

Zero complications を目指した個別化医療技術の開発

今井 一博

秋田大学医学部 胸部外科学講座

(accepted 7 April 2022)

Development of personalized medical technology aiming for zero-surgical complications

Kazuhiro Imai

Department of Thoracic Surgery, Akita University Graduate School of Medicine

Key words : zero complications, navigation surgery, rapid immunohistochemistry, cancer immunoediting

はじめに

外科黎明期において、肺癌標準手術は肺葉切除以上の実質切除と画一的リンパ節郭清とされてきた。胸腔鏡手術の普及が始まって縮小手術が認められなかった理由は、限られた時間に判断が難しい局所やリンパ節再発のリスクからである。そして、再生しない肺の過大切除は、根治・長期生存する患者のQOLを損なう。周術期個別化医療技術を推進・開発・実現し、豊かなQOL・合併症ゼロを目指した。

1) 術前診断技術

肺癌手術は根治術である。根治を狙えない呼吸器外科手術は、単に呼吸機能を失うばかりでなく、咳嗽や呼吸苦などの不快な症状を患者に引き起こし、在宅酸素療法が必要とされる場合さえある。術前検査として行われる検査としては、胸部～骨盤部造影CT、脳MRI、骨シンチグラフィなどがあるが、治療法の選択と評価に不可欠である臨床病期は、手術のファイナル

アンサーである病理病期と必ずしも一致しない¹⁾。「臨床病期は程度を軽く採用すべき」と先達たちから伝えられているが、手術の恩恵を受ける患者を増やすためにも、あながち乱暴な意見とは言えないだろう。

私たちは、新たなCTリンパ節転移診断技術¹⁻³⁾や、腫瘍と隣接臓器が接する距離 (Arch distance ; Adist)/腫瘍最大径 (A/D ratio) を報告した^{4,5)}。当科で行った肺癌手術患者、うち胸膜浸潤 (PI 1-3) があった患者169名を後方視的に解析した。Receiver operating characteristic (ROC) 曲線を用いて、胸膜浸潤を予測できるカットオフ値を決定、腫瘍と隣接臓器が接する距離 (Arch distance ; Adist)/腫瘍最大径 (A/D ratio) >0.9 が有用であることを示した (図1)。その感度、特異度は89.7%、96.0%であり、経験が十分な放射線科医の読影精度を凌駕する成績であった⁴⁾。また、胸腺上皮性腫瘍におけるAdist >37.5 mmは、その腫瘍の腕頭静脈浸潤を術前診断でき、また術後再発や全生存率を予想できた⁵⁾。AdistやA/D ratioは術前ルーチンに行われるCTで僅かな時間で測定できるシンプルかつ簡便な方法である。

肺癌 (や胸腺腫瘍) において T3-T4 腫瘍を Adist や A/D ratio を用いて周囲臓器浸潤を術前診断することは、外科治療方針、つまり浸潤臓器合併切除が必要か、もしくは単に壁側胸膜切除のみで良いのかを決定する上で簡便かつ有用な方法であり、手術戦略を決定する道標となる。さらに診断技術開発を進め、患者の術前個別診断に貢献する。

Corresponding Author : Kazuhiro Imai
Department of Thoracic Surgery, Akita University Graduate School of Medicine, 1-1-1 Hondo, Akita 010-8543, Japan
TEL : +81-18-884-6132
FAX : +81-18-836-2615
E-mail : karo@doc.med.akita-u.ac.jp
令和4年2月14日 秋田医学会学術賞受賞記念講演

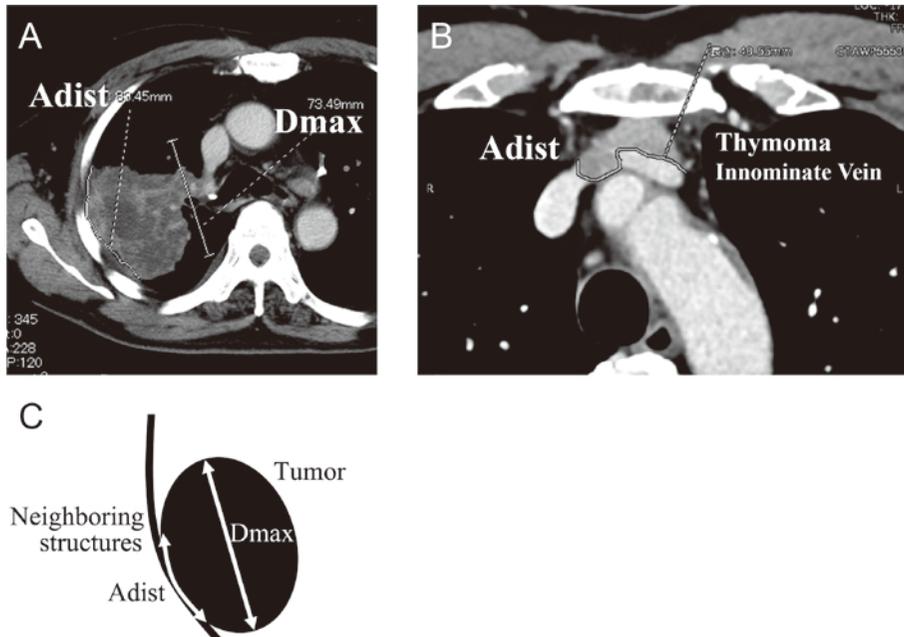


図1. (A) 肺癌（胸壁浸潤 T3）における Adist & Dmax の測定
 (B) 胸腺上皮性腫瘍における無名静脈浸潤における Adist の測定
 (C) AD ratio 測定シエーマ

2) Navigation Surgery

Navigation Surgery・個別化医療技術を開発する医工連携は、悪性黒色腫や乳癌で先駆けとなったセンチネルリンパ節（SLN）同定装置開発に遡る。当教室では、基幹研究として、磁力を用いたセンチネルリンパ節同定機器の開発を行ってきた（図2A）^{6,7)}。呼吸器外科領域において、センチネルリンパ節同定法はその煩雑さから一般化は難しかったが、リンパ節郭清の省略はJCOG1413 臨床試験として引き継がれ、患者集積が進む。

JCOG0802/WJOG4607L 第III相試験に代表される^{8,9)}、縮小手術 vs. 肺癌切除術の結果が待たれる肺区域切除術が根治術となり得るためには、本来 pN0 が必須である。リンパ節の術中迅速診断を多用し、陽性の場合、肺葉切除術に切り替えるなどの工夫がなされているが、HE染色のみでは節内辺縁に偏在する微小転移を同定できない。微小転移を見つけるためには免疫組織化学染色（IHC）が有用である。しかし2時間以上の工程を必要とするため迅速診断では利用できない。この問題を解決するため電界攪拌技術を応用した迅速

IHC技術（図2B）を開発した¹⁰⁻¹⁵⁾。電界攪拌技術とは、パルス状電界を印加することによって液滴に吸引力が作用、上下方向に振動し、スターラーなどの介在物なしに攪拌反応が進展する世界初の革新的な技術である。IHC工程を20分まで短縮し、術中に客観的かつ正確な病理診断を得ることに成功した。さらには *in situ hybridization* (ISH) での応用を目指した¹⁶⁻²⁰⁾。対応する分子標的薬が存在する肺癌 Anaplastic Lymphoma Kinase 融合遺伝子-FISHでは20時間かかる全工程を4.5時間まで短縮し、One-day コンパニオン診断の可能性を示した^{19,20)}。この開発により多くの患者が外来紹介時点でコンパニオン診断情報を得ることになり、治療選択肢の幅が広がる。現在は装置のコア技術である接触頻度が増加する特徴を利用し、Programmed cell Death 1-Ligand 1 抗体の相互利用や Microsatellite Instability の迅速検出に挑んでいる¹⁵⁾。迅速 IHC/ISH によって、がんの様々な生物学的特性を術中に理解できれば、治療精度・根治性の向上が期待できる。

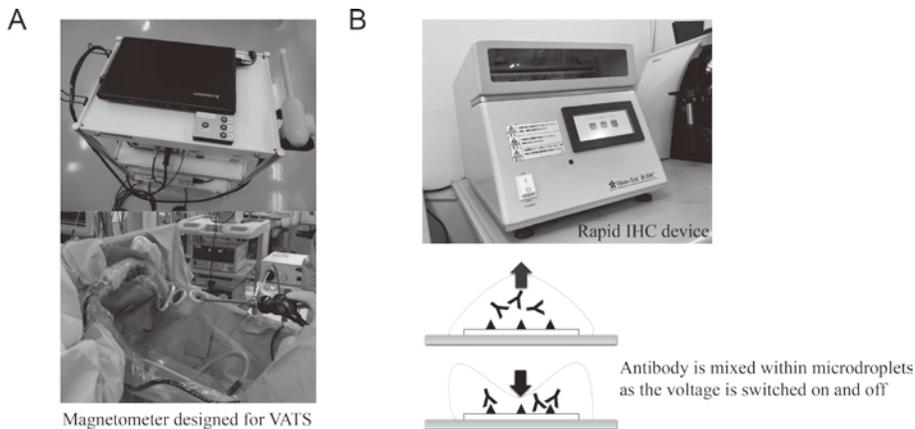


図2. (A) 磁力を用いたセンチネルリンパ節同定装置(鏡視下手術用細径センサー)
(B) 電界攪拌技術を応用した迅速免疫組織化学染色装置(ラビート)

・マウスセンチネルリンパ節同定モデルによるベアシックリサーチ

肺癌でのリンパ節転移の Transforming growth factor (TGF)- β による免疫逃避機構の理解から、世界初の PD-1 発現細胞運命系譜マウスを用いて、がん免疫療法の個別化にも挑んでいる。今までの研究で「肺癌が産生する TGF- β 1 に SLN が高濃度に暴露され、それが樹状細胞のアポトーシスを惹起すること」が SLN での樹状細胞減少の原因であることを明らかにした²¹⁾。本モデルでは、C3H/He N マウスで自然発生した扁平上皮癌 SCCVII に pIRES-AcGFP1 ベクターを用いて遺伝子導入、Green Fluorescent Protein (GFP) で容易に転移検索できる TGF- β 1 強発現株を作成した。マウス耳介に 10^6 個の癌細胞を接種し、2 週間後に安楽死させ、Tumor Draining Lymph Node (TDLN) にどのような影響を与えるかをフローサイトメトリーで検証した。腫瘍が産生する TGF- β 1 濃度が高い TDLN (=SLN) において、樹状細胞数の減少、また遊走能阻害がその原因であることを証明した。腫瘍由来の TGF- β 1 は、腫瘍から所属リンパ節への樹状細胞の遊走を抑制する。その結果として直接影響を受けるセンチネルリンパ節での転移が増加するかもしれない²²⁾。TGF- β 阻害薬が開発されつつある現在、抗癌剤や免疫チェックポイント阻害薬との併用でリンパ節転移が予防できる可能性が考えられる。

3) 合併症ゼロを目指す周術期管理・治療技術

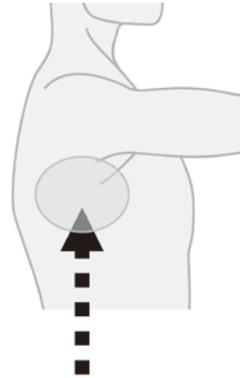
胸部外科手術、特に肺癌根治術後では肩の痛みをはじめとする末梢神経障害に対する治療は難渋することが多い。一般的に術後創痛に対しては硬膜外麻酔や肋間神経ブロックを併用することで優れた除痛を行うことができるが、硬膜外麻酔が著効した患者においても約 75%-97% が NSAIDs 単独投与だけでは肩の痛みや開胸術後疼痛症候群に関してはコントロールが不十分であると報告されている。開胸術後疼痛症候群を軽減する工夫として、当科で行った 2 つの臨床試験を報告する^{23,24)}。

a) 開胸後の肩痛の原因は横隔神経と肩甲上神経は同じ脊髄ニューロンに収束することによる内臓痛であるとも考えられている。肩痛、肋間神経痛を含めた術後神経障害性疼痛予防として肺癌根治術患者にプレガバリンを追加投与したときの有効性と安全性を比較検討した。プレガバリンは術後 48 時間までに肩痛予防効果を示し、末梢神経障害性肩痛の予防に有用である²³⁾。

b) 低侵襲手術が導入されてきたとはいえ、胸腔ドレーン留置は非常に重要であり、特に術後出血、気腫を監視するため、ほぼ必須の手技である。局所麻酔薬を皮下注射することで抜去時の疼痛を軽減できる可能性はあるが、穿刺や麻酔薬注入による疼痛を伴うことが多い。疼痛を全く伴わない麻酔法として、7% キシロカインクリーム塗布により抜去時疼痛軽減を目的と



the PainVision system
(PS-2100, Nipro Corporation)



For chest tube removal,
7% lidocaine cream was placed
around the chest tube insertion site.

図3. 胸腔ドレイン刺入部へのリドカインクリーム塗布法による鎮痛
ニプロ株式会社が開発した痛み値測定装置「PainVision system」

した単純盲検比較試験を計画した(図3)。Visual Analogue Scale に加え、痛覚定量分析装置(PainVision system PS-2100, Nipro Corporation, Osaka, Japan)を用いて痛み度を測定した。いずれにおいてもリドカインクリーム群で抜去時疼痛軽減を示した²⁴⁾。

麻酔前投薬としてのプレガバリン内服や、鏡視下手術でも留置を避けられないドレイン疼痛軽減を目指したりドカインクリーム塗布(いずれも麻酔科と合同研究)は他臓器へ応用可能である。

また、オール秋田で患者集積を行った術前導入化学療法 Carboplatin (CBDCA) + Paclitaxel (PTX), Bevacizumab 第II相試験は、抗癌剤単独に高い奏効率があれば、手術死亡を増加させる放射線追加を避け、安全に手術できることを報告した²⁵⁾。2012年4月から2017年10月まで、秋田大学病院を中心とした県内4つの施設から、29例を患者登録した。主要評価項目として奏効率は72.4%、有害事象に関しては、Grade 3/4以上の割合は69%、AUC 5の投与量を基本としたにも関わらず、17症例でGrade 3/4の好中球減少、20.7%の症例で減量を必要とした。1例でGrade 3以上の咯血を呈した。術前導入療法として手術が行われた患者は9例で、全ての患者で肺葉切除以上の手術が行われ、その完全切除率は66.6%であった。術前導入化学療法においては、臨床病期 IA-III A 期を対象と

したメタアナリシス²⁶⁻²⁸⁾によって外科治療単独と比較し、生存期間が延長することが示されているが、未だ生存ベネフィットは確かではない。しかし、私たちが高い奏効率を発揮する薬剤を保有しているならば、経験的には手術の追加によって根治術を目標とできる症例が存在することも事実である。CBDCA+PTX, Bevacizumab 療法は高い奏効率と忍容性を示した。症例を選べば、高い奏効率からIII期患者など局所進行癌においては、続く根治術を可能とするレジメンと予想されるが、術後合併症の危険が高まることを考えると、さらなる検討と症例経験が必要である。

さいごに

分子標的薬や免疫療法の進歩は治療概念を変えつつある。しかし分子生物学による Precision Medicine は個別化医療に包含される。個別化医療は先人が積み上げた技術の継承と治療変革を融合する技術である。

謝 辞

本研究・報告の多くは、本学胸部外科学講座 南谷佳弘教授の指導のもと論文報告に至りました。独創的研究のビジョンを与えてくださった小川純一先生をはじめとした教室員の皆様、また、生化学第一講座・研究室に厚かましく押しかけたにもかかわらず、貴重な

研究資金、時間を割いて惜しみなく指導して下さい、バイオサイエンス教育・研究サポートセンター小代田宗一副センター長、そして旧生化学第一講座（故）杉山俊博名誉教授に、この場をお借りして心より感謝申し上げます。

文 献

- 1) Imai, K., Minamiya, Y., Saito, H., Nakagawa, T., Hoso-no, Y., Nanjo, H., Tozawa, K., Hashimoto, M., Kimura, Y. and Ogawa, J. (2008) Accuracy of helical computed tomography for the identification of lymph node metastasis in resectable non-small cell lung cancer. *Surg. Today*, **38**(12), 1083-1090.
- 2) Kudo, S., Imai, K., Ishiyama, K., Hashimoto, M., Saito, H., Motoyama, S., Sato, Y., Takashima, S., Murata, K. and Minamiya, Y. (2014) New CT criteria for nodal staging in non-small cell lung cancer. *Clin. Imaging*, **38**(4), 448-453.
- 3) Saito, Y., Imai, K., Ishiyama, K., Saito, H., Motoyama, S., Sato, Y., Konno, H., Fujishima, S., Hashimoto, M. and Minamiya, Y. (2017) New PET/CT criterion for nodal staging in non-small cell lung cancer: measurement of the ratio of section area of standard uptake values ≥ 2.5 /lymph node section area. *Gen. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, **65**(6), 350-357.
- 4) Imai, K., Minamiya, Y., Ishiyama, K., Hashimoto, M., Saito, H., Motoyama, S., Sato, Y. and Ogawa, J. (2013) Use of CT to evaluate pleural invasion in non-small cell lung cancer: measurement of the ratio of the interface between tumor and neighboring structures to maximum tumor diameter. *Radiology*, **267**(2), 619-626.
- 5) Kuriyama, S., Imai, K., Ishiyama, K., *et al.* (2022) Using CT to evaluate mediastinal great vein invasion by thymic epithelial tumors: measurement of the interface between the tumor and neighboring structures. *Eur. Radiol.*, **32**(3), 1891-1901.
- 6) Nakagawa, T., Minamiya, Y., Katayose, Y., *et al.* (2003) A novel method for sentinel lymph node mapping using magnetite in patients with non-small cell lung cancer. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, **126**(2), 563-567.
- 7) Imai, K., Kawaharada, Y., Ogawa, J., *et al.* (2015) Development of a New Magnetometer for Sentinel Lymph Node Mapping Designed for Video-Assisted Thoracic Surgery in Non-Small Cell Lung Cancer. *Surg. Innov.*, **22**(4), 401-405.
- 8) Suzuki, K., Watanabe, S.I., Wakabayashi, M., *et al.* (2020) A single-arm study of sublobar resection for ground-glass opacity dominant peripheral lung cancer. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, **163**(1), 289-301.
- 9) Suzuki, K., Saji, H., Aokage, K., *et al.* (2019) Comparison of pulmonary segmentectomy and lobectomy: Safety results of a randomized trial. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, **158**(3), 895-907.
- 10) Toda, H., Minamiya, Y., Kagaya, M., Nanjo, H., Akagami, Y., Saito, H., Ito, M., Konno, H., Motoyama, S. and Ogawa, J. (2011) A novel immunohistochemical staining method allows ultrarapid detection of lymph node micrometastases while conserving antibody. *Acta Histochem. Cytochem.*, **44**(3), 133-139.
- 11) Tanino, M., Sasajima, T., Nanjo, H., *et al.* (2015) Rapid immunohistochemistry based on alternating current electric field for intraoperative diagnosis of brain tumors. *Brain Tumor Pathol.*, **32**(1), 12-19.
- 12) Shirasawa, H., Kumagai, J., Sato, E., *et al.* (2015) Novel method for immunofluorescence staining of mammalian eggs using non-contact alternating-current electric-field mixing of microdroplets. *Sci. Rep.*, **5**, 15371.
- 13) Hoshino, I., Imai, K., Nanjo, H., *et al.* (2019) Reagent-saving immunohistochemistry for HER2 using non-contact alternating current electric field mixing. *J. Clin. Pathol.*, **72**(1), 25-30.
- 14) Imai, K., Nanjo, H., Takashima, S., *et al.* (2020) Intraoperative diagnosis of lymph node metastasis during segmentectomy for non-small cell lung cancer by rapid immunohistochemistry using noncontact alternating current electric field mixing. *Thorac. Cancer*, **11**(12), 3547-3554.
- 15) Matsuo, T., Imai, K., Nanjo, H., *et al.* (2021) Harmonization across programmed death ligand 1 (PD-L1) assays for lung cancer by immunohistochemistry using noncontact alternating current electric field mixing. *Thorac. Cancer*, **12**(8), 1187-1194.
- 16) Saito, Y., Imai, K., Nakamura, R., Nanjo, H., Terata, K., Konno, H., Akagami, Y. and Minamiya, Y. (2016) Novel method for rapid in-situ hybridization of HER2 using non-contact alternating-current electric-field

- mixing. *Sci. Rep.*, **22**(6), 30034.
- 17) Kurihara, N., Imai, K., Nanjo, H., *et al.* (2019) Practical application of non-contact alternating current electric field mixing for reagent-saving in situ hybridisation of HER2. *J. Clin. Pathol.*, **72**(9), 603-608.
 - 18) Watanabe, S.N., Imai, K., Nanjo, H., *et al.* (2021) Rapid HER2 cytologic fluorescence in situ hybridization for breast cancer using noncontact alternating current electric field mixing. *Cancer Med.*, **10**(2), 586-594.
 - 19) Fujishima, S., Imai, K., Nakamura, R., *et al.* (2017) Novel method for rapid fluorescence in-situ hybridization of ALK rearrangement using non-contact alternating current electric field mixing. *Sci. Rep.*, **7**(1), 15116.
 - 20) Imai, K., Takashima, S., Fujishima, S., *et al.* (2020) Development of a Novel One-Step Automated Rapid in situ Hybridization for Anaplastic Lymphoma Kinase Rearrangement Using Non-Contact Alternating-Current Electric-Field Mixing. *Pathobiology*, **87**(1), 45-50.
 - 21) Ito, M., Minamiya, Y., Kawai, H., Saito, S., Saito, H., Nakagawa, T., Imai, K., Hirokawa, M. and Ogawa, J. (2006) Tumor-derived TGFbeta-1 induces dendritic cell apoptosis in the sentinel lymph node. *J. Immunol.*, **176**(9), 5637-5643.
 - 22) Imai, K., Minamiya, Y., Koyota, S., Ito, M., Saito, H., Sato, Y., Motoyama, S., Sugiyama, T. and Ogawa, J. (2012) Inhibition of dendritic cell migration by transforming growth factor-β1 increases tumor-draining lymph node metastasis. *J. Exp. Clin. Cancer Res.*, **31**, 3.
 - 23) Imai, Y., Imai, K., Kimura, T., Horiguchi, T., Goyagi, T., Saito, H., Sato, Y., Motoyama, S., Nishikawa, T. and Minamiya, Y. (2015) Evaluation of postoperative pregabalin for attenuation of postoperative shoulder pain after thoracotomy in patients with lung cancer, a preliminary result. *Gen. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, **63**(2), 99-104.
 - 24) Watanabe, S.N., Imai, K., Kimura, T., *et al.* (2019) Effect of lidocaine cream analgesia for chest drain tube removal after video-assisted thoracoscopic surgery for lung cancer : a randomized clinical trial. *Reg. Anesth. Pain Med.*, rapm-2019-100760.
 - 25) Imai, K., Nakagawa, T., Matsuzaki, I., *et al.* (2019) Phase II trial of induction chemotherapy with carboplatin and paclitaxel plus bevacizumab in patients with stage IIIA to IV nonsquamous non-small cell lung cancer. *Surg. Today*, **49**(8), 678-685.
 - 26) NSCLC Meta-analysis Collaborative Group (2014) Preoperative chemotherapy for non-small-cell lung cancer : a systematic review and meta-analysis of individual participant data. *Lancet*, **383**(9928), 1561-1571.
 - 27) Burdett, S., Stewart, L.A. and Rydzewska, L. (2006) A systematic review and meta-analysis of the literature : chemotherapy and surgery versus surgery alone in non-small cell lung cancer. *J. Thorac. Oncol.*, **1**(7), 611-621.
 - 28) Gilligan, D., Nicolson, M., Smith, I., *et al.* (2007) Preoperative chemotherapy in patients with resectable non-small cell lung cancer : results of the MRC LU22/NVALT 2/EORTC 08012 multicentre randomised trial and update of systematic review. *Lancet*, **369**(9577), 1929-1937.