

令和 4 年 6 月 17 日現在

機関番号：14202

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K20669

研究課題名(和文)リアルタイムリンパ管蛍光造影ナビゲーションを用いたリンパ浮腫治療と制御への応用

研究課題名(英文)Application to treatment and control for lymphedema using real-time fluorescence imaging navigation system

研究代表者

河合 由紀(Kawai, Yuki)

滋賀医科大学・医学部・非常勤講師

研究者番号：10581944

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：リンパ流を視覚的にとらえる ICG 蛍光造影法が、リンパ浮腫治療手技 MLD の科学的評価と改良、乳癌術後リンパ浮腫発症のハイリスク患者の選別、および、腋窩リンパ節郭清時の上肢リンパ流温存のためのナビゲーションとして応用可能か検討した。ラット尻尾の二次性リンパ浮腫モデルにより、圧迫の程度やドレナージ手技の速さによるリンパ流速変化とリンパ浮腫改善度が観察できた。ボランティアでの ICG 蛍光造影では、上肢リンパ流路と流出リンパ節領域のマッピングと MLD 手技の違いによるリンパ流評価が可能だった。MLD によるリンパ流の側副路への誘導効率には多くの要素で変化した。乳癌術後リンパ浮腫患者への応用研究は今後の課題である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、ICG 蛍光造影法を用いてリアルタイムにリンパ流を可視化して MLD 手技を評価できる事を示した。今後 MLD 手技の質の向上と技術革新が図られ、リンパ浮腫治療に独自の新たなエビデンスをもたらすことに繋がるであろう。また、発症頻度が 2.5 倍もある子宮癌・卵巣癌・前立腺癌術後の下肢リンパ浮腫治療へと応用が可能となり癌患者の QOL 向上に寄与すると考えられる。

研究成果の概要(英文)：We examined whether it could be applied as a navigation system that ICG lymphography, which visually captures lymphatic flow, provides scientific evaluation and improvement of the lymphedema treatment procedure of MLD, selection of high-risk patients with postoperative lymphedema after breast cancer, and preservation of upper limb lymphatic flow during axillary lymph node dissection. From the secondary lymphedema model of the rat tail, changes in lymphatic flow velocity and degree of improvement in lymphedema could be observed depending on the degree of compression and the speed of the drainage procedure. ICG lymphography in volunteers allowed lymphatic flow assessment based on mapping of upper limb lymphatic channels and outflow lymph node regions, and differences in MLD procedures. The efficiency of lymphatic flow induction to the collaterals by MLD was altered by many factors. Applied research for patients with postoperative lymphedema of breast cancer is a topic for the future.

研究分野：乳癌外科

キーワード：乳癌 リンパ浮腫 ICG 蛍光造影法 用手的リンパドレナージ ナビゲーション

1. 研究開始当初の背景

癌治療後のリンパ浮腫は癌病巣の切除、リンパ節郭清や放射線治療によりリンパ流路が障害を受けて発症する。術後リンパ浮腫は乳癌で約 5~30%、子宮癌で約 25%が発症し、推定年間約 1 万人もが罹患する。難治性かつ進行性で、日常動作へ障害や外観の変貌のほか、蜂窩織炎や稀に脈管肉腫の合併など、患者の QOL 低下は切実な問題となっている。しかし予防や治療効果に関するエビデンスは未だ十分とはいえない。

リンパ浮腫は発症早期から用手的リンパドレナージ(MLD)を中心とした複合的治療や指導が必要である。患肢皮下のうっ滞したリンパ液は MLD によって、リンパ分水嶺(体液区分線)を越えて障害部位を迂回し、正常なリンパ節へ新たに側副路(迂回路)として誘導される(<http://survivorship.jp>)。しかし、現在施行されている MLD の科学的実証は乏しく、手技が理論通りに最適化された誘導をしているかについて視覚的に検証することは重要である。

肝機能検査薬インドシアニングリーン(ICG)を近赤外光で励起させた蛍光を専用 CCD カメラで可視化した光力学診断は、リアルタイムな観察が可能で RI (ラジオアイソトープ) 法のような放射線被曝も無く、簡便な検査法である。ICG 蛍光造影法は様々な癌でセンチネルリンパ節の同定に用いられ、われわれもいち早く乳癌に取り入れた (Abe, Kawai et al. *Surg Today* 2011)。またリンパ浮腫の補助診断、リンパ管の機能診断にも利用できることを示した (Kawai Y, et al. *J Surg Res.* 2014)。一方で近年、上肢からの流出リンパ路やリンパ節のマッピング (ARM; Axillary reverse mapping) に ICG 蛍光造影法が利用された報告もある (Beek et al. *Breast Cancer Res Treat* 2016)。そこで、この ICG 蛍光造影法を用いてリンパ流を視覚的にとらえることにより、乳癌術後リンパ浮腫発症のハイリスク患者の選別、リンパ浮腫治療手技 MLD の科学的評価と改良、腋窩リンパ節郭清時に上肢リンパ流温存のための術中リアルタイムナビゲーションなどが可能となり、乳癌術後リンパ浮腫発症の予防や治療へ貢献できるものと考えられる。

2. 研究の目的

本研究の目的は、乳癌術後リンパ浮腫発症を予見・予防し、リンパ浮腫治療手技を科学的に評価し改良開発へ役立てることである。具体的には、ICG 蛍光造影システムを用いて画像で視覚的に確認することにより、

- ① ARM を用いて術後リンパ浮腫発症のハイリスク患者を術前に同定すること、
 - ② MLD 手技の適正さを科学的に評価して探索・改良を行い、早期治療によりリンパ浮腫増悪を予防すること、
 - ③ 乳癌手術における腋窩操作時に、ARM をリアルタイムに確認しリンパ流障害の予防に役立てること、
- を目的に研究を行う。

3. 研究の方法

ICG 蛍光リンパ管造影システムを用いて上肢リンパ流を視覚的に確認し、それによって、乳癌術後リンパ浮腫発症の予見、予防や治療手技の客観的な評価・改良と、手術での上肢リンパ流損傷を予防する手技を確立するために、次の様な研究を行う。

この際の ICG 蛍光造影法は、上腕尺側又は手背に ICG + インジゴカルミン混合液を皮内注射し、pde-neo 赤外観察カメラシステム (PDE, 浜松ホトニクス) で観察する。ICG の蛍光流路をモニター上で追跡し、上腕からの流出リンパ流とリンパ節の同定を行う。皮下厚約 2cm の深さを越えると蛍光強度が減弱するが、PDE 用深部観察カプセルで圧迫すると腋窩深部の観察も容易となる。

また、腎機能検査薬であるインジゴカルミン注射液を混合すると青色を呈し、肉眼でもリンパ管の同定がより容易になるため、日常臨床でも蛍光法の SLNB で併用されている。

基礎的研究

動物実験

ラットを用い、ラット尻尾根部でリンパ管を処理し、ラット尻尾の二次性リンパ浮腫を作成する。

ICG 蛍光造影でリンパ流のうっ滞と手術創部を通過するリンパ流の観察を pde-neo 赤外観察カメラシステムを用いて行い、評価法と解析法を確立する。

リンパ流の通過時間は用手的なリンパドレナージで改善するかを、pde-neo 赤外観察カメラシステムを用いて、リアルタイムに観察し評価する。

倫理審査承認後、同意を得られた Healthy volunteer (各 10 人)を対象に、ICG 蛍光造影法にて、

- ① 上肢のリンパ流路と流出していくリンパ節領域のマッピング(ARM)：尺側皮内リンパ路から、腋窩領域への流路や、乳癌手術では通常リンパ流障害を受けない領域（橈側皮内リンパ路から三角筋胸筋リンパ節領域や鎖骨上リンパ節領域）への流路を調べる。
- ② 用手的リンパドレナージ(MLD)手技の違いによるリンパ流の評価：上肢への ICG 注入後、様々な MLD 手技をセラピストが行い、各施術が効率的にドレナージできているかを ICG 移動速度や消失時間を計測し評価する。
- ③ MLD によるリンパ路誘導を視覚的評価のもとに探索：腋窩リンパ節領域を圧迫して上肢リンパ流を遮断したまま上肢 ARM を行う。うっ滞した上肢リンパ流が腋窩領域を迂回して、リンパ分水嶺（体液区分線）を越えるように側副路（迂回路）へと誘導させる手技を、リアルタイムに視覚的評価のもと、MLD 理論に基づき探索する。

乳癌術後リンパ浮腫発症のハイリスク患者の同定と、MLD 手技の評価と改良

倫理審査承認後、同意を得られた乳癌患者を対象に、

- ④ 手術執刀前に①の手技で患側上肢からの ARM と、術中に SLNB のために色素法(インジゴカルミン)で乳房からの注入を行う。リンパ節摘出前に腋窩領域で合流する領域や割合を調べ、術後リンパ浮腫発症との関連因子(流路、割合など)を解析する(30人)。
色素法では乳房からの流路によるリンパ節同定率が低い場合、RI 法へ変更する。
- ⑤ 術後リンパ浮腫の患者に①の手技でリンパ液の新たな流路を評価し、②の MLD 効率化によるリンパ浮腫改善の評価と、③に基づいた効率的な MLD 手技への改良を行う。(50人)
複合的治療の効果が乏しい進行リンパ浮腫患者で、リンパ管静脈吻合術が適応の場合は、術後の複合的ケア再開後に行う。

乳癌手術時の上肢リンパ流障害の予防法の確立

倫理審査承認後、同意を得られた乳癌手術患者(50人)を対象に、

- ⑥ 手術前にあらかじめ患側上腕から ICG 蛍光造影を始めておき、術中は近赤外線光内視鏡システム D-LIGHT P System (KARL STORZ GmbH&Co) を用いる。白色光モードと近赤外光(ICG 蛍光)モードを即時に切り替えることにより、④の解析を基に温存すべき上肢リンパ流路をリアルタイムナビゲーション下に同定しながら、SLNB ないし ALND を行う。癌の根治性を保つため、ARM と乳房からの流路が合流する腋窩リンパ節も摘出を前提とする。
術後リンパ浮腫の発生頻度や重症度(ステージ)などを従来のナビゲーション無しの腋窩郭清時と比較し、ICG 蛍光造影ナビゲーション手術の有用性について評価する。

4. 研究成果

乳癌術後リンパ浮腫発症を予見・予防し、リンパ浮腫治療手技を科学的に評価し改良開発へ役立てるために、次の研究を施行した。

・動物実験

ラットを用い、色素注入によりラット尻尾根部でリンパ管を同定出来た。同定したリンパ管を処理し、ラット尻尾の二次性リンパ浮腫を作成できた。ICG 蛍光造影の pde-neo 赤外観察カメラシステムによるリアルタイム観察と録画により、リンパ流のうっ滞と手術創部を通過するリンパ流の通過を数値化する解析評価法を確立できた。尻尾の末梢から中枢に向けての用手的なリンパドレナージを行うと、圧迫の程度やドレナージ手技の速さにより、リンパ流の通過時間は変化することを観察できた。また、用手的リンパドレナージ直後のリンパ浮腫の改善程度が評価できた。

・Healthy volunteer を対象とした ICG 蛍光造影

- ① 上肢のリンパ流路と流出していくリンパ節領域のマッピング(ARM)を試みた。尺側皮内リンパ路から、腋窩領域への流路が確認できた。しかし、リンパ流の速さには、個人差が大きかった。ICG があまり流れずうっ滞している例も見られた。尺側皮内リンパ路から、橈側皮内リンパ路から三角筋胸筋リンパ節領域や鎖骨上リンパ節領域へと自然に流れる例は観察できなかった。
- ② 用手的リンパドレナージ(MLD)手技の違いによるリンパ流の評価をおこなった。上肢への ICG 注入後、様々な MLD 手技をセラピストが行い、各施術ごとに ICG 移動速度や消失時間を計測し記録した。データは集積中であり、手技毎の比較解析を施行予定である。
- ③ MLD によるリンパ路誘導を視覚的評価のもとに探索するため、腋窩リンパ節領域を圧迫して上肢リンパ流を遮断したまま上肢 ARM を行った。ICG 蛍光造影により、うっ滞した上肢リンパ流が観察できた。腋窩領域を迂回して、リンパ分水嶺（体液区分線）を越えるように側副路（迂回路）へと誘導させる用手的リンパドレナージ手技をおこなった。ドレナージ手技や、ボランティア、および、セラピストにより、側副路へのリンパ流の誘導には差が認められた。

不確定要素が大きいことがわかり、ドレナージ手技のみが変数となるよう調整して、データ収集を行っている。

乳癌術後リンパ浮腫発症のハイリスク患者の同定と、MLD 手技の評価と改良を行うための準備として、人を対象とする生命科学・医学系研究のための研究計画書作成をおこなった。本研究は患者との密な接触を閉鎖空間で行う必要があることから、新型コロナウイルス感染症蔓延下での研究の開始には至らなかった。乳癌術後リンパ浮腫発症のハイリスク患者を対象とした研究が今後円滑に進むよう、多くの文献情報や資料を収集し整理し解析した。

乳癌手術時の上肢リンパ流障害の予防法の確立に関しては、乳癌手術前にセンチネルリンパ節 (SSN) 同定の為に乳房内へ注入した ICG を、近赤外線光内視鏡システム D-LIGHT P System (KARL STORZ GmbH&Co) を用いてリアルタイムナビゲーション下にリンパ流路を追跡出来ることを確認した。リンパ流が SSN へ到達するまで追跡可能であった。白色光モードと近赤外光 (ICG 蛍光) モードを即時に切り替えることにより、リンパ流路と手術視野が確保できることも確かめた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2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 澤田 佳奈, 梅田 朋子, 河合 由紀, 富田 香, 北村 美奈, 辰巳 征浩, 油木 映里, 坂井 幸子, 加藤 久尚, 森 毅, 清水 智治, 安藤 厚生, 花岡 淳, 森谷 鈴子, 谷 眞至	4. 巻 34
2. 論文標題 Radiation-induced osteosarcoma 15 years after breast cancer surgery: a case report and review of literature.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 滋賀医科大学雑誌	6. 最初と最後の頁 1-4
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.14999/1521.00012658	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 -

1. 著者名 Itoi N, Umeda T, Ishida M, Murata S, Mori T, Kawai Y, Tomida K, Shimizu T, Kushima R, Tani M.	4. 巻 38
2. 論文標題 Infiltration of CD4, CD8, CD56, and Fox-P3-positive lymphocytes in breast carcinoma tissue after neoadjuvant chemotherapy with or without trastuzumab	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Breast Dis.	6. 最初と最後の頁 57-65
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3233/BD-180350	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3件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 河合由紀
2. 発表標題 HER2陽性乳がんの薬物療法のキホン
3. 学会等名 第18回日本乳癌学会近畿地方会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 富田香、河合由紀、他
2. 発表標題 当院における乳癌発見契機別の病期分布と術式について
3. 学会等名 第27回日本乳癌学会学術総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 河合由紀
2. 発表標題 AYA世代の乳がん患者と向き合う 若年乳癌の現状と課題
3. 学会等名 第27回日本乳癌学会学術総会
4. 発表年 2019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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------