

# 研究報告書

一般課題：A  
(平成28年度)

平成 30年 4月 30日

公益財団法人 がん研究振興財団

理事長 堀田知光 殿

研究施設 公益財団法人がん研究会  
がん研有明病院

住 所 東京都江東区有明 3-8-31

研究者氏名 石沢 武彰 

(研究課題)

## 大腸癌肝転移・膵癌の化療後切除における術中蛍光イメージングの有効性評価

平成29年2月13日付助成金交付のあった標記一般課題：Aについて研究が終了致しましたのでご報告いたします。

### ① 術中蛍光イメージングを用いた転移性肝癌診断の有効性評価

i) Indocyanine green (ICG) を用いた肝癌の術中蛍光イメージング  
(方法)

・肝腫瘍に対して腹腔鏡下肝切除を施行した65症例において、手術前に ICG (0.5mg/kg) を静注し、手術中に赤外観察用硬性鏡を用いて肝表面を撮影した。

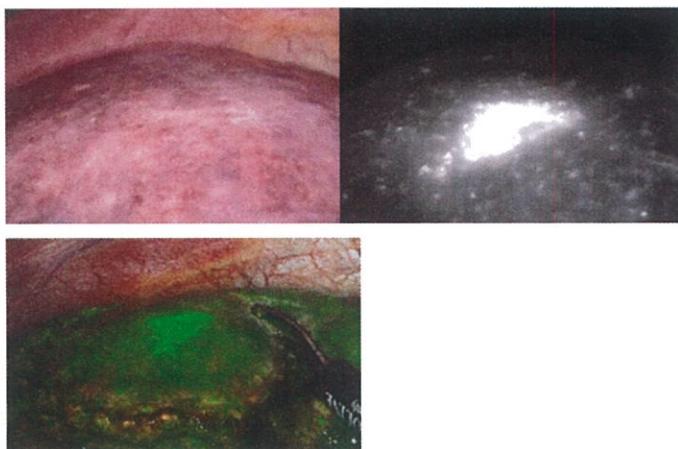
(結果)

・大腸癌肝転移 51 結節を含む計 71 結節の悪性腫瘍のうち、蛍光イメージングにより 62 結節 (87%) が肝表面に描出された。このうち、36 結節は肉眼的に肝表面に露出し、蛍光イメージングがなくても同定可能な腫瘍であった。一方、残る 26 結節は肝表面への露出ではなく、蛍光イメージングで同定された腫瘍であった。後者の 26 結節のうち 4 結節は術中超音波では同定不能であり (蛍光イメージングのみで同定された)、このうち 3 結節は術前化学療法により PR または CR が得られた大腸癌肝転移であった (図1)。残る 1 結節は術前化学療法のない大腸癌肝転移)。

・腫瘍の肝表面への露出がない 35 結節のうち、蛍光イメージングで同定された 26 結節と、蛍光イメージングで同定されなかった 9 結節を比較すると、後者の方が肝表面から深部に存在した (中央値 [範囲], 1 [1-10] mm vs. 11 [6-35] mm; P < 0.01)

・65 症例中 3 症例 (大腸癌肝転移) で、術前診断で腫瘍が存在しない部位に領域性の蛍光シグナルが観察されたが、術中超音波検査で腫瘍が同定されなかつたため、追加切除は行わなかった。術後経過観察期間中に同部位から肝転移再発をきたした症例はなかった。

図 1 ICG 蛍光イメージングを用いた大腸癌肝転移の描出



通常の白色光観察でも術中超音波検査でも腫瘍の位置が同定できなかったが、蛍光イメージングで腫瘍周囲の胆汁うつ滞領域を描出することにより腫瘍の同定が可能であった（上）。蛍光像をカラー像に重畠する機能を用いると、蛍光イメージングを用いながら手術操作を継続することができる（下）。

#### （考察）

- ・肝表面から浅い（10mm 以下）肝腫瘍に対する ICG 蛍光イメージングの描出感度は高く、触診による情報に乏しい腹腔鏡手術で腫瘍の位置を同定するために有効である。
- ・本法は、化学療法が著效した大腸癌肝転移の切除で、腫瘍の存在部位を確認するために役立つ可能性がある。
- ・術前診断で癌が指摘されていない領域に出現した蛍光シグナルは、微少な肝転移の存在を反映している可能性があるが、評価を行うためには今後の症例蓄積と経過観察の継続が必要である。
- ・本法は深部にある病変の描出には限界があり、従来の術中超音波の役割を完全に置換するものではない。

\* 上記の結果の一部は英文誌に発表した (Terasawa M, Ishizawa T, et al. Applications of fusion fluorescence imaging using indocyanine green in laparoscopic hepatectomy. Surg Endosc 2017;31:5111-8)

#### ii) gGlu-HMRG を用いた肝癌の術中蛍光イメージング

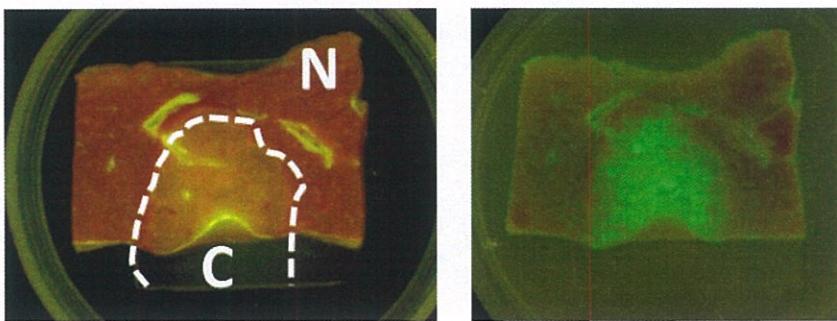
##### （方法）

- ・大腸癌肝転移 39 例を対象に、腫瘍を含む切除標本剖面に gGlu-HMRG ( $\gamma$ -glutamyl hydroxymethyl rhodamine green, 50  $\mu$ M) を散布し、蛍光像を取得した (excitation 445–490 nm, emission 515 nm, long pass)。
- ・肉眼および蛍光強度に基づいた腫瘍の同定能を評価した。また、蛍光強度と予後との相関について検討した。

##### （結果）

- ・肉眼的には全ての腫瘍を認識可能であった（図 2）。癌部および非癌部に ROI を設定し蛍光イメージングの腫瘍描出能を検討した結果、感度 87%、特異度 100% であった。
- ・切除標本の免疫染色では、大腸癌肝転移に  $\gamma$ -glutamyltranspeptidase (GGT) が高発現していることが確認された。
- ・対象である 39 例を、腫瘍の蛍光強度が高い 20 症例と蛍光強度が低い 19 症例との 2 群に分けて長期成績を比較すると、前者の方が術後無再発生存率が低かった（2 年 11% vs. 32%; P = 0.03）。

図2 gGlu-HMRG を用いた肝癌の術中蛍光イメージング



大腸癌肝転移の切除標本に gGlu-HMRG 50 μM を散布すると、約 3 分で肉眼で認識可能な蛍光シグナルを発した。

(考察)

- ・ gGlu-HMRG は、大腸癌肝転移に高発現している GGT により加水分解を受け、HMRG を遊離することで蛍光を呈す機序が示唆された。
  - ・ ICG を用いた蛍光イメージングと比べて、本法は腺癌組織を特異的に、陽性に標識できる点が特徴である。
  - ・ 本法は可視領域の蛍光を用いたイメージングであるため、深部病変の描出には不適であるが、大腸癌の腹膜播種やリンパ節転移の術中診断に応用できる可能性がある。また、腫瘍の GGT 活性が化学療法抵抗性や長期成績に関連するとの報告もあり、gGlu-HMRG による蛍光イメージングが抗癌剤の選択や予後予測に役立つ可能性もある。
- \*上記の研究の一部は英文誌に発表した (Miyata Y, Ishizawa T, et al. Intraoperative imaging of hepatic cancers using  $\gamma$ -glutamyltranspeptidase-specific fluorophore enabling real-time identification and estimation of recurrence. Sci Rep 2017;7:3542)

② 術中蛍光イメージングを用いた膵癌診断の有効性評価

i) ICG を用いた膵癌微少肝転移の術中蛍光イメージング

- ・ 「CA19-9 > 300 かつ腫瘍径 > 3cm」の膵癌を対象に、審査腹腔鏡の術前に ICG を静注し、手術中に蛍光イメージングで肝転移を同定する研究計画を策定した。現在症例集積中である。

ii) gGlu-HMRG を用いた膵癌の術中蛍光イメージング

- ・ 膵癌切除標本に gGlu-HMRG を散布し、①-i) と同様の方法で蛍光イメージングを行った。
- ・ 膵癌組織に蛍光強度の上昇を認めたが、本プローブは膵液などの消化酵素により加水分解を受けて蛍光を発してしまうため、腫瘍本体の術中蛍光イメージングの目的には不適当と考えられた。
- ・ 現在、消化酵素の影響を受けない新たな膵癌標識用蛍光プローブの候補を探索中である。また、gGlu-HMRG を用いた蛍光イメージングを、リンパ節転移や肝転移（消化液の存在しない環境）の術中診断に応用できないかデータ解析中である。