

令和元年5月29日現在

機関番号：13802

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K10274

研究課題名(和文) 新規リンパシンチグラフィックパラメーターに基づく非侵襲的皮膚癌転移診断法の開発

研究課題名(英文) Noninvasive method for diagnosis of skin cancer metastasis based on novel lymphoscintigraphic parameters

研究代表者

藤原 雅雄 (Fujiwara, Masao)

浜松医科大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：40456554

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：今回の研究期間で、新たに28例の悪性黒色腫、32例の有棘細胞癌、9例の乳房外Paget病、3例のメルケル細胞癌、2例のエクリン汗孔癌、1例のアポクリン腺癌、1例のsyringomatous carcinomaを経験した。転移陽性例の割合が、悪性黒色腫が29%、有棘細胞癌が3%、乳房外Paget病が33%であった。リンパ流速に基づく新規パラメーター(lymphatic transit rate: LTR)を考案した。転移陽性例では、リンパ流速上昇やリンパ管増生に伴ってLTR値が上昇すると考えられた。四肢悪性黒色腫でのリンパ節転移予測においてLTRは有用であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

腫瘍誘導によるリンパ流変化に関して、マウス悪性黒色腫リンパ節転移陽性例では、腫瘍からリンパ節へ向かうリンパ流速・リンパ流量が増加することが明らかにされた(Tumor-induced lymph drainage)。私達は上記の腫瘍誘導によるリンパ流変化を画像で捉えて皮膚癌の転移診断につなげる方法を発案した。即ち、LTRという画像に基づくパラメーターは、Tumor-induced lymph drainageという概念を皮膚癌の転移診断に用いたものである。画像によって転移陰性が推測できれば、リンパ節転移を調べる目的のセンチネルリンパ節摘出手術を減らすことが可能となる。

研究成果の概要(英文)：In the present study period, 28 new cases of malignant melanoma, 32 cases of squamous cell carcinoma, 9 cases of extramammary Paget's disease, 3 cases of Merkel cell carcinoma, 2 cases of eccrine porocarcinoma, 1 case of apocrine adenocarcinoma, and 1 case of syringomatous carcinoma were experienced. The percentage of metastatic cases was 29% for malignant melanoma, 3% for squamous cell carcinoma and 33% for extramammary Paget's disease. A novel parameter (lymphatic transit rate: LTR) based on lymphatic flow rate was devised. In cases with positive metastasis, it was thought that the LTR value increased with the increase in lymphatic flow rate and lymphatic vessel hyperplasia. LTR was useful in predicting lymph node metastasis in limb malignant melanoma.

研究分野：皮膚癌

キーワード：センチネルリンパ節 皮膚癌 転移 lymphoscintigraphy 悪性黒色腫

## 1. 研究開始当初の背景

センチネルリンパ節 (SLN) は癌が転移する際に最初に到達するとされるリンパ節であり、転移診断は SLN の病理組織学的診断によってなされている。SLN 生検が普及し始めた頃、皮膚癌患者における SLN 描出時間(SAT: Scintigraphic Appearance Time)の測定は、色素が SLN に到達する時間を知るために行われた。リンパシンチグラフィ(LS)の際に、腫瘍周囲に注射された放射性同位元素によって SLN の輪郭が明確に描出される時間を目視で計測して SAT とされてきた。近年、この SAT に関して異なる意義での報告が散見され始めた。長い SAT は SLN への転移の可能性が低いことを示唆し、短い SAT は SLN への転移の可能性を示唆するというものである (Maza, et al. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2003; Cammilleri, et al. *Bull Cancer* 2004; Mahieu-Renard, et al. *Ann Surg Oncol* 2008)。しかし、SAT は目視計測されるため、どの時点 SAT と決めるかが曖昧で不正確であった。

SLN と腫瘍間の距離の影響を考慮して、SLN と腫瘍間の距離を SAT で除した値を新規パラメーター (lymphatic transit rate : LTR) と定義した。LTR は部位によって異なり、転移陰性例では頭頸部、体幹、上肢、下肢の順で低い。“体幹”の皮膚癌では、リンパ節転移陰性例ではリンパ節転移陽性例に比較して LTR が “有意に” 低下することを明らかにした(\* $p < 0.01$ )(Fujiwara et al. *J Dermatol* 2015)。

## 2. 研究の目的

本研究はLTRに基づく転移性皮膚癌のリンパ節転移診断法を開発する。研究期間内に以下のことを明らかにする。

- (1)皮膚癌の存在部位(頭頸部、体幹、上肢、下肢)ごとにリンパ節転移陰性を示唆するLTRのカットオフ値を明らかにする。予備的研究で体幹では $LTR < 1.8 \text{ cm/min}$ のSLNは全て転移陰性であった。
- (2)皮膚癌の種類(組織型:悪性黒色腫、有棘細胞癌など)のLTRへの影響を評価する。“悪性黒色腫と有棘細胞癌でカットオフ値が異なるか”など。
- (3)皮膚癌周辺の細胞環境(リンパ管密度など)とLTR値との関係を調べる。予備的研究において、転移陽性例ではLTRが高値で、腫瘍周辺のリンパ管密度が高いことを確認している。
- (4)生理的因子(年齢、性別、BMI(body mass index))のLTRへの影響を評価する。

## 3. 研究の方法

- (1)LTR(lymphatic transit rate)と“センチネルリンパ節(SLN)転移の有無”との関係の解析

対象は悪性黒色腫・有棘細胞癌・浸潤性乳房外パジェット病等の転移性皮膚悪性腫瘍を有する症例とする。表皮内病変や、理学所見や画像所見で明らかに転移がある症例を除き、全症例で

静的・動的リンパシンチグラフィ（LS）を行う。予備的検討から、リンパ経路は通常、腫瘍と SLN を結んだ直線で近似できる。SLN が複数ある症例もあるため、各症例で、全ての SLN の LTR を測定する。

#### (2)腫瘍の部位ごとの LTR のカットオフ値の設定

各 SLN に対して求められた LTR 値を、腫瘍の部位（頭頸部、体幹、上肢、下肢）ごとに、転移陰性と転移陽性に分類して解析する。SLN 生検症例の削減が目的であるため、カットオフ値は偽陰性がなく特異度が高くなるように設定する。

#### (3)腫瘍の種類ごとの LTR のカットオフ値の設定

各 SLN に対して求められた LTR 値を、腫瘍の種類（悪性黒色腫、有棘細胞癌など）ごとに解析する。カットオフ値は偽陰性がなく特異度が高くなるように設定する。予備的検討では、悪性黒色腫は小病変であっても転移しやすいが、有棘細胞癌は悪性黒色腫に比較するとリンパ節転移の確率は低かった。エクリン汗孔癌やメルケル細胞癌は、頻度は低い転移しやすい癌である。腫瘍ごとに LTR 値のカットオフ値が異なる可能性がある。

#### (4)腫瘍周辺の細胞環境(リンパ管密度など)と LTR 値との関係の検討

予備的研究で、腫瘍辺縁100 $\mu$ m以内で“リンパ管内皮細胞に特異的な抗体(抗D2-40抗体)で染色されたリンパ管”の密度を計測した。転移陽性例では腫瘍周辺のリンパ管密度が高く、LTR が高値であることを確認している(Fujiwara, Sakahara et al. *J Dermatol* 2014)。皮膚癌原発巣の細胞環境が、LTR値とリンパ節転移との関係解明のための鍵となる調査項目と考える。

#### (5)生理的因子(年齢、性別、BMI)の LTR への影響の調査

予備的検討では、年齢や性別の LTR 値への影響は認めていない。しかし、BMI(body mass index)が高い症例で LTR 値が低くなる傾向は否定できない。LTR 値に影響する生理的因子を特定することは、LTR 値による診断上の注意点を決定するために必要である。

#### (6)リンパシンチグラフィ(LS)での SLN 検出精度向上とデータ解析法の改良

申請者らは口腔癌での SLN 生検において、ガンマカメラの改良で SLN 検出精度向上を行ってきた(Tsuchimochi, Sakahara et al. *J Nucl Med* 2008)。引き続き、LS 画像でのノイズやアーチファクトの減少を試みる。SLN と腫瘍間の距離の測定に SPECT/CT の情報利用を検討する。

## 4. 研究成果

2016 年 7 月からのこの研究期間に、新たに 28 例の悪性黒色腫、32 例の有棘細胞癌、9 例の浸潤性乳房外 Paget 病、3 例のメルケル細胞癌、2 例のエクリン汗孔癌、1 例のアポクリン腺癌、1 例の syringomatous carcinoma を経験した（総計 76 例の転移性皮膚悪性腫瘍）。転移陽性例の割合が、悪性黒色腫が 8/28 (29%)、有棘細胞癌が 1/32(3%)、乳房外 Paget 病が 1/3(33%)であった。

転移陽性例では、リンパ流速度やリンパ管増生に伴って SAT 短縮が生じて LTR 値が上昇すると考えられる(Fujiwara, et al. *J Dermatol* 2014, *J Dermatol Sci* 2018)。従って、リンパ節内微少転移でも LTR は上昇するが、進行して SLN が腫瘍で占拠されればリンパ流入ができず本来の SLN が描出されないため LTR は計測できない。故に、LTR は進行癌での検出が劣る。またプラトー到達点決定の曖昧さを補正するためにプラトーの 1/2 への到達時間 (50%SAT) を追加して、腫瘍と SLN 間距離の半分/50%SAT = cLTR (complementary LTR)とした。cLTR も LTR と同じ特徴を有する。

2014 年に LTR の方法論を論文発表、2016 年には体幹皮膚癌での、2018 年には四肢悪性黒色腫でのリンパ節転移予測における LTR の有用性を報告した(Fujiwara, et al. *J Dermatol* 2014, *J Dermatol* 2016, *J Dermatol Sci* 2018)。申請者らが考案した LTR は Tumor-induced lymph drainage という概念を皮膚癌の転移診断に用いたものとして論文中で紹介されている (Patridge, et al. *Scientific reports* 2015)。

次に、SUVmax を参考にした有棘細胞癌と乳房外 Paget 病でのリンパ節転移予測について報告した(Fujiwara, et al. *J Dermatol* 2016, 2017)。これらは有棘細胞癌や乳房外 Paget 病の診断法やレビュー論文に引用されている (Ito, et al. *Expert Rev Anticancer Ther* 2018; Bayan, et al. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2018; Tejera-Vaquero, et al. *J Dermatol* 2018 )。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

### 【雑誌論文】(計 7 件)

- (1) Fujiwara M, Suzuki T, Takiguchi T, Fukamizu H, Tokura Y. Lymphatic transit rate as a novel predictive parameter for nodal metastasis in primary truncal skin cancers. *J Dermatol*. 43(2): 170-4. 2016
- (2) Fujiwara M, Suzuki T, Takiguchi T, Fukamizu H, Tokura Y. Evaluation of positron emission tomography imaging to detect lymph node metastases in patients with high-risk cutaneous squamous cell carcinoma. *J Dermatol*. 43(11): 1314-1320. 2016
- (3) Fujiwara M, Suzuki T, Senoo A, Fukamizu H, Tokura Y. Evaluation of positron emission tomography imaging to detect lymph node metastases in patients with extramammary Paget's disease. *J Dermatol*. 44(8): 939-943. 2017
- (4) Fujiwara M, Suzuki T, Kasuya A, Shimauchi T, Fukamizu H, Tokura Y. Lymphatic transit rate as a predictive parameter for nodal metastasis in primary limb malignant melanoma. *J Dermatol Sci*. 90 (1) 27-34 .2018
- (5) Yamaguchi T, Fujiwara M, Aoshima M, Senoo A, Matsushita Y, Fukamizu H, Tokura Y. Rapid growth of scalp melanoma in a pediatric patient. *J Dermatol*. 46(2); e75-e76, 2019
- (6) 瀧口徹也、瀬野尾歩、太田悠介、水上高秀、永田武士、藤原雅雄、深水秀一. 切除範囲の決定に苦慮した母趾悪性黒色腫の 1 例. *Skin Cancer* 31(2): 139-143, 2016
- (7) 藤原雅雄. センチネルリンパ節の画像評価. *Skin Cancer* 33(2): 145-7, 2018

### 【学会発表】(計 14 件)

- (1) 藤原雅雄、瀧口徹也、他. 下肢皮膚癌切除後の再建(1)-原発巣と再建方法. 第59回日本形成外科学会総会学術集会. 2016年4月13-15日. 福岡県福岡市
- (2) 瀧口徹也、藤原雅雄、他. 下肢皮膚癌切除後の再建(2)-再建方法と転移. 第59回日本形成外科学会総会学術集会. 2016年4月13-15日. 福岡県福岡市
- (3) 藤原雅雄、他. 高リスク有棘細胞癌転移検索におけるPET検査の意義. 第25回日本形成外科学会基礎学術集会. 2016年9月15-16日. 大阪府大阪市
- (4) 藤原雅雄、他. Lymphatic transit rateによる皮膚癌リンパ節転移予測. 第45回静岡形成外科医会. 2017年3月3日. 静岡県静岡市
- (5) 藤原雅雄、瀬野尾歩、瀧口徹也. 乳房外Paget病のリンパ節転移検索におけるPET検査の意義. 第60回日本形成外科学会総会学術集会. 2017年4月12-14日. 福岡県福岡市
- (6) 藤原雅雄. 【腫瘍切除・再建コロシウム4】下肢・足底. 第33回日本皮膚悪性腫瘍学会学術集会. 2017年6月30日-7月1日. 秋田県秋田市
- (7) 藤原雅雄、増田智紀、鈴木大介他. 四肢悪性黒色腫のリンパ節検索における新規パラメータ (lymphatic transit rate) の意義. 第26回日本形成外科学会基礎学術集会. 2016年10月19-20日. 大阪府大阪市
- (8) 藤原雅雄、瀬野尾歩、太田悠介. 女性外陰部皮膚癌治療における皮弁の検討. 第61回日本形成外科学会総会学術集会. 2018年4月11-13日. 福岡県福岡市
- (9) 藤原雅雄、瀬野尾歩、太田悠介. 女性外陰部皮膚癌治療における皮弁の検討. 第34回日本皮膚悪性腫瘍学会. 2018年7月6-7日. 静岡県浜松市
- (10) 藤原雅雄、山口友彦、藤原雅雄、松下友樹. 2歳児に発生した悪性黒色腫の1例. 第53回中部形成外科学会. 2018年7月14日. 長野県安曇野市
- (11) 小林杏奈、山田萌絵、太田悠介、藤原雅雄. 多発腋窩リンパ節転移を認めた皮膚粘液癌の一例. 第48回静岡形成外科医会. 2018年10月5日. 静岡県静岡市
- (12) 小林杏奈、山田萌絵、太田悠介、藤原雅雄. 多発腋窩リンパ節転移を認めた皮膚粘液癌の一例. 第72回東海形成外科学会. 2018年10月6日. 愛知県名古屋市
- (13) 藤原雅雄、山口智彦、瀬野尾歩、山田萌絵、他. 四肢悪性黒色腫におけるリンパ節転移の新規予測指標 (LTR, cLTR) 第27回日本形成外科学会基礎学術集会. 2018年10月18-19日. 東京都新宿区
- (14) 藤原雅雄. 皮膚軟部腫瘍診療ガイドライン作成部門ガイドラインシンポジウム【有棘細胞癌】. 第27回日本形成外科学会基礎学術集会. 2018年10月18-19日. 東京都新宿区

【図書】(計3件)

- (1) 藤原雅雄. 母斑・血管腫・脈管形成異常. 今日の治療指針 2017 版. 医学書院. 1221-2. 東京. 2017 年
- (2) 藤原雅雄, 深水秀一. リンパ節郭清 (腋窩部) ”形成外科治療手技全書 V 腫瘍・母斑・血管奇形”. 波利井清紀, 野崎幹弘監修. 平林慎一, 川上重彦総編集. 磯貝典孝, 山本有平編集. 克誠堂出版. 180-190. 東京. 2018 年
- (3) 深水秀一, 藤原雅雄. 光を駆使した皮膚がんの診断と治療.”浜松医科大学医学部附属病院の最新治療“ 浜松医科大学医学部附属病院編著. バリユーメディカル. 108. 東京. 2019 年

## 6. 研究組織

### (1) 研究分担者

研究分担者氏名：阪原 晴海

ローマ字氏名：( SAKAHARA, harumi )

所属研究機関名：浜松医科大学

部局名：医学部

職名：教授

研究者番号：10187031