

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 18 日現在

機関番号：13802

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24591625

研究課題名(和文)皮膚悪性腫瘍におけるセンチネルリンパ節検索パターンの解析

研究課題名(英文)Analysis of methods to detect sentinel lymph nodes in skin cancer patients

## 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) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：64例の悪性黒色腫、21例の有棘細胞癌、8例の浸潤性Paget病、1例のエクリン汗孔癌、2例のアポクリン腺癌、1例のメルケル細胞癌を検討した。有棘細胞癌と浸潤性Paget病では、PETを用いて、リンパ節転移の予測できる可能性が示された。悪性黒色腫とエクリン汗孔癌はセンチネルリンパ節内の転移巣が微小であっても、すでに後継リンパ節への転移を認めた。有棘細胞癌では、センチネルリンパ節内の転移巣が大きくなって初めて後継リンパ節への転移を認めた。リンパシンチグラフィを用いて、リンパ流速度によるリンパ節転移予測法を開発した。さらに、皮膚悪性腫瘍と上臀リンパ節の関係を明らかにした。

研究成果の概要(英文)：Sixty-four cases of malignant melanoma, 21 cases of squamous cell carcinoma, 8 cases of invasive Paget's disease, one case of eccrine porocarcinoma, 2 cases of apocrine adenocarcinoma one case of Merkel cell carcinoma were enrolled in the present study. In squamous cell carcinoma and invasive Paget's disease, lymph node metastasis may be predicted using FDG-PET. In malignant melanoma and eccrine porocarcinoma, although metastatic lesion in the sentinel lymph node is very small, it was already recognized transition of tumor cells to the successor lymph nodes. In squamous cell carcinoma, metastases to the successor lymph node were observed only after the lesion of the SLN had been increased. We developed a novel method to predict nodal metastasis by lymphatic flow rate, using lymphoscintigraphy. In addition, we clarified the relationship of skin cancer and superior gluteal lymph nodes.

研究分野：皮膚悪性腫瘍 再建外科

キーワード：sentinel lymph node metastasis skin cancer lymphoscintigraphy lymphatic flow rate area extraction method

## 1. 研究開始当初の背景

リンパ節転移のコントロールが、皮膚悪性腫瘍患者の生命予後に大きく影響する。悪性腫瘍の腫瘍細胞が、リンパ管を通じて最初に流入するリンパ節がセンチネルリンパ節(SLN)であり、リンパ行性転移は、まずこのSLNから生じるとされている。従来“皮膚悪性腫瘍患者におけるSLN検索法”として術前リンパシンチグラフィー、術中色素法および術中ガンマプローブ法の3つを組み合わせた方法が推奨されてきた(triple method)。リンパシンチグラフィーおよびガンマプローブ法は放射性薬剤が使用可能な施設でしか行えない。従来のパテントブルーなどを用いた色素法によるSLN検索では、皮膚切開後に色素で染まったリンパ節を見つけるしかなかった。色素法では数十分で色素が退色してしまい、SLN検索が困難となることがあった。

申請者らは最近、“蛍光法による皮膚悪性腫瘍におけるSLN検索法”を開発した(Fujiwara et al. J Plast Reconstr Aesthet Surg. 2008)。インドシアニングリーン(ICG)を腫瘍周辺に皮内注射して、皮膚表面から励起光を当てることでリンパ管内にあるアルブミンと結合したICGが蛍光を発する。その蛍光をCCD(charge-coupled device)カメラで捉えて画像にすることで、体表から“腫瘍部位からのリンパ流”をリアルタイムに追跡できる。蛍光法では数時間以上SLNからの蛍光を検出可能であるため、手術中のSLN検索が容易となった。加えて、蛍光は視覚的に非常に認識しやすく、術者の熟練度に拘らずSLN同定が可能である。放射性薬剤も使用しない。

申請者らの開発した“皮膚悪性腫瘍における蛍光法によるSLN検索法”の論文は、2年間で30件以上の英文論文に引用された。しかし、術前の画像検査や術中のSLN検索を行っていても、リンパ節転移が見逃される場合も少なくない。悪性黒色腫でのSLN検索に

おける偽陰性率(転移リンパ節の見落とし)は15-25%と報告されている。

偽陰性の原因として(1)技術的原因、(2)病理学的原因、(3)生物学的原因が知られている。技術的原因には、外科医・画像診断医の未熟やSLN検索法の不適切な組み合わせが考えられる。病理学的原因としては、現在の病理組織学的検査法における微小転移の検出力の限界が考えられる。生物学的原因としては、腫瘍細胞によるリンパ管の閉塞やそれに伴うリンパ流の迂回、インターバルリンパ節(所属リンパ節以外の、原発巣と所属リンパ節との間にあるリンパ節)の存在が考えられる。

申請者らは偽陰性の原因についても研究してきた。技術的原因に関しては、蛍光法の手技を洗練させてきた(Mizukami et al. The Open Surgical Oncology Journal. 2010)。生物学的原因に関しては上腕中央部のインターバルリンパ節(Mid-arm lymph node と呼称)の外科解剖を初めて報告した(Fujiwara et al. J Plast Reconstr Aesthet Surg. 2010)。生物学的原因に関しては、リンパ節が腫瘍細胞で占拠されてくるとリンパ流に基づく蛍光法では検出困難で、解剖学的形態画像検査や血流に基づく検査(造影CT・造影MRI)が有効な場合があることを示した(Kim et al. J Dermatol. 2011)。

## 2. 研究の目的

本研究は蛍光法を含めた複数のSLN検索法を行い、SLN同定に有効な“皮膚悪性腫瘍におけるSLN検索パターン”を明らかにする。

(1)SLN検索法を、リンパ流に基づく検査(リンパシンチグラフィー、蛍光法、色素法、術中ガンマプローブ法)、解剖学的形態画像検査(CT、MRI)、血流に基づく形態画像検査(造影CT、造影MRI)、代謝に基づく検査(FDG-PET)に分類したうえで、各検索法を実際の症例で行ない、各検索法によるSLN同定率を評価する。

(2)SLNにおける腫瘍転移の状態（SLNに占める腫瘍細胞の割合）によって、各検索法（代謝・リンパ流・解剖学的形態・血流によって分類）のSLN同定率は変化するのか。

(3)腫瘍の状態（組織型、原発巣の状態）に対して有効なSLN検索パターンは何か。

(4)腫瘍の存在部位（四肢・頭頸部・体幹）によって有効なSLN検索パターンは異なるのか。

### 3. 研究の方法

(A)SLN検索法を、リンパ流に基づく検査（リンパシンチグラフィ、蛍光法、色素法、術中ガンマプローブ法）、解剖学的形態画像検査（CT、MRI）、血流に基づく形態画像検査（造影CT、造影MRI）、代謝に基づく検査（FDG-PET）に分類した上で各検索法を行ない、SLN同定率を評価する。

(B)腫瘍の状態（組織型、原発巣の状態、リンパ管浸潤・脈管浸潤の状態）と“SLN内での腫瘍細胞の占拠率”の関連を解析する。

(C)腫瘍の状態（組織型、原発巣の状態、リンパ管・脈管浸潤の有無など）を分類して、それぞれに対してSLNの検出に有効な検索パターンを解析する。

(D)腫瘍の存在部位（四肢・頭頸部・体幹）別にSLN同定に有効な検索パターンを検討する。

### 4. 研究成果

2012年4月からのこの研究期間に、新たに40例の悪性黒色腫、20例の有棘細胞癌、8例の浸潤性Paget病、1例のエクリン汗孔癌、2例のアポクリン腺癌、1例のメルケル細胞癌を経験した（総計72例の転移性皮膚悪性腫瘍）。2009年以降の当科の転移性皮膚悪性腫瘍臨床データを追加して評価を行った。内訳は、64例の悪性黒色腫、21例の有棘細胞癌、8例の浸潤性Paget病、1例のエクリン汗孔癌、2例のアポクリン腺癌、1例のメルケル細胞癌であった（総計97例）。転移陽性例の割合が、悪性黒色腫が28/64（44%）、有棘細胞癌が2/21（10%）、浸潤性Paget病が

3/8（38%）、エクリン汗孔癌が1/1（100%）、アポクリン腺癌が0/2（0%）、メルケル細胞癌が1/1（100%）であった。データ中に転移陽性例および転移陰性例がともに含まれる腫瘍である、悪性黒色腫（64例）、有棘細胞癌（21例）、浸潤性Paget病（8例）を具体的な評価対象とした（総計93例）。

(a)リンパ流に基づく検査（リンパシンチグラフィ、蛍光法、色素法、術中ガンマプローブ法）：リンパシンチグラフィ（LS）は体幹の腫瘍で特に有効であった。体幹の腫瘍からのリンパ流は複数のリンパ節（腋窩や鼠径）に向かうことが多く、LSによってそれを術前に把握できる。LSおよびそれから構成されるSPCET画像によって、上臀リンパ節の解剖を明らかにできた（Fujiwara M, et al. J Dermatol, 2013）。

(b)解剖学的形態画像検査（CT、MRI）および血流に基づく形態画像検査（造影CT、造影MRI）：血管との位置関係やリンパ節形態の理解ができるため、リンパ節の解剖学的局在の把握に造影CTが有効であった。リンパ節の評価にMRIは必須ではなかった。

(c)代謝に基づく検査（FDG-PET）：

(1)悪性黒色腫：リンパ節転移陽性症例であっても放射性同位元素のリンパ節への集積がない場合が、しばしばであった（SUVmax = 0）。また、転移陰性例でもSUVmax 28.0と高値を示す症例があった。従って、悪性黒色腫のリンパ節転移の検索にPET検査は有用とは考えにくかった。

(2)有棘細胞癌：リンパ節転移陽性症例では放射性同位元素のリンパ節への集積が必ずあった。また陽性例ではSUVmaxは7.0以上と高く、陰性例では4.0以下と低かった。従って、有棘細胞癌のリンパ節転移の検索にPET検査は有用と考えられた。

(3)浸潤性Paget病：リンパ節転移陽性症例では放射性同位元素のリンパ節への集積が必ずあった。また陽性例ではSUVmaxは3.7

以上と高く、陰性例では 1.74 以下と低かった。従って、浸潤性 Paget 病のリンパ節転移の検索に PET 検査は有用と考えられた。

従って、有棘細胞癌と浸潤性 Paget 病では、SUVmax のカットオフ値を設けて、リンパ節転移の予測できる可能性が示唆された。

(d)SLN における腫瘍転移の状態 (SLN に占める腫瘍細胞の割合) による SLN 同定率の変化: 悪性黒色腫とエクリン汗孔癌は SLN 内の転移巣が微小であっても、すでに後継リンパ節への転移を認めた。有棘細胞癌では、SLN 内の転移巣が大きくなって初めて後継リンパ節への転移を認めた。

(e)腫瘍の状態 (組織型、原発巣の厚さ) に対して有効な SLN 検索パターン:

(1)悪性黒色腫: 原発巣の厚さが 0.75mm と薄いにも拘らずリンパ節転移を認めた症例があった。一方、原発巣の厚さが 8.0mm と厚いにも拘らずリンパ節転移がない症例があった。従って、自験例では、悪性黒色腫のリンパ節転移の検索に腫瘍の厚さの関与は明らかではなかった。

(2)有棘細胞癌: リンパ節転移を認めた症例では原発巣の厚さが 10mm 以上と厚かった。一方、リンパ節転移がない症例では原発巣の厚さが 6.0mm 以下と薄かった。例外的に疣状癌で原発巣の厚さが 60mm と厚いが、転移陰性の例があった。従って、自験例では、疣状癌を除けば、有棘細胞癌のリンパ節転移の検索に腫瘍の厚さは有用であると考えられた。

(3) 浸潤性 Paget 病: 真皮への浸潤は転移に関与した。

(f)腫瘍の存在部位 (四肢・頭頸部・体幹) によって有効な SLN 検索パターン:

四肢では所属リンパ節 (腋窩・鼠径) に SLN が存在することが多く、通常蛍光法で検索が可能であったが、頭頸部、体幹では予想が困難で LS (および SPECT) 画像の情報は不可欠であった。

(g)リンパ流速度測定によるリンパ節転移予

測の可能性:

LS のダイナミック画像での SLN 周囲領域の放射性同位元素量を表す time-activity curve を作成して、放射性同位元素量がプラトーに達する時間を求めた。その時間を腫瘍 (原発巣) から SLN への到達に要する時間と定義した。その時間で、腫瘍 (原発巣) からセンチネルリンパ節との距離を除いた値をリンパ流速度とする新たなリンパ流速度の測定方法を論文として報告した (Fujiwara M, et al. J Dermatol. 2014)。リンパ流速度は、リンパ節転移陽性症例ではリンパ節転移陰性症例に対して、有意に速かった。その速度に基づいて、SLN 生検を施行せずとも、LS の段階でリンパ節転移の有無の予測できるという臨床的意義を見出せる可能性が出てきた。

## 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 3 件)

(1) Fujiwara M, Sawada M, Kasuya A, Matsushita Y, Yamada M, Fukamizu H, Magata Y, Tokura Y, Skahara H. Measurement of cutaneous lymphatic flow rates in patients with skin cancer: area extraction method. The Journal of Dermatology 41: 498-504, 2014. 査読有

(2) Fujiwara M, Nagata T, Matsushita Y, Fukamizu H. Superior gluteal lymph node metastasis of melanoma. The Journal of Dermatology 40: 852-853, 2013. 査読有

(3) Fujiwara M, Nagata T, Matsushita Y, Ishikawa K, Ohta Y, Fukamizu H. Delayed distally based sural flap with temporary venous supercharging. Microsurgery 33: 534-538, 2013. 査読有

[学会発表] (計 9 件)

(1) 金子愛、藤原雅雄、山田萌絵、他. 悪性黒色腫における腋窩リンパ節検索法の検討(第

一法). 第47回日本形成外科学会中部支部学術集会. 2012年7月7日. 長野県松本市

(2) 藤原雅雄、永田武士、松下友樹、他. 皮膚悪性腫瘍におけるlymphoscintigraphy protocolの検討. 第60回日本形成外科学会中部支部東海地方会. 2012年10月20日. 愛知県名古屋市

(3) 藤原雅雄、山田萌絵、松下友樹、他. Lymphoscintigraphyから得たリンパ流に関する知見. 第3回静岡県創傷治癒研究会. 2012年11月30日. 静岡県静岡市

(4) 藤原雅雄、松下友樹、山田萌絵、他. 腰臀部皮膚悪性腫瘍のリンパ経路. 第61日本形成外科学会中部支部東海地方会. 2013年03月09日. 静岡県駿東郡

(5) 藤原雅雄、松下友樹、山田萌絵、他. Area extraction法(仮称)で評価したリンパ流速度. 第48回中部形成外科学会学術集会. 2013年7月6日. 岐阜県岐阜市

(6) 藤原雅雄、永田武士、太田悠介、他. Delayed distally based sural flap with temporary venous supercharging. 第62回東海形成外科学会. 2013年11月30日. 静岡県駿東郡

(7) 藤原雅雄、瀧口徹也、水上高秀、他. センチネルリンパ節内の転移巣の評価の意義. 第63回東海形成外科学会. 2014年3月8日. 静岡県駿東郡

(8) 瀧口徹也、藤原雅雄、松下友樹、他. 体幹におけるinterval nodeの解剖. 第57回日本形成外科学会総会. 2014年4月9日~2014年4月11日. 長崎県長崎市

(9) 藤原雅雄、金子愛、瀧口徹也、他. 皮膚悪性腫瘍患者におけるリンパ流速度測定：リンパ節転移予測に関連したリンパ管研究. 第23回日本形成外科学会基礎学術集会. 2014年10月9日~2014年10月10日. 長野県松本市

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況(計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 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(病院講師)

研究者番号：40456554

### (2) 研究分担者

( )

研究者番号：

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：