

氏名	しばやま よしつぐ 柴山 慶継		
学位の種類	博士（医学）		
報告番号	甲第 1660 号		
学位授与の日付	平成 29 年 3 月 21 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当（課程博士）		
学位論文題目	The Usefulness of a Fluorescent Technique Using Indocyanine Green for Evaluating Patterns of Lymph Flow and Facilitating Sentinel Node Biopsy in Patients with Skin Cancer （近赤外線カメラシステムとインドシアニングリーンを用いた蛍光法は皮膚悪性腫瘍におけるリンパ流パターンの解析とセンチネルリンパ節同定に有用である）		
論文審査委員	（主査） 福岡大学	教授	中山 樹一郎
	（副査） 福岡大学	教授	田村 和夫
	福岡大学	教授	鍋島 一樹
	福岡大学	講師	古賀 佳織

## 内 容 の 要 旨

### 【目的】

Sentinel lymph node biopsy（以下 SLNB）は、所属リンパ節の微小転移の検出や所属リンパ節郭清術を行うか否かを決定するための低侵襲で確立された手技である。悪性黒色腫をはじめ様々な皮膚悪性腫瘍において広く行われている。現在、SLNB は色素法およびラジオアイソトープ法（RI 法）で一般的に行われているが、SLN 同定率は 95% と高いものの SLN が全く同定されない症例や SLN の転移所見が陰性にもかかわらずのちにリンパ節転移を来す症例（false negative case）もあるため、SLN 同定においてより精度の高い方法が必要である。インドシアニングリーン（以下 ICG）は近赤外線蛍光を発生する薬剤で、眼底造影など様々な検査で広く使用されている。皮内投与された ICG が近赤外線カメラによってリンパ管やリンパ節を視覚化できる特徴を利用し、SLN 同定に本蛍光法が有用性かどうか、また原発巣から所属リンパ節領域に流入するリンパ流のパターンを観察し従来法で false negative case の原因となりえるリンパ流パターンの解析が可能かどうかを検討した。

### 【対象と方法】

2012 年 8 月～2015 年 1 月に福岡大学病院皮膚科にて、部分生検もしくは全切除生検で病理学的に真皮内浸潤を伴う皮膚悪性腫瘍（悪性黒色腫、有棘細胞癌、メルケル細胞

癌、乳房外パジェット癌)と診断され、SLNBを施行した26例を対象とし後ろ向きに解析した。臨床的または術前検査で所属リンパ節転移や遠隔転移のある症例は除外した。

SLNBは従来法(色素法+RI法)に、近赤外線カメラシステムとICGを用いた蛍光法を併用した。ICGは従来法と同様に原発部周囲に皮内投与した。従来法で検出されたものをSLNとしたが、蛍光法のみで検出されたものもSLNと定義した。摘出組織はホルマリン固定のパラフィン標本でHE染色を行い、転移陰性の場合は免疫染色を追加し転移の有無を詳細に調べた。さらに蛍光法で視覚化できる原発部から所属リンパ領域へ流入するリンパ流のパターンを検討し、リンパ流のパターンを原発部位別に解析した。

#### 【結果】

本蛍光法のSLN同定率は100%であった。26例中19例(73%)に従来法と比較してより多くのSLNを同定できた。この19例中4例は蛍光法のみで同定可能であった所属領域内にSLNが存在した。1症例ごとの平均SLN個数は蛍光法併用で3.9個、従来法で2.9個( $p < 0.01$ )、1領域中の平均SLN個数はそれぞれ3.3個、2.4個( $p < 0.01$ )であった。1症例あたりの平均の所属領域数はそれぞれ1.24個、1.08個( $p = 0.043$ )であった。全26例中、SLN転移陽性例は6症例(23%)、8個のリンパ節(8%)にあったが、8個すべては従来法で同定できたSLNであった。原発部位から所属領域に流入するリンパ流の検討では、(a)1本のリンパ流が1つの所属領域に流入するもの (b)2本以上の独立したリンパ流が1つの所属領域に流入するもの (c)2本以上の独立したリンパ流が異なる所属領域へ流入するもの、の3つのパターンに分類できた。原発部位別にみると、パターン(a)の14例中13例(93%)が四肢遠位側であった。パターン(b)は6例中頭頸部2例、体幹2例、四肢近位側2例であり四肢遠位側はなかった。さらに所属領域への流入リンパ流数が四肢遠位側では1本(パターンa)であるのに対し、四肢近位側+体幹部では流入リンパ流数が2本以上(パターンb or c)みられる傾向にあった( $p = 0.002$ )。以上より原発部が四肢近位側や体幹部の症例では、解剖学的理由からトレーサーの投与部位によってはすべてのリンパ管にトレーサーが乗らず従来法ではSLNを見落とす可能性があると考えられた。一方、本蛍光法の従来法への併用が、従来法のみで見落とされるSLNの同定に有用であると考えられた。

#### 【結論】

皮膚悪性腫瘍のSLNBにおいて従来法で検出できなかったSLNの同定にICGを用いた蛍光法の併用は有用であった。リンパ流の観察では、原発部が頭頸部のみならず体幹や四肢近位側の症例では、所属領域へ複数の流入リンパ流がみられる傾向にあるため、従来法でfalse negative caseの原因となりえると考えられた。原発巣がこれらの部位に存在する場合、蛍光法を併用することでSLNの見落としを減らせる可能性があることが強く示唆された。

## 審査の結果の要旨

本論文は、皮膚悪性腫瘍におけるセンチネルリンパ節生検 (sentinel lymph node biopsy、以下 SLNB) で近赤外線カメラとインドシアニンググリーン (ICG) を用いた蛍光法が従来法 (色素法+ラジオアイソトープ法 (RI 法)) と併用することで、従来法で見落としのあった SLN の同定に有用かどうか、さらに原発巣から所属領域に流入するリンパ流の解剖学的パターンを解析し、原発部位によりリンパ流パターンが異なるのかどうか、また従来法で予後の悪い false negative case になり得るリンパ流のパターンがあるのかどうかについてその研究結果を報告している。2012 年から 2015 年の間に皮膚浸潤癌で、かつ臨床的に所属リンパ節転移や遠隔転移が明確でない 26 例の皮膚悪性腫瘍患者 (悪性黒色腫、有棘細胞癌、乳房外パジェット癌、メルケル細胞癌) に色素法、RI 法、蛍光法の 3 法での SLNB および蛍光法でのリンパ流観察を行った。26 症例中 19 例 (73%) で蛍光法を併用することで有意に多くの SLN を同定できた。この 19 例中 4 例は従来法で同定できなかった領域にも SLN を同定できた。リンパ流の観察では原発巣から所属領域に流入するリンパ流のパターンが 3 パターンあることを見出した。原発部が頭頸部、体幹、四肢近位側の症例では、所属領域へ複数の流入リンパ流がみられる傾向にあり、従来法で SLN を見落とす結果 false negative case につながる可能性があると考えた。すなわち原発巣がこれらの部位に存在する場合蛍光法を併用することで SLN の見落としを減らせる可能性があることが示唆された。

### 1 斬新さ

これまでも蛍光法の併用が皮膚悪性腫瘍における SLNB の精度を高めるとする論文はあるが少数例である。今回、近赤外線カメラを用いた蛍光法を併用することで有意に従来法で見落としのあったセンチネルリンパ節を検出できることを示した。さらに本研究では、蛍光法を用い原発巣から所属領域に流入するリンパ流の解剖学的パターンをはじめて報告し、原発部位により流入パターンが異なること、また従来法でセンチネルリンパ節を見落としやすいリンパ流のパターンを報告している。

### 2 重要性

蛍光法を用いたリンパ流の観察で原発巣から所属領域に流入するリンパ流の解剖学的パターンが 3 パターンあることを初めて報告した。原発部が頭頸部、体幹、四肢近位側の場合、所属領域へ複数のリンパ流がみられる傾向にあり、これらの部位に原発巣が存在する場合、蛍光法を併用することで SLN の見落としを減らせること、従って予後不良の

false negative case を減らすことができる可能性があることが示唆された点が重要と思われる。

### 3 研究方法および実験方法の正確性

センチネルリンパ節生検の手技は、センチネルリンパ節生検のトレーニングを受け手術経験が豊富な一人の術者（著者）が全例施行しているため手技的な質的偏りはなく正確に行われている。群間の統計学的比較には適切な統計学的解析が用いられており問題はないと考える。SLN の転移の有無をみる病理組織学的検査についても、当医学部の病理部において HE 染色で転移がなければ全例免疫染色まで行っていること、とくにメラノーマに関しては連続切片での評価を加えており病理組織学的診断精度に問題はないと思われる。

### 4 表現の明瞭さ

本論文は福岡大学医学紀要に掲載予定であり、研究背景、目的、方法、結果、考察を簡潔かつ明確に記載している。表現の明瞭さに問題はないと思われる。

### 5 質疑応答

この発表に対して、審査委員から下記の質問がだされ、発表者よりほぼ的確な回答がなされた。

Q：センチネルリンパ節に転移があった 6 例すべてリンパ節郭清したのかどうか、また、郭清した組織内に転移リンパ節はあったかどうか。

A：6 例全例郭清したが組織内のリンパ節には全例転移はなかった。

Q：現時点まで false negative case はあったか。

A：今のところ false negative case はでていない。

Q：蛍光法はどのくらいの深さまで検出できるのか。

A：だいたい 1.0～1.5cm までの深さを検出できる。もっと深い場合、皮膚を圧迫し表皮と対象物との距離を短くすることで検出できることもあるが限界がある。

Q：膝窩や肘などの interval node はセンチネルリンパ節としているのか。

A：各方法で集積があればセンチネルリンパ節として摘出している。転移があればリンパ節郭清を行う。

Q：Interval node に転移があれば膝窩、鼠径両方郭清するのか。

A：そのような決定にも蛍光法が有用。蛍光法で原発—膝窩—鼠径に連続してルートがあれば膝窩リンパ節のみが SLN なので膝窩 LN 郭清のみでよいかもしれない。しかし原発からダイレクトに膝に行くルートとそれ以外にダイレクトに鼠径に行く独立したルートがあれば膝窩センチネルリンパ節に転移があれば鼠径センチネルリンパ節が転移陰性でも鼠径リンパ節郭清を考慮する。

Q：乳癌は微小転移の定義があるが、メラノーマについてはあるのか。

A：乳癌のような微小転移の定義はない。メラノーマの場合、臨床的転移であれば macro metastasis、わずかでも病理学的転移があれば micro metastasis となる。転移があれば原則全例郭清を行う。

Q：術後免疫染色のみで微小な転移が発覚した場合は郭清をするのか。

A：原則全例後日郭清を行う。

Q：今後、どのような症例が蛍光法の適応になるかなど保険適応も視野に入れて臨床試験を進めていくべきだがそのような計画はあるのか。

A：原発巣が頸部や体幹、四肢近位の症例は蛍光法を併用した方がよいと考える。さらに症例数を集積しどのような症例が適応になるか詳細に検討したい。

Q：過去の症例の false negative case は、遠隔転移も合併していることが多いのか。それとも false negative のあとに遠隔転移を生じるのか

A：その点については詳細な報告があるのかは私自身知らない。

Q：他の施設で ICG 法を行っていない理由は何かあるのか。

A：近赤外線カメラシステムの費用が 300 万円と高額であることがネックとなっていると思う。当科では当初外科から借りていたが、今は手術室に形成外科と合同で買っていただき使用している。

Q：本研究では蛍光法のみで検出できたリンパ節に転移はなかった、過去の報告では蛍光法のみで検出できたリンパ節に転移があった症例はあるのかどうか。

A：まだ蛍光法に関する論文が少数しかないという理由もあるが、過去の論文では今のところ蛍光法のみで検出できたリンパ節に転移があった症例はなかったと記憶している。

Q：これまでのフォローアップ期間の間 false negative case はあったか？またどのくらいの期間フォローしているか。

A：2012—2015 年に手技を行った症例を対象としており、フォロー期間は長くて 5 年ほど、

短いものでも1年以上はフォローしている。今のところ false negative case はでていない。

Q: 3法使用すると手技が煩雑になるが、例えば色素法+蛍光法や、RI法+蛍光法などの組み合わせでは施行できないのか。

A: 色素法では染まらない症例も比較的あるが、しかし染まった症例では、肉眼的に見えて分かりやすいので補助的なものとしては有用。また、色素法+蛍光法の組み合わせは、蛍光法は流れやすいのでセンチネルリンパ節のさらに奥の secondary node まで染まってしまうリンパ節を切除しすぎてしまう可能性がある。またリンパ節を摘出するときに見えるだけリンパ管を結紮しリンパ液がもれないようにするが限界があるため。摘出後に ICG で術野全体を汚染してしまい蛍光法では同定が困難となることもある。よって RI 法は必須と考える。すなわち色素+RI+蛍光法の3法で行うことが一番よいと考える。

Q: 本研究では false negative case は現時点ではないが、他の論文をみると比較的 false negative rate は高い。病理学的な見落としも問題になると思われるが、論文によつてたとえばリンパ節の切り出し方法などの方法は統一されているのか。

A: メラノーマに関してはほとんどの論文は multiple section もしくは連続 section で免疫染色まで行い転移の有無を確認している。他の癌種については連続切片までしているものもあれば最大断面のみの評価しかしていないものなどまちまちである。本症例では病理部で HE で転移がなければ免疫染色までしていただき評価していただいている。とくにメラノーマについては連続切片での評価までしっかり行って頂いている。また、false negative case を検討したある論文で、同定できたセンチネルリンパ節の個数1個と2個以上で比較すると、1個の群で有意に false negative になりやすかったという報告がある。false negative の原因は病理学精度の問題というよりも手技的な問題が原因ではないかと考える。

以上、本論文の臨床的重要性および適切な質疑応答により、本論文は学位に値すると判定された。