

機関番号：32645

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2009～2010

課題番号：21791334

研究課題名 (和文) 呼吸器外科手術における赤外線観察カメラシステムを用いた至適切除範囲の研究

研究課題名 (英文) Determination of accurate surgical margin using indocyanine green (ICG) and near infrared spectroscopy in thoracic surgery.

研究代表者

一ノ瀬 修二 (ICHINOSE SYUJI)

東京医科大学・医学部・助教

研究者番号：10424491

研究成果の概要 (和文)：

①蛍光法によるセンチネルリンパ節の同定に関する研究；24 例に施行して 19 例 (79.2%) でセンチネルリンパ節を同定する事ができた。更に 19 例中 17 例 (89.5%) においてセンチネルリンパ節の理論が成立していた。現在最もセンチネルリンパ節の同定率が高いとされるラジオアイソトープ法と遜色ない結果であり、今後臨床応用の可能性が示唆された。

②蛍光法による気腫性嚢胞の至適切除範囲に関する研究；18 例 19 側に施行し、切除断端が陰性と評価されたものは 6 例、陽性が 13 例。うち巨大肺嚢胞 5 例は全例陽性、気胸は 14 例中 8 例が陽性 (57.1%) であった。病理との正診率は 84.2% と高く、術中評価としては有用と考えられた。しかしながら気胸の切除断端陽性と判定されたものが 57.1% と高く、本来考えられた切除ラインより大きい範囲の設定が必要であった。今後は切除ライン設定や観察方法の工夫を行い、更なる精度の向上を図る必要があると思われた。

研究成果の概要 (英文)：

We performed twenty-four cases (male/21, female/3), and SN localization were identified in 19(79.17%) cases by fluorescence method. Accurate identification of sentinel node were 17 out of 19 (89.47%). Each one case of pN1 and pN2, sentinel lymph node (lobar, interlobar) and metastatic lymph node (hilar, subsegmental) were different. It is suggested that the lymph pathway had been changed due to lymph node metastasis to subsegmental and hilar. Otherwise the lymph pathway from subsegmental to hilar was filled with tumor cells, so ICG could not arrive at hilar. The novel technique indicates efficient lymph node identification in lung cancer. To establish the strategy of sentinel lymph node navigation surgery in lung cancer, we need further studies and analysis.

We investigated 19 cases of bulla and detected the surgical margin. Positive surgical margin were estimated 13 cases, and negative were 6 cases. Giant bulla cases and 8 out of 14 cases (57.1%) of pneumothorax showed positive surgical margin. Consistence with pathological surgical margin was 84.2%. It is considered that estimation of surgical margin during the operation by fluorescence method were effective.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2010年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,200,000	660,000	2,860,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・胸部外科学

キーワード：呼吸器外科学、肺癌、センチネルリンパ節、気腫性嚢胞、気胸、ブラ、手術

1. 研究開始当初の背景

肺癌は死亡別悪性腫瘍のトップであり、現在なお増加傾向にある。今後進んでゆくであろう高齢化社会を考えると、肺癌の罹患数はますます増加の一途を辿る事が予測されている。またその5年生存率は高々30%程度であり、癌対策上最も重要な癌である。

約30年に渡って我々の研究室では、中心型早期肺癌に対して光線力学的治療の開発に従事し、1994年に厚生労働省の認可を受けて1996年に保険適応となるに至っている。光線力学治療とは腫瘍親和性光感受性物質に酸素の存在下で、赤色レーザーを照射することによって発生する活性酸素の作用で癌細胞を死滅させる局所療法である。従来は手術が必要であった症例も、本法の適応があれば外科切除を回避する事が可能となる。つまり当科では長年にわたってレーザー治療の研究を積み重ねたことで、レーザーそのものに対する造詣も深く、本研究のように呼吸器外科領域におけるレーザー機器の応用を計画するに至った。

現在の肺癌における標準治療は手術療法・放射線療法・化学療法であり、その中で手術療法の果たす役割は極めて重要である。従来の開胸手術は約30cmの皮膚切開と肋骨切除を要し、術後の痛みや侵襲は大きく患者の負担が大きかった。しかし近年は胸腔鏡などの医療機器の発達に伴い、その侵襲や患者のQOLは格段に改善されている。つまり肺癌手術のみならず、呼吸器外科手術全般の手技が低侵襲化を目指すことが必要である。特に高齢者は基礎疾患として、慢性心不全、呼吸不全による呼吸機能の低下(肺気腫、肺線維症など)、高血圧、糖尿病などを併存していることも多く、より低侵襲性が求められている。加えて異時性・同時性の他癌の合併も稀ではないので、これらのことも念頭に置いて治療指針を決定する必要がある。日本肺癌学会編『EBMの手法による肺癌診療ガイドライン2005年版』¹⁾では高齢者に対する肺癌外科手術の適応を年齢のみで決定しないように勧められている(グレードB)。しかし一方でWadaraらの報告によると、年齢別死亡率は60歳未満では0.4%、60~69歳で1.3%、70~79歳で2.0%となっており、3群間には有意差を認めている事からも高齢であればリスクが高い事を表している²⁾。すなわち以下の項目を攻略することが呼吸器外科領域の手術の適応を拡大し、且つ質の高い医療の提供に繋がると考える。

①積極的縮小手術へのアプローチ

②手術時間の短縮

③周術期の患者QOLの向上

④手術精度の向上(低侵襲化、安全性の確保)

そこで我々の施設では低侵襲化の一翼を担える研究として、平成19~20年度の科学研究費補助金の若手研究(B)で【赤外観察カメラシステム(Photodynamic Eye: PDE)を使用した肺癌センチネルリンパ節ナビゲーション手術(SNNS)の開発】を行ってきた。これはインドシアニングリーンを蛍光色素として局注し、その流れ(血管やリンパ流路)を赤外観察カメラで観察することによって蛍光画像として捕らえる方法である。インドシアニングリーンに760nmの励起光源(レーザー)を当てて、820nm以下の波長をカットするフィルターで観察すると、蛍光画像として捕らえる事を利用した方法である。ブタで行った動物基礎実験では、センチネルリンパ節の同定は困難であったが、それぞれのリンパ節は各肺葉と密接な関係を認めた。すなわち各肺葉によって異なるリンパ流路を、インドシアニンググリーンとPDEで観察することにより同定できる可能性が示唆された。その後東京医科大学病院倫理委員会の承認を得、肺癌患者において症例を積み重ねており、今回はその継続報告も行う。

呼吸器外科領域において最も接する機会が多い疾患として、気胸などの気腫性嚢胞が挙げられる。従来気胸の患者ではブラやブレブ(肺組織の脆弱な部位で、同部位の破綻により気胸が起こる)を切離しても、切離断端付近にブラやブレブが再形成されて再発する事を経験する。一般的に開胸術での再発率は2~3%で、胸腔鏡下(Video-Assisted Thoracic Surgery; VATS)の手術で10~15%³⁾⁴⁾と報告されている。これは開胸して直視で確認したほうが、ブラやブレブの見落としが少なく、至適切離線での切離が可能で、更には壁側胸膜を広範囲に障害することで癒着が起こるためと考えられている。ブラやブレブと正常肺組織の境が明瞭な事は少なく、呼吸機能の温存を考えて切離範囲を可能な限り縮小しようとするが、結果として不十分や不適当な切離(ブラやブレブを切り込んでしまっ、一部それが残ってしまう状態)により再発を起こしている。つまり肺の切離断端は、すべて正常肺の部位であることが再発を抑制することに繋がると考えられている。

2. 研究の目的

①センチネルリンパ節ナビゲーション手術に関する研究；

腫瘍細胞はリンパ流路に乗って最初のリンパ節に辿り着き、この腫瘍からの最初のリンパ節をセンチネルリンパ節という。センチネルリンパ節ナビゲーション手術とは、この最初のリンパ節に転移が無ければ、それより以遠のリンパ節には転移が無いとする概念の上に成り立っている。つまりこのセンチネルリンパ節を同定し、転移していないことが確認できれば以遠のリンパ節郭清を省略できる可能性があり、郭清に伴う合併症を回避し、手術時間の短縮にも繋がり、合理的手術が可能となるかもしれない。

②気腫性嚢胞の至適切除範囲に関する研究；
ブラなどの気腫性嚢胞を切除する際に嚢胞を一部切り込んでしまう事で、同部位の様な脆弱な組織から再発を起こす事が示唆されている。つまり正常肺実質でしっかり切離されていれば、再発率の抑制に繋がるかもしれない。そこで術中に嚢胞と肺実質との境界の評価が可能かどうか検討した。

3. 研究の方法

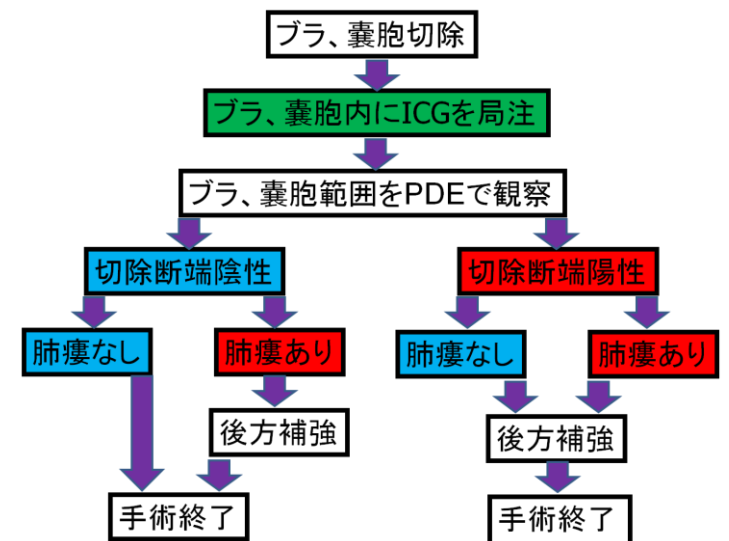
①低侵襲で簡便な方法によりセンチネルリンパ節を同定する可能性のある手技の臨床実験を平成2007年より継続しており、症例集積を行ってきた最終結果を報告する。従来色素法（インドシアニングリーン）は安全かつ簡便であるが、その同定率の低さが問題となっていた。それはリンパ節の炭粉沈着により、色調の変化を肉眼で捉えにくいためであった。そこで我々は赤外観察カメラシステムPDE（Photodynamic Eye（株）浜松フォトニクス、図1）を使用して、蛍光画像によりセンチネルリンパ節を同定しようと計画した。PDEは肉眼では見えない近赤外像を観察するカメラ装置で、組織表面下の観察や、組織中の蛍光試薬（インドシアニンググリーン等）の分布などの確認が可能である。つまり蛍光試薬に励起光源を照射し、その蛍光を高感度カメラで捉えるカメラシステムである。メカニズムとしては、波長760nmの励起光源（LED；light emitting diode）をインドシアニンググリーンに照射し、820nm以下の波長をカットするフィルターを通してCCDカメラにて観察するものである。そうすると励起されたICGが蛍光画像としてビデオモニターに描出される。手術中の腫瘍近傍にインドシアニンググリーンを1-5ml程度局注し、そのリンパ管の走行やセンチネルリンパ節をreal timeに蛍光画像で観察する。また最後にND2a以上のリンパ節郭清を施行し、全てPDEにて蛍光

観察することで肺葉ごとの支配リンパ領域を同定可能か検証した。



<図1；PDE>

②同様の装置を使用して、気腫性嚢胞を切除したブラや嚢胞腔にICGを適量（2.5-0.25 mg/mlを1-3ml）局注し、その範囲を蛍光法にて観察した。切除断端付近まで蛍光法で同定された嚢胞壁が及んでいる場合は断端陽性と判定し、追加縫合などの後方補強（PGAシート、酸化セルロース、フィブリン製剤など複数施行あり）を行った。病理学的に断端付近の肺実質もしくはブラの性状を検索（ステープルラインがブラや嚢胞を切り込んでいないか）し、蛍光法による判定との整合性について検討した。



<図2；手技手順のアルゴリズム>

4. 研究成果

①センチネルリンパ節に関する研究

【症例背景】

性別：男性 21/女性 3

年齢：48-79 歳（平均 67）

PS：ECOG 0

局在：右上 11/右下 2/左上 7/左下 2

臨床病期：

IA 4/IB 12/IIA 1/IIB 2/IIIA 4/IIIB 0/IV 1

病理病期：

IA 3/IB 11/IIA 1/IIB 2/IIIA 5/IIIB 1/IV 1

腫瘍径：15-120 mm（42.58）

組織型：腺癌 17/扁平上皮癌 3/大細胞癌 2/
癌肉腫 1/多型癌 1

〈表 1；肺葉別蛍光画像〉

	切除葉	転移LN	SN	#1	#2	#3	#4	#7	#10	#11s	#12u
1	右上切	-	11s,12u	△	△	△	△	×	×	○	○
2	右上切	2,12u	上縦隔,12u	△	△	△	△	×	×	×	○
3	右上切	-	12u	△	△	△	△	×	○	△	○
4	右上切	2,3,4 12u,13	11s,12u	△	△	△	△	×	×	○	○
5	右上切	10,14	-	○	○	○	○	×	×	○	○
6	右上切	-	12u	△	△	△	△	×	×	△	○
7	右上切	-	11s	×		△	×	×	×	○	△
8	右上切	-	11s	△	○	○	△	×	×	○	○
9	右上切	-	3	△	△	○	△	×	△	×	○
10	右上切	-	-	×		×	×	×	×	○	○
11	右上切	3,4,13	11s,12u		×	△	×	△	△	○	○

○：摘出リンパ節で蛍光を認めたもの

△：摘出リンパ節で蛍光はあるが不明瞭なもの

×

	切除葉	転移LN	SN	#4	#5	#6	#7	#8	#9	#10	#11	#12u	#12l
12	左上切	-	12u		△		×			×	△	○	○
13	左上切	5,12u	5,12u		○		×			×	△	○	○
14	左上切	-	12u		△	△	×				×	△	○
15	左上切	-	12u	○	×		×			×	○	○	
16	左上切	-	12u		×		×			×	×	○	
17	左全摘	12u	11	○			×		×	○	○		
18	左全摘	-	11,12u,5,6	○	○	○	×			○	○	○	○
19	左下切	9,11,12l	-		×	×	×	×	×	×	×		△
20	左下切	-	-		○		×		×	×			○

	切除葉	転移LN	SN	#1	#2	#3	#4	#7	#8	#9	#10	#11s	#11i	#12l
21	右下切	-	12l	×	×	×		×		×	×		×	○
22	右下切	-	-	×		×		×			×	×		△
23	右下切	12l	11i,12l	○		○	○	○		×	○	○	○	○
24	右下切	-	11i,12l					○	×	△	○	○	○	○

【結果】

センチネルリンパ節を 24 例中 19 例の 79.17% に認め、転移リンパ節がセンチネルリンパ節であったものが 5 例 20.83%であった。19 例

のなかでセンチネルリンパ節の概念が成立していたものが、17 例 89.47%であった。また 5 例 20.83%ではセンチネルリンパ節を同定することが出来なかった。

右上葉原発の症例において、気管分岐部リンパ節に蛍光を認めたものは無かった。左上葉原発のものは全例上区発生のものであり、右と同様に気管分岐部リンパ節に蛍光を認めたものは無かった。

【考察】

- 蛍光法によるセンチネルリンパ節の同定率は 79.17%と、従来のアイソトープ法と遜色のない結果であった。アイソトープ法は被曝や手技の煩雑さがあり、本法は有効であると思われた。
- センチネルリンパ節の概念が成り立たなかった症例が 2 例あり、腫瘍径が大きいか或いはリンパ節腫大を伴うものであった。縮小手術の適応は一般的に腫瘍径 2cm 以下とする報告が多く、今後は腫瘍径 2cm 以下の臨床病期 T1aNOMO stage IA に限定すると良いかもしれない。
- 一般的に上葉或いは上区発生の肺癌では気管分岐部リンパ節に転移している事は稀で、蛍光を認めないことから実際にリンパ流路が無い事が解った。つまり現在考えられている選択的リンパ節郭清の概念は妥当性があると思われた。

②気腫性嚢胞の至適切除範囲に関する研究

【症例背景】

症例：男性 18 例、19 側（右 11、左 8）

年齢：18-61（32.4）

疾患：気胸 13、巨大肺嚢胞 5、血気胸 1

治療歴：保存的 4、全例初回手術

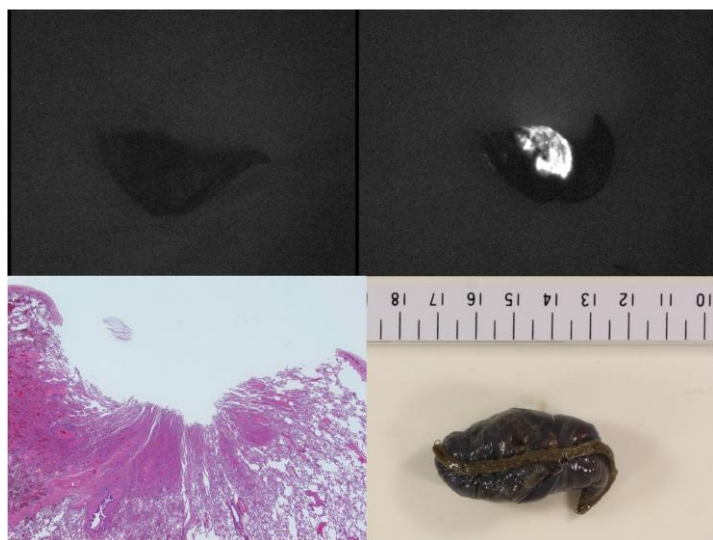
〈表 2；症例結果〉

症例	年齢	左右	ICG mg/ml	追加切除	PGA	セルロース	フィブリン	蛍光断端	病理断端
①	32	lt	2.5	-	-	-	-	+	+
②	18	rt	2.5	-	+	-	-	-	-
③	33	rt	2.5	-	+	-	-	+	+
④	38	lt	2.5	-	+	-	+	+	+
⑤	28	rt	2.5	-	+	-	-	+	+
⑥	29	lt	2.5	-	-	-	+	-	+
⑦	21	lt	2.5	-	+	-	-	-	-
⑧	35	rt	2.5	-	-	+	-	+	+
⑨	35	rt	2.5	-	-	+	-	+	+
⑩	35	lt	2.5	-	-	-	-	-	-
⑪	43	lt	0.25	-	+	-	+	+	+

症例	年齢	左右	ICG mg/ml	追加 切除	PGA	セルロース	フィブ リン	蛍光 断端	病理 断端
⑫	29	rt	0.25	-	-	-	+	-	-
⑬	19	rt	0.25	-	+	-	-	-	-
⑭	20	lt	0.25	-	+	-	-	+	-
⑮	25	rt	2.5	+	+	-	+	+	+
⑯	37	rt	2.5	-	+	-	+	+	+
⑰	39	lt	2.5	-	+	-	-	+	-
⑱	39	lt	2.5	+	-	-	-	+	+
⑲	61	rt	2.5	-	+	-	+	+	+

【結果】

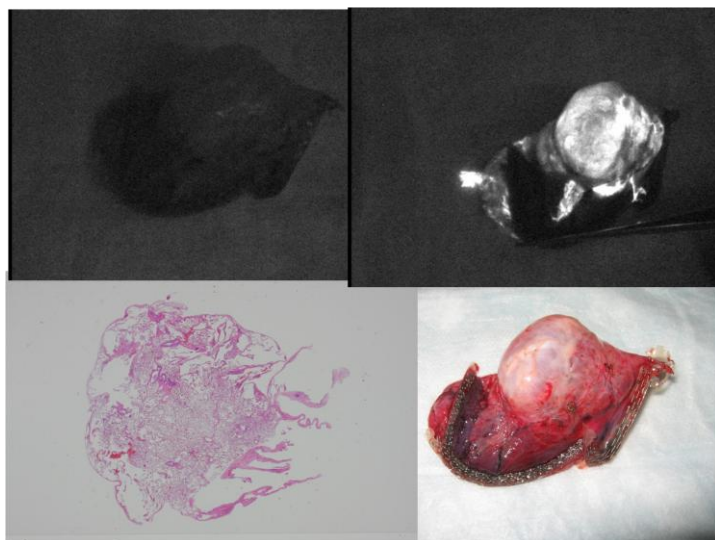
蛍光法にて断端陽性と判断されたものが 13 例で、陰性が 6 例であった。巨大肺嚢胞は 5 例全例、気胸は 14 例中 8 例 (57.1%) が陽性と判定された。蛍光法と病理学的な断端判定に解離を認めたものが 3 例 (正診率 84.2%) あり、蛍光断端陰性で病理断端陽性が 1 例、蛍光断端陽性で病理断端陰性が 2 例であった。蛍光観察にて断端が陽性と判定されたものに対し、再発予防目的に後壁補強 (複数施行あり) を行った。追加部分切除 2、PGA シート 12、酸化セルロース 2、フィブリン糊製剤 9、追加縫合 3 例をそれぞれに施行した。



〈図 3；断端陰性症例〉

図 3 は蛍光法および病理学双方で断端が陰性と評価された症例である。左上は蛍光観察前、右上はインドシアニングリーンを局注して蛍光観察しているもの、左下が病理断端、右下が切除標本の写真である。蛍光エリアから切離断端まで十分な距離があり、嚢胞に切り込んでいないことが判る。また病理学的にも断端は嚢胞を切り込んでおらず、断端陰性と判定された。

図 4 は右上の蛍光エリアと切離断端がほぼ接しており、断端陽性と判定された。病理学的にも切離ライン付近に嚢胞が存在し、断端陽性と判定された。



〈図 4；断端陽性症例〉

【考察】

- 19 例中 16 例 (84.2%) において蛍光法と病理による断端評価は一致しており、術中評価としては有用である事が示唆された。
- 巨大肺嚢胞では疾患特性上、断端陽性になってしまう可能性が高いものと思われる。気胸症例においては 57.1% が断端陽性であり、予め切離線の十分な評価が必要と考えられた。これは胸腔鏡による観察では一方向からの視点のみで、全体の把握に弱点があった可能性がある。
- 観察方法や投与方法の工夫により、今後更なる手技精度の向上を図る必要がある。

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)

[学会発表] (計 11 件)

- ① 一ノ瀬修二、赤外観察カメラを使用した蛍光法による肺癌センチネルリンパ節ナビゲーション手術の検討、第 26 回日本呼吸器外科学会総会、2009 年 5 月 14 日、福岡県 (小倉)
- ② 一ノ瀬修二、肺癌外科手術におけるセンチネルリンパ節の同定とリンパ節転移形式の解析、第 163 回東京医科大学医学会総会、2009 年 6 月 6 日、東京都 (新宿)
- ③ 一ノ瀬修二、赤外観察カメラを使用した肺癌センチネルリンパ節ナビゲーション手術の検討、第 34 回日本外科系連合学会学術集会、2009 年 6 月 19 日、東京都 (文京区)
- ④ Shuji Ichinose, Sentinel Node Navigation Surgery (SNNS) using

indocyanine green (ICG) and near infrared spectroscopy in lung cancer, 13th International Association for the Study of Lung Cancer (IASLC), 3rd Aug 2009, United States (San Francisco)

- ⑤ 一ノ瀬修二、呼吸器外科領域における赤外観察カメラシステムの臨床応用、第30回日本レーザー医学会総会、2009年11月30日、東京都(新宿区)
- ⑥ 一ノ瀬修二、呼吸器外科領域における赤外観察カメラシステムの臨床応用、第110回日本外科学会定期学術集会、2010年4月8日、愛知県(名古屋)
- ⑦ 一ノ瀬修二、赤外観察カメラシステムによる嚢胞性肺疾患の至適切除範囲の検討、第27回日本呼吸器外科学会総会、2010年5月14日、宮城県(仙台)
- ⑧ Shuji Ichinose, Sentinel Node Navigation Surgery (SNNS) in lung cancer using indocyanine green (ICG) and near infrared spectroscopy (fluorescent method), 16th World Congress of Bronchology (WCB), 15th Jun 2010, Hungary (Budapest)
- ⑨ 一ノ瀬修二、赤外観察カメラによる嚢胞性肺疾患の至適切除範囲に関する研究、第14回日本気胸・嚢胞性肺疾患学会総会、2010年9月18日、埼玉県(大宮)
- ⑩ 一ノ瀬修二、赤外観察カメラシステムを用いた呼吸器外科手術の検討、第48回日本癌治療学会学術集会、2010年10月30日、京都府(京都)
- ⑪ 一ノ瀬修二、赤外観察カメラを用いた嚢胞性肺疾患の至適切除範囲決定に関する研究、第31回日本レーザー医学会総会、2010年11月13日、愛知県(名古屋)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

一ノ瀬 修二 (ICHINOSE SHUJI)
東京医科大学・外科学第一講座・助教
研究者番号：10424491

(2) 研究分担者

臼田 実男 (USUDA JITSUO)
東京医科大学・外科学第一講座・講師
研究者番号：60338803

(3) 研究分担者

前原 幸夫 (MAEHARA SACHIO)
東京医科大学・外科学第一講座・臨床研修医
研究者番号：10385106

(4) 研究分担者

大平 達夫 (OHIRA TATSUO)
東京医科大学・外科学第一講座・准教授
研究者番号：40317847

(5) 研究分担者

山田 雅恵 (YAMADA MASAE)
東京医科大学・外科学第一講座・臨床研修医
研究者番号：50421102

(6) 研究分担者

小野 祥太郎 (ONO SHOUTAROU)
東京医科大学・外科学第一講座・臨床研修医
研究者番号：50532214

(7) 研究分担者

石角 太一郎 (ISHIZUMI TAICHIROU)
東京医科大学・外科学第一講座・助教
研究者番号：60424488

(8) 研究分担者

大谷 圭志 (OHTANI KEISI)
東京医科大学・外科学第一講座・助教
研究者番号：70384956

(9) 研究分担者

筒井 英光 (TSUTSUI HIDEMITSU)
東京医科大学・外科学第一講座・准教授
研究者番号：50328233

(10) 研究分担者

池田 徳彦 (IKEDA NORIHIKO)
東京医科大学・外科学第一講座・教授
研究者番号：70246205

[参考文献]

- 1) 日本肺癌学会編, EBM の手法による肺癌診療ガイドライン 2005 年度版, 東京: 金原出版; 2005.
- 2) Wada H, Nakamura T, Nakamoto K, et al. Thirty-day operative mortality for thoracotomy in lung cancer. J Thorac Cardiovasc Surg 1998; 115: 70-73.
- 3) Weissberg D, Refaely Y. Pneumothorax: experience with 1,199 patients. Chest 2000; 117: 1279-1285.
- 4) Naunheim KS, Mack MJ, Hazelrigg SR, et al. Safety and efficacy of video-assisted thoracic surgical techniques for the treatment of spontaneous pneumothorax. J Thorac Cardiovasc Surg 1995; 109: 1198-1204.