

平成25年4月17日

平成24年度独立行政法人日本学術振興会
藤田記念医学研究振興基金研究助成事業研究概要報告書

独立行政法人日本学術振興会理事長殿

研究者所属・職 徳島大学病院・講師
氏 名 滝沢 宏光

本助成事業による研究について、次のとおり報告します。

1. 研究課題名
肺癌患者に対する CT リンパ管造影と直接遺伝子増幅法によるリンパ節転移診断法の確立 (英文名) One-step nucleic acid amplification assay in detecting metastases of sentinel lymph node identified with CT lymphography in patients with non-small cell lung cancer
2. 研究実施期間
平成24年4月1日～平成25年3月31日
3. 助成金額
1,000,000 円
4. 研究の目的
<p>近年発見契機が増加した cT1aN0 肺癌に対しては、これまで標準術式であった葉切除に代わり区域切除の適応がコンセンサスを得つつある。縮小手術を選択したことで本来根治できた症例に局所再発を起こすことは避けなければならない。術中にリンパ節転移が判明すれば区域切除から葉切除に術式変更することが求められる。しかし、鍵となる術中リンパ節転移診断は i) 適切なリンパ節が選択されているか、ii) 凍結切片1割面による診断能力が十分か、という点で診断精度の検証が十分なされていない。</p> <p>我々は上記 i) の問題点に対する解決策として「Virtual bronchoscopy ナビゲーションによる細径気管支鏡下水溶性造影剤注入による CT リンパ管造影(CTLG)」(平成22年度科学研究費補助金若手 B: 22791312) を考案し肺癌術前患者に対しセンチネルリンパ節(SN) 同定を行っている。葉切除と肺門縦隔リンパ節郭清が予定された初期登録症例13例の cI 期肺癌患者に対して CTLG を行い、SN の同定率は 92.3%(12/13) で同法に起因する有害事象は認めなかった。13例中2例にリンパ節転移を認めたが、いずれも CTLG で同定された SN に含まれていた。</p> <p>CTLG による SN 同定法の確立に次ぐステップとして上記 ii) の問題点を解決すべく、乳癌領域で術中リンパ節転移診断法として既に臨床応用されている OSNA 法(One-step Nucleic Acid Amplification: 直接遺伝子増幅法)を導入する。CTLG と OSNA 法を組み合わせることでリンパ節転移の術中診断能を向上させ、cT1aN0 肺癌に対する区域切除のクオリティを高めることが本研究の目的である。</p> <p>CTLG で同定された SN および原発巣に対してサイトケラチン(CK)19 による免疫染色を行い、原発性肺癌においても CK19 を用いた OSNA 法で術中リンパ節転移診断が可能か検討する。また、CTLG で同定された SN の凍結保存検体を用いて OSNA 法を行い、HE 染色による転移診断、CK19 免疫染色による転移診断との対比を行う。</p>

5. 研究概要報告

1. Virtual bronchoscopy ナビゲーションによる細径気管支鏡下水溶性造影剤注入による CT リンパ管造影(CTLG)

【対象】肺葉切除または区域切除を行う cT1aN0 肺癌患者のうち文書で同意が得られた症例。

【方法】①CT 画像から BF-Navi (オリンパス社) を用いて目的気管支までのナビゲーション画像を作成。②IVR-CT 室にてナビゲーション画像を参考にし、細径気管支鏡で目的気管支に到達。③Iopamidol 3ml を目的気管支末梢に注入し 30 秒後に CT を撮影。④CTLG 前後の CT 画像をワークステーション上に表示し、目視による比較と肺内、肺門及び縦隔リンパ節について最大 CT 値の測定を行い、CTLG 前後で最大 CT 値が 30HU 以上上昇したリンパ節をセンチネルリンパ節 (SN) と定義。

【結果】30 例に CTLG を行った。平均年齢 67.5 歳, 男/女: 13/17, 平均腫瘍径 2.1cm, 腺癌/扁平上皮癌: 24/6, 右上葉/右中葉/右下葉/左上葉/左下葉: 10/1/6/10/3. CTLG に起因する有害事象は認めなかった。全症例で目的亜区域末梢肺へ造影剤の注入ができた。SN は 28 例で同定でき (同定率 93.3%), SN ステーション数は平均 1.6 個(1-4)であった。3 例にリンパ節転移を認めたが、転移リンパ節は SN に含まれていた。

2. サイトケラチン(CK)19 を用いた免疫染色

【方法】CTLG にて同定された SN および原発巣のホルマリン固定パラフィン包埋標本に対して、CK19 (DAKO, Japan) を用いた LSAB 法による免疫染色を行った。

【結果】CTLG を行った 30 例に対し、CTLG にて同定された SN および原発巣に対して CK19 を用いた免疫染色を行った。30 例全ての症例の原発巣において原発巣は CK19 陽性で、3 例の SN 転移陽性症例 (HE 染色による) においてもリンパ節内の腫瘍細胞において CK19 は陽性であった。

3. OSNA 法 (One-step Nucleic Acid Amplification: 直接遺伝子増幅法) による CK19 の定量

【方法】CTLG にて術前に同定した SN を術中にサンプリングした。サンプリングしたリンパ節は 4 分割し、うち 2 個を OSNA 法用、他の 2 個を病理用として保存する。RD-100i を用いてリンパ節における CK 19 の発現量を測定し、転移診断を行う。

【結果】CTLG にて同定された SN 4 症例に対して、OSNA 法による CK19 発現量の測定を行った。4 症例の OSNA 法による転移診断は HE 染色による転移診断と一致した。今後凍結保存されているリンパ節について順次測定を行っていく予定。また今後の CTLG 症例についても上記研究を継続する予定としている。

6. 研究成果の発表について

独立行政法人日本学術振興会藤田記念医学研究振興基金研究助成事業の英文称：
「JSPS Fujita Memorial Fund for Medical Research」

研究者所属・職 徳島大学病院・講師
氏 名 滝沢 宏光

○論文発表 症例数がまとまり次第誌上発表を行う予定.

○口頭発表 症例数がまとまり次第誌上発表を行う予定.

○著 書

注：

- (1) 研究成果を学会誌等で発表する場合には、独立行政法人日本学術振興会藤田記念医学研究振興基金研究助成事業による助成を受けた旨を必ず明記して下さい。
また、その別刷り2部を「研究概要報告書」と共に必ず提出して下さい。
- (2) 本基金の助成に係る代表的な論文、口頭発表及び著書にはタイトルの前に○を付けて下さい。