

平成 21 年 4 月 30 日現在

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2007～2008

課題番号：19591618

研究課題名（和文） 肺癌における術中リンパ節微小転移検出方法の確立に向けた総合的研究

研究課題名（英文） The intraoperative diagnosis of lymph node metastasis including micrometastasis

研究代表者

太田安彦

国立病院機構金沢医療センター・臨床研究部・医長

研究者番号：00272964

研究成果の概要：

凍結新鮮標本に対して抗サイトケラチン抗体を用いた免疫染色を迅速ヒストファイン法を用いて施行し、H.E.染色に基づく従来の迅速診断法および通常の免疫染色法と比較検討した。今回の検討で、抗サイトケラチン抗体を用いた免疫染色を迅速ヒストファイン法により実施する Rapid 法により、通常の免疫染色と同様の鋭敏度、特異度をもって転移リンパ節を検出できることが判明した。ただし、従来法で検出不可能で、免疫染色法で検出された微小転移例は認められず、診断医としての病理医の微小転移に対する認識から診断のスキルが向上し、通常法においても微小な転移を認知できるようになった可能性が示唆された。Rapid 法の従来の迅速診断法に比しての必要性に関しては、症例の集積と共になお慎重に評価する必要があると思われる。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
19年度	2,200,000	660,000	2,860,000
20年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

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：肺癌 リンパ節転移 微小転移

1. 研究開始当初の背景

I 期症例に対する手術においては選択的な縮小術を通して低侵襲化を図ることが理想だが、リンパ節転移の術前診断の精度に問題がある。術前診断は CT によるリンパ節の大きさと FDG-PET の所見に委ねられるが、微小転移の診断能力は以前十分とは言えず、リンパ節郭清の省略を通して手術の縮小化を図る際には、術中にリンパ節のサンプリングを行い、リンパ節転移の有無を迅速診断することが必要である。しかしこれまでの我々の研究結果からは、従来の病理学的診断（H.E.染色所見に基づ

く病理診断）にてリンパ節転移なしと診断された術後病期 I 期の非小細胞肺癌より摘出された 3000 個以上におよぶリンパ節を抗サイトケラチン抗体を用いた免疫染色法にて Retrospective に検討を行った結果、約 30% の症例に微小リンパ節転移が存在することが判明した。さらに、2 cm 以下の小型の肺腺癌に限った場合でも、なお 20% の症例に微小リンパ節転移が存在し、とりわけ腺癌においては単に原発腫瘍の大きさのみからリンパ節郭清を省略する縮小術の適応を推し量れないことが明確となった。加えて、研究対象となった症例の術後経過

観察を通してリンパ節転移陽性群の治療成績は陰性群に比し統計学的に有意に不良であることが判明した。従って、臨床病期 I 期の非小細胞肺癌に対して微小転移をも含めたリンパ節転移診断を術中に如何に行うかが、今後縮小手術を推進してゆく上で必要不可欠な検討課題となっている。

2. 研究の目的

肺癌における積極的縮小術を推進する上での基盤となる微小転移をも含めた術中リンパ節転移の合理的な診断方法の確立を目指して、簡便且つ実用的な術中リンパ節転移診断法の開発と微小リンパ節転移の術中診断方法の確立につき総合的な研究を行う。臨床病期 I 期の非小細胞肺癌に対して微小転移をも含めたリンパ節転移診断を術中に如何に行うかが、今後縮小手術を推進してゆく上で必要不可欠な検討課題と言える。今回、肺癌における積極的縮小術を推進する上での基盤となる微小転移をも含めた術中リンパ節転移の合理的な診断方法の確立を目指して、簡便且つ実用的な術中リンパ節転移診断法の開発と微小リンパ節転移の術中診断方法の確立につき総合的な研究を行う。

3. 研究の方法

1) リンパ節における微小転移の術中診断方法としては抗サイトケラチン抗体を用いた免疫染色を迅速ヒストファイン法を用いて試行する。迅速ヒストファイン法は約30分で免疫染色結果を得ることが可能であり、商品としてキット化されていることから染色手技も簡便であり、術中迅速診断法としての有用性が近年指摘されている。本研究では、肺癌症例のリンパ節における連続凍結切片を用いて迅速ヒストファイン法のリンパ節微小転移診断精度を通常の病理診断法および通常の免疫染色法との比較のもとに検討し、肺癌への応用性を検討した。

2) 術中に肺葉切除を行う前に、5%ブドウ糖溶液にて希釈したビタミンB2 (2 mg) 水溶液を腫瘍の近傍に注入し蛍光内視鏡にて蛍光物質が流れ込むリンパ流ならびにリンパ節を観察するとともにDVDレコーダーに映像を記録する。蛍光感知カメラはフィルターの交換により白色モード、自家蛍光モード、外因性蛍光(ALA)モードに変換可能なD-light AF system (Storz社, Germany) を

用いて肉眼評価を行うとともに、極微弱光測定器フotonカウンター (Scientex社製 Model PHC3001) を使用して蛍光発色光のリアルタイムでの定量評価を試みる。評価はリンパ節を摘出する前とともに摘出後に ex vivo でも同様の評価を行う。蛍光物質の観察を通して術中に作成したリンパ系診断とマッピングと郭清したリンパ節の病理を照らし合わせて、センチネルリンパ節同定が可能であった症例の頻度ならびに特異度、感度、陽性的中度、陰性的中度を評価した。

4. 研究成果

抗サイトケラチン抗体を用いた免疫染色を迅速ヒストファイン法により実施する **Rapid** 法により、通常の免疫染色と同様の鋭敏度、特異度をもって転移リンパ節を検出できることが判明した。ビタミン B2 は生体内において比較的すみやかにリンパ管内へ移行し、所属リンパ節へと到達することが示唆された。視認性も良好であり、蛍光法によるセンチネルリンパ節同定法のためのトレーサーとして応用しうる可能性が示唆された。

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 3 件)

- ① 太田安彦、<肺癌の集学的治療 2008 年> 癌性胸膜炎に対する壁側胸膜を標的とした集学的治療、**胸部外科**、61、43-46、2008、査読有り
- ② Yasuhiko Ohta、Yoko Tanaka、Go Watanabe、Hiroshi Minato、Predicting recurrence following curative surgery in stage I non-small cell lung cancer patients using an angiogenesis-associated factor、**J Exp Clin Cancer Res**、26、301-305、2007、査読有り
- ③ Yasuhiko Ohta、Makoto Oda、Junzo Shimizu、Go Watanabe.、Multimodality treatment including parietal pleurectomy as a possible therapeutic procedure for malignant pleural effusion、**Surgical Technology International XVI**、185-189、2007、査読有り

[学会発表] (計 2 件)

- ① 太田安彦、胸腔鏡手術地域インストラクタービデオ上映：当施設におけるリンパ節郭清を伴う胸腔鏡下右肺上葉切除の実際、第 24 回日本呼吸器外科学会総会、2007 年 5 月、横浜
- ② 太田安彦、肺癌における **Rapid** 法を用いた術中リンパ節微小転移検出法の臨床意義、厚生労働省がん研究助成金「がんの早期診断および予後診断に役立つ腫瘍マーカーの開発」研究班、平成 19 年度第 1 回班会議、2007 年 7 月、大阪

〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0 件）

○取得状況（計 0 件）

〔その他〕

6. 研究組織

(1) 研究代表者

太田 安彦(OHTA YASUHIKO)

国立病院機構金沢医療センター・臨床研究部・医長

研究者番号：00272964

(2) 研究分担者

松本 勲(Matsumoto ISA)

金沢大学・医学部附属病院・助手

研究者番号：80361989

小田 誠(ODA MAKOTO)

金沢大学・医学研究科・准教授

研究者番号：50224241

渡邊 剛(WATANABE GO)

金沢大学・医学研究科・教授

研究者番号：60242492

(3) 連携研究者