

## 論文内容の要旨

論文提出者氏名 小 泉 範 明

### 論文題目

Detection of metastatic lymph nodes using 5-aminolevulinic acid in patients with gastric cancer

### 論文内容の要旨

#### 【はじめに】

リンパ節転移は胃癌の重要な予後因子の一つであり、正確なリンパ節転移診断に基づいた的確な治療が求められている。近年、術後の QOL を保つべくセンチネルリンパ節理論に基づいた縮小手術も行われるようになってきた。これには凍結標本を用いた術中迅速病理検査が必須であるが、術中迅速病理診断では限られた切片から診断を行うため必ずしも診断精度が高いとは言えず、数十分の時間を必要とすることも問題である。したがって、新たなリンパ節転移の迅速診断法の開発が求められている。

内因性アミノ酸である 5-アミノレブリン酸 (5-ALA) を用いた蛍光診断は、近年幅広い領域で臨床応用されつつある。5-ALA はヘム代謝に関わるアミノ酸であるが、癌細胞では代謝経路の酵素活性が変化しており、5-ALA を過量投与するとヘムの前駆体であるプロトポルフィリン IX (PpIX) が癌細胞特異的に蓄積することが知られている。PpIX は蛍光物質であり、405nm の励起光を照射すると 635nm にピークを有する赤色蛍光を発生し、これに基づいて癌の蛍光診断が可能である。しかしながら現在までヒト胃癌のリンパ節転移診断に 5-ALA を応用した報告はない。本研究では、胃癌患者から摘出されたリンパ節における転移巣の検出に 5-ALA による蛍光診断が応用可能か、臨床試験を通して検討を行った。

#### 【対象と方法】

2010 年 4 月から 2011 年 7 月まで間に京都府立医科大学付属病院で手術を施行された、術前診断でリンパ節転移が疑われた胃癌患者のうち除外基準に該当しない患者を対象とした。対象患者には手術 2 時間前に 50%ブドウ糖溶液 20ml に溶解した 5-ALA を 15mg/kg の容量で経口投与した。

手術で摘出されたリンパ節を一つずつ半割して断面の蛍光観察を行った。蛍光観察は実体顕微鏡 (SZX-12; Olympus) で行い、405nm のバンドパスフィルター (D405/20x; Chroma Technology Corp.) を介して励起光を照射し、カラー CCD カメラ (DP71; Olympus) で蛍光画像を取得した。蛍光観察を終えたリンパ節は 10%ホルマリンで固定し、同一断面の H&E 染色標本に基づいて病理診断医により病理組織学的診断が行われ、蛍光診断の結果と

病理組織学的診断の結果を比較検討した。さらに蛍光画像の RGB 画像における R 値および赤色蛍光の指標としての R/(R+G+B)値を用いて定量解析を行った。

#### 【結果】

14 名の胃癌患者から得られた 144 個のリンパ節 (平均 11.1 個) を検討した。蛍光診断は 3 名の外科医によりそれぞれ行い、33 個が蛍光陽性、111 個が陰性と診断された。33 個の蛍光陽性リンパ節のうち、12 個は特徴的な蛍光パターン (follicular pattern) を呈した。

病理組織学的診断の結果、24 個のリンパ節が転移陽性、残る 120 個は転移陰性と診断された。24 個の転移リンパ節のうち 17 個で転移巣に一致した蛍光が確認されたが、残る 7 個では組織の自家蛍光によって PpIX の赤色蛍光がマスクされ偽陰性となった。120 個の非転移リンパ節のうち 104 個は蛍光陰性であり、蛍光陽性であった 16 個のうち、follicular pattern を呈した 12 個を除く 4 個では淡い赤色蛍光が観察された。組織学的検索の結果、follicular pattern を呈したリンパ節での PpIX の集積はリンパ濾胞への集積であることが示された。蛍光パターンを加味した蛍光診断の正診率は 92.4% (133/144) であった。

また、follicular pattern のリンパ節を除いて行った定量解析の結果、R 値、R/(R+G+B) 値ともに転移リンパ節は非転移リンパ節に比べて有意に高値を示し ( $p < 0.0001$ )、ROC 曲線における曲線下面積はそれぞれ 0.81、0.832 であった。R/(R+G+B) 値に基づいた ROC 解析の結果、感度 70.8%、特異度 94.4% であり、この結果は肉眼での蛍光診断の結果とほぼ一致していることが確認された。

#### 【考察】

本研究で、5-ALA を用いた蛍光診断がヒト胃癌リンパ節転移の迅速診断に応用可能であることが明らかとなった。炎症部位への非特異的な PpIX の集積が偽陽性の原因と考えられたが、炎症部位への非特異的な集積のメカニズムは癌部への集積メカニズムとは異なっていると考えられるため、至適投与法の検討により改善が期待できる。一方、結合組織の自家蛍光の影響で赤色の蛍光が同定できず偽陰性を呈したものがあり、自家蛍光の影響を排除し、より高感度に PpIX の蛍光を検出する新たな方法の確立が求められる。

近年、分子生物学的手法に基づいた新たなリンパ節転移検出法 (OSNA 法) が登場し臨床応用されつつあるが、本法は OSNA 法に劣らない診断精度を有しており、検体の保存性も優れている。5-ALA は内在性物質で十分な安全性を有しており、方法も簡便で複雑な機器も必要としないため今後の普及が期待される。