynx. Laryngoscope, 2001. 111(6): p. 1079-87.
 18. Tomifuji, M., et al., Tumor Depth as a Predictor of Lymph Node Metastasis of Supraglottic and Hypopharyngeal Cancers. Ann Surg Oncol, 2010.
 19. Hasegawa, Y. and M. Saikawa, Update on the classification and nomenclature system for neck dissection: revisions proposed by the Japan Neck Dissection Study Group. Int J Clin Oncol, 2010. 15(1): p. 5-12.
 20. Hermanek, P., et al., International Union Against Cancer. Classification of isolated tumor cells and micrometastasis. Cancer, 1999. 86(12): p. 2668-73.
 21. Crumley, R.L. and J.D. Smith, Postoperative chylous fistula prevention and management. Laryngoscope, 1976. 86(6): p. 804-13.

別添 4

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

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

研究分担者 吉本 世一 独立行政法人国立がん研究センター中央病院頭頸部腫瘍科
医長

研究要旨

頭頸部がんに対する SN（センチネルリンパ節）生検については、一部の施設を除いては未だ普及しているとは言えない状況にある。これまでにその有用性を多施設で検証していくための臨床試験が組み込まれてきたが、当院では舌癌の SN 生検において、その第 2 相試験に参加する形で 5 例、第 3 相試験に参加する形で 3 例、その他 1 例の計 9 症例を経験した。結果として、施行した 9 例全例で SN が同定され、5 例の SN の 2mm 切片での病理検査で微小な転移を診断することができた。SN が陰性であった 4 例は、SN 以外のリンパ節にも転移は認めず、SN 理論が舌癌でも成立すると考えられた。

A. 研究目的

頭頸部がんに対する SN（センチネルリンパ節）生検についてはその有用性は認識されているものの、一部の施設を除いては未だ普及しているとは言えない状況にある。しかしそれらの施設の多くでは SN を術前に検索した後、術中凍結切片による迅速病理で診断し、頸部郭清術が必要な患者を一期的に選別している。SN 生検の有用性を多施設で検証していくために、第 2 相試験が平成 22 年～23 年に行われ、平成 24 年からは第 3 相試験が行われている。本研究では、当院において主にそれらの試験に参加する形で SN 生検の手法を取り入れた手術を行ったので、その結果を報告し、その有用性について検討した。

B. 研究方法

トレーサーとしては^{99m}Tc-phytate（フチン酸）を使用した。放射線管理区域内で術前日に、フチン酸キットに^{99m}Tc 注射液 2～8mL を加え、よく振り混ぜて^{99m}Tc-phytate を作成。74 MBq（2 mCi）、

1 mL を腫瘍周囲粘膜内 4 か所（1 か所あたり 0.25 mL）に 26G 針で分注した。注射に先だって、キシロカイン注射液 1% 1.0 mL を局所に注入している。

トレーサー注入後、うがいをし、口腔内の残存放射能を除去した。

投与後 1～2 時間にリンパシンチグラフィの撮像を行った。撮影は、シンチカメラで前面、左右斜位像（顔面を横に向けてシンチカメラのガントリーを 10 から 15 度傾斜）、左右側面像の 5 方向を撮影する。患者の背側にアクリル製の面線源容器（^{99m}Tc 37 MBq の溶液を満たす）を用いて撮影し、患者の輪郭が描出されるようにした。撮影時間は 1 コマ 5～10 分とした。可能であれば SPECT（360 度収集、15 分間）収集し、再構成し、SPECT と CT の融合画像（axial, sagittal, coronal）を作成した。

手術では、原発巣を Pull through 切除する以外では全て、Shine through を避ける目的で、原発切除を先行させた。その後まず頸部に必要な切開を置き、リンパシンチグラフィおよび SPECT/CT を参

考にガンマプローブ (neo2000) を用いて SN を検索した。RI が集積しバックグラウンドの10倍以上のカウント数 (cpm) を示すリンパ節で、カウント数 (cpm) の高い順に最大5個までを SN とした。その存在する部位を頸部郭清術の分類と名称に関する試案 (厚労省科学研究費補助金研究班) の分類でガンマプローブのカウント数 (cpm) とともに記録した。

SN は、摘出後直ちにリンパ節専用カッター (ティッシュカッター: シスメックス社製) を用いて2mm 幅のブロックを作製し、切り出し面の凍結迅速検査を行う。

迅速検査で SN に微小転移以上の転移が術中に見出された場合には SJ の領域内では同側 ND (SJ)、P 領域内では同側の ND (SJP) を行う。健側においても同様とした。この原則的頸部郭清範囲に加え、SN を認めた亜区域の郭清を行う。すなわち、SN 領域ナビゲーション郭清術を行うこととした。

転移陰性の場合、第2相試験への参加症例の場合、予防的に患側の ND (SJ1-2) の範囲を郭清し、第3相試験への参加症例 (SNB 割り当て群) は原発巣を pull through 切除する場合を除いて、頸部郭清を省略することとした。

頸部郭清を施行した場合は、念のため郭清組織において再度ガンマプローブを用いて SN の取り残しの有無につき確認をする。バックグラウンドの10倍以上のカウント数 (cpm) を示す SN があれば、術中検索時と同様に SLN の存在 Level、カウント数 (cpm) を記録しておく。これらは、術中摘出 SN と区別して、郭清組織から見出されたことがわかるようにしておく。

術後病理診断としては、パラフィン包埋後、SN は2mm 幅のブロックで各切り出し面の4 μ m の薄切標本を2枚作製し、HE 染色とサイトケラチン (CK) 免疫染色を行う。その他の郭清リンパ節については代表1割面で癌の転移の有無を HE 染色で検索する。転移が陽性と判明した場合で頸部郭清を行っていない時は、6週間以内に二次的頸部郭清術を行う。郭清範囲は、

一期的手術の場合と同様である。

(倫理面への配慮)

本研究は IRB で許可された臨床試験に参加する形で行われている。臨床試験に直接参加していない症例も、臨床試験の対象としての適格基準を満たしている。よって倫理的な問題はないと考えられた。

C. 研究結果

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に関しては、当院よりその第2相試験に参加する形で5例、第3相試験に参加する形で1例、その他1例の計7症例を経験した。全例が舌癌の Stage II であり、年齢は21歳から53歳まで (中央値39)、男性が6例、女性が1例であった。より詳細に述べると、1例目が53歳の男性で原発巣の大きさが23mm \times 20mm \times 5mm、2例目が40歳の男性で30mm \times 23mm \times 10mm、3例目が30歳の男性で29mm \times 21mm \times 7mm、4例目は33歳の男性で31mm \times 22mm \times 10mm、5例目が39歳の男性で33mm \times 20mm \times 7mm、6例目が46歳の男性で32mm \times 15mm \times 10mm、7例目が21歳の女性で32mm \times 20mm \times 7mm、8例目が72歳の女性で21mm \times 17mm \times 2mm、9例目が52歳の男性で40mm \times 25mm \times 9mm であった。

センチネルリンパ節の検索では、1例目ではリンパシンチグラフィにて3個、SPECT-CT でも3個、最終的にもガンマプローブで3個のセンチネルリンパ節 (SN) を認めたが、2mm 切片での検索で結局 HE でも全て転移陰性であった。2例目ではリンパシンチで3個、SPECT では5個、ガンマプローブでも5個の SN を認め、そのうちガンマプローブのカウント数の大きい順で2番目だった患側中頸部の SN に HE で0.5mm の微小転移を認めていた。3例目ではリンパシンチで6個、SPECT で4個の SN を認め、ガンマプローブではカウント数の大きい順に5個のリンパ節を SN として精査したが、最大のカウント数を示した患側上頸部の SN に HE で ITC (isolated tumor

cells) と思われる転移を認めていた。4例目ではリンパシンチで5個、SPECTで3個のSNを認め、ガンマプローベではカウント数の大きい順に5個のリンパ節をSNとして精査したが、最大のカウント数を示した患側顎下部のSNに3mm大の転移巣を凍結切片(2mm)による迅速病理で認めていた。5例目ではリンパシンチで2個、SPECTではSNを同定できなかったが、ガンマプローベではカウント数の大きい順に5個のリンパ節をSNとして精査し、その中で最大のカウント数を示した患側上頸部のSNに1mm大の転移巣を凍結切片(2mm)による迅速病理で認めていた。6例目ではリンパシンチで5個、SPECTではSNを同定できなかったが、ガンマプローベではカウント数の大きい順に5個のリンパ節をSNとして精査し、2mm切片で全て陰性であった。7例目ではリンパシンチでもSPECTでも4個のSNが同定され、ガンマプローベではカウント数の大きい順に5個のリンパ節をSNとして精査した結果、2mm切片で全て陰性であった。8例目ではリンパシンチで2個のSNを認め、SPECTは施行できなかったが、ガンマプローベでやはり2個のSNを認め、2mm切片で全て陰性であった。9例目ではリンパシンチで8個のSNを認め、SPECTは施行できなかったが、ガンマプローベではカウント数の大きい順に5個のリンパ節をSNとして精査し、そのうちの2個(患側顎下部と患側上頸部)のSNにITCを認めた。そのうちの1個は術中の迅速診断にて同定できたため、一期的な頸部郭清を行っている。ただし、郭清組織の中の非SNの1つに(患側中頸部)に3mm大の転移巣を認めていた。この症例を除く1~8例目までの症例では、SN以外のリンパ節には転移が確認されていない。

全症例の観察期間はまだ7~32ヵ月であるが、術後治療を行った症例はなく、また舌癌の再発も認めていない。

ただし1例(9例目)において術後5ヵ月目に下咽頭癌の出現を認めたため、現在治療中である。

D. 考察

結果として、2例目、3例目、4例目、5例目、9例目に転移陽性のSNが確認されたことになる。その転移巣のサイズの内訳は、3mm大が1例、1mm大が1例、0.5mm大が1例、ITCが2例であった。3mm大のものと1mm大とITCの1例は2mm切片による凍結切片で術中診断がなされていたが、0.5mm大とITCの残りの1例は術中の2mm切片での迅速診断では判明せず、術後のHEで判明していた。以上より、非常に微小な転移を凍結切片による迅速診断のみで全て同定するのは困難であると思われたが、全体を通じて9例中5例が3mm以下のリンパ節転移を診断されていて、これらは通常の検索では転移陽性と判断される確率は非常に低く、SNを精査する重要性を実証する形となった。今後の症例の蓄積を待って、その有用性については更なる検証がされることになるであろう。

E. 結論

舌癌に対するSN生検において、施行した9例全例でSNが同定され、5例のSNの2mm切片での病理検査で、微小な転移を診断することができた。SN以外のリンパ節にのみ転移を認めた症例は存在せず、SN理論が舌癌でも成立すると考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

1) 吉本世一

センチネルリンパ節ナビゲーション頸部郭清術、平成24年12月15日 頸部郭清講習会 名古屋

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
OSNA 法と CK19 免疫染色との比較

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。CK19mRNA のコピー数のカットオフ値を 131copies/ μ L に設定すると、頭頸部癌症例でも OSNA 法は病理診断と同等の精度を持つ可能性がある。

本研究では頭部リンパ節転移診断における OSNA 法の結果と H. E. 染色、CK19 抗体による免疫染色の結果とを比較し、頭頸部扁平上皮癌における OSNA 法の有用性について検討した。

リンパ節を対象とした H. E. 染色、CK19 抗体免疫染色に対する OSNA 法の正診率は、それぞれ 94.4%, 96.3%であった。H. E. 染色が陽性で CK19 抗体陰性のリンパ節は 3 個あり、いずれも OSNA 法による CK19mRNA のコピー数が少ないリンパ節であった。CK19 抗体による免疫染色の結果と OSNA 法による CK19mRNA のコピー数には関連性が示唆され、OSNA 法が頭頸部がんの術中迅速診断においても有用となる可能性があることが分かった。

A. 研究目的

CK19mRNA を用いた OSNA 法はリンパ節転移の新しい診断法として、乳がんにおいて有用性が報告されている。

我々は頭部リンパ節転移診断における OSNA 法の結果と H. E. 染色、CK19 抗体による免疫染色の結果とを比較し、頭頸部扁平上皮癌における OSNA 法の有用性について検討した。

B. 研究方法

対象は 2009 年～2011 年までに当科で手術治療を行い、OSNA 法によるリンパ節転移診断を行った頭頸部扁平上皮癌 21 例 54 個のリンパ節とした。

手術時に、リンパ節は 4 分割し、2 分割は迅速病理及び免疫染色用の検体とし、別の 2 分割は OSNA 用の検体とした。

CK19 抗体の免疫染色では、リンパ節内に染色を認める腫瘍細胞がある場合を CK19 抗体陽性とし、OSNA 法では CK19mRNA のコピー数のカットオフ値は 131 copies/ μ l とした。

本研究は福島県立医科大学倫理委員会の承認を得ており、本人の承諾が得られた場合に実施した。

(倫理面への配慮)

本研究で得られた情報は匿名化し、名前等の個人情報を公表しない。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

54 個のリンパ節を対象とした H.E. 染色に対する OSNA 法の診断結果は、感度 77.8%、特異度 97.8%、正診率 94.4%であった。

また、CK19 抗体による免疫染色に対する OSNA 法の診断結果は、感度 100%、特異度 95.8%、正診率 96.3%であった。

D. 考察

OSNA 法の診断結果は、CK19 抗体による免疫染色の結果とほぼ一致していたが、OSNA 法が陽性であり CK19 抗体陰性を示した 1 個は、H.E. 染色も陰性であった。このリンパ節では、微小転移が OSNA 用の検体にのみ存在していた可能性が考えられた。H.E. 染色が陽性であったリンパ節 9 個中、CK19 抗体陰性は 3 個であり、いずれも OSNA 法による CK19mRNA のコピー数が少ないリンパ節であった。CK19 抗体による免疫染色の結果と OSNA 法による CK19mRNA のコピー数には関連性が示唆された。

E. 結論

今回の検討では、リンパ節を対象とした H.E. 染色、CK19 抗体免疫染色に対する OSNA 法の正診率は、それぞれ 94.4%、96.3%であり、OSNA 法が頭頸部がんの術中迅速診断においても有用となる可能性があることが分かった。

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Matsuzuka T, Takahashi K, Kawakita D, Kohno N, Nagafuji H, Yamauchi K, Suzuki M, Miura T, Furuya N, Yatabe Y, Matsuo K, Omori K, Hasegawa Y: Intraoperative molecular assessment for lymph node metastasis in head and neck squamous cell carcinoma using

one-step nucleic acid amplification (OSNA) assay. *Ann Surg Oncol.* 19: 3865-70, 2012

2) 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 口腔癌治療の新发展 センチネルリンパ節生検、査読有、頭頸部外科、22 巻、115-119、2012

2. 学会発表

1) Matsuzuka T, Takahashi K, Kawakita D, Kohno N, Nagafuji H, Yamauchi K, Suzuki M, Miura T, Furuya N, Yatabe Y, Matsuo K, Omori K, Hasegawa Y:

Intraoperative molecular assessment for lymph node metastasis in head and neck squamous cell carcinoma using one-step nucleic acid amplification (OSNA) assay. The 14th Japan-Korea Joint Meeting of Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery. 2012年4月12-14 日, Kyoto(Japan)

2) 松塚 崇、高橋 克昌、永藤 裕、川北大介、甲能 直幸、大森 孝一、長谷川 泰久: OSNA法による頭頸部扁平上皮癌の頸部リンパ節転移診断—4 施設合同試験—。第113回日本耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会。平成24年5月9日-12日、新潟市

3) 松塚 崇、高橋 克昌、永藤 裕、川北大介、甲能 直幸、富藤 雅之、塩谷 彰浩、大森 孝一、長谷川 泰久: OSNA法による頭頸部扁平上皮癌の頸部リンパ節転移診断—5 施設合同試験—。第36回日本頭頸部癌学会総会・学術講演会。平成24年6月7日-8日、松江市

4) 鈴木政博 松塚崇 横山秀二 他、OSNA法による頭頸部扁平上皮癌の頸部リンパ節転移診断 —CK19免疫染色との比較— 第36回日本頭頸部癌学会 平成24年6月7日、8日 島根市

5) 鈴木政博 松塚崇 大森孝一、頭頸部がんの頸部リンパ節転移診断における OSNA法とCK19免疫染色との比較

第14回SNNS研究会 平成24年11月16日, 17

日 名古屋市

G. 知的所有権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし

2. 実用新案登録
なし

3. その他
なし

分担研究報告書

ICG 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 杏林大学医学部付属病院耳鼻咽喉科頭頸科学教室 教授

研究要旨

センチネルリンパ節(SN)生検を行う際、トレーサーは放射性同位元素を使用している。しかし、この手法は被験者および医療従事者の被曝、また放射性同位元素を使用することによる施設制限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) には赤外光(760-780nm)を当てると励起され、波長の異なる近赤外光(800-850 nm)を発する蛍光特性を持つ。どちらも生体を透過しやすい波長光で、赤外線検出カメラ(Hyper Eye Medical System: HEMS 瑞穂医科工業製)で検出することにより、組織表面下の動態を非侵襲的に観察可能である。この ICG 蛍光特性を利用した SN 同定する手法を動物実験で臨床応用可能である事を以前証明した。今回この結果をもとに、舌癌症例 3 例で ICG 蛍光法の有用性について検討した。経皮的に発光する SN を視認できた。ICG 蛍光法を用いた SN 生検術は従来の放射性薬剤を使用した SN 生検術同様に頭頸部領域でも有用な手法であると考えられ、さらに RI 法の欠点を補うことができると考えられた。

A. 研究目的

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、手続きの煩雑さなどが解消され、さらに放射性同位元素を使用するより ICG の方が低コストのため、医療費の削減にも寄与できる。また経皮的に SN を視認できれば、SN 生検術の精度をさらに向上させることが可能である。

今回この手法を用いて臨床的にリンパ節転移を認めない舌癌症例に ICG 蛍光法を用いた SN 同定法の有用性について検

討した。

B. 研究方法

トレーサーには放射性薬剤 ^{99m}Tc フチン酸と ICG を用いる。まず、術前 1 日前に腫瘍周囲粘膜内 4 か所にフチン酸を 27G 針で注入する。ICG は 25mg を 5mL の注射用水で溶解し、生検術 10 分前に、ICG 1 ml を腫瘍 4 か所の粘膜下に注入し約 10 分後に HEMS を使用して、経皮的に蛍光発光する SN を確認し、同時に γ プロローベ(neo2000)を用いて SN 生検術を行う。摘出した SN を ^{99m}Tc フチン酸と ICG の集積を比較検討することで、ICG 蛍光法の有用性を検討する。その後摘出し

た SN は術中迅速診断を行い、転移陽性ならば頸部郭性術 (ND) を、陰性ならば頸部郭省略を行う Sentinel navigation surgery (SNNS) を行う。

(倫理面への配慮)

本研究は全てヘルシンキ宣言を遵守して実施する。臨床研究の遂行に当たっては「臨床研究に関する倫理指針」に基づいた研究計画を作成し、杏林大学病院倫理委員会の承認を得る。試験前に「同位説明文・同意書」に基づき、研究内容などを患者に説明し、その後間を与え文書により自由意思による同意を得る。

C. 研究結果

経皮的に発光する SN の様子が HEMS を通して視認できた。SN に転移巣を認めた症例では ND を施行した。3 例において、RI 法よりも ICG 蛍光法において多数のリンパ節が同定される傾向にあった。

D. 考察

ICG 蛍光法における SN は 2 次リンパ節である可能性が考えられた。今後 2 次リンパ節にも ICG が流れているかどうか更に症例を増やして検討する必要があると考えられた。また、ICG のコロイド化を含めて、今後検討の余地があるものと考えられる。

ICG 蛍光法を用いた SN 生検術は従来の放射性薬剤を使用した SN 生検術同様に頭頸部領域でも有用な手法であることが

示せた。

E. 結論

ICG の蛍光特性を利用した SN 生検術は従来法と比べ、経皮的にセンチネルリンパ節を観察可能、医療従事者、被験者が被曝しないこと、術中にリアルタイムに使用できること、カラーで鮮明に写ることからを同定しやすいなど、色素法、RI 法の欠点を補うことができると考えられた。

G. 研究発表

学会発表

1) 小柏 靖直, 茂呂 順久, 唐帆 健浩, 甲能 直幸. 舌癌に対して ICG 蛍光法を補助的に用いたセンチネルナビゲーション手術. 第 25 回日本口腔・咽頭科学会.

2) 小柏靖直, 佐藤大, 茂呂順久, 甲能直幸. 頭頸部癌に対して Hyper Eye Medical System (HEMS) を用いた新しいセンチネルリンパ節ナビゲーション手術の試み. 第 14 回耳鼻咽喉科手術支援システム・ナビ研究会.

3) 小柏靖直, 佐藤大, 茂呂順久, 甲能直幸. 口腔・咽頭癌に対してインドシアニングリーン (ICG) 蛍光法を用いたセンチネルナビゲーション手術. 第 14 回 SNNS 研究会学術集会.

分担研究報告書

「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」に関する研究

研究分担者 本間 明宏 北海道大学大学院医学研究科 耳鼻咽喉科頭頸部外科 准教授

研究要旨

早期口腔癌に対する「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」、早期咽喉頭癌に対する「咽喉頭癌に対する経口的切除術とインドシアニングリーン蛍光法センチネルリンパ節生検術による低侵襲手術の研究」の2つの臨床試験を行い、早期頭頸部癌において、センチネルリンパ節理論によるリンパ節微小転移の解明と新たな診断治療法の開発により、個別的で低侵襲かつ機能温存の治療法を確立する。

A. 研究目的

早期口腔癌に対する「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」（UMIN000006510）（以下、「口腔癌センチネルリンパ節（SN）ナビゲーション手術（NS）無作為化比較試験」）を主研究として、早期咽喉頭癌に対する「咽喉頭癌に対する経口的切除術とインドシアニングリーン蛍光法センチネルリンパ節生検術による低侵襲手術の研究」（以下、「咽喉頭癌インドシアニングリーン（ICG）法SN生検術試験」）の2つの臨床試験を行い、早期頭頸部癌において、センチネルリンパ節理論によるリンパ節微小転移の解明と新たな診断治療法の開発により、個別的で低侵襲かつ機能温存の治療法を確立する。

B. 研究方法

1) 口腔癌 SNNS 無作為化比較試験：

臨床的にリンパ節転移を認めないlate T1-T2口腔癌症例について、ラジオアイソトープ（RI）を用いたSN生検法に基づくナビゲーション手術の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、術後機能障害と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。

2) 咽喉頭癌 ICG法SN生検術試験：

早期咽喉頭癌に対して、経口的切除法に非RIのSN生検法-ICG蛍光法を行い、その有用性を検証する。

（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

平成25年3月現在、当院では、1)は2例に対して行い、現在経過観察中である。2)は院内の倫理委員会で承認され、今後実施する予定である。

D. 考察

成果は個別的で低侵襲かつ機能温存の治療法確立から、医療費削減、きんてん化、安全、医療機器産業振興に波及するものと期待される。

E. 結論

1)および2)の両試験の結果は、今後の早期の口腔および咽喉頭癌の個別的で低侵襲かつ機能温存の治療法を確立に寄与するものと期待され、本研究推進に協力していく決意である。

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Taki S, Homma A, Suzuki F, Oridate N, Hatakeyama H, Mizumachi T, Kano S, Furusawa J, Sakashita T, Inamura N, Yoshida D, Onimaru R, Shirato H, Fukuda S. Combined Modality Therapy for Locally Advanced Laryngeal Cancer with Superselective Intra-arterial Cisplatin Infusion with Concomitant Radiotherapy. *Int J Clinical Oncol* 2012 Oct; 17(5):441-6.

2) Sakashita T, Homma A, Oridate N, Hatakeyama H, Kano S, Mizumachi T, Fukuda S. Evaluation of nodal response after intra-arterial chemoradiation for node-positive head and neck cancer. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2012; 269(6):1671-6.

3) Sakashita T, Homma A, Oridate N, Suzuki S, Hatakeyama H, Kano S, Mizumachi T, Onimaru R, Tsuchiya K, Yasuda K, Shirato H, Fukuda S. Regional control after concomitant chemoradiotherapy without planned neck dissection in node-positive head and neck squamous cell carcinomas. *Auris Nasus Larynx.* 2013 Apr; 40(2):211-5.

4) Sakashita T, Homma A, Oridate N, Suzuki S, Hatakeyama H, Kano S, Mizumachi T, Yoshida D, Fujima N, Fukuda S. Platinum concentration in sentinel lymph nodes after preoperative intra-arterial cisplatin chemotherapy targeting primary tongue cancer. *Acta Otolaryngol.* 2012 Oct; 132(10):1121-5.

5) 本間明宏. 【頭頸部扁平上皮癌の最新情報】 頭頸部扁平上皮癌に対する新しい治療戦略 化学療法 同時放射線治療と超選択的動注療法. *JOHNS* 28巻8号 Page1181-1184(2012.08)

2. 学会発表

1) Tomohiro Sakashita, Akihiro Homma, Nobuhiko Oridate, Seigo Suzuki, Hiromitsu Hatakeyama, Satoshi Kano, Takatsugu Mizumachi, Daisuke Yoshida, Noriyuki Fujima, Satoshi Fukuda. Distribution of platinum in sentinel lymph nodes after preoperative intra-arterial cisplatin chemotherapy targeting primary tongue cancer. 5th International Symposium on Sentinel

Node Biopsy in Head and Neck Cancer. 月 24 日
Amsterdam, the Netherlands. 2012 年 5

分担研究報告書

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

研究分担者 塩谷 彰浩 防衛医科大学校耳鼻咽喉科学講座

研究要旨

RI法を用いたセンチネルリンパ節（SN）同定にかわる方法としてのMRI造影剤によるSN同定を行い、動物実験においてはSPECT/CTと比較すると描出能は劣るもののSNの同定は可能であることを報告した。MRI造影剤によるSN同定はヒト臨床応用も行い、RI法による検出との比較を行い、SN同定に有用である可能性を示唆した。またICG法に関する基礎的な動物実験を行い、コロイド化による二次リンパ節流出を遅延しうる可能性について検討した。ICG法は咽喉頭領域のようにRIの術前注入が困難な症例にも術中投与できる利点があり、今後咽喉頭領域における臨床応用が期待される。

A. 研究目的

1. 現在センチネルリンパ節SNの同定にはRI法が主に使用されているが、これにかわるものとして磁性体造影剤（supermagnetic iron oxides: SPIO）やガドリニウム系造影剤による造影MRIを用いたSN同定法の検証を動物実験にて行った。また臨床応用として舌癌症例においてSPECT/CTとSPIO、ガドキセト酸による間質内MRリンパ造影をSN描出に関して比較する。

2. ヒト舌癌症例においては第2相試験の予後解析、第3相試験（ランダム化比較試験）の登録を行った。咽喉頭癌に対してはラジオアイソトープの術前日注入が多施設では困難であるため、これに替わる方法としてICG法によるセンチネルリンパ節同定法の症例登録を行っている。

また第2相研究の一環としてSNにおけるリンパ管新生とリンパ節転移に関する研究（於：金沢大学）に多施設共同としての症例登録を行った。

3. ICG法は放射線被曝もなくSN同定が可能な方法であるが、2次リンパ節以後への流出が早くSN同定までの時間が限られるという問題点がある。ICGのコロイド化によりSN同定が行いやすくなるかの検討を行う。

B. 研究方法

1. 8週齢、6匹のヌードマウスにTc-99mフチン酸、7.4 MBqを粘膜下投与後30分でSPECT/CTを撮影した。Ferucarbotran、gadoxetateを同様な方法で局注し、4.7テスラMRI装置で経時的に撮影した。関心領域をSNに設定し、時間信号強度グラ

フを作成した。MR リンパ造影と SPECT/CT の SN 描出は 3 名の読影医が 4 段階視覚評価した。舌癌 T1, 2N0M0 患者 3 名に腫瘍周囲に Tc-99m フチン酸または Ferucarbotran を局注し、SPECT/CT, MRI を撮影した。

2. ヒト舌癌症例の第 2 相試験、第 3 相試験を愛知がんセンターにおけるプロトコルに準拠して症例の登録を行った。SN におけるリンパ管新生とリンパ節転移に関する研究では院内の倫理委員会承認を得た後に多施設共同での解析に登録した。咽喉頭癌における ICG 法は今後症例を行う予定である。

3. ICG とフチン酸コロイドを比率を変えて混合し、マウスモデルを用いて 1 次リンパ節が同定できる時間、2 次リンパ節へと拡散するまでの経時的変化を観察した。

(倫理面への配慮)

解析を行う検体については被験者の秘密は保全されることを被験者に説明し、遵守した。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が公表されることが無いように十分注意をした。検体の解析に当たっては防衛医科大学校の倫理委員会において研究内容に関する審査を受け承認を得た。動物実験においては当院の倫理委員会にて審査を受けた上で実験を行っている。

C. 研究結果

1. SN 描出平均スコアは ferucarbotran 1.44, gadoxetate 1.67、SPECT/CT 2.67 で SPECT/CT が MR リンパ造影よりも優れ

た成績であった。舌癌患者の検討では SPECT/CT, MRI いずれも良好な SN が描出された。gradient echo 法の一つである fast field echo 法の T1 および T2*WI で SN は低信号領域として明瞭に描出された。注射 10 分後の FFE-T1WI で同定された SN は術前リンパシンチと術中ガンマプローブによって同定された SN と 3 例とも完全に一致した。抽出した SN は、すべて鉄染色陽性であった。

2. 第 2 相試験として 3 例、第 3 相試験として 2 例の症例登録を行った。症例のデータは Web にて登録され解析が行われる予定である。リンパ管新生とリンパ節転移に関する研究では症例の登録を行い、中央での解析が行われる予定である。

3. ICG 単独では SN (1 次リンパ節) は注入直後から描出され、30-60 分で 2 次リンパ節へと拡散した。コロイド化した ICG では 30-60 分で SN が描出され、ピークは 6-12 時間で見られた。

D. 考察

1. MRI を用いた SN 同定法の検証においては SPIO は持続時間に優れ、Gd は画像の質においてすぐれているという結果であった。RI 法を用いた SPECT/CT による描出能には及ばない結果であったが、MRI 法は RI の被曝がなく、また RI の設備がない施設においても可能であるという利点があり、一定の有用性が期待される。

2. 実臨床における SN 同定の手技については安定しているが、症例の登録については予定数を下回っている。ランダム化に対する同意が得られない症例もあるが、十分な説明の上で今後も症例登録を継続

する予定である。

3. ICG 法の問題点である拡散が早いという点に関してコロイド化による解決の可能性があると考えられた。Pilot study の段階であり、今後多数例での検討が必要である。

E. 結論

マウス比較試験で、頭頸部の SN 描出能に関して SPECT/CT は MR リンパ造影より優れた結果が得られた。舌癌患者では ferucarbotran MR リンパ造影は SLNB に用いられる可能性が示された。

これまで RI 法による SN 同定が主流であったが、今後多くの施設で行われるには規制の多い RI 法以外での SN 同定法も開発していく必要がある。MRI-SPIO 法や ICG 法による SN 同定法の確立についても今後、動物実験から臨床応用が期待される。

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Mizokami D, Kosuda S, Tomifuji M, Araki K, Yamashita T, Shinmoto H, Shiotani A. Superparamagnetic iron oxide-enhanced interstitial magnetic resonance lymphography to detect a sentinel lymph node in tongue cancer patients. *Acta Otolaryngol.* 2012 Nov 20. [Epub ahead of print]

2) 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.* 2012 Apr; 26(3):281-5.

3) 塩谷彰浩、富藤雅之、荒木幸仁、山下拓. 初回治療でここまで治る一適応と成績一. 外科的治療。経口的下咽頭部分切除術 (TOVS). *JOHNS* in press

4) 山下拓、富藤雅之、荒木幸仁、溝上大輔、塩谷彰浩. 咽喉頭領域のセンチネルリンパ節研究. *日気食会報.* 2012, 64(2):81.

5) 富藤雅之、山下拓、荒木幸仁、塩谷彰浩. 経口的手術の現状と未来. 頭頸部外科 in press

2. 学会発表

1) Tomifuji M, Araki K, Yamashita T, Shiotani A. Transoral videolaryngoscopic surgery (TOVS) for supraglottic, oropharyngeal and hypopharyngeal malignancies. *American Head and Neck Society* (2012.7)

2) Shiotani A, Mizokami D, Kosuda S, Tomifuji M, Araki K, Yamashita T, Shinmoto H. Superparamagnetic iron oxide-enhanced interstitial MR lymphography to detect a sentinel lymph node in tongue cancer patients. *Collegium Oto-rhino-Laryngologicum Amicitiae Sacrum* (2012.8)

3) 溝上大輔、小須田茂、荒木幸仁、富藤雅之、塩谷彰浩ほか. 頭頸部センチネルリンパ節抽出における SPECT と MRI の対比. 平成 23 年度厚生労働科学研究費 長谷川班 第 2 回班会議 (2012.2)

- 4) 溝上大輔、小須田茂、富藤雅之、荒木幸仁、山下拓、新本弘、塩谷彰浩. 磁性体造影剤を用いたMRリンパ造影によるセンチネルリンパ節の同定. 平成24年度厚生労働科学研究費 長谷川班 第1回班会議 (2012.6)
- 5) 塩谷彰浩. 中・下咽頭癌の経口的切除術 経口的咽喉頭部分切除術 (Transoral Videolaryngoscopic Surgery; TOVS). 耳鼻咽喉科臨床 133 Page61 (2012.07)
- 6) 溝上大輔、小須田茂、荒木幸仁、富藤雅之、藤井博史、北村直人、塩谷彰浩. 頭頸部間質内MRリンパ造影と放射性コロイドSPECT/CT動物実験と舌癌患者による比較検討. 日本核医学会. (2012.10)
- 7) 谷垣 智美, 小須田 茂, 溝上 大輔, 塩谷 彰浩, 松原 修, 鈴木 秀和, 中村 豊, 木下 文雄. 舌癌におけるSPECT/CT、MRIによるセンチネルリンパ節描出能の検討. 核医学 49 巻 4 号 Page430 (2012.11)
- 8) 山下拓、富藤雅之、荒木幸仁、塩谷彰浩. 咽喉頭領域のセンチネルリンパ節研究. 第64回日本気管食道科学会(2012.11)
- 9) 富藤雅之、山下拓、荒木幸仁、塩谷彰浩. 咽喉頭がんに対する経口的咽喉頭部分切除術 Transoral Videolaryngoscopic Surgery (TOVS). 第23回日本頭頸部外科学会(2013.1)
- 10) 塩谷彰浩. 咽喉頭癌に対する経口的手術. 第23回日本気管食道科学会専門医大会 教育講演 (2013.3)

分担研究報告書

頭頸部癌におけるセンチネルリンパ節理論による 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、侵襲なく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法の開発である。

舌癌(T3N0M0)の原発巣に CDDP の動注療法を施行し、原発巣に投与した抗癌剤が SN 理論によりリンパ管経由で SN に移行した。SN と非 SN の CDDP 濃度はそれぞれ、 $1.2 \mu\text{g/g}$ 、 $0.35 \mu\text{g/g}$ であり、有意差があった。標準法とされるアイソトープ (RI) の局注と ICG(インドシアニングリーン)動注の蛍光法による SN 検出率について比較検討した。両法は感度、特異度等ほぼ同じ結果であったが、SN の内、転移を伴い輸入リンパ管の閉塞例では RI の局注法では検出できない 1 症例(偽陰性)があった。ICG 動注法では全ての転移を伴う SN を検出できた。リンパ節転移を伴う舌癌(T3N2bM0)でもほぼ同様の結果であったが、偽陰性がやや多かった。ICG 蛍光法は取り扱いが簡便で廉価でどの施設でも実施可能で、RI 法の欠点である Shine-through もなく頭頸部領域の lymphatic chemotherapy 確立に有用な方法である。

A. 研究目的

舌癌(T3N0M0)の原発巣にCDDPの動注療法を施行し、原発巣に投与した抗癌剤がSN理論によりリンパ管を経由しSNに移行するlymphatic chemotherapyを確立し、舌癌(T3N2bM0)で有効性を検討する。

移リンパ節に動注されないのを確認した。

手術前日に RI を腫瘍周囲に局注し、手術開始前に ICG5mg を動注した。術中 SN を確定し迅速診断施行した。コントロールとして顎下リンパ節の非 SN を 2 個選択して、SN と CDDP 濃度を比較検討した。

(倫理面への配慮)

B. 研究方法

舌癌(T3N0M0)に腫瘍局所に CDDP $50\text{mg}/\text{m}^2$ を 1 週毎に 2 回動注し、1 週後に切除した。動注前に CT-アンギオグラフィーにて転

本学の倫理委員会の承認をうけ、患者に十分インフォームド・コンセントし、同意書を得て実施した。

C. 研究結果

舌癌(T3N0M0) : SN 群と非 SN 群の平均 CDDP 濃度はそれぞれ $1.2 \mu\text{g/g}$, $0.35 \mu\text{g/g}$ であり、有意差があった。7 個の転移リンパ節の内 RI 法では 1 個検出できない偽陰性例があった。ICG 蛍光法は全ての転移リンパ節を検出できていた。

舌癌(T3N2bM0) : SN 群の平均 CDDP 濃度は有意に非 SN 群に比べ高かった。偽陰性率は転移リンパ節 27 個中 RI 法 33%、ICG 法 11%であった。評価病変 22 個の転移リンパ節の治療効果は PR が 57%、SD が 43%であった。検出できなかった転移リンパ節は輸入リンパ管の閉塞例であった。RI 法の局注得法では T3N0 症例に比べ偽陰性が有意に増加した。

D. 考察

原発巣に投与した抗癌剤 CDDP は、SN 理論に基づきリンパ管を経由してリンパ節転移巣に集積した。しかも CDDP はリンパ節内に長期的に滞留し、頭頸部癌でも SN 理論により lymphatic chemotherapy が期待でき、理想的な Targeting Chemotherapy の可能性が期待できる。

ADM でも同様の結果であった。

リンパ節転移を伴う症例でも同様の効果が得られたが、RI 法の局注得法ではリンパ管閉塞によると考えられる偽陰性が

T3N0 症例に比べ有意に増加した。

ICG 動注による蛍光法は、RI 法の欠点であるリンパ管の閉塞や原発巣の影響を受けて検出できない“Shine-through”が無く、偽陰性がなかった。また、RI は取り扱いの制限があるが、ICG 法は廉価でどの施設でも実施できる利点がある。

E. 結論

舌癌に CDDP の動注を施行すると、SN 理論に基づきリンパ管経由で SN に集積し、lymphatic chemotherapy の可能性が高い。転移を伴う臨床例で実用化が期待できた。ICG 蛍光法は SN 検出に有用であった。

G. 研究発表

1. 論文発表

1) J Yokoyama, et al. Impact of lymphatic chemotherapy targeting metastatic lymph nodes in patients with tongue cancer (T3, N2b, M0) using intra-arterial chemotherapy. *Head & Neck Oncology*. 4; 64, 2012.

2. 学会発表

2) 横山純吉 他. 頭頸部癌における近赤外蛍光イメージングを用いた Navigation surgery のための ICG 投与後の最適な手術時期決定の検討. 第 50 回癌治療学会 2012. 10 月 25-27 日横浜市

分担研究報告書

頭頸部扁平上皮癌のセンチネルリンパ節検索の基礎的研究

研究分担者 大倉 康男 杏林大学医学部病理学教室 教授

研究要旨

乳癌のセンチネルリンパ節（SN）転移の検索に OSNA（one-step nucleic acid amplification）法が用いられているが頭頸部扁平上皮癌の SN 転移については検討中である。頭頸部癌の SN 転移を検索するマーカーとしては、CK19 よりは CK903 や CK5/6 が有用であることがわかってきた。こうしたマーカーの検討は原発巣で行われている。今回は生検材料、切除材料での原発巣と転移先のリンパ節病変についてこれらのマーカーの検討を行い、材料によるマーカーの有用性についての詳細を検討する

A. 研究目的

乳癌のセンチネルリンパ節（SN）転移の検索に CK19 の mRNA をマーカーに使用した OSNA（one-step nucleic acid amplification）法が用いられているが、頭頸部扁平上皮癌の SN 転移については検討中である。頭頸部癌の SN 転移を検索するマーカーとしては、CK19 よりは CK903 や CK5/6 が有用であることがわかってきたが、こうしたマーカーの検討は原発巣で行われているが、OSNA 法の検索対象であるリンパ節転移病変が、原発巣あるいは原発巣の一部である生検材料で同一の染色性を示すものかには興味あるところである。原発巣とリンパ節転移部で異なる染色性を示す症例があることが報告されており、今回は、リンパ節転移巣との原発巣の生検・切除手術材料のマーカーの

染色性の差異について検討した。

B. 研究方法

平成 12 年～平成 24 年から杏林大学医学部付属病院で治療され、頭頸部扁平上皮癌のリンパ節転移巣が摘出された症例を 66 例（舌・口腔 30 例、咽頭 26 例、喉頭 10 例）を対象とする。

66 症例の中には放射線療法、化学療法が行われた症例も含んでいる。生検後、リンパ節転移のみ摘出された症例や、放射線化学療法後に手術切除された症例や、原発巣切除後にリンパ節転移で再発した症例も含めて検討する。

生検、切除原発巣、リンパ節転移の組織検体のホルマリン固定パラフィンブロックを用いて、HE 染色および免疫染色を行う。免疫染色に使用する一次抗体は、