

令和 4 年 5 月 25 日現在

機関番号：17701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K09757

研究課題名(和文) 婦人科癌手術の個別化医療に向けたセンチネルリンパ節理論の解明と分子病理診断の応用

研究課題名(英文) Validation of Sentinel Lymph Node Theory and Application of Molecular Pathology Diagnosis for Personalized Medicine in Gynecologic Cancer Surgery

研究代表者

戸上 真一 (Togami, Shinichi)

鹿児島大学・医歯学域医学系・講師

研究者番号：20644769

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,600,000円

研究成果の概要(和文)：子宮がん手術時の摘出リンパ節を用いて、OSNA法と、病理組織検査による転移診断の一致率を評価した。頸癌でOSNA法の感度は80%、特異度97.7%、病理との一致率は95.9%であった。体癌のOSNA法感度は85.7%、特異度93.3%、一致率は92.5%であった。頸癌で不一致を2例(OSNA陽性×病理陰性とその逆)に認め、微小転移巢の局在が原因と考えられた。体癌の不一致は5例で(OSNA陽性×病理陰性)を4例に認め、標本のultrastagingで全例に病理学的微小転移が確認された。残る1例(OSNA陰性×病理陽性)は体癌の原発巣がCK19陰性であることが原因と考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究にて子宮がんでもSNの術中転移診断をOSNA法で代用できる可能性が示唆された。そのため、従来は摘出したSNを2mm間隔にスライスして術中に病理医が手術中という限られた時間内に多くの切片の転移判定を行う代わりにOSNA法での診断が可能となる。術中にリンパ節転移の有無を診断することは、病理にとってかなり負担であるが、その負担が軽減される。また、OSNA法にて転移陰性であれば骨盤リンパ節郭清省略が可能になり、社会的にもリンパ節郭清によって出現する下肢リンパ浮腫を軽減することが可能になり、患者QOL改善や医療費削減に大きく貢献するものである。

研究成果の概要(英文)：Using lymph nodes removed during uterine cancer surgery, the concordance rate between the OSNA assay and the pathological diagnosis was evaluated. The sensitivity of the OSNA assay for cervical cancer was 80%, specificity 97.7%, and concordance with pathology 95.9%. The sensitivity of the OSNA assay for endometrial cancer was 85.7%, specificity 93.3%, and concordance rate 92.5%. Discordance was observed in two cases of cervical cancer (OSNA positive x pathology negative and vice versa), which was thought to be due to the localization of micro-metastases. Discordance was observed in 5 cases of endometrial cancer (OSNA positive x pathology negative) in 4 cases, but pathologic micro-metastases were confirmed in all cases by ultra-staging of the specimens. The remaining case (OSNA negative x pathology positive) was thought to be due to the fact that the primary tumor was CK19 negative.

研究分野：婦人科腫瘍

キーワード：子宮頸癌 子宮体癌 センチネルリンパ節生検 OSNA法

## 1. 研究開始当初の背景

早期子宮頸癌(腫瘍径 3cm 以下)、体癌(筋層浸潤 1/2 以下)に対する標準治療は、骨盤リンパ節郭清を含む手術療法であるが、リンパ節郭清は手術時間の延長、出血量の増加のみならず術後の下肢リンパ浮腫、骨盤リンパ嚢胞、腸閉塞、下肢の神経障害等の合併症が増加し、患者 QOL 低下は大きな社会問題である。我々は、骨盤リンパ節郭清を行った子宮頸癌患者の 16.6% に下肢リンパ浮腫、18.9% に骨盤リンパ嚢胞が出現していることを報告した(参考文献 1)。元来、早期子宮頸癌、体癌の骨盤リンパ節転移頻度は 5% 以下であり、これらの患者に対して安全な骨盤リンパ節郭清省略法の確立は急務である。我々はこれまでの一連の研究で、早期の子宮頸癌、体癌では、センチネルリンパ節(Sentinel lymph node: SN)の同定率や転移診断精度が高いことを見いだした(特に子宮体癌では SN 同定率: 96%、陰性的中率: 100%と良好な結果であった)(参考文献 2)。早期子宮頸癌、体癌において、SN 生検により転移がなければ他のリンパ節摘出を省略する Sentinel node navigation surgery (SNNS) を施行している施設は少なく、さらにロボット支援手術での SNNS を行っている施設はほとんどなく、先進的な研究となる。骨盤リンパ節郭清省略の可否に関しては、摘出した SN を 2mm 間隔にスライスしての術中の病理組織診(HE 染色、免疫染色)によって行われている。しかしながら、SN の同定法(ラジオアイソトープ法や蛍光法)は施設間で様々であり、また手術中という限られた時間内に多くの切片の転移判定を行う病理医には技術と経験が必要であり、非常に負担がかかっているのが現状である。SNNS による骨盤リンパ節郭清省略において、正確な SN の同定と PCR 法などの病理組織診以外の診断法の確立は解決しないといけない喫緊の課題である。

## 2. 研究の目的

早期子宮頸癌、体癌患者において、(1) 術中に RI 法、蛍光法にて SN を精度高く再現性をもって同定し SNNS による骨盤リンパ節郭清省略を確立すること、および(2) SN 転移の術中診断向上のために分子病理診断(OSNA 法)による診断法を確立することを目的とする。

本研究が患者に与える主たる利益は術中の検索でセンチネルリンパ節に転移がなかった症例にはリンパ節郭清が省略できることである。さらに転移診断を分子病理診断(OSNA 法)にて行なうことで患者の予後予測と治療方針の決定に重要な SN 転移の診断をより精度高くできる。本研究では SN 生検の手技の定型化やリンパ節郭清を省略することの予後への影響等の有効性を評価する。さらに術中分子病理診断による転移診断の確立することで、これらを用いた個別化医療を確立することが独創的である。

## 3. 研究の方法

早期子宮頸癌、体癌に対する SNNS による骨盤リンパ節郭清省略の妥当性、および分子病理診断(OSNA 法)による術中転移診断を解明するために、次の 3 つの研究により調べる。

### 研究方法

研究対象は鹿児島大学病院にて手術を行った子宮頸癌、体癌症例とする。以下のような方法で本研究を行っていく。

#### (1) 早期子宮頸癌、体癌手術における術中 SN 同定法の確立

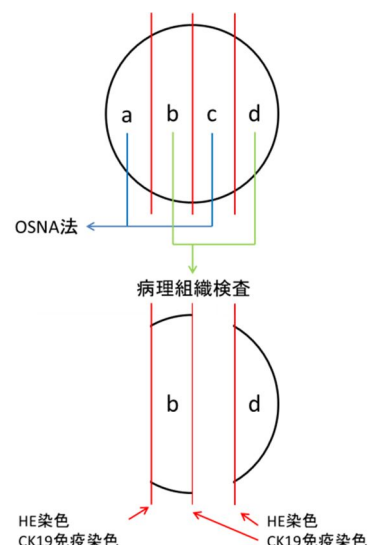
早期子宮頸癌、体癌手術においてそれぞれの SN を摘出する。SN 同定法は RI 法と蛍光法を併用するが、それぞれの同定率、二次以降のリンパ節の描出状況などを評価し、早期子宮頸癌、体癌における最適な SN 同定法を確立する。

## (2) 早期子宮頸癌、体癌手術で同定した SN の転移診断法の確立

同定した SN を 2mm 間隔にスライスして、病理組織診 (HE 染色、免疫染色) 及び分子病理診断 (OSNA 法) にて診断し、OSNA 法測定による陽性/陰性の判定と、病理組織検査による転移有無の判定との一致率を評価することにより転移診断法を確立する。

## (3) 早期子宮頸癌、体癌手術での SN 生検と臨床的予後の評価

SN 生検にて骨盤リンパ節郭清を省略した患者の臨床的予後 (再発、無増悪生存期間) を、過去の骨盤リンパ節郭清症例と比較して予後に差がないこと、及び下肢リンパ浮腫や骨盤リンパ嚢胞、腸閉塞などの QOL が改善していることを確認する。転移巣の大きさに関する予後の検討に関しては、OSNA 法の測定にて、病理組織検査と判定に不一致があったリンパ節を用いて、10 $\mu$ m 毎に切片を作成し、上皮性 図 2: SN 転移診断についてマーカーである CK19 による免疫染色を行い ultra-staging を行う。粗大転移 (2mm 以上)、微小転移 (2mm 未満)、孤立性腫瘍細胞転移 (0.1mm 未満) がそれぞれ予後にどのような影響を及ぼすかも含めて検討する。



## データ解析

- (1) 子宮頸癌、体癌における SNNS 症例を統計学的に解析し、同定法による違い、再発率や術中関連項目 (手術時間、術中出血量、輸血、神経損傷の有無)、骨盤リンパ節郭清が影響しうる術後合併症 (下肢リンパ浮腫、リンパ嚢胞、腸閉塞) の頻度を検討する。
- (2) 分子病理診断 (OSNA 法) での転移診断の感度と特異度を統計学的に解析する。OSNA 法の測定にて、病理組織検査と判定に不一致があった検体や、CK19 mRNA 濃度がカットオフ付近であった検体については、リンパ節検体の病理組織検査、原発巣の病理所見や定量 RT-PCR 解析結果 (他マーカーの発現量確認含む) を含めて詳細に解析する。

## 4. 研究成果

子宮がん手術時の摘出リンパ節を用いて、OSNA 法と、病理組織検査による転移診断の一致率を評価した。頸癌 12 例の 49 リンパ節、および体癌 18 例の 67 リンパ節を 2mm 間隔連続切片で 2 つに分けて比較した。

頸癌で OSNA 法の感度は 80%、特異度 97.7%、病理との一致率は 95.9% であった。体癌の OSNA 法感度は 85.7%、特異度 93.3%、一致率は 92.5% であった。頸癌で不一致を 2 例 (OSNA 陽性 × 病理陰性とその逆) に認め、微小転移巣の局在が原因と考えられた。体癌の不一致は 5 例で (OSNA 陽性 × 病理陰性) を 4 例に認めたが、標本の ultrastaging で全例に病理学的微小転移が確認された。残る 1 例 (OSNA 陰性 × 病理陽性) は体癌の原発巣が CK19 陰性であることが原因と考えられた。

本研究にて子宮がんでも SN の術中転移診断を OSNA 法で代用できる可能性が示唆された。そのため、従来は摘出した SN を 2mm 間隔にスライスして術中に病理医が手術中という限られた時間内に多くの切片の転移判定を行う代わりに OSNA 法での診断が可能となる。術中にリンパ節転移の有無を診断することは、病理にとってかなり負担であるが、その負担が軽減される。また、OSNA 法にて転移陰性であれば骨盤リンパ節郭清省略が可能になり、社会的にもリンパ節郭清によって出現する下肢リンパ浮腫を軽減することが可能になり、患者 QOL 改善や医療費削減に大きく貢献するものである。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Togami Shinichi, Ushiwaka Takashi, Kitazono Ikumi, Yanazume Shintaro, Kamio Masaki, Tanimoto Akihide, Kobayashi Hiroaki	4. 巻 33
2. 論文標題 One-step nucleic acid amplification (OSNA) assay for detecting lymph node metastasis in cervical and endometrial cancer: a preliminary study	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Gynecologic Oncology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3802/jgo.2022.33.e11	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 戸上 真一、永田真子、牛若 昂志、福田 美香、水野 美香、築詰 伸太郎、神尾 真樹、小林 裕明
2. 発表標題 子宮がんにおける摘出リンパ節を用いたOSNA法の有効性評価試験
3. 学会等名 日本婦人科腫瘍学会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	小林 裕明  (Kobayashi Hiroaki)  (70260700)	鹿児島大学・医歯学域医学系・教授    (17701)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------