

平成 30 年 6 月 12 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K10044

研究課題名(和文) 蛍光イメージングの応用による肝門部領域癌センチネルリンパ節の同定方法の確立

研究課題名(英文) Near infrared fluorescence light imaging for para-aortic lymph node targeting in hepatobiliary malignancies

研究代表者

野路 武寛 (Noji, Takehiro)

北海道大学・大学病院・助教

研究者番号：10739296

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)：62例の症例に対してICGを用いた肝十二指腸間膜内リンパ節・大動脈周囲リンパ節描出能を評価するための臨床試験を行った。当初の15例でICGの投与量を設定し、5mg/mlのICG投与にてリンパ節描出が可能であった。研究期間に47例で描出能を評価した。肝十二指腸間膜内リンパ節・大動脈周囲リンパ節の描出能は29例・47例に認められ(描出率69%)であった。肝門部領域胆管癌に対してICGを用いたセンチネルリンパ節転移診断を実用化するためには、更なるリンパ節描出能の向上が求められることが明らかになった。

研究成果の概要(英文)：Methods: Sixty-two patients with hepato-pancreatic-biliary malignancies were enrolled in this study. We optimized the dose of ICG in the first 15 patients, and evaluated the detection rate for RLN and PAN in the remaining 47. Results: The optimal administered dose of ICG for detecting fluorescent signals in PAN was 5 mg/mL. However we could detect RLN and PAN fluorescence in only 29 of 42 patients injected with this dose. Conclusion: 5 mg/ml of ICG to visualize lymphatic flow from the hepatoduodenal ligament to PAN using ICG-NIR imaging was failed. Detection rate of RLN and PAN were 69%, respectively. Further improvement for this procedure will be necessary for clinical application.

研究分野：消化器外科学

キーワード：センチネルリンパ節転移診断 光線力学的診断

1. 研究開始当初の背景

【研究1】胆管癌のリンパ節転移は独立した予後不良因子であるが、正確な術前診断は困難である。

よって術前にリンパ節転移の有無により、術式を変更することはできない

切除可能な胆道癌(胆管癌/胆嚢癌)において、リンパ節転移は約25%程度に認められるが、高度侵襲手術を行ってもリンパ節転移陽性例は有意に予後不良であり、5年生存率は10数%に過ぎない(Noji et al. World Journal of Surgical Oncology 2011)。一方でリンパ節転移の無い症例では60%前後の5年生存率を得ることが出来る。つまりリンパ節転移の無い症例に対する現在の手術治療は有用である。術前進行度診断にはCT検査が通常用いられているが、我々は大動脈周囲・肝十二指腸間膜リンパ節転移を術前診断し、術式を決定することは困難である事を明らかにした(Noji et al. British Journal of Surgery 2008; Noji et al Journal of Gastroenterology 2005)。同研究は本邦でまとめられた胆道癌診療ガイドラインに採用され、現在標準的な診療基準とされている。○センチネルリンパ節転移診断の有用性は他領域癌では確立されているが、肝門部領域癌ではセンチネルリンパ節の同定、診断意義についての報告はない。

乳がん・悪性黒色腫などでは、センチネルリンパ節生検が臨床応用され、術後合併症軽減に大きく貢献しているが、肝門部領域癌を対象とした報告は未だない。

【研究2】ICGを用いたセンチネルリンパ節描出能が予想外に低い結果に終わった為、新たな癌描出手法を探索するために、5-アミノレブリン酸(5-ALA)を用いた胆管癌描出手法につき探索を行う事とした。5-ALAはミトコンドリアにおいてグリシンとサクシニルCoAから合成される内因性のアミノ酸である。体外から5-ALAを投与すると、正常細胞では蛍光を認めないへムに速やかに代謝されるが、癌細胞ではporphobilinogen deaminaseの活性が高く、ferrochelataseの活性が低いいため、プロトポルフィリンIX(PpIX)が選択的に蓄積される。PpIXは蛍光物質であり、これを検出して癌の診断を行うことが可能となる。

2. 研究の目的

【研究1】本研究の最終目的は、肝門部領域癌のリンパ節転移陽性例・陰性例を、最低限の手術侵襲にて迅速診断する方法を確立することである。

(1)近赤外線イメージングシステムmini-FLAREを用いて、肝門部領域癌のセンチネルリンパ節を描出する至適条件を定める。

(2)肝門部領域癌の腫瘍存在部位別のリンパ流の同定。

(3)肝門部領域癌のセンチネルリンパ節診断の正診率を明らかにし、臨床応用の可能性を

明らかにする。

【研究2】5-ALAを用いた胆管癌診断法が実用可能かどうか検討する。

3. 研究の方法

【研究1】本研究は肝十二指腸間膜リンパ節の郭清を治療として行う患者を対象として研究1・2を行なったのち、肝門部領域癌に対して3を行う。

(1)近赤外線イメージングシステムmini-FLAREを用いて、肝門部領域癌のセンチネルリンパ節を描出する至適条件を定める。普及品(PDE)との比較検討も行う。他臓器癌で得られた知見を元に、肝十二指腸間膜内のリンパ節を描出するための至適投与条件(投与量・検出にいたるまでの時間を)を検討する。また普及品(PDE:浜松ホトニクス)でも観察を行い、miniFLAREとの条件の比較検討を行う。

(2)肝門部領域癌の腫瘍存在部位別のリンパ流の観察。至適投与条件の検討と共にリアルタイムイメージングにより観察出来たリンパ流を記録する。

(3)肝門部領域癌のセンチネルリンパ節診断の可否を検討する。センチネルリンパ節を生検する。その後肝十二指腸間膜リンパ節および大動脈リンパ節生検または郭清を行い、手術後の病理学的診断結果と比較検討する。

【研究2】(1)胆管癌細胞株に5-ALAを投与し、PpIXの発する蛍光を検出出来るかどうか検討する。(2)マウス胆管癌皮下腫瘍モデルを作成し、固形癌においてPpIXの発する蛍光が検出出来るかどうか検討する。

(3)マウスを用い、腹膜転移モデル・肝転移モデルを作成し、微少な転移巣を検出出来るかどうか検討する。

4. 研究成果

【研究1】

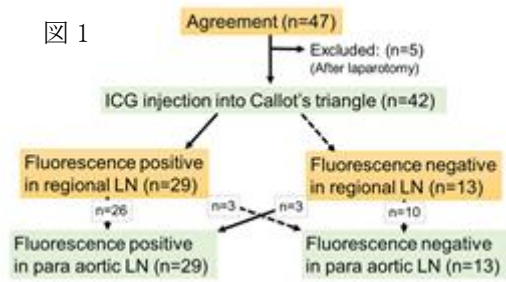
成果1

Mini-FLAREが研究期間途中で、故障したために、市販品であるHEMSを用いて研究を行った。

62例の肝胆膵悪性腫瘍症例に対してICGを用いた肝十二指腸間膜内リンパ節・大動脈周囲リンパ節描出能を評価するための臨床試験を行った。当初の15例でICGの投与量を設定し、5mg/mlのICG投与にてリンパ節描出が可能であることを明らかにした。

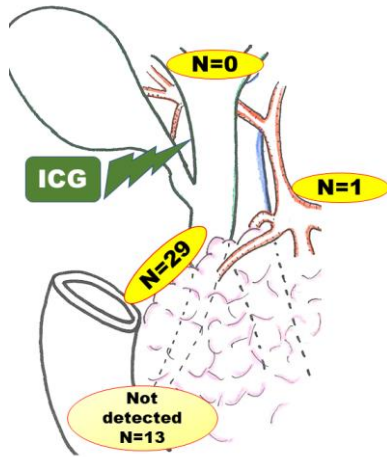
引き続き臨床研究を行い、47例を対象に描出能を評価した。開腹後試験を行いえたのは42例であり、肝十二指腸間膜内リンパ節・大動脈周囲リンパ節の描出能は29例/42例に認められ(描出率69%)であった(図1)

図 1



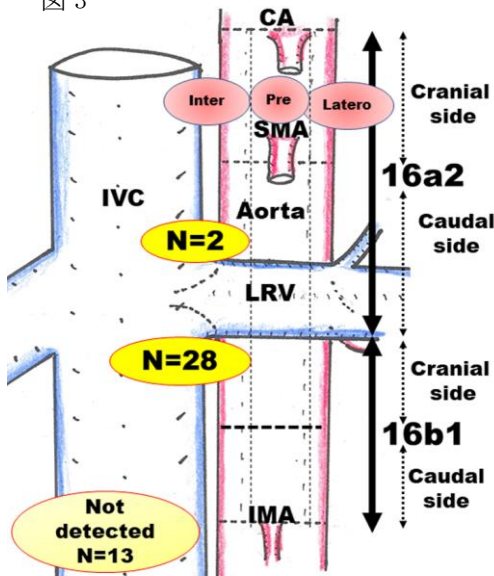
肝十二指腸間膜内リンパ節は、リンパ節番号 12b・13a が主な描出部位であり、1例に 8a をみとめた。(図 2)

図 2



大動脈周囲リンパ節は、リンパ節番号 16b1 が主な描出部位であり、2例に 16a2 をみとめた。(図 3)

図 3

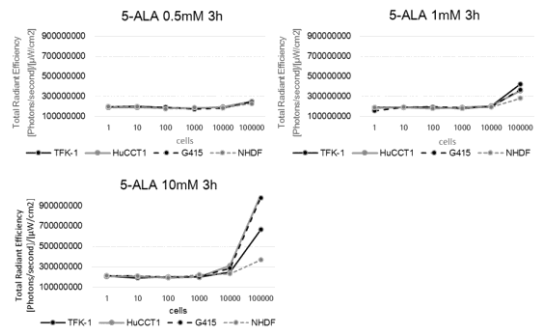


肝門部領域胆管癌に対して ICG を用いたセンチネルリンパ節転移診断を実用化するためには、更なるリンパ節描出能の向上が求めら

れることが明らかになった。

【研究 2】

図 4



ヒト胆管癌細胞株で 5-ALA を投与後 PpIX の集積がえられた (図 4)

図 5

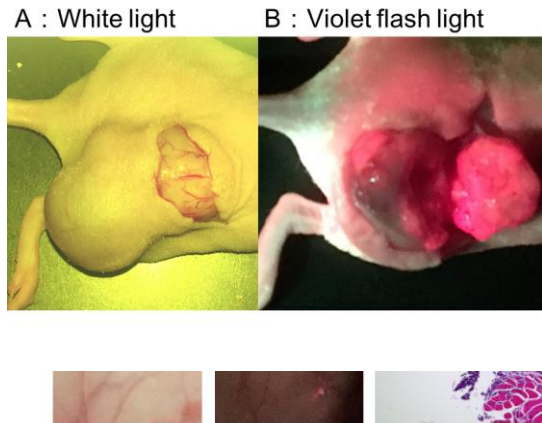
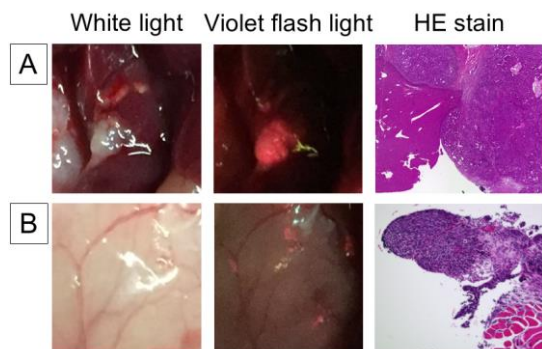


図 6



マウス腹膜転移モデルにおいて、1 mm 程度の腫瘍も 5-ALA を用いて腫瘍が検出出来ることを示した (図 6)

以上の結果より、5-ALA を用いた胆管癌腹膜播種診断は臨床応用可能である事が示唆された。

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 1 件）

- ① Kushibiki T, Noji T, Ebihara Y, Hontani K1, Ono M, Kuwabara S, Nakamura T, Tsuchikawa T, Okamura K, Ishizuka M, Hirano S:
5-Aminolevulinic-acid-mediated Photodynamic Diagnosis Enhances the Detection of Peritoneal Metastases in Biliary Tract Cancer in Mice. In Vivo. 2017; 31(5): 905-908. (査読有)

〔学会発表〕（計 1 件）

- ①野路武寛, 榑引敏寛, 平野 聡: 胆道癌に対する光線力学的診断の試み. 第 53 回日本胆道学会学術集会. 2017. 9. 28. 山形テルサ (山形県山形市)

〔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：
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

野路 武寛 (Noji Takehiro)
北海道大学・北海道大学病院・
助教
研究者番号：10739296

(2) 研究分担者

平野 聡 (Hirano Satoshi)
北海道大学・大学院医学研究院・教授
研究者番号：50322813

中村 透 (Nakamura Toru)
北海道大学・大学院医学研究院・助教

研究者番号：70645796

岡村 圭祐 (Okamura Keisuke)
北海道大学・北海道大学病院・
助教
研究者番号：90724401

(3) 連携研究者 ()

研究者番号：

(4) 研究協力者 ()