

平成 30 年 5 月 29 日現在

機関番号：16101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K19856

研究課題名(和文) 未固定遺体を用いて乳癌術後リンパ浮腫の原理及びセンチネルリンパ節の機能を解明する

研究課題名(英文) Investigation of lymphatic edema after axillary dissection for breast cancer and the function of sentinel nodes of cadavers

研究代表者

中川 美砂子 (NAKAGAWA, Misako)

徳島大学・病院・診療支援医師

研究者番号：20522270

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：未固定遺体によるリンパ網を観察するために、左右鎖骨下動静脈に還流も併用し、近赤外線カメラならびに実体顕微鏡下にインドシアニンググリーンと水溶性ヨード造影剤によるリンパ管造影を実施したが、上肢 腋窩のリンパ管は描出できなかった。乳癌患者228例について、乳房-腋窩-上腕のリンパ網の解明ならびに病理組織学的SLN転移陽性症例におけるSLNとバックアップ腋窩リンパ節郭清によるリンパ節のマッピングを行った。CTリンパ管造影を用いて乳房から腋窩リンパ節に至るリンパ管ならびにSLNの画像所見について解析し報告した。

研究成果の概要(英文)：Lymphangiography-examination was performed in 4 in cadavers under a near infrared camera and a microscope (stereoscopic microscope). Perfusion was also used in the left and right subclavicular artery and vein. Lymphatic flows could not be identified in the cadaver under these conditions. There was a report that studied the lymphatic path in the Thiel method, and it might be necessary to change the fixed method of the cadaver was considered.

Lymph node mapping related to breast-axillary-upper arm lymph network and SLN and back-up axillary lymph node dissection was performed in 228 breast cancer patients. The cases with metastatic SLN were histologically and findings of lymphatic vessels and SLN from breast to axillary lymph nodes using CT lymphangiography were analyzed. Accuracy 89.0%, Sensitivity 92.5%, Specificity 88.6%, Positive predictive value 52.1%, Negative predictive value 98.8% were shown. Lymph node mapping was demonstrated in each case using CT lymphangiography.

研究分野：医歯薬学

キーワード：CTリンパ管造影 リンパ浮腫 センチネルリンパ節生検

1. 研究開始当初の背景

乳がんの術前リンパ節転移陰性症例にはセンチネルリンパ節(SLN)生検が適応され、患者の術後QOLは著しく改善された。しかし術前リンパ節転移陽性症例には腋窩郭清術が必要であり、その術後合併症として上肢のリンパ浮腫が知られている。腋窩郭清症例の6-30%に発生すると言われ、発症すると治療は理学療法のみであり完治は困難である。リンパ浮腫は郭清術によって腋窩のリンパ網を破壊途絶する事で発生すると考えられるが、実際の臨床現場では郭清を行わずともSLN生検だけでも発生するリンパ浮腫を経験する。上腕から腋窩に至るリンパ網を明らかにした研究は少なく、腋窩のリンパ網が明らかになれば、本当に必要な郭清範囲の決定あるいはリンパ浮腫の原因となるリンパ管(温存すべきリンパ管)の温存が可能になると考える。

我々は以前よりSLNの同定にCTリンパ管造影(CTLG)を開発し、すでに実臨床に取り入れている(Radiology 230: 543-552, 2004, Surgery 135: 258-265, 2004)。術前にCTLGを行う事でセンチネルリンパ節の正確な個数、位置そして乳房(乳がん)からのリンパ流が明らかとなる。他の検査法では術前にこの情報を得る事は出来ないため適格なSLN生検には有意義な検査法である。また当科ではSLN生検にICG+インジゴカルミンを用いた色素法+蛍光法でCTLGを再現する事によりSLNを同定している。

本研究はCTLGで培ったリンパ管造影の手技を応用して乳房から腋窩のリンパ流、そして上腕から腋窩のリンパ流を明らかにする事を目的とする。またこの手技を確立する事で片側腋窩郭清後に左右を比較する事で、郭清術によるリンパ流路の変化を明らかにする。これらが明らかになればリンパ浮腫の予測、予防法の確立に寄与できるものと考えられる。

2. 研究の目的

平成24年4月、日本外科学会と日本解剖学会により作成された「臨床医学の教育および研究における死体解剖のガイドライン」が公表され、手術手技研究や先進的な手技開発、臨床研究などの目的で遺体を利用できることになった。徳島大学では平成26年8月に日本で3施設目となるクリニカルアナトミラボが開設され、未固定遺体を用いた臨床研究の実施が可能となる。この施設を利用して乳癌手術治療に応用可能な腋窩リンパ網の解明を行いたい。

3. 研究の方法

(1) 未固定遺体に対するCTリンパ管造影手技を確立、CTリンパ管造影の手技については当科ですでに臨床応用しているSLN同定目的のCTLGを応用するが、未固定遺体にはリンパ管の蠕動運動がないため、トレーサーの量、マッサージの時間、CT撮影のタイミングを決

定する必要がある。

未固定遺体の胸部CTを撮影

乳房傍乳輪、手背、前腕(橈側、尺側)、上腕(橈側、尺側)、手指先端に水溶性造影剤+ICG混合液を1~5mlずつ皮内注射各場所を近赤外線カメラによる蛍光観察装置(HyperEye Medical System)で観察しながらマッサージ

- 蛍光観察装置(HyperEye Medical System)は深度2cmまでは観察可能であり、皮膚表層のリンパ流は観察できる。
- 蛍光観察装置で撮影した動画はSDカードで記録
- 手順2)、3)の所見によって至適投与量、至適撮影時間を決定
- 撮影したCTのDCOMデータはMacBook Proに取り込む

*ご遺体には血流がないため、血管内に注入されたトレーサーは希釈されない。このためリンパ管と血管の区別が困難になる可能性の他、リンパ管の内腔の通過障害の可能性もあるため、鎖骨下動静脈にカニューレションを行い、生理食塩水を用いて十分な解凍と血管内のトレーサーが洗い出されるまで還流を行う。

(2) 腋窩郭清によるリンパ流の変化の観察 片側に腋窩郭清術(Level)を実施する

郭清前に傍乳輪皮内にICG+インジゴカルミン混合液を注射

- 腋窩郭清時は結紮にはすべてベッセルシーリングシステム(LigaSure™)を用い、造影剤の漏出を予防
- 固定リンパ節はパラフィン包埋、再度ICGの取り込みを観察

*本研究を遂行する上での具体的な工夫

本研究で実施するのは薬剤注入と撮影、腋窩郭清であり他研究(体腔臓器の研究)で使用される遺体を使用することが出来る。トレーサーにRIを使用しないためRI管理装置は不要で、研究者に被爆がない。未固定遺体において生体と同様にトレーサーがリンパ管内に入り、流れるかどうかという点が本研究において懸念される点であるが、複数回の注射、複数回のCT撮影が可能ない点においては生体で行う研究より有利ではないかと考えられる。

(3) 病理学的SLN転移陽性症例を用いたSLNの機能の解明

原発性乳がん(非術前化学療法症例)について全例にCTLGを実施、転移診断を前向きに集積

- 単純CTを撮影後、同じ体位で腫瘍側乳頭皮内、傍腫瘍皮下に局所麻酔のうえ、水溶性造影剤を2mlずつ注射
- 60秒のマッサージの後、CTを撮影
- 造影CTを撮影
- 蛍光法+色素法によるSLN生検を実施

(術中迅速診断を併用する) SLN 転移陽性症例には Back up 郭清を追加

- SLN から続くリンパ管(リンパ節)を郭清し、その他のリンパ節を郭清、それぞれに部位を記載、病理組織学的に転移の有無を精査
- CTLG の転移診断を検証、バックアップ郭清リンパ節をマッピングする。

4. 研究成果

当施設に開設されたクリニカルアナトミー教育・研究センターにて、未固定遺体を用いて上肢、乳房の皮内または皮下に水溶性ヨード造影剤とインドシアニングリーンの混合液を加圧して注入、近赤外線カメラによる蛍光法と CT 撮像装置によりリンパネットワークを観察する手順を確立した。

上肢のリンパ管へのカニューレシオンとインドシアニンググリーンと水溶性ヨード造影剤の混合液の注入により赤外線カメラおよび CT scan により腋窩までのリンパネットワークの観察まで行い、腋窩リンパ節郭清の有無による比較検討を行う必要があるという結果を得た。

未固定遺体を用いたリンパ管造影を観察するために、手指からジアグノグリーンと過酸化水素の混合液を皮内注射することで手背に色素の流入を確認することができた。過酸化水素による脈管の拡張効果は認められず、リンパ流に沿った腋窩への流入は認められなかった。同様に、乳房、前腕、上腕、手指、指間さまざまな部位に皮内注射したものの、腋窩への流入は、近赤外線カメラでも検出できなかった。

凍結保存された未固定遺体でのリンパネットワークの研究には、リンパへのカニューレシオンが必要であり、解凍時間の条件設定も必要不可欠であることが明らかとなった(図1)。

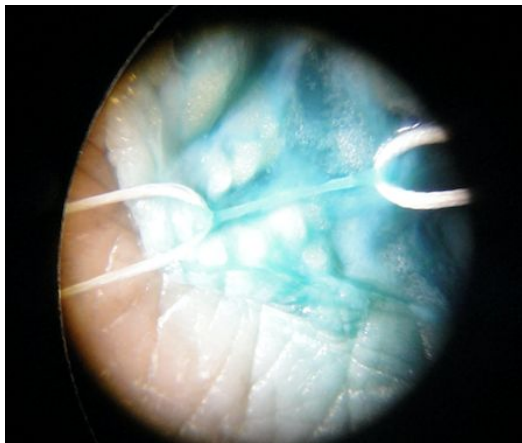


図1 実体顕微鏡所見 色素と過酸化水素水を手指先端に注射し、指間部にてリンパ管を剖出、カニューレシオンにそなえている。

水溶性ヨード造影剤の皮内注射でも CT scan で腋窩への流入は認められなかった。乳癌による腋窩リンパ節郭清術が上肢リンパ浮腫を来す原理を上肢のリンパ流について研究するためには上肢から腋窩までの広範囲なリンパ管の描出が必要不可欠であった。

以上より、色素ならびに水溶性ヨード造影剤圧入することにより腋窩までリンパ管を描出することが可能になると考えられた。そのため、近赤外線カメラならびにマイクロスコープ(実体顕微鏡)を用いてリンパ管に3G ハミルトンニードルのカニューレシオンを行い、インドシアニンググリーンと水溶性ヨード造影剤混合液によるリンパ管造影を4例に実施した。

さらに、リンパ管の停滞を改善することを目的として、左右鎖骨下動静脈に還流も併用した。これらの手法を用いたものの腋窩までのリンパ管は描出できなかった(図2a, 2b)

図2a 近赤外線カメラ所見(注入直後) 手背のリンパ管から注入されたジアグノグリーンと水溶性ヨード造影剤の混合液の流れが蛍光として確認できる。



図2b 近赤外線カメラ所見(手背マッサージ施行後) 注入後上肢から腋窩までのリンパ管の描出は確認できなかった。



これまでに Thiel 法においてリンパ路を研究した報告があることから、今後、広範囲にわたるリンパ管の描出やセンチネルリンパ節に関する研究を行うにあたっては、未固定遺体よりも、Thiel 法により固定されたご遺

体を用いる研究が適当であると考えられた。

また、臨床におけるリンパ節マッピングはCTリンパ管造影を用いることにより患者毎に腋窩リンパ網の同定とセンチネルリンパ節、ならびにリンパ節転移の診断の可能性について考察し論文としてまとめることができた。まず、乳房-腋窩-上腕のリンパ網の解明ならびに病理組織学的センチネルリンパ節転移陽性症例におけるセンチネルリンパ節とバックアップ腋窩リンパ節郭清によるリンパ節のマッピングを行った。次いで、Tis-T2の原発性乳癌患者228例について、CTリンパ管造影を用いて乳房から腋窩リンパ節に至るリンパ管ならびにセンチネルリンパ節の画像所見について解析した。

センチネルリンパ節転移陽性所見として、A.センチネルリンパ節の Partial staining, B.Stagment lymph vessels, C.Dilated lymph vessels, D. Detoured lymph vessels の4つのパターンに着目した。うち27例に腋窩リンパ節転移が認められ、正診率 89.0%, 感度 92.5%, 特異度 88.6%, 陽性的中率 52.1%, 陰性的中率 98.8%であった。CTリンパ管造影により術前に腋窩リンパ節転移陽性と診断し得た症例は25例あり、2mm未満の微小転移の1例とレトロスペクティブにパターン D. Detoured lymph vessels により真のセンチネルリンパ節が同定できていなかった1例であった。今後さらなる正診率の改善が必要であるが、腋窩リンパ節のネットワークを術前に同定することにより、腋窩リンパ節転移陰性の乳癌患者に対する安全かつ正確なリンパ節生検が可能であること、さらには不要なセンチネルリンパ節生検の回避の可能性が示唆された (Breast Cancer.23:519-524, 2016, Misako Nakagawa et al.)。

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)

Misako Nakagawa, Masami Morimoto, Hirokazu Takechi, Yukiko Tadokoro and Akira Tangoku.
Preoperative diagnosis of sentinel lymph node (SLN) metastasis using 3D CT lymphography (CTLG)
Breast Cancer, 23, 519-524, 2016,
10.1007/s12282-015-0597-8

〔学会発表〕(計1件)

中川美砂子、森本雅美、武知浩和、田所由紀子、平田有紀奈、山尾雅美、西尾進、丹黒章
CTリンパ管造影(CTLG)とVolume Navigationシステムを用いたセンチネルリンパ節生検
第23回日本乳癌学会
2015年7月2日～4日、東京国際フォーラム
(東京都千代田区)

6. 研究組織

(1)研究代表者

中川 美砂子 (NAKAGAWA, Misako)
徳島大学・病院・診療支援医師
研究者番号：20522270