

氏名	塩澤 幹雄
学位の種類	博士 (医学)
学位記番号	乙第 674 号
学位授与年月日	平成 25 年 6 月 13 日
学位授与の要件	自治医科大学学位規定第 4 条第 3 項該当
学位論文名	超常磁性酸化鉄 (SPIO: Superparamagnetic Iron Oxide) を用いた乳癌におけるリンフォグラフィからセンチネルリンパ節生検までのシステム構築
論文審査委員	(委員長) 教授 杉本 英治 (委員) 准教授 尾本 きよか 准教授 土橋 洋

論文内容の要旨

1 研究目的

腋窩リンパ節郭清に伴うリンパ浮腫などの合併症が乳癌患者の Quality of Life を大きく低下させてきたが“腫瘍からのリンパ流を最初に受けるリンパ節（センチネルリンパ節）に転移が無ければその領域の郭清を省略できる。”というセンチネルリンパ節生検の概念が乳癌にも導入され、センチネルリンパ節を生検し転移を認めなければ腋窩郭清は省略されるようになった。

センチネルリンパ節の同定方法にはテクネシウム 99m で標識されたトレーサーを乳房内に投与し、リンパ流を最初に受けるリンパ節から放射されるガンマ線をガンマプローブで同定する Radio Isotope (RI) 法と patent blue などの色素を乳房に投与した後、腋窩を切開剥離し、色素により青染したリンパ管を見つけ、センチネルリンパ節まで追跡する色素法の 2 つがある。色素法単独での良好な成績を得たとする報告もあるが RI 法と色素法の併用を勧めている報告が多い。

テクネシウム 99m は診療用放射性同位元素であり、設備・使用方法など厳しく規定されており、中小規模病院では RI 法の導入を困難にしている。また RI 法では患者・医療者の被曝が避けられない。このように Radio Isotope に代わるセンチネルリンパ節の同定法が求められており、新たなシステムを構築し臨床応用した。

2 研究方法

① SPIO を用いたセンチネルリンパ節リンフォグラフィ

テクネシウム 99m の代替として磁気に注目し、静脈投与 MRI 造影剤として用いられている超常磁性酸化鉄 (SPIO: Superparamagnetic Iron Oxide) の 1 つ、Ferucabotran (Resovist®) を使用した。MRI 造影剤である特性を考慮し、乳腺に SPIO を局注し MRI でセンチネルリンパ節を描出・同定出来れば、センチネルリンパ節生検の術前シミュレーションとして生検の精度がさらに向上するのではないかと考えた。

2009 年 10 月から 2010 年 4 月まで小山市民病院を受診し乳癌と診断された患者の中で臨床・画像上腋窩リンパ節転移を認めない 10 人を対象にした。最初の 1 例は SPIO-MR リンフォグラフィと Gadolinium (ガドリニウム) による MRI 造影を連続して施行したため分析からは除外した。MR リンフォグラフィにてセンチネルリンパ節が描出されるか、再構築した三次元画像が術前シミ

ュレーションとして用いることができるか検討した。また T2*強調画像での造影パターンにより①リンパ節全体が低信号を呈するリンパ節、②部分的または不明瞭にしか造影されないリンパ節、2つに分類し、造影パターンにより転移の有無を判断できるか検討した。

② SPIO を用いたセンチネルリンパ節生検

Ferucabotran自体は磁性を持たないがこれに磁気を与え検磁器magnetometerを用いてSPIO集積を検出するシステムを開発した。

2008年4月から2010年3月まで小山市民病院を受診し病理学的に乳癌と診断された患者の中で臨床・画像上腋窩リンパ節転移を認めない30人を対象にした。全身麻酔導入後 Risovist® 1.6ml と色素である1% patent blue 3ml を乳輪下に局注した。その後 Magnetometer を用いて経皮的にセンチネルリンパ節の同定を行った。腋窩において経皮的に Magnetometer の示す値が最も高い部位をセンチネルリンパ節が存在する部位としてその直上で皮膚切開を行った。皮膚切開後、SPIO と同時に局注した patent blue によって青染したリンパ節をセンチネルリンパ節として同定しこれを摘出した。センチネルリンパ節を摘出後に通常の腋窩リンパ節郭清を施行し、偽陰性例の有無を確認した。

3 研究成果

① SPIO を用いたセンチネルリンパ節リンフォグラフィ

SPIO局注20分後にSPIO-MR リンフォグラフィにてセンチネルリンパ節が造影・描出された。すべての症例でセンチネルリンパ節を描出することができた。

ボリュームレンダリングテクニックにて構築した三次元画像では周囲の解剖学的構造との相対的位置関係からリンパ管の走行も含めてセンチネルリンパ節の位置をシミュレーションすることができ、得られた画像は実際の手術の所見と良く相関していた。

病理学的な検索では9例中、1例にリンパ節転移を認めた。転移を認めたリンパ節はセンチネルリンパ節として描出されており、SPIO-MR リンフォグラフィ上でも“部分的にしか造影されない”“不明瞭に造影される”などの所見があり、転移を疑われた症例であった。転移のあったセンチネルリンパ節にBerlin blue 染色（鉄染色）を施行し、観察すると転移巣にはSPIOは取り込まれず、残存するリンパ洞に沿ってSPIOが流入している像が観察され、“部分的な”造影パターンに相当していると考えられた。

② SPIO を用いたセンチネルリンパ節生検

SPIO法と色素法による併用法を用い90% (27/30) の症例においてセンチネルリンパ節を同定することができた。77% (23/30) のリンパ節にSPIOの集積を認め、80% (24/30) に青染したリンパ節を認めた。

病理検索の結果、30例中8例に腋窩リンパ節転移を認めた。8例中7例ではセンチネルリンパ節として生検でリンパ節を同定し得たがこのうち1例ではリンパ管をセンチネルリンパ節として提出し、他のリンパ節に転移を認めたため偽陰性となった。SPIOと色素による併用法を用いたセンチネルリンパ節生検は感度86% (6/7)、正診率96% (26/27) となった。

4 考察

① SPIO を用いたセンチネルリンパ節リンフォグラフィ

SPIO-MR 三次元リンフォグラフィでは大胸筋・前鋸筋・腋窩静脈など周囲臓器とセンチネルリンパ節の位置関係、センチネルリンパ節数も術前に把握することができた。センチネルリンパ節生検の偽陰性率もさらに下げる可能性がある。

症例数は少ないが造影パターンからセンチネルリンパ節の転移の可能性を指摘できた。SPIO-MR リンフォグラフィを用いることで不必要なセンチネルリンパ節生検を減らせる可能性がある。

② SPIO を用いたセンチネルリンパ節生検

SPIO 法では導入期の同定率は 50% で十分な成績では無かったが SPIO 局所注射から手術までの時間の適正化、Magnetometer の感度の改善、MRI リンフォグラフィによるシミュレーションなどにより臨床研究後半の 10 例では同定率 90% (9/10) と RI 法に相当する満足の結果が得られた。Magnetometer は RI 法と同じように体表からセンチネルリンパ節の部位を同定することができる。RI 法では手術数時間前または前日に核医学施設内に移動してテクネシウム 99m を局所注射する必要があるが SPIO 法の場合には手術室で完結することができる。

5 結論

核医学施設を必要とせず、被曝も伴わないセンチネルリンパ節生検システムとして SPIO を用いた MR リンフォグラフィからセンチネルリンパ節生検までのシステムを開発し、臨床応用し良好な結果が得られた。

論文審査の結果の要旨

乳がんの外科治療法は次第に非侵襲的になっているが、リンパ節郭清は臨床的に一次リンパ節に転移を認めない場合も施行されてきた。しかし、腫瘍からの最初のリンパ流を受けるリンパ節（センチネルリンパ節）に転移がなければその領域のリンパ節郭清を省略できるというセンチネルリンパ節生検（以下 SNLB）が導入により、郭清の必要性を診断できるようになった。

センチネルリンパ節の検出には、 ^{99m}Tc をトレーサーとして使う RI 法と patent blue などの色素を使う色素法、および両者を併用する方法がある。いずれの方法にも限界と問題点があるが、特に RI 法は放射性同位元素であることから、RI 投与施設のない病院では施行できないことが、センチネルリンパ節検出法普及の障害となっている。今回、塩澤氏はトレーサーとして SPIO を用い、新たに検磁器 magnetometer を開発して、リアルタイムに SPIO を磁化させるというアイデアを臨床に応用し、新しいセンチネルリンパ節検出法を開発した。

学位論文の 2 編の主要論文で構成されているが、その基礎実験として、SPIO のリンパ節造影剤としての有用性をブタで確認してから、臨床応用を行っている。さらに、検磁器を、国内メーカーや工学系研究者と共同で開発しており、特許を取得している。すなわち、できるだけ多くの施設で施行できるセンチネルリンパ節検出法が必要であるという臨床的な要望に対し、基礎研究や産学協同による装置開発を行ったのちに臨床研究に着手し、その問題を見事に解決している。これは、塩澤氏が今後医学研究を行っていく高い能力があると確信させるものである。

塩澤氏は、審査員による試問に対し、真摯にかつ的確に回答した。また、研究の限界、問題点をよく把握していることも理解できた。

塩澤氏の学位論文は博士論文として問題はなく、審査員全一致で医学博士医号を授与するに値するものであると判断された。

試問の結果の要旨

学位論文は、2編の原著論文をもとに作成されており、原著論文に適宜触れながら試問が行われた。

まず、今回使用された、静脈内投与用の超常磁性酸化鉄 SPIO について質問された。塩澤氏は、SPIO の構造、臨床的な利用法について熟知しており、問題なく回答された。特に、常時磁化している磁性流体の代替として、検磁器に取り付けた磁石により、超常磁性酸化鉄製剤である SPIO をリアルタイムに磁化させ、その磁化を検磁器で検出するという着想が卓越したものであるという感想が述べられた。

つぎに、SPIO は網内系に取り込まれるが、リンパ節が腫瘍細胞で完全に置換されてしまった場合には SPIO の取り込みがなくなり、検磁器では検出できない（偽陰性になる）のではないかと質問があった。塩澤氏は、この質問に対して腫瘍細胞でリンパ節が完全に置換された場合に偽陰性になる可能性は、現在センチネルリンパ節検出法の主流である RI 法でも指摘されているが、これまでの臨床研究では転移リンパ節に完全に RI が取り込まれなくなることはなく、SPIO 法でも転移の程度に関わらずセンチネルリンパ節 (SLN) を検出できる可能性が高いと回答された。

また、SPIO-MR センチネルリンフォグラフィーで提示された 3D 画像の臨床的有用性についての質疑、および 3D 画像として提示された volume rendering 画像の有用性について質疑があった。塩澤氏は、乳腺外科医であれば 3D 画像は必須ではないが、トレーニング中の外科医にとってはリンパ節の空間的配置を理解するのに有用な手法であるという説明があった。また、SPIO-MR センチネルリンフォグラフィーを今後の実臨床で使っていくのかという質問に対して、センチネルリンパ節生検のためには必要ないかもしれないが、化学療法後のリンパ節の評価といった、別の目的に使うことも考えているという回答であった。

最後に、原著論文における統計解析についての質問があった。論文中では、SPIO で描出された SLN と手術で確認された SLN の数を spearman の相関係数をもって検定しているが、統計学的に意味のない検定ではないかという指摘があった。この問題について塩澤氏はよく認識しており、学位論文からは削除したという回答が得られた。

つぎに、SPIO と検磁器を用いたセンチネルリンパ節生検に関する研究について質疑が行われた。SPIO 法と色素法の併用が RI 法と色素法の併用法と同程度有効であることを証明することが研究目的であるが、学位論文ではその点が明確に記載されていないという指摘があり、最終的に審査員の指摘に基づき修正することが確認された。

続いて、SPIO の投与経路について、皮内と皮下のいずれの経路が有用であるかについて質疑があったが、これについては審査員と塩澤氏との間で意見の相違があることがあり、結論は保留された。また、センチネルリンパ節生検の gold standard になっている色素法を併用した RI 法と色素法を併用した SPIO 法との比較検討が必要であることが指摘されたが、これについて塩澤氏は今後の予定の研究課題と認識していると回答した。

最後に、色素法と SPIO 法の陽性例に乖離があり（それぞれ 1 例）、その理由について質疑があった。塩澤氏は、おそらく複数のリンパ流があったことが原因であろうと回答した。これは RI 法と色素法の併用でも経験されていることであるという説明であった。