

博士論文

インドシアニングリーンを応用した、新規診断、治療法の  
開発に関する研究

白田 力

インドシアニンググリーンを応用した、新規診断、治療法の  
開発に関する研究

所属 肝胆膵外科学

指導教官 長谷川 潔

氏名 白田 力

	ページ
目次	2
略語一覧	4
要旨	5
第 1 章 序文	6
第 2 章：研究 1「脾腫瘍に対する ICG 蛍光イメージング法を用いた術中診断の 診断能に関する研究」	
第 1 節. 研究 1 の方法	11
第 2 節. 研究 1 の結果	14
第 3 節. 研究 1 の考察	28
第 3 章:研究 2「ICG15 分停滞率を応用した新しい術前肝機能評価システムの 有用性に関する研究」	
第 1 節. 研究 2 の方法	34
第 2 節. 研究 2 の結果	37
第 3 節. 研究 2 の考察	50
第 4 章:研究 3「肝細胞癌に対する ICG を用いた光線温熱/光線力学的治療の開 発」	

第 1 節. 研究 3 の方法	54
第 2 節. 研究 3 の結果	59
第 3 節. 研究 3 の考察	68
第 5 章 総括と今後の展望	73
第 6 章 引用文献	74
本研究の公表について	93
謝辞	96

## 本文中の略語一覧

ICG; indocyanine green (インドシアニンググリーン)

NIR; near-infrared (近赤外)

ALICE; Albumin-Indocyanine Green Ecaluation

CT; computed tomography

MRI; magnetic resonance imaging

PT-INR; prothrombin time-international normalized ratio

MELD; model for end-stage liver disease

ALBI; albumin-bilirubin

ROC; receiving operating characteristic

AUC; area under the curve

CI; confidence interval

## 要旨

インドシアニンググリーン(ICG)を用いた肝胆膵疾患における新規の診断技術、治療の開発を目的として、①膵腫瘍に対する ICG 蛍光イメージング法、② ICG15 分停滞率を応用した新しい術前肝機能評価システムの有用性、③肝細胞癌に対する ICG を用いた光線温熱/光線力学的治療の開発の研究を行った。

①膵切除術中に ICG 蛍光イメージング法を行うことで、膵神経内分泌腫瘍は蛍光像として、膵嚢胞性疾患は蛍光欠損像として描出されることが分かった。② ICG15 分停滞率とアルブミン値を用いた ALICE スコアにより、術後腹水、術後肝不全リスクの予測が可能であった。③肝細胞癌に対する ICG-NIR 光による抗腫瘍効果が、光線温熱療法と、光線力学療法の機序によるものであることを解明した。

## 第 1 章 序文

インドシアニンググリーン（ICG）は肝胆膵外科領域では従来より肝機能評価に使われてきた。一方 ICG に近赤外（NIR）光を照射すると励起状態になり蛍光を発するという性質を利用した、ICG 蛍光イメージング法が眼底の血管造影に 1990 年頃から臨床応用されてきた。その後、ICG 蛍光イメージング法は冠動脈バイパスグラフトの開存性評価[1-4]、吻合を必要とするリンパ管の可視化[5]、乳癌[6, 7]または胃癌手術[8, 9]においてセンチネルリンパ節を同定する目的で臨床応用されてきた。ICG はシヌソイドから肝細胞に取り込まれ、胆汁中に排出される。この性質を利用して、ICG 蛍光イメージング法は肝胆膵外科領域に応用され、肝癌[10, 11]や胆管[12, 13]の可視化、肝動脈や門脈の血流評価[14]、門脈[15, 16]や肝静脈[17, 18]の支配領域の評価等に使用されている。

しかし、膵腫瘍の術中診断に対する ICG 蛍光イメージング法の応用に関してはこれまでに 2 編しか報告がない。うち 1 報は膵癌の 13%（8 例中 1 例）が描出できたとする報告であり[19]、もう 1 報は膵神経内分泌腫瘍の全例（10 例中 10 例）が描出できたとする報告である[20]。

肝切除での ICG 蛍光法の応用において微小な血流変化を捉えることができると[17, 18]を考慮すると、理論的には、膵腫瘍と周囲膵実質との血流の相違を

捉えることで ICG 蛍光法を脾腫瘍の術中診断に応用できる可能性がある。研究 1 では、この仮定を検証するために、脾切除術中に脾腫瘍に対する ICG 蛍光イメージング法を施行し、対象とする脾腫瘍と、背景脾実質の蛍光強度を計測し、比較した。また脾腫瘍と背景脾実質の蛍光強度の比を脾疾患ごとに比較検討した。

肝細胞癌に対する根治的治療は、外科的切除、ラジオ波焼却療法、肝移植であるが、肝炎ウイルスあるいはアルコール多飲に伴う慢性肝疾患が肝細胞癌の背景にあることがほとんどであり、肝機能の低下した症例に対する肝切除は術後腹水、ひいては術後肝不全のリスクを伴う[21]。術後肝不全を予測するため術前に肝機能評価を行うが、肝機能評価因子の一つである門脈圧亢進症は術後肝不全の有意なリスクであると報告されており、アメリカや欧米での肝癌ガイドラインでは、従来より外科的切除の非適応因子であるとされてきた[22, 23]。

しかし、近年門脈圧亢進症そのものは肝細胞癌に対する肝切除の非適応因子ではないとする報告がなされるようになってきた[24-26]。

日本を含むアジア地域では、肝切除適応基準、切除術式決定のために ICG15 分停滞率を用いてきたが、この基準は術後短期成績に基づいて作られたものであった。2016 年に我々のグループは、肝細胞癌に対する肝切除後の長期予後



に基づいた術前肝機能評価システムである、Albumin-Indocyanine Green Ecaluation (ALICE) grading system を提唱した[21]。このスコアは術前の血清アルブミン値と ICG15 分停滞率の 2 つの因子を使用して算出する。しかし、ALICE スコアの術後腹水、術後肝不全など術後短期成績予測についての有用性や、他の肝機能評価指標との比較はなされていなかった。研究 2 では、門脈圧亢進症、model for end-stage liver disease (MELD) スコア、ALICE スコアなど術前肝機能評価指標や、肝切除術式が術後腹水、術後肝不全予測に有用であるかを検証した。

ICG は蛍光イメージング法に用いられる蛍光物質としてのみならず、光熱物質、光感受性物質としても報告されている。

近赤外 (NIR) 光を用いた光線温熱療法は、NIR 光を光熱物質に照射することで、光エネルギーを熱エネルギーに変換し、低侵襲で局所的な抗腫瘍効果を生み出しうる治療法である[27-29]。ICG は NIR 光を吸収する性質があるので、この光線温熱療法の光熱物質として利用できる可能性がある[30, 31]。

一方で光線力学療法は光感受性物質とそれを活性化するレーザー光線による低侵襲治療である。通常、光感受性物質は選択的に腫瘍に取り込まれ、腫瘍内に

保たれる性質を持つ。適切な波長のレーザー光線により活性化された後、光感受性物質は一重項酸素などの活性酸素を産生し、抗腫瘍効果を示すとされている[32, 33]。実際に ICG と NIR 光を用いた光線力学療法は皮膚疾患への治療として導入されている[34]。

近年、術前に静注した ICG が肝細胞癌の癌組織に集積することが発見され、この性質を利用した蛍光イメージングによる腫瘍検出法が肝切除に応用されつつある。認識のナビゲーションとして ICG 蛍光ナビゲーション法が発展してきた。この現象の機序は、分化度の高い肝細胞癌では ICG の取り込みトランスポーターである有機アニオントランスポーターの発現は保たれているが、胆汁排泄に機能的あるいは形態的障害があることによる[35, 36]。このため、術前に ICG を全身投与すると肝細胞癌に ICG が蓄積する[11]。この性質を利用し、あらかじめ ICG を静脈内投与し、肝細胞癌組織に滞留した ICG を光感受性物質として用いることにより光線力学療法が成立する可能性がある。先行研究では、ICG と NIR 光を用いた光線力学療法がマウスに皮下移植した肝癌腫瘍の増大を抑制することを示し、肝細胞癌治療の新たな選択肢となる可能性があると報告した[37]。しかしながら、腫瘍増大抑制効果をもたらす詳細な機序については依然解明されていない。研究 3 では、ICG と NIR 光を用いた治療法

(ICG-NIR 光) における抗腫瘍効果の機序について研究を行った。

## 第 2 章:研究 1「脾腫瘍に対する ICG 蛍光イメージング法を用いた術中診断の 診断能に関する研究」

### 第 1 節.研究 1 の方法

#### 第 1 項.対象

東京大学肝胆脾外科、人工臓器・移植外科において 2016 年 1 月から 2017 年 4 月までの間に脾腫瘍に対する脾切除術を受けた患者のうち、研究 1 に対する同意を得られた 23 人を対象とした。本研究は倫理委員会による承認を受けて実施された(No.P2011013-11X-5)。またすべての患者からの同意をもとに本研究は施行された。

#### 第 2 項.脾腫瘍の蛍光イメージング法による観察

近赤外光観察カメラ (PINPOINT; Stryker) を用いて、開腹手術では无影灯 (手術用電灯) を消した状態で、観察カメラ本体を脾から 30cm の位置に固定して施行した[38, 39]。腹腔鏡手術では、近赤外光観察カメラが腹腔鏡カメラの形態であるため、通常の腹腔鏡手術術野を映した状態で観察を行った (対象との距離は固定されず)。術中に ICG(1ml, 2.5mg)を経静脈的に投与し、投与後約 3 分間脾腫瘍、背景脾実質の観察を行った。ICG 投与量に関しては、胆管

や肝動脈の ICG 蛍光イメージング観察時に、上記容量で観察可能であり、臨床経験上安全性も確認されていることから、1ml, 2.5mg 投与とした。観察モードは、白黒モード、カラーモード（弱い近赤外光を強調して可視化する）を用いて行った。蛍光イメージング画像によって対象腫瘍が認識可能かどうか評価を行った。

### 第 3 項. 脾腫瘍と周囲脾実質組織の蛍光強度の測定、比較

対象とする脾腫瘍と背景脾実質の蛍光イメージング法施行時の蛍光強度を蛍光強度測定ソフトウェア（U1147：浜松ホトニクス）を用いて測定、蛍光強度を算出した[40]。蛍光強度測定では、蛍光イメージングの白黒モードを使用し、最も脾腫瘍と背景脾実質との蛍光コントラストがあると判断された時点での蛍光値を測定した。このため蛍光強度を測定したタイミングは、症例ごとに異なる。また脾腫瘍を腫瘍の血行動態に従い脾神経内分泌腫瘍（多血性）[41, 42]、脾嚢胞性腫瘍（ほとんど無血管性）[43-45]、脾癌（乏血性）[46, 47]の 3 群に分類し、それぞれの群における脾腫瘍と蛍光強度の比を比較検討した。

### 第 4 項. 統計解析

量的変数に関しては、Fisher's exact test を用いて比較した。連続変数は中央値（範囲）を用いて表し、Wilcoxon's rank-sum test を用いて比較した。P 値が 0.05 未満である場合に統計学的有意差があるとみなした。統計分析は JMP ソフトウェア 11.2.0 (SAS Institute inc, Cary, NC) を用いて行った。

## 第 2 節.研究 1 の結果

### 第 1 項.対象

対象期間中に 23 例の症例を対象とした。性別内訳は男性 13 例、女性 10 例だった。年齢は 20 歳～80 歳（中央値 65 歳）であり、疾患の内訳は膵癌 7 例、膵神経内分泌腫瘍 5 例、膵嚢胞性疾患 11 例であった。手術術式は、10 例が開腹膵頭十二指腸切除、9 例が開腹膵体尾部脾切除、3 例が腹腔鏡下膵体尾部脾切除、1 例が腹腔鏡下脾温存膵体尾部切除であった。（表 1）

表 1.患者背景

	患者数 (%) (全 23 例)
患者背景	
年齢、歳*	65 (20-80)
性別 (男性:女性)	13:10 (56.5:43.4)
BMI, kg/m <sup>2</sup> *	23.0 (17.5-27.7)
ASA*	2 (1-2)
糖尿病	6 (26.0)
疾患	
膵癌	7 (30.4)
膵神経内分泌腫瘍	5 (21.7)
膵嚢胞性疾患	11 (47.8)
膵管内乳頭状粘液性癌	1 (4.3)
膵管内乳頭状粘液性腺腫	1 (4.3)
膵管内乳頭状粘液性腫瘍	2 (8.6)
充実性偽乳頭状腫瘍	4 (17.3)
漿液性嚢胞腺腫	1 (4.3)
膵神経内分泌腫瘍嚢胞化	1 (4.3)
単純嚢胞	1 (4.3)
手術情報	
開腹手術 / 腹腔鏡下手術	19/4 (82.6/17.3)
術式	
膵頭十二指腸切除	10 (43.4)
開腹膵体尾部切除	9 (39.1)
腹腔鏡下膵体尾部切除	3 (13.0)
腹腔鏡下脾温存膵体尾部切除	1 (4.3)

\*中央値 (範囲)

BMI, body mass index; ASA, American Society of Anesthesiologists



## 第 2 項. ICG 蛍光法による腫瘍描出の結果

膵腫瘍に対する ICG 蛍光イメージング法の症例毎の結果を表 2 に示す。腫瘍背景としては、腫瘍の大きさの中央値は 25.3mm（範囲 9.0-54.6mm）であり、CT（computed tomography）により計測した膵実質表面から腫瘍辺縁までの距離は中央値 1.6mm（範囲 0-47mm）であった。腫瘍と背景膵実質の蛍光強度の比を膵癌、膵神経内分泌腫瘍、膵嚢胞性疾患の 3 群に分けて比較したところ、腫瘍と背景膵実質の蛍光強度の比は膵癌では 1.43（範囲 0.93-1.73）、膵神経内分泌腫瘍は 1.99（範囲 1.88-2.64）、膵嚢胞性疾患では 0.54（0.22-0.92）であった（図 1）。膵癌群において、腫瘍と背景膵疾患の蛍光強度中央値は有意な差がなかった（77.9 vs 72.1,  $P=0.41$ ）。対照的に、膵神経内分泌腫瘍では腫瘍は背景膵実質に比べて蛍光強度中央値が有意に高く（141 vs 73.5,  $P=0.03$ ）、膵嚢胞性疾患では腫瘍は背景膵実質に比べて蛍光強度中央値が有意に低かった（50.6 vs 94.5,  $P=0.01$ ）。膵癌 7 例の内 3 例（42.9%）では腫瘍と背景膵疾患の蛍光強度の差が 1.00 に非常に近く（0.92-1.08）、蛍光イメージングによる腫瘍の認識は困難であった（表 2）。一方、膵神経内分泌腫瘍では 5 例全例で蛍光イメージングによる腫瘍の認識が可能であった。全体 23 例の内、17 例（74%）が視診もしくは触診で腫瘍を認識可能であった。全症例で予定

術式が施行可能であり、全症例で切除断端は陰性であった。

表 2.症例毎における ICG 蛍光イメージングの有効性

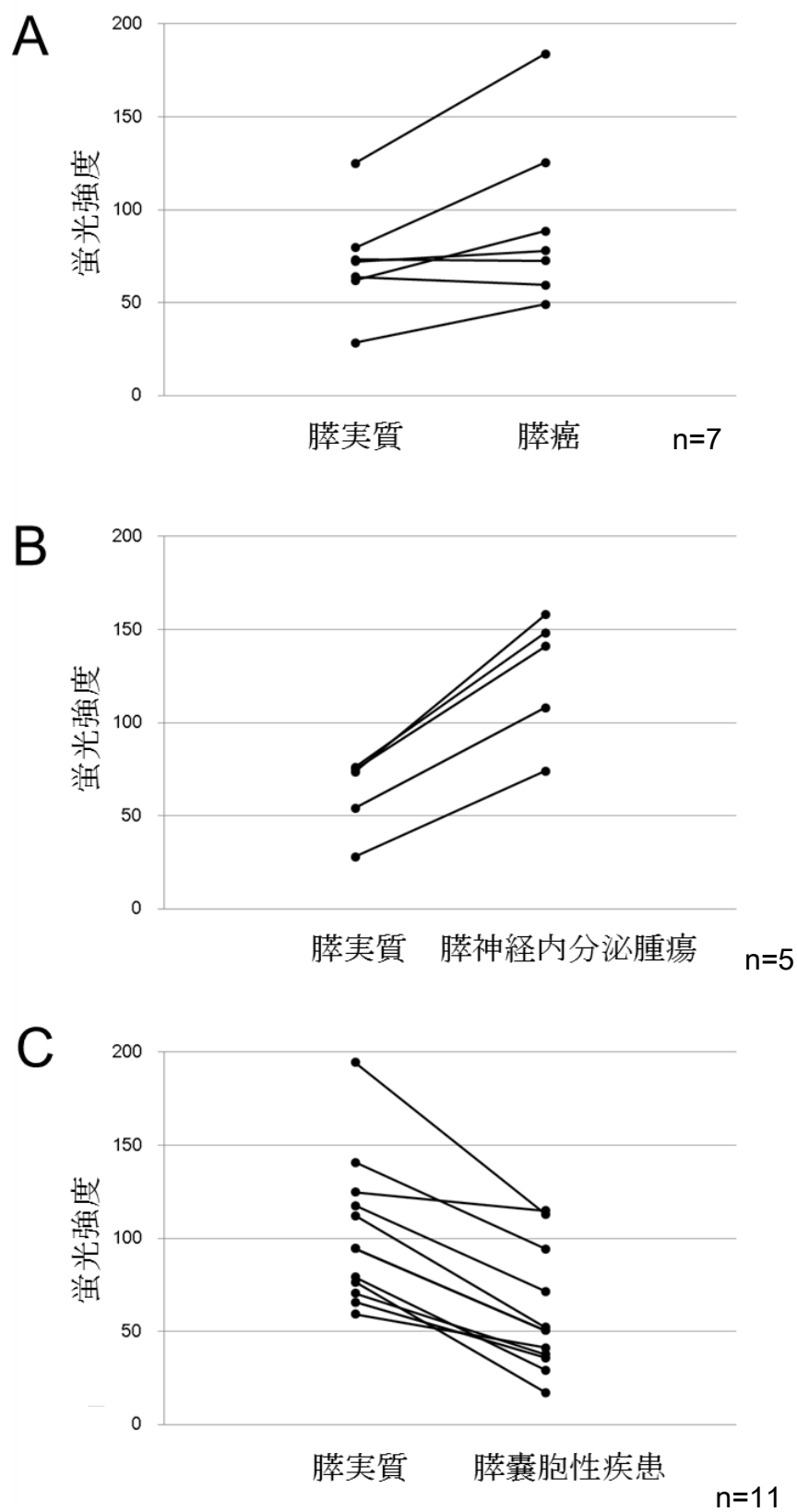
No.	疾患	部位	腫瘍径 (mm)	腫瘍深度 (mm)	術式 <sup>†</sup>	蛍光強度比 <sup>‡</sup>	ICG 蛍光法の腫瘍描出
膵癌							
1		体部	25.1	2.0	DP	1.73	蛍光像
2		頭部	26.4	0.5	PD	1.43	蛍光像
3		頭部	45.4	1.6	PD	1.47	蛍光像
4		頭部	33.1	4.6	PD	1.08	描出不可
5		頭部	12.5	3.3	DP	0.93	描出不可
6		頭部	25.3	4.7	PD	0.99	描出不可
7		体部	15.4	1.0	DP	1.57	蛍光像
膵神経内分泌腫瘍							
8		尾部	10.0	0.5	DP	2.15	蛍光像
9		尾部	45.1	3.8	DP	1.99	蛍光像
10		尾部	9.0	2.7	DP	1.94	蛍光像
11		体部	22.1	1.0	DP	2.64	蛍光像
12		尾部	16.5	0.5	Lap-SP-DP	1.88	蛍光像
膵嚢胞性疾患							
13	IPMC	頭部	28.8	3.1	PD	0.37	蛍光欠損像
14	IPMA	頭部	37.6	0.8	PD	0.67	蛍光欠損像
15	IPMN	頭部	34.3	0.5	PD	0.54	蛍光欠損像
16	IPMN	頭部	17.4	1.6	PD	0.22	蛍光欠損像
17	SPN	尾部	51.4	0	Lap-DP	0.58	蛍光欠損像
18	SPN	体部	14.6	4.0	Lap-DP	0.92	描出不可
19	SPN	頭部	31.2	2.2	PD	0.54	蛍光欠損像
20	SPN	体部	54.6	0.5	DP	0.70	蛍光欠損像
21	漿液性嚢胞腺腫	頭部	25.2	1.5	PD	0.54	蛍光欠損像
22	NET 嚢胞化	体部	43.1	2.5	DP	0.61	蛍光欠損像
23	単純嚢胞	尾部	15.4	1.3	Lap-DP	0.47	蛍光欠損像
総計	-	-			-		19 例描出
中央値			25.3	1.6		0.93	4 例描出不可
範囲			9.0-54.6	0-4.7		0.22-2.64	

IPMC, 膵管内乳頭状粘液性癌; IPMA, 膵管内乳頭状粘液性腺腫; SPN, 充実性偽乳頭状腫瘍

<sup>†</sup>PD, 膵頭十二指腸切除; DP, 開腹膵体尾部切除; Lap-DP, 腹腔鏡下膵体尾部切除; Lap-SP-DP, 腹腔鏡下脾温存膵体尾部切除

<sup>‡</sup>腫瘍の背景膵実質に対する蛍光強度比

図 1.膵腫瘍と背景膵実質の ICG 蛍光イメージング法による蛍光強度の差



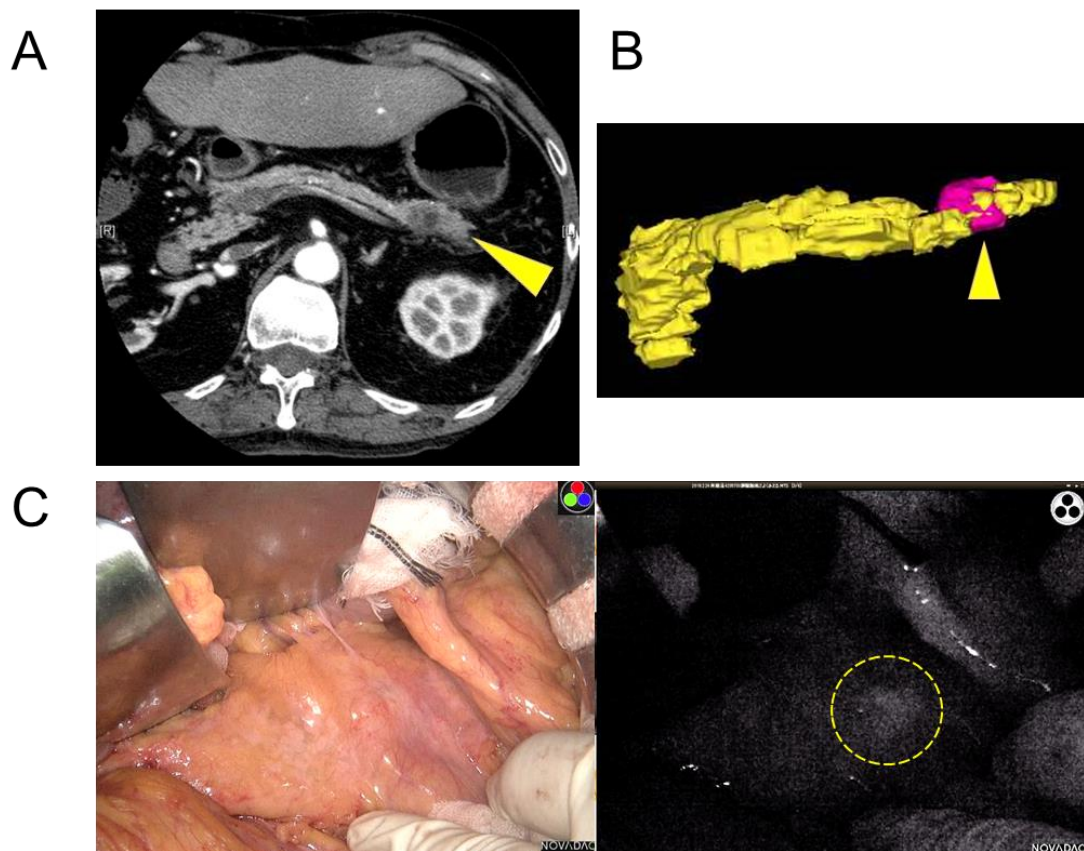
- A. 膵癌症例では、腫瘍と背景膵実質との間に、蛍光強度の有意な差は認められなかった ( $P=0.41$ )。
- B. 膵神経内分泌腫瘍症例では、腫瘍は背景膵実質に比べて蛍光強度が有意に高かった ( $P=0.03$ )。
- C. 膵嚢胞性疾患症例では、腫瘍は背景膵実質に比べて蛍光強度が有意に低かった ( $P=0.01$ )。

### 第 3 項.ICG 蛍光法を施行した症例提示

#### (1)膵癌症例（症例 1）

術前造影 CT 画像では膵尾部に 25mm 大の辺縁不整な低吸収域を認めた（図 2A）。手術適応と判断され、開腹膵体尾部脾切除が予定された。開腹、網嚢切除を行った後観察を行ったが、触診で腫瘍ははっきりとは認識できなかった。ICG(2.5mg)を経静脈的に投与し、蛍光イメージングによる観察を行ったところ、腫瘍(蛍光強度 49.1)が背景膵実質(蛍光強度 28.3)よりも蛍光強度が強く、蛍光像として認識された（図 2C）。ICG 蛍光イメージング、術中超音波検査により得られた情報を参考に膵切離線を決定し、膵体尾部脾切除を施行した。病理結果は膵癌の診断であり、切除断端陰性であった。術後経過は特に問題なく、術後 14 日で退院となった。

図 2.膵癌症例における ICG 蛍光イメージング法

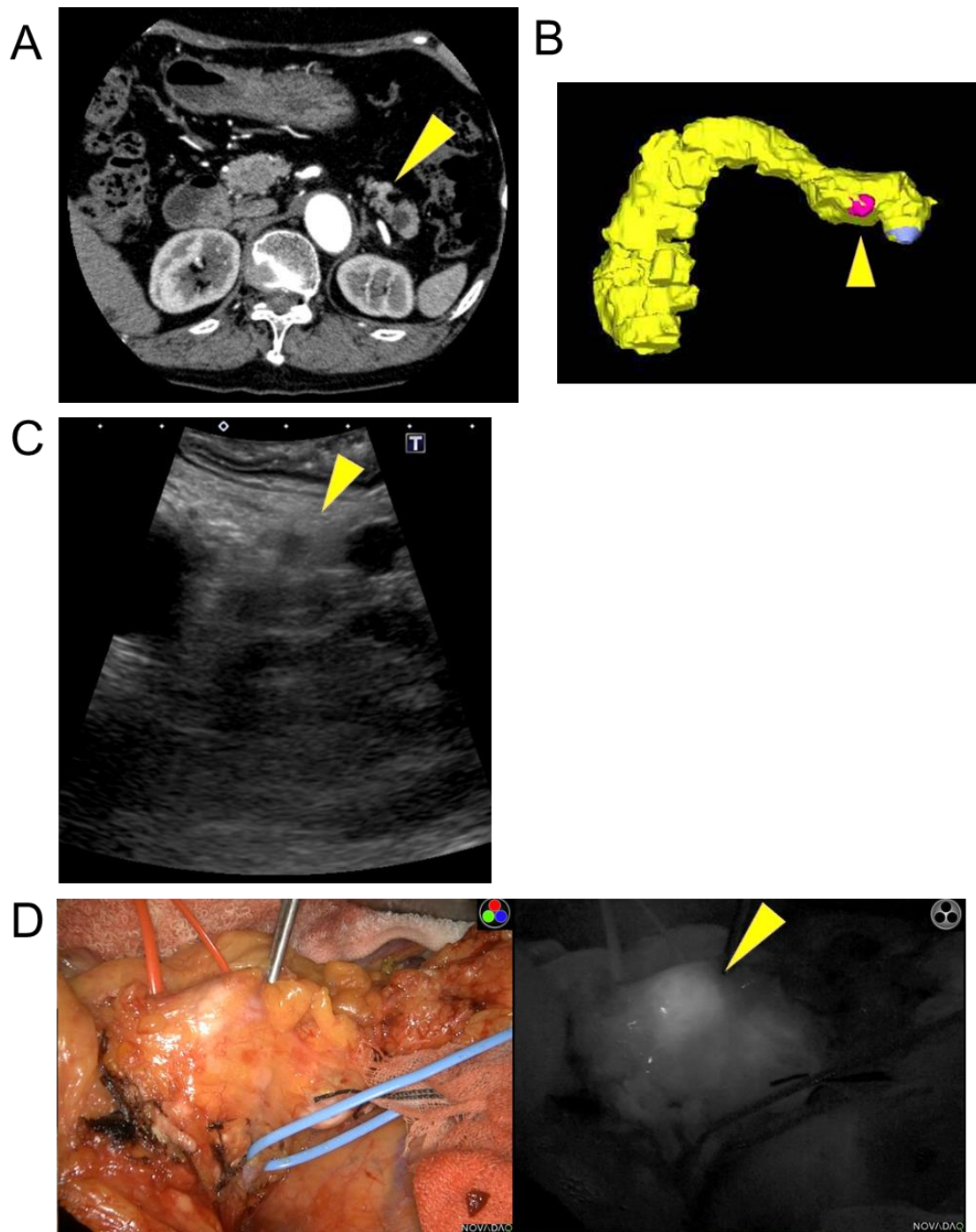


- A. 術前造影 CT 所見では、膵尾部に辺縁不整、境界不明瞭な乏血性腫瘤を認めた。
- B. 3D-CT シミュレーションでは膵尾部に腫瘍を認めた。
- C. ICG 蛍光イメージング法では、膵腫瘍は背景膵実質より強い蛍光強度を示した。

## (2) 膵神経内分泌腫瘍症例（症例 8）

術前造影ダイナミック CT 画像の動脈相で 9mm 大の濃染する腫瘤を膵尾部に認め、膵神経内分泌腫瘍が疑われた（図 3A）開腹膵体尾部脾切除が予定された。開腹、網嚢切除を行った後に、触診、術中超音波検査を行ったところ、腫瘍を同定し得た（図 3C）。しかし、肉眼では腫瘍の大きさが小さいため位置が不明瞭であった。ICG(2.5mg)を経静脈的に投与し、蛍光イメージングを行ったところ、腫瘍（蛍光強度 158）は背景膵実質（蛍光強度 73.5）より蛍光強度が強く、蛍光像として認識可能であった（図 3D）。蛍光イメージング及び術中超音波検査を参考に膵切離線を決定し、膵体尾部脾切除を施行した。病理結果では膵神経内分泌腫瘍の診断で、切除断端は陰性であった。術後経過は問題なく、術後 11 日目に退院となった。

図 3. 膵神経内分泌腫瘍症例における ICG 蛍光イメージング法



- A. 術前造影 CT 所見では、膵尾部に多血性腫瘍を認め、膵神経内分泌腫瘍が疑われた (矢頭)。
- B. 3D-CT シミュレーションでは、膵尾部に腫瘍を認めた (矢頭)。

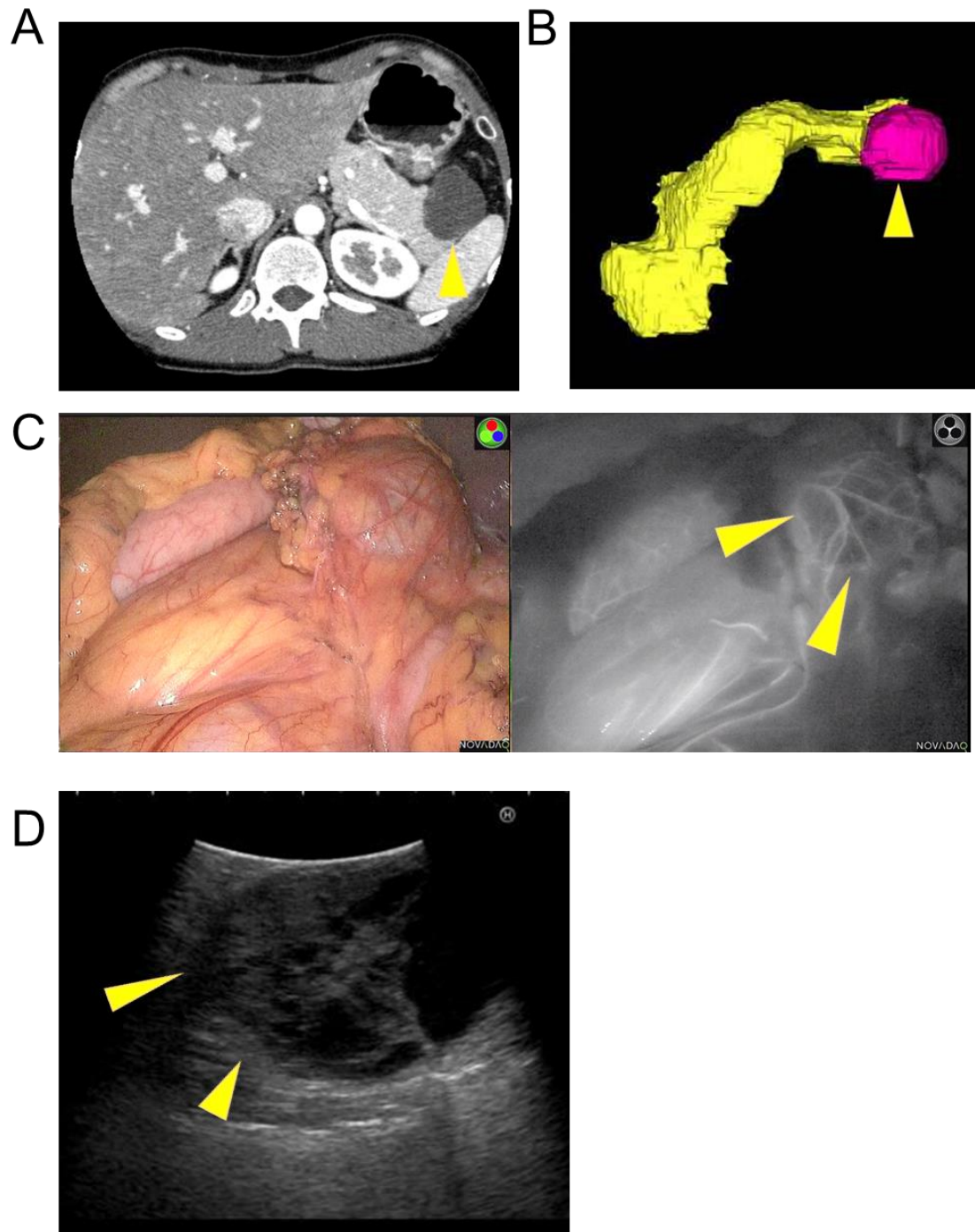


- C. 術中超音波検査では、膵尾部に腫瘍を境界不明瞭な低吸収腫瘤として認めた（矢頭）。
- D. ICG 蛍光イメージング法では膵神経内分泌腫瘍は背景膵実質より強い蛍光強度を示し、蛍光像として描出された（矢頭、左図；肉眼像、右図；蛍光イメージング像）。

### (3)膵嚢胞性疾患症例（症例 17）

術前造影 CT 画像で内部に隔壁を伴う多房性膵嚢胞を膵尾部に認め、充実性偽乳頭状腫瘍が疑われた（図 4A）。腹腔鏡下膵体尾部脾切除が予定された。トロッカー挿入、嚢切除を行った後、ICG(2.5mg)を経静脈的に投与した。腫瘍は蛍光欠損像として認識された（腫瘍蛍光強度 113.1、背景膵実質蛍光強度 194.4）（図 4C）。蛍光イメージング、術中超音波検査（図 4D）による情報を基に切離線を決定し、腹腔鏡下膵体尾部脾切除を施行した。病理結果は充実性偽乳頭状腫瘍の診断であり、切除断端は陰性であった。術後経過は問題なく、術後 11 日目に退院となった。

図 4.膵嚢胞性疾患症例における ICG 蛍光イメージング法



- A. 術前造影 CT 所見では、膵尾部に辺縁整、境界明瞭な嚢胞性腫瘍を認めた (矢頭)。
- B. 3D-CT シミュレーションでは、膵尾部に腫瘍を認めた (矢頭)。

- C. ICG 蛍光イメージング像では、膵嚢胞性腫瘍は背景膵実質より蛍光強度が低く、蛍光欠損像として描出された（矢頭、左図；肉眼像、右図；蛍光イメージング像）。
- D. 術中超音波検査では膵腫瘍は無～低エコー領域として描出された（矢頭）。

### 3.研究 1 の考察

研究 1 から得られた結果により、膵腫瘍に対する ICG 蛍光イメージングは膵腫瘍をリアルタイムに膵腫瘍を蛍光像または蛍光欠損像として描出し得ることが分かった。特に、膵神経内分泌腫瘍では 100%、膵嚢胞性疾患では 90.9%の症例で腫瘍を認識可能であった。一方、膵癌症例では認識できる症例は比較的に少なかった (57.1%)。膵腫瘍に対する蛍光イメージング法は特に膵神経内分泌腫瘍、膵嚢胞性疾患症例において、術中に腫瘍の同定、進展範囲の確認に有用である可能性があると考えられた。

視診、触診、術中超音波検査[48, 49]は術中に腫瘍や腫瘍辺縁の同定のために広く行われている手技である。しかし、小さい膵病変の場合、これらのモダリティを用いても鮮明に描出できない、もしくは同定できない場合がある (研究 1 では全症例の 13%)。膵腫瘍に対する ICG 蛍光イメージング法は、腫瘍同定においてこれら従来のモダリティを補完する役割が期待される。特に腹腔鏡下手術では膵の全体像観察のための視野が限られ、触覚による情報も乏しいため、ICG 蛍光イメージングがより有用である可能性がある。ICG 蛍光法は従来から、原発または転移性肝癌[10, 11, 50]や甲状腺腫瘍[51]の可視化に用いられている。しかし、膵腫瘍に対する ICG 蛍光イメージング法に関する報告は膵

癌に関するもの 1 報[19]、膵神経内分泌腫瘍に関するもの 1 報のみ[20]である。研究 1 では、膵神経内分泌腫瘍の全症例、膵嚢胞性疾患症例の 90.9%が蛍光像または蛍光欠損像として腫瘍描出可能であった。膵細胞は肝細胞と異なり ICG 取り込み能を持っていないため、ICG 蛍光イメージングでは血管内にある ICG の蛍光を観察していると考えられ、膵腫瘍描出は腫瘍の **vascularity** の違いに基づいていると考えられる。膵神経内分泌腫瘍は背景膵実質より **vascularity** に富んでいる[41, 42]。研究 1 では、膵神経内分泌腫瘍は背景膵実質に対して中央値で 1.99 倍の蛍光強度を有していた。Paiella らは ICG 蛍光イメージングにより膵神経内分泌腫瘍 10 例全例で腫瘍を認識でき、さらに膵神経内分泌腫瘍核出後の膵離断面に残存する病変があることを ICG 蛍光イメージングで同定したと報告した[20]。研究 1 では 10mm 以下の膵神経内分泌腫瘍でも描出が可能であったため、蛍光イメージングは小さい膵神経内分泌腫瘍や、腫瘍核出術施行時にも有用である可能性がある。また膵神経内分泌腫瘍に対する膵切除時の、転移リンパ節の描出、リンパ節郭清においても有用である可能性がある。Vascularity に富む膵神経内分泌腫瘍とは対照的に、膵嚢胞性疾患は通常嚢胞内に脈管がないため背景膵疾患よりも **vascularity** が乏しい[43]。実際、充実性偽乳頭状腫瘍や粘液性嚢胞腫瘍を含む嚢胞性疾患は、造影 CT で

は低吸収性腫瘍として描出されると報告されている[44, 45]。本研究では膵嚢胞性疾患全例で、蛍光強度はゼロではなかった。これは嚢胞壁自体が蛍光されているか、または嚢胞の背側にある膵実質の影響を受けているものと考えられる。それでも、膵嚢胞性疾患は背景膵実質よりも 0.54 倍低い蛍光強度であり、蛍光欠損像として描出された。一方、漿液性嚢胞腺腫は研究 1 では 1 例のみであり、蛍光欠損像として描出されたが、一般的には CT や MRI、血管造影で極めて多血性であることが知られる。さらに症例を増やして観察した場合、漿液性嚢胞腺腫に関しては必ずしも蛍光欠損像とならない可能性が考えられる。ICG 蛍光イメージング法で膵嚢胞性疾患 1 例の腫瘍描出ができなかったが（症例 18）、この症例では腫瘍の深さが 4mm であり、膵嚢胞の手前にある 4mm の厚さの膵実質が蛍光され、蛍光欠損像として描出できなかったものと考えられる。膵癌は背景膵実質より *vascularity* に乏しいと報告されているが[46, 47]、ICG 蛍光イメージングでは腫瘍と背景膵実質の蛍光強度の差が小さく、腫瘍認識可能であった症例は 57.1%にとどまった。これは、EPR（enhanced permeability and retention）効果が一因となっている可能性がある[52]。一般的に癌組織では細胞間のギャップジャンクションが緩く、血中から癌細胞への物質移行が促進していることに加え、癌組織中の物質排泄能も低

下していることから、物質が癌組織中に貯留しやすい[52]。このため、膵癌の vascularity から予想されるよりも蛍光強度が強くなっている可能性が考えられる。また膵癌症例で描出不可であった 3 例は、腫瘍深度が 4.6mm, 3.3mm, 4.7mm と描出可能であった症例に比べいずれも深かった。前述の膵嚢胞性疾患での描出不可例（腫瘍深度 4mm）と合わせて考慮すると、膵腫瘍に対する ICG 蛍光イメージング法では、3-4mm の深度の腫瘍については、描出が困難である可能性が考えられる。また肝細胞癌に対する ICG 蛍光イメージング法では観察可能な深さは肝表面から 10mm と報告されているが[11]、肝細胞癌では ICG が集積し強い蛍光を発するため、膵腫瘍より深い深度まで観察可能であると考えられる。

膵癌の表面マーカー（CEA）をターゲットとした特異的蛍光プローブの有用性が報告されている[53]。ICG は従来から肝機能検査等で使用されており、その安全性が確認されていることから、ICG を用いた蛍光イメージング法は実臨床で使用しやすいと考えられる。

ICG 蛍光イメージングを肝腫瘍同定に使用する場合、手術の 14 日前までに ICG を経静脈的投与する[11, 14]。肝細胞癌では ICG 排出トランスポーターの発現が少ないか、胆汁排泄系に腫瘍発育に伴う形態変化があるため、ICG が排



出されずに腫瘍組織に蓄積し、蛍光イメージング法で蛍光像として描出される[54, 55]。転移性肝癌では腫瘍辺縁が蛍光されるが、これは腫瘍により圧排された腫瘍辺縁周囲の肝実質に ICG が蓄積するためと考えられる[11, 50]。これから肝腫瘍が蛍光される機序とは異なり、脾腫瘍に対する蛍光イメージング法では、蛍光強度は腫瘍と背景脾実質の *vascularity* の違い、または EPR 効果による影響を受けていると考えられる。脾腫瘍では ICG 取り込み、または排出するトランスポーターが存在しないため[54]、ICG 投与は術中、蛍光イメージング法施行時に行う必要がある。

研究 1 の限界について述べる。第一に、症例数が少ないことが挙げられる。本研究では ICG 蛍光イメージング法が脾腫瘍の術中診断に応用できる可能性が示唆されたが、より多数例の解析で、本法の診断能やそれに影響を与える因子について検討を追加する必要がある。第二に、研究 1 では蛍光観察カメラを用手的に固定し、対象との距離を約 30cm としていたため、蛍光カメラと対象との距離が正確に固定されていなかったことである。蛍光観察カメラと対象との距離により蛍光強度が変化することが報告されているため[56]、蛍光強度が対象腫瘍または背景脾実質とカメラの距離、または手術方法（開腹手術か腹腔鏡下手術か）により影響を受けていた可能性がある。第三に、蛍光強度の評価に関

して経時的な変化を測定していないことである。本研究では、最も膵腫瘍と背景膵実質の蛍光コントラストの差があると考えられたタイミングで蛍光強度を測定したため、症例ごとに測定タイミングのばらつきがあり、蛍光強度、蛍光強度比に影響を与えた可能性がある。ICG 投与後の膵腫瘍と背景膵実質の蛍光強度は経時的に変化する可能性があるため、撮影の至適時間を設定するためには ICG 投与から蛍光強度の推移を測定し多数例で解析する必要がある。

研究 1 の結論としては、膵腫瘍に対する ICG 蛍光イメージング法は、特に膵神経内分泌腫瘍、膵嚢胞性疾患で有用である可能性がある。膵腫瘍に対する ICG 蛍光イメージング法は術中の視診、触診、術中超音波検査を補完し、肝胆膵外科医が術中に膵腫瘍を認識する際に役立つ可能性がある。

### 第 3 章:研究 2「ICG15 分停滞率を応用した新しい術前肝機能評価システムの

有用性に関する研究」

#### 第 1 節. 研究 2 の方法

##### 第 1 項. 対象

2002 年 10 月から 2014 年 7 月までに、当科で肝細胞癌に対する肝切除を施行した症例を対象とした。後方視的研究のため、本研究のために加えられた侵襲はない。

##### 第 2 項. 手術適応、手術方法

肝切除適応、肝切除術式は、腫瘍進展度、肝機能、全身状態に基づいて、幕内基準に従い決定された[57]。腫瘍進展度、切除可能性は造影 CT、造影 MRI (magnetic resonance imaging)、超音波検査を含む画像検査により評価した。肝機能は生化学検査、Child-Pugh grade、ICG15 分停滞率を用いて評価された。肝離断はペアン破碎法を用いて、間欠的流入血遮断法 (Pringle 法) 下に行った[57]。

##### 第 3 項.術後管理

腹腔ドレーン排液量は日ごとに測定された。禁忌事項がない限り、術後に抗アルドステロン薬を術前 ICG15 分停滞率に従って投与した[57]。

#### 第 4 項.術後腹水、術後肝不全の定義

術後腹水は、術後の腹腔ドレーン排液量に胸腔ドレーン排液量を加えた量が術前体重 1kg あたり 10mL を越えた場合と定義した[58]。術後肝不全は国際肝臓外科研究会（ISGLS）によって定められた、術後 5 日目以降の prothrombin time-international normalized ratio（PT-INR）の延長かつ血清ビリルビン上昇、と定義した[59]。その他の術後合併症は、Clavien-Dindo 分類に従って評価した[60]。また門脈圧亢進症は術前胃または食道静脈瘤の存在または脾腫かつ血小板  $10 \times 10^4$  /mL 未満、と定義した[61]。Major hepatectomy は Couinaud の 3 亜区域以上の切除、Minor hepatectomy は 2 亜区域以下の切除とし、区域切除は Couinaud の 2 亜区域切除と定義した。

#### 第 5 項.各種肝機能スコアの算出方法

肝機能に関するスコア、MELD（model for end-stage liver disease）スコア[62]、ALBI（albumin-bilirubin）スコア[63]、ALICE スコア[21]の算出方法

及び grade 分類は下記の通り。

(MELD スコア)

$$= 9.57 \times \log_e (\text{血清クレアチニン } [\text{mg/dL}]) + 3.78 \times \log_e (\text{血清総ビリルビン } [\text{mg/dL}]) + 11.2 \times \log_e (\text{INR}) + 6.43.$$

(ALBI スコア)

$$= 0.66 \times \log_{10} (\text{血清総ビリルビン } [\mu\text{mol/L}]) - 0.085 \times (\text{血清アルブミン } [\text{g/L}])$$

※ALBI grade 1 ( $-2.60$  以下)、grade 2 ( $>-2.60$ ,  $-1.39$  以下)、grade 3 ( $>-1.39$ )

(ALICE スコア)

$$= 0.663 \times \log_{10} (\text{ICG R15 } [\%]) - 0.0718 \times (\text{血清アルブミン } [\text{g/dL}])$$

※ALICE grade 1 ( $-2.20$  以下)、grade 2a ( $>-2.20$ ,  $-1.88$  以下)、grade 2b ( $>-1.88$ ,  $-1.39$  以下) grade 3 ( $>-1.39$ )

## 第 6 項.統計解析

連続変数は中央値（範囲）で表し、Mann-Whitney U-test を用いて比較し

た。量的変数は  $\chi^2$  検定、Fisher's exact test を用いて比較した。多変量解析は

backward elimination 法を用いて解析し、P 値が 0.10 未満を消去のカットオフ値とした。臨床的に重要と考えられる次の 8 項目について術後腹水、術後肝不全の潜在的因子として多変量解析を行った。HCV (+)、Child-Pugh スコア、門脈圧亢進症、Major hepatectomy、手術時間 300 分以上、出血量 800mL 以上、MELD スコア、ALICE スコア。P 値が 0.05 未満を統計学的有意差ありと判断した。ALICE、ALBI、MELD スコアの術後腹水、術後肝不全に対する識別能を評価するため、それぞれのスコアについて ROC (receiving operating characteristic) 曲線下面積 (AUC) を算出し、 $\chi^2$  検定を用いて比較した。統計解析は JMP ソフトウェア 12.0 (SAS Institute, Cary, NC) を用いて行った。

## 第 2 節.研究 2 の結果

### 第1項. 術後腹水、術後肝不全に対する単変量、多変量解析

術後腹水は 142 例 (13.9%) に認め、術後肝不全は 38 例 (3.7%) に認めた。

術後 90 日死亡率は 0.59% (6 例 ; 癌死 4 例、胆管炎または肺炎による敗血症 2 例) であった。術後腹水または術後肝不全の有無による臨床的特徴を表 3、表 4 に示す。

単変量解析の結果、術後腹水または術後肝不全を認めた症例では手術時間がより長く、出血量がより多い傾向があり、Major hepatectomyが多く、術中輸血を必要とした症例が多かった（表 3、表 4）。多変量解析では、ALICE スコア、Major hepatectomy、門脈圧亢進症、出血量 800mL 以上であることが術後腹水の独立した予測因子であった（表 5）。また ALICE スコア、Major hepatectomy、門脈圧亢進症が、術後肝不全の独立した予測因子であった（表 5）。MELD スコアは術後腹水または術後肝不全の独立した予測因子ではなかった。

表 3.術後腹水の有無に基づく患者背景、術中、術後結果

	術後腹水 n= 142 (13.9%)	術後腹水なし n= 883 (86.2%)	P 値
患者背景			
年齢中央値, 歳 (四分位数範囲)	68 歳 (61-75)	68 歳 (59-73)	0.134
性別 (男性/女性), n	106/36 (75%/25%)	711/172 (81%/19%)	0.116
血液検査中央値 (四分位数範囲)			
血小板数 (x10 <sup>4</sup> )	12.8 (8.4-19.2)	14.9 (11.7-20.9)	0.074
総ビリルビン mg/dL	0.7mg/dL (0.6-0.9)	0.7mg/dL (0.6-0.9)	0.600
アルブミン g/dL	3.5g/dL (3.2-3.9)	3.8g/dL (3.5-4.1)	< 0.001
プロトロンビン活性 %	85% (72.9-100)	88% (76.1-100)	0.173
背景肝, n			
正常肝	5 (3.6%)	76 (8.9%)	0.030

慢性肝炎	46 (33%)	464 (54%)	< 0.001
硬変肝	90 (64%)	317 (37%)	< 0.001
背景肝疾患, n			
B型肝炎	23 (16%)	219 (25%)	0.025
C型肝炎	92 (65%)	423 (48%)	< 0.001
アルコール性	32 (23%)	259 (29%)	0.109
ICG R15 % 中央値 (四分位数範囲)	16.9% (10.4-23.8)	12.8% (8.3-18.9)	< 0.001
Child-Pugh grade A/B/C, n	118/24/0 (83%/17%/0%)	811/71/1 (91.9%/8.0%/0.1%)	0.003
MELD スコア 中央値 (四分位数範囲)	7.70 (6.4-9.4)	7.08 (2.9-8.8)	0.106
ALICE grade, n			< 0.001
1	22 (16%)	275 (32%)	
2a	25 (18%)	258 (30%)	
2b	67 (48%)	269 (31%)	
3	27 (19%)	61 (7.1%)	
門脈圧亢進症, n	50 (43%)	169 (22%)	< 0.001
再肝切除, n	18 (13%)	288 (33%)	< 0.001

※P 値は、各項目が術後腹水群、術後腹水なし群の間で有意な差があるかを示す。

	術後腹水 n= 142 (13.9%)	術後腹水なし n= 883 (86.2%)	P 値
<b>術中項目</b>			
手術時間中央値; 分 (四分位数範囲)	419 分(275-551)	355 分(275-455)	< 0.001
出血量中央値; mL (四分位数範囲)	1035mL (535-1674)	610mL (340-1020)	< 0.001
Major hepatectomy, n	43 (30%)	145 (16%)	< 0.001
腹腔鏡下肝切除, n	2 (1.4%)	21 (2.4%)	0.759
赤血球輸血, n	26 (19%)	71 (8.3%)	< 0.001



新鮮凍結血漿輸血, n	77 (68%)	258 (47%)	< 0.001
-------------	----------	-----------	---------

※P 値は、各項目が術後腹水群、術後腹水なし群の間で有意な差があるかを示す。

	術後腹水 n= 142 (13.9%)	術後腹水なし n= 883 (86.2%)	P 値
<b>術後成績</b>			
合併症‡, n			
胆汁漏	13 (9.2%)	37 (4.2%)	0.019
腹腔内膿瘍	20 (14%)	56 (6.3%)	0.003
術後在院日数中央値; 日 (四分位数範囲)	23 日 (17-30)	14 日 (12-18)	< 0.001
術後 90 日死亡, n	2 (1.4%)	4 (0.5%)	0.197

‡ Dindo-Clavien 分類 2 以上

※P 値は、各項目が術後腹水群、術後腹水なし群の間で有意な差があるかを示す。

表 4.術後肝不全に基づく患者背景、術中・術後結果

	術後肝不全 n= 38 (3.7%)	術後肝不全なし n= 987 (96%)	P 値
患者背景			
年齢, 歳 中央値 (四分位数範囲)	70 歳 (63-76)	68 歳 (59-73)	0.101
性別 (男性/女性), n	26/12 (68%/32%)	791/196 (80%/20%)	0.098
血液検査中央値 (四分位数範囲)			
血小板数 (x10 <sup>4</sup> )	17.4 (8.2-24.4)	14.7 (11.4-20.5)	0.884
総ビリルビン mg/dL	0.8mg/dL (0.6-1.0)	0.7mg/dL (0.6-0.9)	0.187
アルブミン g/dL	3.5g/dL (3.1-3.8)	3.8g/dL (3.5-4.1)	< 0.001
プロトロンビン活性 %	82% (70-93)	88% (76-100)	0.050
背景肝, n			
正常肝	2 (5.3%)	79 (8.2%)	0.763
慢性肝炎	11 (29%)	499 (52%)	0.007
硬変肝	25 (66%)	382 (40%)	0.002
背景肝疾患, n			
B 型肝炎	6 (16%)	236 (24%)	0.330
C 型肝炎	24 (63%)	491 (50%)	0.136
アルコール性	10 (26%)	281 (29%)	0.856
ICG R15 % 中央値 (四分位数範囲)	16.1% (10.4-26.0)	13.1% (8.5-19.5)	0.012
Child-Pugh grade A/B/C, n	29/9/0 (76%/24%/0%)	900/86/1 (91.2%/8.7%/0.1%)	0.015
MELD スコア 中央値 (四分位数範囲)	7.80 (5.10-9.68)	7.08 (3.02-8.93)	0.126
ALICE grade, n			< 0.001
1	3 (8.1%)	294 (30%)	
2a	7 (19%)	276 (29%)	
2b	17 (46%)	319 (33%)	
3	10 (27%)	78 (8.1%)	
門脈圧亢進症, n	19 (66%)	200 (23%)	< 0.001
再肝切除, n	4 (11%)	302 (31%)	0.006

※P 値は、各項目が術後肝不全群、術後肝不全なし群の間で有意な差があるかを示す。

	術後肝不全 n= 38 (3.7%)	術後肝不全なし n= 987 (96%)	P 値
<b>術中項目</b>			
手術時間中央値; 分 (四分位数範囲)	485 分(252-556)	358 分 (275-460)	0.014
出血量中央値; mL (四分位数範囲)	1065mL (588-2256)	645mL (350-1091)	< 0.001
Major hepatectomy, n	14 (37%)	174 (18%)	0.005
腹腔鏡下肝切除, n	0 (0%)	23 (2.3%)	1.000
赤血球輸血, n	9 (24%)	88 (9.2%)	0.007
新鮮凍結血漿輸血, n	24 (75%)	311 (49%)	0.006

※P 値は、各項目が術後肝不全群、術後肝不全なし群の間で有意な差があるかを示す。

	術後肝不全 n= 38 (3.7%)	術後肝不全なし n= 987 (96%)	P 値
<b>術後成績</b>			
合併症‡, n			
胆汁漏	5 (13%)	45 (4.6%)	0.033
腹腔内膿瘍	7 (18%)	69 (7.0%)	0.018
術後在院日数中央値; 日 (四分位数範囲)	25.5 日 (18-41)	14 日 (12-19)	< 0.001
術後 90 日死亡, n	2 (5.3%)	4 (0.4%)	0.018

‡ Dindo-Clavien 分類 2 以上

---

※P 値は、各項目が術後肝不全群、術後肝不全なし群の間で有意な差があるかを示す。

---

表 5.術後腹水、術後肝不全の予測因子（多変量解析）

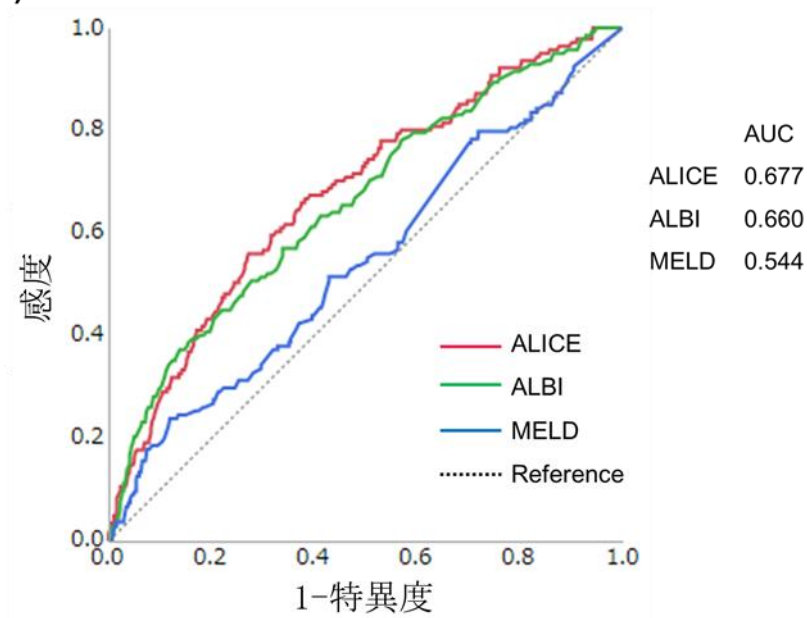
術後腹水	P 値	Odds ratio (95% 信頼区間)
ALICE スコア	< 0.0001	5.33 (3.07-9.46)
Major hepatectomy	0.0002	2.60 (1.57-4.28)
門脈圧亢進症	0.0022	2.04 (1.30-3.20)
出血量 > 800 ml	0.0133	1.74 (1.12-2.70)
術後肝不全	P 値	Odds ratio (95% 信頼区間)
ALICE スコア	< 0.0001	10.15 (3.50-31.55)
Major hepatectomy	0.0002	5.78 (2.37-14.11)
門脈圧亢進症	<0.0001	5.44 (2.33-13.50)

---

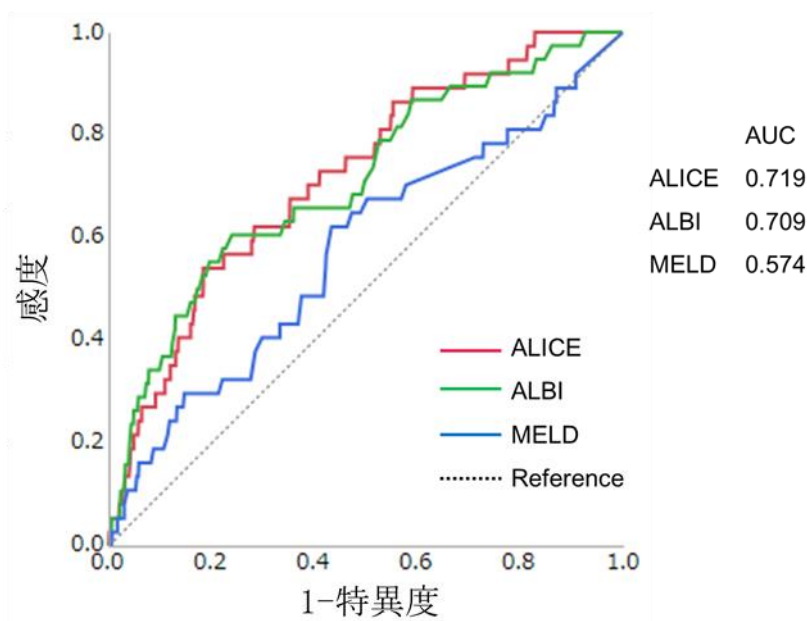
AUC の比較では、術後腹水に対する予測式として、ALICE スコア (AUC 0.677; 95%信頼区間[CI], 0.627-0.723) は ALBI スコア (AUC 0.660; 95%CI, 0.609-0.708)、MELD スコア (AUC 0.544; 95%CI, 0.488-0.599) に比べて優れていた (図 5A)。また術後肝不全に対する予測式として、ALICE スコア (AUC 0.719; 95%CI, 0.631-0.794) は ALBI スコア (AUC 0.709; 95%CI, 0.613-0.790)、MELD スコア (AUC 0.574; 95%CI, 0.470-0.672) に比べて優れていた (図 5B)。しかし、術後腹水または術後肝不全に対する ALICE スコアと ALBI スコアの AUS の比較では、統計学的有意差は認めなかった。

図 5.ALICE スコア、ALBI スコア、MELD スコアの ROC 曲線下面積の比較

(A)



(B)



A.術後腹水に対する各スコアの ROC 曲線下面積の比較

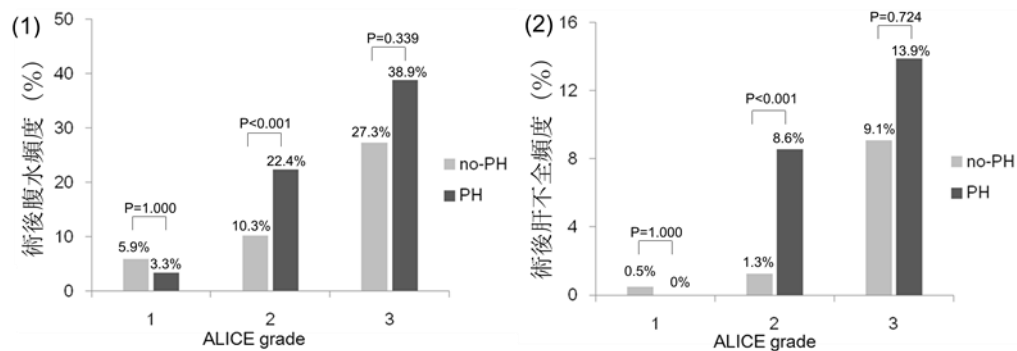
B.術後肝不全に対する各スコアの ROC 曲線下面積の比較

## 第2項. 門脈圧亢進症による影響

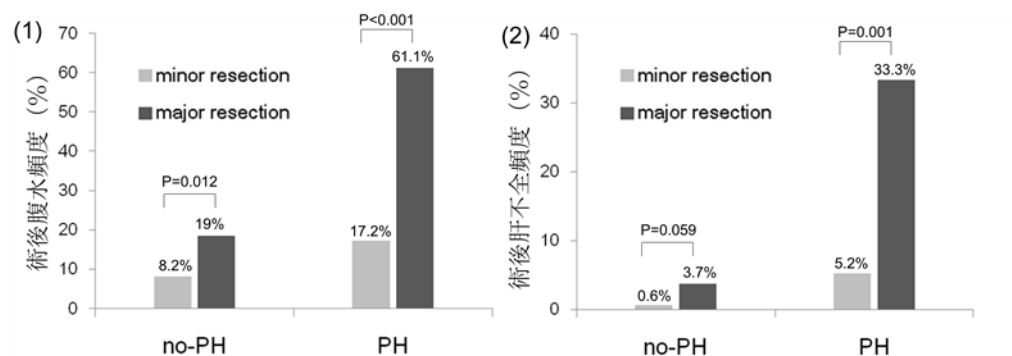
術前門脈圧亢進症の有無と ALICE grade の組み合わせによる術後腹水、術後肝不全の発生率の違いについて検討した。ALICE grade 1 では、門脈圧亢進症の有無に関わらず、術後腹水、術後肝不全の発生率は低く、ALICE grade 3 では門脈圧亢進症の有無に関わらず、術後腹水、術後肝不全の発生率は高かった（図 6A）。一方で、ALICE grade 2 では、門脈圧亢進症は術後腹水、術後肝不全の発生率上昇の危険因子と考えられた（図 6A）。ALICE grade 2 かつ門脈圧亢進症である群では、Major hepatectomy を行った症例では Minor hepatectomy を行った症例より術後腹水、術後肝不全の発生率が著明に高かった（図 6B）。また ALICE grade 2 かつ門脈圧亢進症である群では、区域切除（Couinaud の 2 亜区域切除）以上の切除を行った場合、亜区域切除以下の切除を行った場合と比べて術後腹水、術後肝不全の発生率が上昇した（図 6C）。また、ALICE grade 2b（門脈圧亢進症なし）の群では、Couinaud の 4 亜区域以上の切除（右肝切除など）を行った場合、3 亜区域以下の切除を行った場合と比べて高い術後腹水、術後肝不全を認めた（図 6D）。これらの結果に基づき、肝細胞癌患者に関する、ALICE grade、門脈圧亢進症、切除術式を組み合わせた肝細胞癌患者に関するアルゴリズムを提唱した（図 7）。

図 6.ALICE grade と門脈圧亢進症に基づく術後腹水、術後肝不全の発生頻度

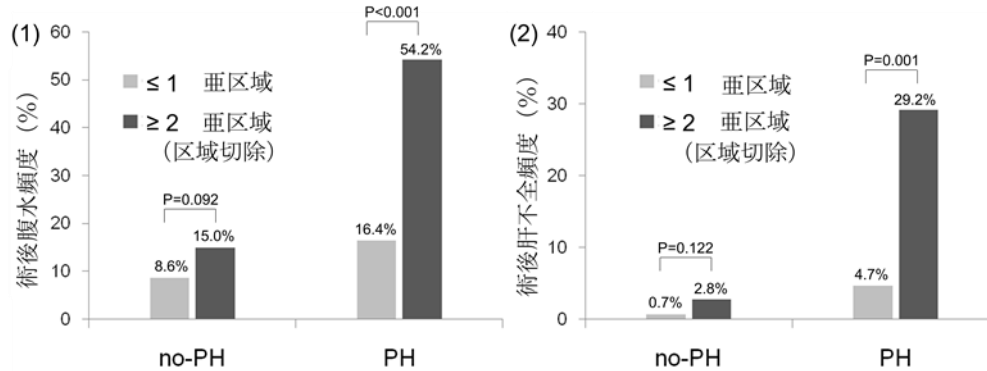
**A**



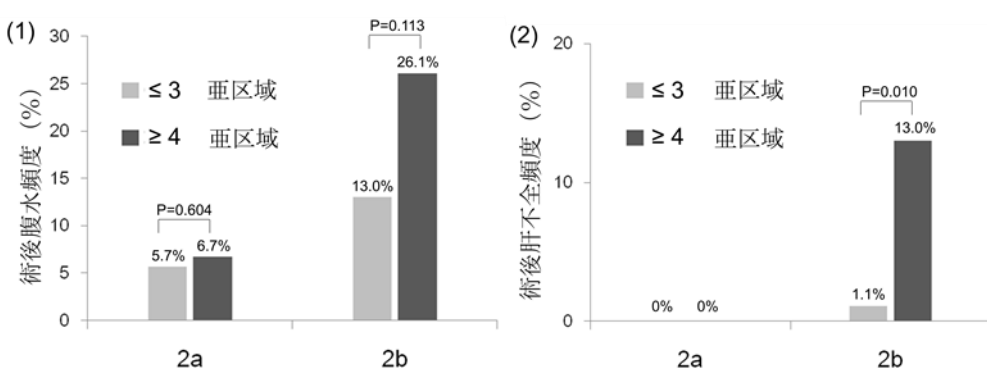
**B**



**C**



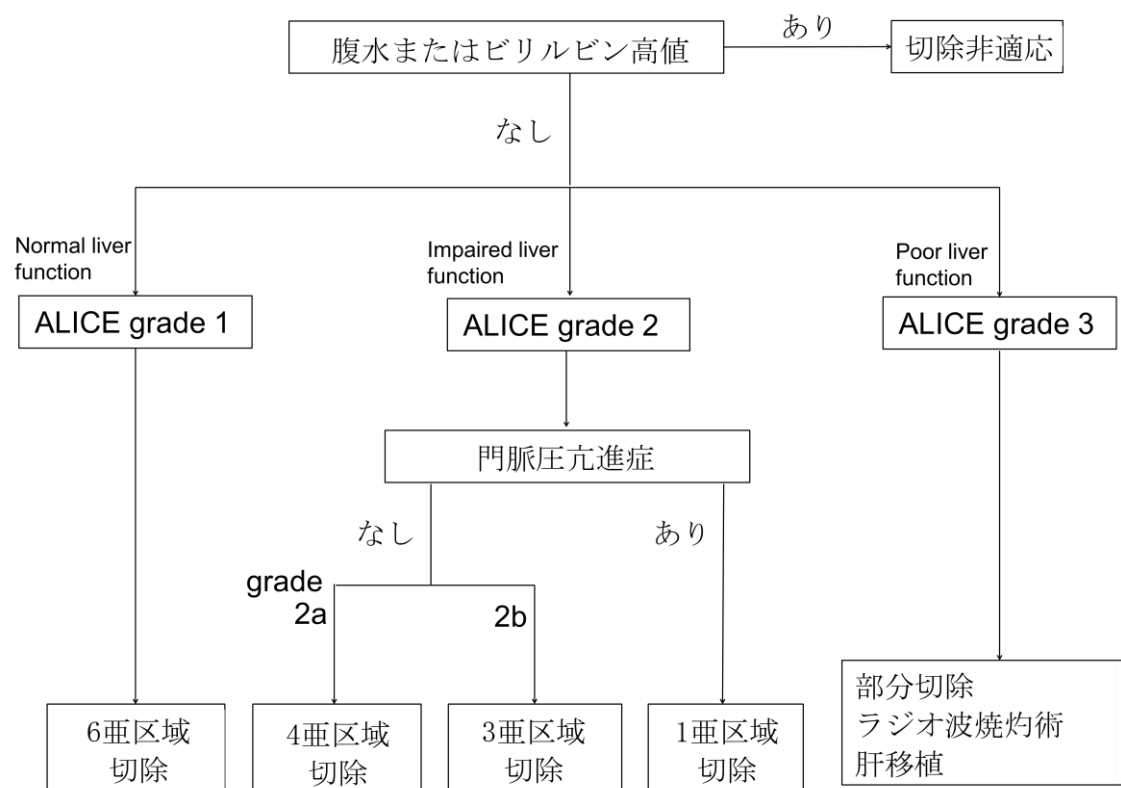
**D**





- A. ALICE grade、門脈圧亢進症（PH）有無に基づく術後腹水（1）、術後肝不全（2）の発生頻度。
- B. ALICE grade 2 群における、PH 有無、切除術式（Major/Minor resection）に基づく術後腹水（1）、術後肝不全（2）の発生頻度。
- C. ALICE grade 2 群における、PH 有無、切除術式（区域切除以上/1 亜区域切除以下）に基づく術後腹水（1）、術後肝不全（2）の発生頻度。
- D. ALICE grade 2 かつ PH 無しの群における、ALICE grade 2a/2b、切除術式（4 亜区域以上/3 亜区域以下）に基づく術後腹水（1）、術後肝不全（2）の発生頻度。

図 7.ALICE grade と門脈圧亢進症に基づく肝細胞癌に対する切除適応基準



### 第3節.研究2の考察

ALICE grade が他の予測式と比べて術後腹水、術後肝不全の予測に有用であることが分かった。また ALICE grade 2 に置いては、区域切除以上の肝切除を行う場合に、門脈圧亢進症が危険因子となることが分かった。肝細胞癌患者の肝切除後腹水、術後肝不全のリスクは、ALICE grade、門脈圧亢進症、肝切除術式の組み合わせによって層別化できると考えられる。

北米や欧州では、術前に門脈圧亢進症を併存している肝細胞癌患者は肝切除の非適応因子と考えられている[22, 23]。一方東アジアでは、術前の肝機能は主に ICG15 分停滞率により評価されており、門脈圧亢進症そのものは非適応因子とは考えられていない[64]。この違いは、これら 2 つの地域において Major hepatectomy が行われる頻度が異なることに由来すると考えられる。欧州の術後肝不全に関する報告では、肝切除を施行された多くの患者（79%）が解剖学的切除を受けており[65]、ここで言う解剖学的切除は右肝切除ないし左肝切除などの半肝切除（Major hepatectomy）を指していると思われる。一方で、日本の報告では、門脈圧亢進症を併存する患者の 2%にしか区域切除以上の肝切除が行われていなかった[64]。研究 2 では、ALICE grade 2 かつ門脈圧亢進症がある群では、区域切除は術後腹水、術後肝不全のリスクとなる。しかし

ALICE grade 2 かつ門脈圧亢進症がある群でも、亜区域切除または部分切除では術後腹水、術後肝不全のリスクは高くない。このことから、門脈圧亢進症は区域切除以上の肝切除の非適応と考えるべきであり、肝切除そのものの非適応ではないと考えられる。門脈圧亢進症による影響を大きくは受けない群もあり、例えば門脈圧亢進症の有無に関わらず、術後腹水、術後肝不全のリスクは ALICE grade 1 では低く、ALICE grade 3 では高い。また ALICE grade 2b では門脈圧亢進症がなくても、4 亜区域以上の切除は術後腹水、術後肝不全のリスクである。

MELD スコアが、肝細胞癌に対する肝切除後肝不全、死亡率予測に有用であるとの報告が幾つかあるが[66-68]、MELD スコアはもともと門脈圧亢進症に対する経頸静脈的肝内門脈大循環短絡術を行う患者データに基づいて作られたスコアである[69]。研究 2 の結果では、MELD スコアは肝切除後腹水、術後肝不全の独立した予測因子ではなかった。MELD スコアは重度の肝機能障害を認める肝移植候補患者の選定には有用であるが、軽度～中程度の肝機能障害を認める肝切除を予定する肝細胞癌患者に対しての有用性は高くないと思われる。

Johnson らは、血清アルブミン、血清ビリルビン値に基づいた ALBI スコアを提唱し、肝切除後予後を ALBI grade によって層別化できることを示した

[63]。また ALBI grade が Child-Pugh grade より高い精度で術後肝不全を予測できることを報告した報告もある[70]。しかし、通常肝切除は血清ビリルビン値が正常である患者に限られており、肝切除対象者に対する ALBI grade の効果は血清アルブミン値に大きく影響を受けていると思われる。研究 2 では、ALICE スコアは ALBI スコアより予測式として優れていた。別の報告では、胆管癌に対する肝切除後肝不全の予測[71]、また HIV と HCV の重複感染した血友病患者の静脈瘤検出 [72]に、ALICE スコアは ALBI スコアより優れていたと報告されている。

東アジアでは ICG15 分停滞率を用いた術前肝機能評価が行われているが、ALICE スコアを用いることにより、長期予後に基づいた客観的な肝機能評価が可能になると考えられる。

研究 2 の限界について述べる。第一に、本研究が単施設の後方視的研究であることが挙げられる。国や地域、また施設によって肝切除適応や術式選択の方針が異なる可能性があるため、自施設を含め様々な集団で本基準の有用性について前向きに validation を加える必要がある。第二に、術後肝不全の症例数が比較的少ないことである。研究 2 で提唱したアルゴリズムを検証するために、異なる母集団での後方視的研究が必要である。また当科では幕内基準に従って肝

切除術式を決定しているが、ICG 検査は東アジア以外の国では広く行われているとは言えない。しかし、亜区域切除などの肝実質温存手術は北米や欧州でも増えてきている[73, 74]。よって、門脈圧亢進症以外の、より精密な肝機能評価システムが欧米でも求められていると考えられ、本研究で提唱した ALICE スコアと門脈圧亢進症に基づくアルゴリズムは東アジア以外の患者にも有用である可能性がある。実際に我々のグループでは、症例数は少なくはあるが、ALICE スコアが東アジア以外の肝切除後患者の長期予後予測に有用であることを報告した[21]。しかし、ALICE スコアの肝切除後肝不全予測効果の検証のために、非アジア地域での研究が必要であると考えられる。また研究 2 では腫瘍条件についての検討は行っていないが、肝細胞癌に ICG が蓄積される特性が報告されているため[11]、巨大肝細胞癌などが ICG15 分停滞率に影響を及ぼすかどうか検証を行うことも必要と考えられる。

研究 2 の結論としては、ALICE スコアは術後腹水、術後肝不全予測に有用であることが分かった。また ALICE grade、門脈圧亢進症、予定肝切除術式の術前評価項目を用いたアルゴリズムは、肝切除術後腹水、術後肝不全のリスク分類に有用であることが示唆された。

## 第4章:研究3「肝細胞癌に対する ICG を用いた光線温熱/光線力学的治療の開発」

### 第1節. 研究3の方法

#### 第1項. 使用動物、細胞株

この研究は東京大学動物実験委員会の承認を得て行われた (I-P 10-118)。雄の BALB/c ノードマウスを購入し (Charles River Laboratories Japan, Inc, Yokohama, Japan) 5~6 週歳まで飼育した (30 匹、平均体重 18g)。マウスは specific pathogen free (SPF ; 実験動物の健康や実験結果へ影響する可能性のある特定の病原生物が存在しない環境) 動物飼育施設内で維持された。

高分化型肝癌細胞株である HuH-7 細胞株を購入し (JCRB, Osaka, Japan)、ダルベッコ改変イーグル培地 (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) に 10%FBS (Invitrogen) を加え、37℃の湿潤環境 (5%CO<sub>2</sub>-95%air) で保ち、細胞塊分離試薬 (Millipore Co, Bedford, MA, USA) で短期間培養を行い回収を行った。

#### 第2項. ICG-NIR 光照射

1. in vitro における ICG-NIR 光照射 ; 培養した HuH-7 をチューブに回収し

PBS 溶液で洗浄した後、10%FBS を含むダルベッコ改変イーグル培地に再懸濁した。細胞は  $2 \times 10^4$  個/200 $\mu$ L の濃度で 96-well プレートに 3 穴に播種され、37°C、5%CO<sub>2</sub> の条件下で培養された。播種から 23 時間後に ICG（第一三共, Ltd, Tokyo, Japan）を添加した。播種から 48 時間後に、ICG を培地から取り除き、細胞に 823-nm の NIR 光レーザー（prototype NIR Diode Laser System、浜松ホトニクス、浜松市、日本）を 160mW/cm<sup>2</sup> の強さで 3 分間照射した。2 回目の照射は初回照射から 24 時間後に行った。

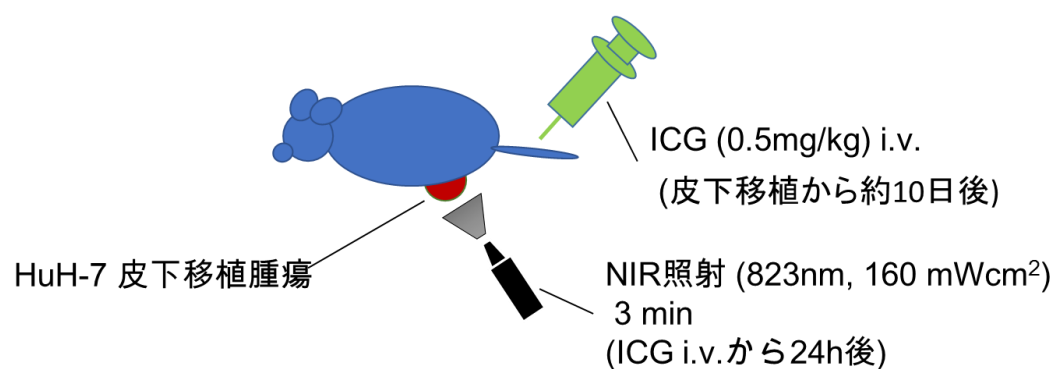
2. in vivo での ICG-NIR 光照射 ; 50%マトリゲル（Becton-Dickinson, Franklin Lakes NJ, USA）を含む無血清培地に  $5 \times 10^6$  の HuH-7 を溶解し、これをマウスの腹部皮下に皮下移植した。皮下移植から 10 日後に、ICG（5mg/kg）をマウスの尾静脈より静脈注射した（day 0）。静脈注射から 24 時間後に、マウスの腹部に皮下注された腫瘍を対象に 823-nm NIR 光レーザーを腫瘍の 3 か所に 160mW/cm<sup>2</sup> の強さで各 3 分間ずつ、計 9 分照射した（図 8）。照射後マウスはコロニーに戻した。day 6 に追加の ICG 静脈注射を行い、day 7 に 2 回目照射を初回と同様に行った。HuH-7 腫瘍の大きさを 3 日ごとに測定し、楕円形体積の計算式に従って、次のように体積を算出した[75]。



$$V = (\pi/6) \times (d^2 \times D)$$

d; 腫瘍短径、D; 腫瘍長径

図 8. in vivo での ICG-NIR 光照射



### 第 3 項.腫瘍温度測定

In vivo の実験において、腫瘍に対する ICG-NIR 光による温度の変化を評価した。マウスに皮下移植された腫瘍に 823-nm NIR 光が照射されている間、サーモグラフィーを用いて腫瘍温度を計測した。

### 第 4 項.HuH-7 アポトーシスの評価

TUNEL 染色 (TdT-mediated dUTP nick end labeling) は細胞のアポトーシス中に生じる 2 本鎖 DNA 切断の 3'-hydroxyl termini を標識することで DNA

断片化を検出する技術である[76]。in vivo 実験において ICG-NIR 光施行後の HuH-7 のアポトーシスを検出するために、TUNEL 染色を行った。TUNEL 染色は細胞死検出キット（Roche Diagnostics, GmbH, Penzberg, ドイツ）を用いて、説明書に従い行った。

#### 第 5 項.MTT アッセイによる抗腫瘍効果の検証

MTT (3-(4,5-dimethylthiazol)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) は細胞増殖と細胞毒性を反映する試薬である[77]。MTT アッセイは可溶性の MTT が不溶性のホルマザン色素へ還元（その後試薬により可溶化される）する活性を測定する。得られた溶液は 550nm の波長の吸光度を分光光度計で測定し、定量化する[78]。研究 3 では、細胞生存を MTT アッセイを用いて測定した。in vitro において、NIR 光照射から 24 時間後に、MTT (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) を添加し 4 時間培養を追加した。その後細胞を可溶化し、550nm での吸光度を測定することで細胞生存を評価した。

#### 第 6 項.酸化ストレスの検出

1. in vitro ; 酸化ストレスの産生を評価するために、CellROX Green 試薬

(Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA) を用いて細胞化学的解析を行った。NIR 光照射から 30 分～1 時間後に、5 $\mu$ M の CellROX Green 試薬を添加し、細胞をさらに 30 分間、37°C の条件で培養した。その後、蛍光マイクروسコープ (BZ-9000, Keyence, 大阪、日本) を用いて、緑色蛍光細胞を検出した。細胞の平均蛍光強度を Image J ソフトウェア (Image J 1.48v; National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA) を用いて評価した。

2. *in vivo* ; DNA 酸化損傷マーカーである 8-OHdG を用いて、免疫組織化学的評価により活性酸素 (酸化ストレス) の検出を行った。NIR 光照射した後の HuH-7 腫瘍組織をホルマリン固定、パラフィン包埋した後に切片を作製した。脱パラフィン、浸水を行った後、切片は 10mM の sodium citrate バッファー (pH 6.0, LSI Medience Co, 東京、日本) の中に入れた状態で電子レンジで 5 分温め、抗原賦活化させた。その後切片を抗 8-OHdG モノクローナル抗体 (10 $\mu$ g/mL; 日本老化制御研究、日研、静岡、日本) を加えて 4°C の条件で一晩培養した。切片にビオチン標識二次抗体を加えて培養した後、Vector 免疫検出キット (Vector, Burlingame, CA) を用いてアビジン・ビオチン・ペルオキシダーゼ複合体法を行った。

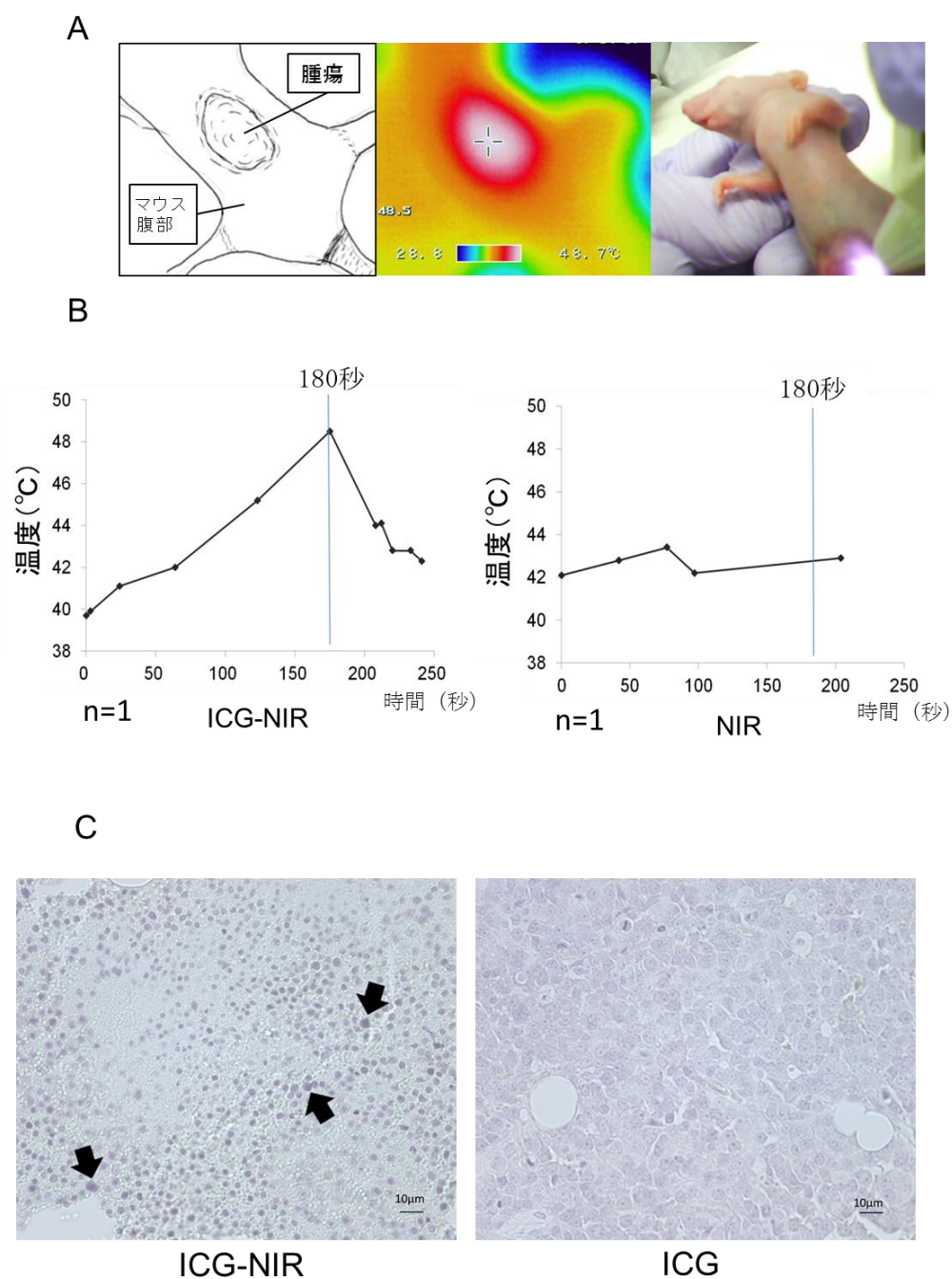
## 第 2 節. 研究 3 の結果

### 第 1 項. ICG-NIR 光による腫瘍組織の熱産生、アポトーシスの検出 (in vivo)

ICG-NIR 光を行ったマウスでは HuH-7 腫瘍温度は 48.5℃まで上昇した。一方で、ICG を投与せず NIR 光のみ行ったマウスでは 43.4℃までの上昇にとどまった (図 9A、B)。

さらに、ICG-NIR 光を行った腫瘍組織の TUNEL 染色では、アポトーシスが認められた (図 9C)。ICG の投与のみの腫瘍組織の TUNEL 染色ではアポトーシスは認めなかった。これらの結果から、ICG-NIR 光の抗腫瘍効果には光線温熱効果が寄与している可能性があると考えられた。

図 9.in vivo 実験における ICG-NIR 光の熱産生とアポトーシス



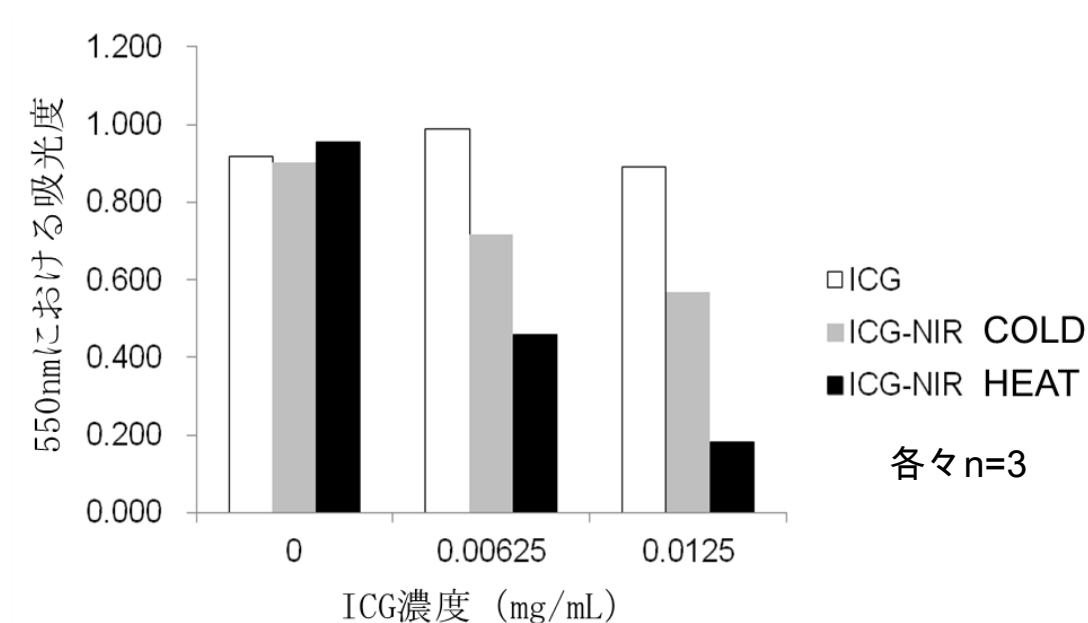
- A. サーモグラフィーを使用した、ICG-NIR 光施行時の腫瘍温度測定
- B. ICG-NIR 光及び NIR 光施行時の経時的温度変化
- C. TUNEL 染色によるアポトーシス検出 (x400)。ICG-NIR 光を施行した腫瘍組織にアポトーシスを認めた (矢印)。

## 第 2 項.温度抑制条件での ICG-NIR 光による抗腫瘍効果 (in vitro)

ICG-NIR 光における光線温熱療法の効果を明らかにするために、保温シート上と、温度上昇を抑制する保冷シート上でそれぞれ ICG-NIR 光を施行した後の細胞生存を評価した。図 10 に示すように、ICG-NIR 光による抗腫瘍効果は保冷シート上では抑制された。この結果は ICG-NIR 光の抗腫瘍効果には熱産生が必要であることを示していると考えられる。しかし一方で、保冷シート上で行った ICG-NIR 光においても、一定の抗腫瘍効果を認めた (図 10)。この効果が光線力学療法による抗腫瘍効果であるとの仮定を立て、次の (第 3 項) の実験を行った。

図 10. 保温シート上、及び保冷シート上での ICG-NIR 光施行時の MTT アッ

セイ (in vitro)



保温シート上では ICG の濃度に依って抗腫瘍効果を認めた。保冷シート上では、保温シート上での ICG-NIR 光時に比べて抗腫瘍効果は低下したが、一定の抗腫瘍効果を認めた。

COLD ; 保冷シート上での ICG-NIR 光施行

HEAT ; 保温シート上での ICG-NIR 光施行

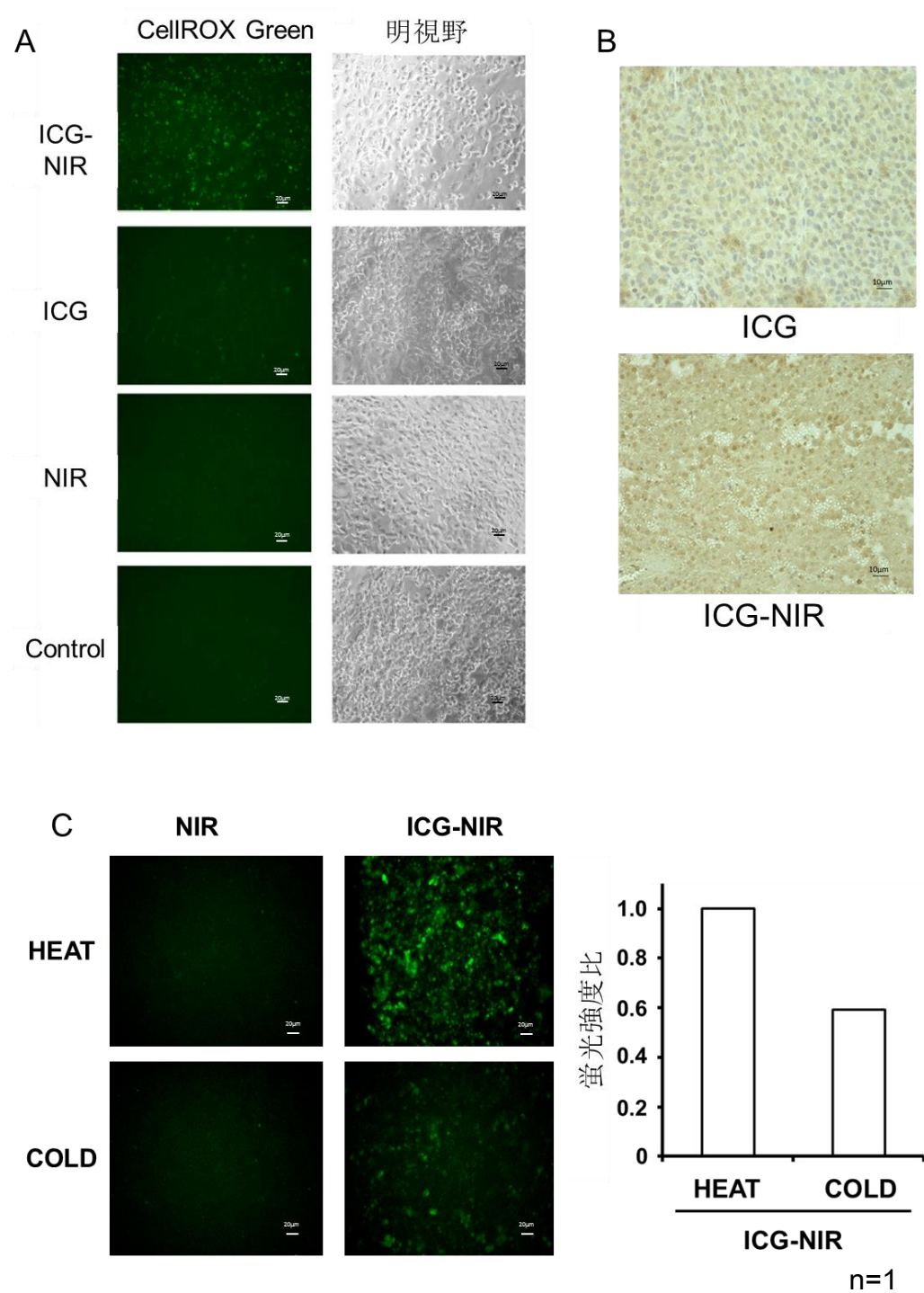
縦軸 (550nm での吸光度) の数値が大きい程、高い細胞生存を示す。

### 第3項.ICG-NIR 光施行による活性酸素産生の検証

in vitro 実験における CellROX Green では、ICG-NIR 光（保温シート上）施行後の HuH-7 細胞では活性酸素の産生を強く認めた（図 11A）。一方 ICG のみ、NIR 光照射のみ、またはコントロールでは、活性酸素産生はほとんど認めなかった。また in vivo における活性酸素産生を評価するため、ICG-NIR 光に対する 8-OHdD 染色を行った。その結果、ICG-NIR 光施行後の腫瘍切片では 8-OHdG 陽性であったが、ICG 静脈注射のみの腫瘍切片では 8-OHdG 陰性であった（図 11B）。さらに、in vitro で保温シート上、保冷シート上での ICG-NIR 光後の CellROX Green を評価したところ、保冷シート上では活性酸素産生が保温シート上での施行よりも低下していたが、一定の活性酸素産生を認めた（図 11C）。これは光線力学療法による抗腫瘍効果の影響と考えられた。



図 11. 活性酸素産生の検出



A. in vitro 実験における ICG-NIR 光後の CellRox Green 蛍光の検出 (x200)

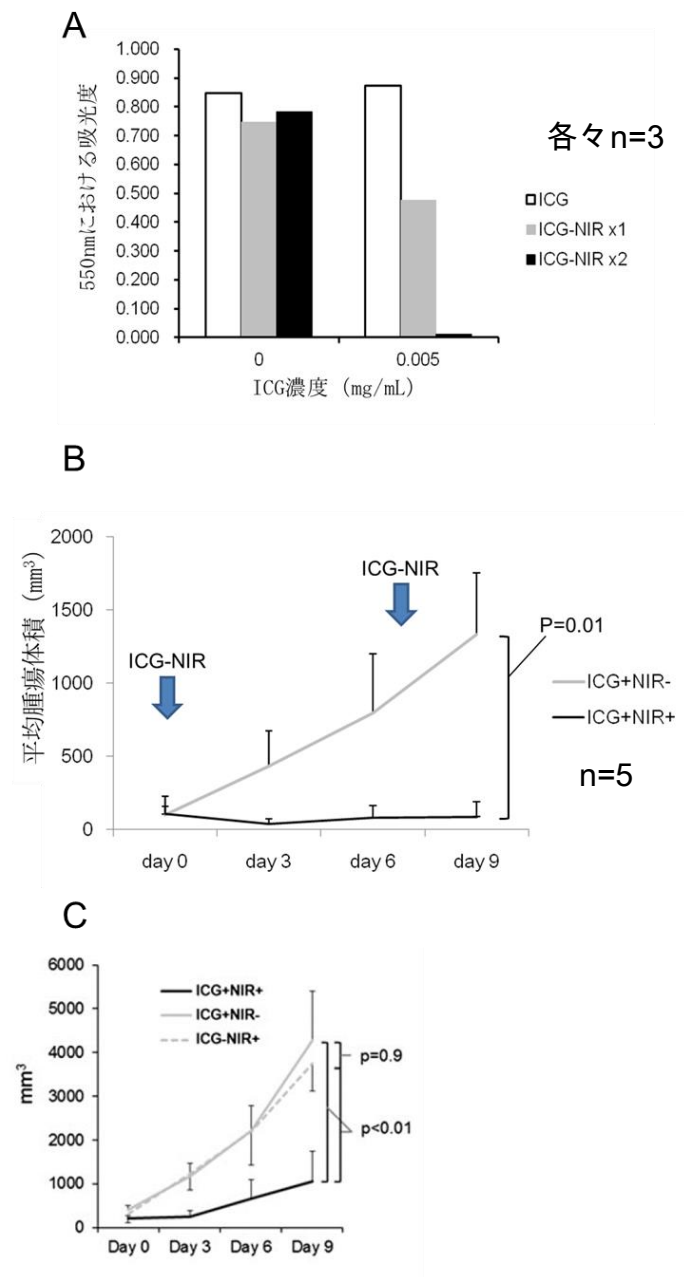
B. in vivo 実験における ICG-NIR 光後腫瘍組織の 8-OHdG 染色 (x400)。

- C. in vitro 実験における保冷シート上及び保温シート上での ICG-NIR 光施行後の CellRox Green 蛍光の検出 (x200)、蛍光強度の比較。
- D. COLD ; 保冷シート上での ICG-NIR 光施行
- E. HEAT ; 保温シート上での ICG-NIR 光施行

#### 第 4 項.複数回の ICG-NIR 光施行による HuH-7 腫瘍増大の抑制効果

ICG-NIR 光が、光線温熱療法と光線力学療法により抗腫瘍効果を示すことが分かった。次に、ICG-NIR 光を複数回行うことにより、抗腫瘍効果が増大するとの仮説をたてて実験を行った。In vitro 実験では、図 12A に示すように、ICG-NIR 光を 2 回繰り返し行うことで、ICG-NIR 光を 1 回施行した場合と比べて抗腫瘍効果が増大した。また in vivo の実験でも、ICG-NIR 光を 2 回施行して実験した。ICG 静脈注射のみのコントロールマウス (n=5) での平均腫瘍体積は day 0 の 99mm<sup>3</sup> から day 9 の 1332mm<sup>3</sup> まで増大したが、ICG-NIR 光を 2 回施行したマウス (n=5) での平均腫瘍体積は、day 0 の 104mm<sup>3</sup> から day 9 では 87mm<sup>3</sup> であり、腫瘍の増大は抑制されていた (P=0.01) (図 12B)。

図 12.複数回 ICG-NIR 光施行した場合の抗腫瘍効果

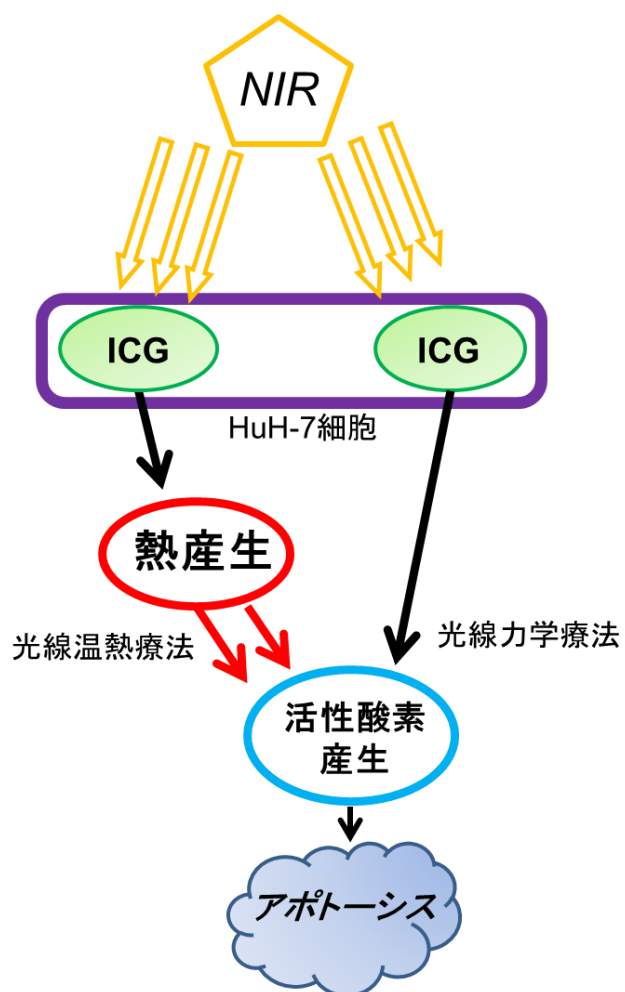


- A. in vitro 実験における、ICG-NIR 光後の MTT アッセイ。縦軸（550nm での吸光度）の数値が大きい程、高い細胞生存を示す。
- B. in vivo 実験における、複数回 ICG-NIR 光施行した後の経時的な腫瘍増大。
- C. in vivo 実験（先行研究）における、単回 ICG-NIR 光施行した後の経時的な腫瘍増大（文献 37 より引用）。

### 第3節.研究3の考察

研究3の結果より、*in vitro*、*in vivo* 両方の実験において、HuH-7に ICG-NIR 光施行することで、光線温熱療法、光線力学療法を介した活性酸素産生によりアポトーシスを誘導することが示された（図13）。さらに、ICG-NIR 光による HuH-7 に対する抗腫瘍効果は施行する ICG-NIR 光の回数に依存することが分かった。

図13.ICG-NIR 光における抗腫瘍効果の機序



ICG は光線温熱療法の効果的な光熱物質と報告されている[79]。Reindl らは、ICG は 800nm の波長の近赤外光を吸収した場合、吸収光の約 88%を熱に変換すると報告している[80]。本研究の *in vivo* 実験では、ICG-NIR 光により、照射中に対象腫瘍が 48.5℃まで温度上昇した。また *in vitro* の温度上昇が抑制された条件下で、ICG-NIR 光による抗腫瘍効果は減衰した。この結果は、光線温熱療法が ICG-NIR 光の抗腫瘍効果の一定の役割を担っていることを示している。また Furukawa らは温熱療法により活性酸素産生が亢進されると報告している[81]。

光線温熱療法と酸化ストレスが ICG-NIR 光の主なメカニズムと考えられたことから、複数回の ICG-NIR 光施行による抗腫瘍効果を検証した。*in vitro* 実験では 2 回の ICG-NIR 光の施行により、HuH-7 の細胞生存がほとんどなくなった。さらに、*in vivo* 実験においても、腫瘍の増大は 2 回の ICG-NIR 光施行によりほとんど抑制された。これは先行研究で ICG-NIR 光単回施行では得られなかった結果である[37]。これらの結果は ICG-NIR 光の HuH-7 に対する抗腫瘍効果が施行する回数依存性であることを示唆している。さらに同じ先行研究で、本研究と同じ条件で NIR 光のみを施行したところ、腫瘍増大を抑制しな

かったことが報告されている[37]。これらより、ICG-NIR 光は光熱物質及び光感受性物質としての ICG が必要であることを示している。

光線力学療法では、光感受性物質が特定の波長の光を吸収することで一重項状態に励起され、その後酸素にエネルギーを与えながら基底状態に戻るが、この際エネルギーを受けた酸素が一重項酸素となる[82, 83]。この一重項酸素（活性酸素種）が細胞死を導くと考えられている[84]。本研究では、in vitro 実験、in vivo 実験の両方で活性酸素の産生が確認された。本研究では、温度上昇抑制条件においても、ICG-NIR 光は一定の抗腫瘍効果を示した。これは光線力学療法の抗腫瘍効果によるものと考えられる。活性酸素を介した抗腫瘍効果であるため、活性酸素スカベンジャーの添加により抗腫瘍効果が減弱する可能性が考えられる。

ICG-NIR 光の主な利点は肝細胞癌に対する治療選択性が高いことである。通常、光線力学療法における光感受性物質は腫瘍に対する選択性が低い。例えば、5-アミノレブリン酸を用いた光線力学療法では、肝細胞癌に対する集積は背景組織に比較して約 1.4 倍高いに過ぎない[85]。また光永らは、光感受性物質の IRDye700DX NHS エステルの腫瘍と背景組織の集積は 7 対 1 であったと報告している[86]。先行研究では、ICG の集積を ICG 蛍光イメージングを用い

て評価したところ、肝細胞癌と背景肝との比は 255 対 1 であった[37]。このことから、ICG-NIR 光の腫瘍周囲肝実質に対する細胞障害効果は最小限にとどまると考えられる。

肝細胞癌に対する根治的治療は外科的肝切除、ラジオ波焼灼療法、肝移植である[87, 88]。しかし、多発する肝細胞癌患者などの場合、肝機能の問題や、腫瘍条件、技術的困難さなどのために、これらの治療法が適応とならないことが多い[87, 88]。ICG-NIR 光は、蛍光イメージングによる肝細胞癌検出、抗腫瘍効果の両者に適応可能であると考えられる。例えば、肝胆膵外科医が術中に蛍光イメージング法により残存病変を検出し、その残存病変に対する追加的治療として ICG-NIR 光を施行する、といった場合が考えられる。また肝細胞癌の腹膜播種病変に対する ICG-NIR 光の使用も考えられる。

その他の ICG-NIR 光の利点として、その安全性が挙げられる。ICG は従来より肝機能検査としての臨床での使用経験が豊富であり、ICG 投与による副作用は 0.01%未満と報告されている[55]。ICG-NIR 光では、ICG の肝細胞癌に対する集積性が高いために、周囲健常組織への障害は最小限に抑えられる。

研究 3 の限界について述べる。第一に、ICG の最大吸収波長は、生体内に静脈注射された後に最大 25nm 長くなる。具体的には 780nm から 805nm に変化



する。これは、静脈注射後数秒間で細胞の物理化学的環境が変化することによるものとされている。本研究では、NIR 光照射に 823nm 波長の近赤外光を用いたため、生体内での ICG の最大吸収波長とは異なる。ICG 最大吸収波長である 805nm により近い波長の近赤外光を NIR 光として使用すれば、より高い抗腫瘍効果が得られる可能性があると考えられる。第二に、NIR 光が生体組織を透過できる距離が限られていることが挙げられる。報告では、蛍光イメージング法において肝細胞癌を観察可能な深さは肝表面から約 10mm とされている [11, 89-91]。このことを踏まえると、ICG-NIR 光は肝表面の腫瘍や、腹膜播種病変に特に有用であると考えられる。実臨床では、肝細胞癌の治療として、ICG-NIR 光を施行するために、開腹、または腹腔鏡下の手術が必要である可能性がある。また、研究 3 では in vitro/in vivo 実験で、ICG-NIR 光が根治的ではなかったことも課題として挙げられる。

結論としては、肝細胞癌に対する ICG-NIR 光の抗腫瘍効果は、光線温熱療法、光線力学療法による活性酸素産生を通じてアポトーシスを引き起こすことによることが示された。複数回の ICG-NIR 光を施行することで抗腫瘍効果は増強された。

## 第 5 章 総括と今後の展望

研究 1 では、特に膵神経内分泌腫瘍、膵嚢胞性疾患に対する ICG 蛍光ナビゲーション法により、膵腫瘍同定、可視化に役立つ可能性が示唆された。研究 2 では、ICG を用いた肝機能評価システムである ALICE と門脈圧亢進症の有無の組み合わせによるアルゴリズムにより、肝切除後肝不全のリスク分類に有用であることが分かった。研究 3 では、ICG を光熱物質、光感受性物質として使用することで、近赤外光照射による光線温熱療法、光線力学的な作用で肝細胞癌に対する抗腫瘍効果を示すことが分かった。ICG を蛍光物質、肝機能評価薬剤、光熱物質、光感受性物質等さまざまな用途で用いることにより、肝胆膵領域疾患の診断、治療法の発展に寄与する可能性が示唆された。今後は、膵腫瘍に対する ICG 蛍光イメージング法の指摘撮像時間の検証、ALICE を用いたアルゴリズムの、多施設共同研究での validation、生体における ICG 最大吸収波長の NIR を用いた ICG-NIR 光の実験等を検討したい。将来的にはこれら ICG 蛍光イメージング法、ALICE、ICG-NIR 光の臨床応用を目指したい。

## 第 6 章 引用文献

1. Rubens FD, Ruel M, Fremes SE. A new and simplified method for coronary and graft imaging during CABG. *Heart Surg Forum* 5:141-144, 2002.
2. Taggart DP, Choudhary B, Anastasiadis K, Abu-Omar Y, Balacumaraswami L, Pigott DW. Preliminary experience with a novel intraoperative fluorescence imaging technique to evaluate the patency of bypass grafts in total arterial revascularization. *Ann Thorac Surg* 75:870-873, 2003.
3. Reuthebuch O, Haussler A, Genoni M, Tavakoli R, Odavic D, Kadner A, Turina M. Novadaq SPY: intraoperative quality assessment in off-pump coronary artery bypass grafting. *Chest* 125:418-424, 2004.
4. Balacumaraswami L, Abu-Omar Y, Choudhary B, Pigott D, Taggart DP. A comparison of transit-time flowmetry and intraoperative fluorescence imaging for assessing coronary artery bypass graft patency. *J Thorac Cardiovasc Surg* 130:315-320, 2005.
5. Ogata F, Narushima M, Mihara M, Azuma R, Morimoto Y, Koshima I. Intraoperative lymphography using indocyanine green dye for near-infrared fluorescence labeling in lymphedema. *Ann Plast Surg* 59:180-184, 2007.

6. Kitai T, Inomoto T, Miwa M, Shikayama T. Fluorescence navigation with indocyanine green for detecting sentinel lymph nodes in breast cancer. *Breast Cancer* 12:211-215, 2005.
7. Hojo T, Nagao T, Kikuyama M, Akashi S, Kinoshita T. Evaluation of sentinel node biopsy by combined fluorescent and dye method and lymph flow for breast cancer. *Breast* 19:210-213, 2010.
8. Kusano M, Tajima Y, Yamazaki K, Kato M, Watanabe M, Miwa M. Sentinel node mapping guided by indocyanine green fluorescence imaging: a new method for sentinel node navigation surgery in gastrointestinal cancer. *Dig Surg* 25:103-108, 2008.
9. Miyashiro I, Miyoshi N, Hiratsuka M, Kishi K, Yamada T, Ohue M, Ohigashi H, Yano M, Ishikawa O, Imaoka S. Detection of sentinel node in gastric cancer surgery by indocyanine green fluorescence imaging: comparison with infrared imaging. *Ann Surg Oncol* 15:1640-1643, 2008.
10. Gotoh K, Yamada T, Ishikawa O, Takahashi H, Eguchi H, Yano M, Ohigashi H, Tomita Y, Miyamoto Y, Imaoka S. A novel image-guided surgery of hepatocellular carcinoma by indocyanine green fluorescence imaging navigation. *J Surg Oncol*

100:75-79, 2009.

11. Ishizawa T, Fukushima N, Shibahara J, Masuda K, Tamura S, Aoki T, Hasegawa K, Beck Y, Fukayama M, Kokudo N. Real-time identification of liver cancers by using indocyanine green fluorescent imaging. *Cancer* 115:2491-2504, 2009.
12. Mitsuhashi N, Kimura F, Shimizu H, Imamaki M, Yoshidome H, Ohtsuka M, Kato A, Yoshitomi H, Nozawa S, Furukawa K, Takeuchi D, Takayashiki T, Suda K, Igarashi T, Miyazaki M. Usefulness of intraoperative fluorescence imaging to evaluate local anatomy in hepatobiliary surgery. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 15:508-514, 2008.
13. Ishizawa T, Bandai Y, Kokudo N. Fluorescent cholangiography using indocyanine green for laparoscopic cholecystectomy: an initial experience. *Arch Surg* 144:381-382, 2009.
14. Kawaguchi Y, Ishizawa T, Masuda K, Sato S, Kaneko J, Aoki T, Beck Y, Sugawara Y, Hasegawa K, Kokudo N. Hepatobiliary surgery guided by a novel fluorescent imaging technique for visualizing hepatic arteries, bile ducts, and liver cancers on color images. *J Am Coll Surg* 212:e33-39, 2011.
15. Miyata A, Ishizawa T, Tani K, Shimizu A, Kaneko J, Aoki T, Sakamoto Y,

- Sugawara Y, Hasegawa K, Kokudo N. Reappraisal of a Dye-Staining Technique for Anatomic Hepatectomy by the Concomitant Use of Indocyanine Green Fluorescence Imaging. *J Am Coll Surg* 221:e27-36, 2015.
16. Kobayashi Y, Kawaguchi Y, Kobayashi K, Mori K, Arita J, Sakamoto Y, Hasegawa K, Kokudo N. Portal vein territory identification using indocyanine green fluorescence imaging: Technical details and short-term outcomes. *J Surg Oncol* 116:921-931, 2017.
17. Kawaguchi Y, Sugawara Y, Ishizawa T, Satou S, Kaneko J, Tamura S, Aoki T, Sakamoto Y, Hasegawa K, Kokudo N. Identification of veno-occlusive regions in a right liver graft after reconstruction of vein segments 5 and 8: application of indocyanine green fluorescence imaging. *Liver Transpl* 19:778-779, 2013.
18. Kawaguchi Y, Nomura Y, Nagai M, Koike D, Sakuraoka Y, Ishida T, Ishizawa T, Kokudo N, Tanaka N. Liver transection using indocyanine green fluorescence imaging and hepatic vein clamping. *Br J Surg* 104:898-906, 2017.
19. Hutteman M, van der Vorst JR, Mieog JS, Bonsing BA, Hartgrink HH, Kuppen PJ, Lowik CW, Frangioni JV, van de Velde CJ, Vahrmeijer AL. Near-infrared fluorescence imaging in patients undergoing pancreaticoduodenectomy. *Eur Surg*

*Res* 47:90-97, 2011.

20. Paiella S, De Pastena M, Landoni L, Esposito A, Casetti L, Miotto M, Ramera M, Salvia R, Secchettin E, Bonamini D, Manzini G, D'Onofrio M, Marchegiani G, Bassi C. Is there a role for near-infrared technology in laparoscopic resection of pancreatic neuroendocrine tumors? Results of the COLPAN “colour-and-resect the pancreas” study. *Surg Endosc* 31:4478-4484, 2017.
21. Kokudo T, Hasegawa K, Amikura K, Uldry E, Shirata C, Yamaguchi T, Arita J, Kaneko J, Akamatsu N, Sakamoto Y, Takahashi A, Sakamoto H, Makuuchi M, Matsuyama Y, Demartines N, Malago M, Kokudo N, Halkic N. Assessment of preoperative liver function in patients with hepatocellular carcinoma—the albumin-indocyanine green evaluation (ALICE) grade. *PLoS One*. 11:e0159530, 2016
22. Bruix J, Sherman M, American Association for the Study of Liver Diseases. Management of hepatocellular carcinoma: an update. *Hepatology* 53:1020-1022, 2011.
23. European Association For The Study Of The Liver; European Organisation For Research And Treatment Of Cancer. EASL-EORTC clinical practice guidelines: management of hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 56:908-943, 2012.

24. Capussotti L, Ferrero A, Vigano L, Muratore A, Polastri R, Bouzari H. Portal hypertension: contraindication to liver surgery? *World J Surg* 30:992-999, 2006.
25. Cucchetti A, Ercolani G, Vivarelli M, Cescon M, Ravaioli M, Ramacciato G, Grazi GL, Pinna AD. Is portal hypertension a contraindication to hepatic resection? *Ann Surg* 250:922-928, 2009.
26. Berzigotti A, Reig M, Abraldes JG, Bosch J, Bruix J. Portal hypertension and the outcome of surgery for hepatocellular carcinoma in compensated cirrhosis: a systematic review and meta-analysis. *Hepatology* 61:526-536, 2015.
27. Niu C, Xu Y, An S, Zhang M, Hu Y, Wang L, Peng Q. Near-infrared induced phase-shifted ICG/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> loaded PLGA nanoparticles for photothermal tumor ablation. *Sci Rep* 7:5490, 2017.
28. Wang Y, Black KC, Luehmann H, Li W, Zhang Y, Cai X, Wan D, Liu SY, Li M, Kim P, Li ZY, Wang LV, Liu Y, Xia Y. Comparison study of gold nanoheptapods, nanorods, and nanocages for photothermal cancer treatment. *ACS Nano* 7:2068-2077, 2013.
29. Schnarr K, Mooney R, Weng Y, Zhao D, Garcia E, Armstrong B, Annala AJ, Kim SU, Aboody KS, Berlin JM. Gold nanoparticle-loaded neural stem cells for



photothermal ablation of cancer. *Adv Healthc Mater* 2:976-982, 2013.

30. Chen WR, Singhal AK, Liu H, Nordquist RE. Antitumor immunity induced by laser immunotherapy and its adoptive transfer. *Cancer Res* 61:459-461, 2001.
31. Chen WR, Liu H, Ritchey JW, Bartels KE, Lucroy MD, Nordquist RE. Effect of different components of laser immunotherapy in treatment of metastatic tumors in rats. *Cancer Res* 62:4295-4299, 2002.
32. Agostinis P, Berg K, Cengel KA, Foster TH, Girotti AW, Gollnick SO, Hahn SM, Hamblin MR, Juzeniene A, Kessel D, Korbelik M, Moan J, Mroz P, Nowis D, Piette J, Wilson BC, Golab J. Photodynamic therapy of cancer: an update. *CACancer J Clin* 61:250-281, 2011.
33. Gamal-Eldeen AM, El-Daly SM, Borai IM, Wafay HA, Abdel-Ghaffar AR. Photodynamic therapeutic effect of indocyanine green entrapped in polymeric nanoparticles and their anti-EGFR-conjugate in skin cancer in CD1 mice. *Photodiagnosis Photodyn Ther* 10:446-459, 2013.
34. Klein A, Szeimies RM, Baumler W, Zeman F, Schreml S, Hohenleutner U, Landthaler M, Koller M, Babilas P. Indocyanine green-augmented diode laser treatment of port-wine stains: clinical and histological evidence for a new treatment

- option from a randomized controlled trial. *Br J Dermatol* 167:333-342, 2012.
35. Kagawa T, Adachi Y, Hashimoto N, Mitsui H, Ohashi T, Yoneda M, Hasegawa I, Hirose S, Tsuruya K, Anzai K, Mine T. Loss of organic anion transporting polypeptide 1B3 function causes marked delay in indocyanine green clearance without any clinical symptoms. *Hepatology* 65:1065-1068, 2017.
  36. Shibasaki Y, Sakaguchi T, Hiraide T, Morita Y, Suzuki A, Baba S, Setou M, Konno H. Expression of indocyanine green-related transporters in hepatocellular carcinoma. *J Surg Res* 193:567-576, 2015.
  37. Kaneko J, Inagaki Y, Ishizawa T, Gao J, Tang W, Aoki T, Sakamoto Y, Hasegawa K, Sugawara Y, Kokudo N. Photodynamic therapy for human hepatoma-cell-line tumors utilizing biliary excretion properties of indocyanine green. *J Gastroenterol* 49:110-116, 2014.
  38. Terasawa M, Ishizawa T, Mise Y, Inoue Y, Ito H, Takahashi Y, Saiura A. Applications of fusion-fluorescence imaging using indocyanine green in laparoscopic hepatectomy. *Surg Endosc* 31:5111-5118, 2017.
  39. Fengler J. Near-infrared fluorescence laparoscopy--technical description of PINPOINT(R) a novel and commercially available system. *Colorectal Dis* 17 Suppl

3:3-6, 2015.

40. Kawaguchi Y, Tanaka N, Nagai M, Nomura Y, Fuks D, Gayet B, Kokudo N.  
Usefulness of Intraoperative Real-Time Tissue Elastography During Laparoscopic  
Hepatectomy. *J Am Coll Surg* 221:e103-111, 2015.
41. Herwick S, Miller FH, Keppke AL. MRI of islet cell tumors of the pancreas. *AJR  
Am J Roentgenol* 187:W472-480, 2006.
42. Sahni VA, Morteke KJ. The bloody pancreas: MDCT and MRI features of  
hypervascular and hemorrhagic pancreatic conditions. *AJR Am J Roentgenol*  
192:923-935, 2009.
43. Sahani DV, Kadavigere R, Saokar A, Fernandez-del Castillo C, Brugge WR, Hahn  
PF. Cystic pancreatic lesions: a simple imaging-based classification system for  
guiding management. *Radiographics* 25:1471-1484, 2005.
44. Buetow PC, Rao P, Thompson LD. From the Archives of the AFIP. Mucinous cystic  
neoplasms of the pancreas: radiologic-pathologic correlation. *Radiographics*  
18:433-449, 1998.
45. Coleman KM, Doherty M, Bigler SA. Solid-pseudopapillary tumor of the pancreas.  
*Radiographics* 23:1644-1648, 2003.

46. Diehl SJ, Lehmann KJ, Sadick M, Lachmann R, Georgi M. Pancreatic cancer: value of dual-phase helical CT in assessing resectability. *Radiology* 206:373-378, 1998.
47. Kitano M. Dynamic imaging of pancreatic diseases by contrast enhanced coded phase inversion harmonic ultrasonography. *Gut* 53:854-859, 2004.
48. Cerri LM, Cerri GG. Intraoperative ultrasonography of liver, bile ducts and pancreas. *Sao Paulo Med J* 114:1196-1207, 1996.
49. Kolesnik O, Lukashenko A, Shudrak A, Golovko T, Lavryk G, Huralevych J. Intraoperative ultrasonography in pancreatic surgery: staging and resection guidance. *Exp Oncol* 37:285-291, 2015.
50. Kawaguchi Y, Nagai M, Nomura Y, Kokudo N, Tanaka N. Usefulness of indocyanine green-fluorescence imaging during laparoscopic hepatectomy to visualize subcapsular hard-to-identify hepatic malignancy. *J Surg Oncol* 112:514-516, 2015.
51. Lavazza M, Liu X, Wu C, Anuwong A, Kim HY, Liu R, Randolph GW, Inversini D, Boni L, Rausei S, Frattini F, Dionigi G. Indocyanine green-enhanced fluorescence for assessing parathyroid perfusion during thyroidectomy. *Gland Surg* 5:512-521,

2016.

52. Maeda H, Nakamura H, Fang J. The EPR effect for macromolecular drug delivery to solid tumors: Improvement of tumor uptake, lowering of systemic toxicity, and distinct tumor imaging in vivo. *Adv Drug Deliv Rev* 65:71-79, 2013.
53. Hoogstins CES, Boogerd LSF, Sibinga Mulder BG, Mieog JSD, Swijnenburg RJ, van de Velde CJH, Farina Sarasqueta A, Bonsing BA, Framery B, Pelegri A, Gutowski M, Cailler F, Burggraaf J, Vahrmeijer AL. Image-Guided Surgery in Patients with Pancreatic Cancer: First Results of a Clinical Trial Using SGM-101, a Novel Carcinoembryonic Antigen-Targeting, Near-Infrared Fluorescent Agent. *Ann Surg Oncol* 25:3350-3357, 2018.
54. Kitao A, Zen Y, Matsui O, Gabata T, Kobayashi S, Koda W, Kozaka K, Yoneda N, Yamashita T, Kaneko S, Nakanuma Y. Hepatocellular carcinoma: signal intensity at gadoxetic acid-enhanced MR Imaging--correlation with molecular transporters and histopathologic features. *Radiology* 256:817-826, 2010.
55. Ishizawa T, Masuda K, Urano Y, Kawaguchi Y, Satou S, Kaneko J, Hasegawa K, Shibahara J, Fukayama M, Tsuji S, Midorikawa Y, Aburatani H, Kokudo N. Mechanistic background and clinical applications of indocyanine green

- fluorescence imaging of hepatocellular carcinoma. *Ann Surg Oncol* 21:440-448, 2014.
56. Wada H, Hirohashi K, Anayama T, Nakajima T, Kato T, Chan HH, Qiu J, Daly M, Weersink R, Jaffray DA, Irish JC, Waddell TK, Keshavjee S, Yoshino I, Yasufuku K. Minimally invasive electro-magnetic navigational bronchoscopy-integrated near-infrared-guided sentinel lymph node mapping in the porcine lung. *PLoS One* 10:e0126945, 2015.
57. Imamura H, Seyama Y, Kokudo N, Maema A, Sugawara Y, Sano K, Takayama T, Makuuchi M. One thousand fifty-six hepatectomies without mortality in 8 years. *Arch Surg* 138:1198-1206, 2003.
58. Ishizawa T, Hasegawa K, Kokudo N, Sano K, Imamura H, Beck Y, Sugawara Y, Makuuchi. Risk factors and management of ascites after liver resection to treat hepatocellular carcinoma. *Arch Surg* 144:46-51, 2009.
59. Rahbari NN, Garden OJ, Padbury R, Brooke-Smith M, Crawford M, Adam R, Koch M, Makuuchi M, Dematteo RP, Christophi C, Banting S, Usatoff V, Nagino M, Maddern G, Hugh TJ, Vauthey JN, Greig P, Rees M, Yokoyama Y, Fan ST, Nimura Y, Figueras J, Capussotti L, Buchler MW, Weitz J. Posthepatectomy liver

failure: a definition and grading by the International Study Group of Liver Surgery (ISGLS). *Surgery* 149:713-724, 2011.

60. Dindo D, Demartines N, Clavien PA. Classification of surgical complications. *Ann Surg* 240:205-513, 2004.

61. Bruix J, Sherman M, Committee Practice Guidelines. American Association for the Study of Liver Diseases. Management of hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 42:1208-1236, 2005.

62. Singal AK, Kamath PS. Model for End-stage Liver Disease. *J Clin Exp Hepatol* 3:50-60, 2013.

63. Johnson PJ, Berhane S, Kagebayashi C, Satomura S, Teng M, Reeves HL, O'Beirne J, Fox R, Skowronska A, Palmer D, Yeo W, Mo F, Lai P, Inarrairaegui M, Chan SL, Sangro B, Miksad R, Tada T, Kumada T, Toyoda H. Assessment of liver function in patients with hepatocellular carcinoma: a new evidence-based approach-the ALBI grade. *J Clin Oncol* 33:550-558, 2015.

64. Ishizawa T, Hasegawa K, Aoki T, Takahashi M, Inoue Y, Sano K, Imamura H, Sugawara Y, Kokudo N, Makuuchi M. Neither multiple tumors nor portal hypertension are surgical contraindications for hepatocellular carcinoma.

*Gastroenterology* 134:1908-1916, 2008.

65. Bruix J, Castells A, Bosch J, Feu F, Fuster J, Garcia-Pagan JC, Visa J, Bru C, Rodes J. Surgical resection of hepatocellular carcinoma in cirrhotic patients: prognostic value of preoperative portal pressure. *Gastroenterology* 111:1018-1022, 1996.
66. Cusshetti A, Ercolani G, Vivarelli M, Cescon M, Ravaioli M, La Barba G, Zanello M, Grazi GL, Pinna AD. Impact of model for end-stage liver disease (MELD) score on prognosis after hepatectomy for hepatocellular carcinoma on cirrhosis. *Liver Transpl* 12:966-971, 2006.
67. Delis SG, Bakoyiannis A, Biliatis I, Athanassiou K, Tassopoulos N, Dervenis C. Model for end-stage liver disease (MELD) score, as a prognostic factor for post-operative morbidity and mortality in cirrhotic patients, undergoing hepatectomy for hepatocellular carcinoma. *HPB(Oxford)* 11:351-357, 2009.
68. Hsu KY, Chau GY, Lui WY, Tsay SH, King KL, Wu CW. Predicting morbidity and mortality after hepatic resection in patients with hepatocellular carcinoma: the role of Model for End-Stage Liver Disease score. *World J Surg* 33:2412-2419, 2009.
69. Malinchoc M, Kamath PS, Gordon FD, Peine CJ, Rank J, ter Borg PC. A model to predict poor survival in patients undergoing transjugular intrahepatic portosystemic



shunts. *Hepatology* 31:864-871, 2000.

70. Li MX, Zhao H, Bi XY, Li ZY, Huang Z, Han Y, Zhou JG, Zhao JJ, Zhang YF, Cai JQ. Prognostic value of the albumin-bilirubin grade in patients with hepatocellular carcinoma: Validation in a Chinese cohort. *Hepatol Res* 47:731-741, 2017.
71. Miyazaki Y, Kokudo T, Amikura K, Takahashi A, Ohkohchi N, Sakamoto H. Albumin-Indocyanine Green Evaluation Grading System Predicts Post-Hepatectomy Liver Failure for Biliary Tract Cancer. *Dig Surg* 36:13-19, 2019.
72. Yoshimoto T, Eguchi S, Natsuda K, Hidaka M, Adachi T, Ono S, Hamada T, Huang Y, Kanetaka K, Takatsuki M. Relationship between various hepatic function scores and the formation of esophageal varices in patients with HIV/hepatitis C virus co-infection due to contaminated blood products for hemophilia. *Hepatol Res* 49:147-152, 2018.
73. Levi Sandri GB, Ettorre GM, Aldrighetti L, Cillo U, Dalla Valle R, Guglielmi A, Mazzaferro V, Ferrero A, DiBenedetto F, Gruttadauria S, DeCarlis L, Vennarecci G, I Go MILS Group on HCC. Laparoscopic liver resection of hepatocellular carcinoma located in unfavorable segments: a propensity score-matched analysis from the I Go MILS (Italian Group of Minimally Invasive Liver Surgery) Registry.

*Surg Endosc* 33:1451-1458, 2019.

74. Russolillo N, Forchino F, Conci S, Mele C, Langella S, Ruzzenente A, Scoleri I, Giuliani F, Guglielmi A, Ferrero A. Validation of the albumin-indocyanine green evaluation model in patients with resected hepatocellular carcinoma and comparison with the albumin-bilirubin score. *J Hepatobiliary Pancreat Sci* 26:51-57, 2019.
75. Tomayko MM, Reynolds CP. Determination of subcutaneous tumor size in athymic (nude) mice. *Cancer Chemother Pharmacol* 24:148-154, 1989.
76. Gorczyca W, Traganos F, Jesionowska H, Darzynkiewicz Z. Presence of DNA strand breaks and increased sensitivity of DNA in situ to denaturation in abnormal human sperm cells: analogy to apoptosis of somatic cells. *Exp Cell Res* 207:202-205, 1993.
77. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods* 65:55-63, 1983.
78. Liu Y, Peterson DA, Kimura H, Schubert D. Mechanism of cellular 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) reduction. *J Neurochem* 69:581-593, 1997.

79. Zheng X, Zhou F, Wu B, Chen WR, Xing D. Enhanced tumor treatment using biofunctional indocyanine green-containing nanostructure by intratumoral or intravenous injection. *Mol Pharm* 9:514-522, 2012.
80. Reindl S, Penzkofer A, Gong SH, Landthaler M, Szeimies RM, Abels C, Baumler W. Quantum yield of triplet formation for indocyanine green. *Journal of Photochemistry and Photobiology* 105:65-68, 1997.
81. Yoshikawa T, Kokura S. Hyperthermia and Reactive Oxygen. *Jpn J Hyperthermic Oncol* 14:1-5, 1998
82. Brown SB, Brown EA, Walker I. The present and future role of photodynamic therapy in cancer treatment. *The Lancet Oncology* 5:497-508, 2004.
83. Dolmans DE, Fukumura D, Jain RK. Photodynamic therapy for cancer. *Nat Rev Cancer* 3:380-387, 2003.
84. Gomer CJ, Ferrario A, Luna M, Rucker N, Wong S. Photodynamic therapy: combined modality approaches targeting the tumor microenvironment. *Lasers Surg Med* 38:516-521, 2006.
85. Otake M, Nishiwaki M, Kobayashi Y, Baba S, Kohno E, Kawasaki T, Fujise Y, Nakamura H. Selective accumulation of ALA-induced PpIX and photodynamic

effect in chemically induced hepatocellular carcinoma. *Br J Cancer* 89:730-736, 2003.

86. Mitsunaga M, Ogawa M, Kosaka N, Rosenblum LT, Choyke PL, Kobayashi H. Cancer cell-selective in vivo near infrared photoimmunotherapy targeting specific membrane molecules. *Nat Med* 17:1685-1691, 2011.
87. Llovet JM, Ricci S, Mazzaferro V, Hilgard P, Gane E, Blanc JF, de Oliveira AC, Santoro A, Raoul JL, Forner A, Schwartz M, Porta C, Zeuzem S, Bolondi L, Greten TF, Galle PR, Seitz JF, Borbath I, Haussinger D, Giannaris T, Shan M, Moscovici M, Voliotis D, Bruix J; SHARP Investigators Study Group. Sorafenib in advanced hepatocellular carcinoma. *N Engl J Med* 359:378-390, 2008.
88. Bruix J, Reig M, Sherman M. Evidence-based diagnosis, staging, and treatment of patients with hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 150:835-853, 2016.
89. Cui S, Yin D, Chen Y, Di Y, Chen H, Ma Y, Achilefu S, Gu Y. In vivo targeted deep-tissue photodynamic therapy based on near-infrared light triggered upconversion nanoconstruct. *ACS Nano* 7:676-688, 2013.
90. Shafirstein G, Baumler W, Hennings LJ, Siegel ER, Friedman R, Moreno MA, Webber J, Jackson C, Griffin RJ. Indocyanine green enhanced near-infrared laser

treatment of murine mammary carcinoma. *Int J Cancer* 130:1208-1215, 2012.

91. van Gemert MC, Welch AJ. Clinical use of laser-tissue interactions. *IEEE Eng Med Biol Mag* 8:10-13, 1989.

本研究の公表について

本研究 1 の結果は以下の形で公表した。

Journal of Surgical Oncology, 2018 Nov;118(6):1012-1020. Doi: 10.1002/jso.25231.

“Usefulness of indocyanine green-fluorescence imaging for real-time visualization of pancreas neuroendocrine tumor and cystic neoplasm.”

Chikara Shirata, Yoshikuni Kawaguchi, Kosuke Kobayashi, Yuta Kobayashi, Junichi Arita, Nobuhisa Akamatsu, Junichi Kaneko, Yoshihiro Sakamoto, Norihiro Kokudo, Kiyoshi Hasegawa.

2016/10/15 第9回蛍光 Navigation Surgery 研究会 一般演題

「膵腫瘍手術における蛍光 navigation の有用性」

白田 力、河口義邦、小林光助、小林祐太、森 一洋、金子順一、赤松延久、  
有田淳一、阪本良弘、長谷川潔、國土典宏

本研究 2 の結果は以下の形で公表した。

Hepatology Research, 2019 Aug;49(8):942-949. Doi: 10.1111/hepr.13327.

“Albumin-Indocyanine Green Evaluation (ALICE) grade combined with portal hypertension to predict post-hepatectomy liver failure.”

Chikara Shirata, Takashi Kokudo, Junichi Arita, Nobuhisa Akamatsu, Junichi Kaneko, Yoshihiro Sakamoto, Norihiro Kokudo, Kiyoshi Hasegawa.

2017/7/7 第 53 回日本肝癌研究会 パネルディスカッション 6 肝癌の短期・長期予後予測に役立つ肝予備能の評価法とは？

「肝細胞癌術後の短期長期予後予測における Alb・ICG15 分値を用いた新しい肝機能評価分類（ALICE score）の有用性」

白田 力、長谷川潔、國土貴嗣、網倉克己、高橋 遍、金子順一、赤松延久、有田淳一、阪本良弘、阪本裕彦、Nermin Halkic、國土典宏

本研究 3 は以下の形で発表した。

Scientific Reports, 2017 Oct;7(1):13958. Doi:10.1038/s41598-0.7-14401-0.

“Near-infrared photothermal/photodynamic therapy with indocyanine green induces apoptosis of hepatocellular carcinoma cells through oxidative stress.”

Chikara Shirata, Junichi Kaneko, Yoshinori Inagaki, Takashi Kokudo, Masumitsu Sato, Syo Kiritani, Nobuhisa Akamatsu, Junichi Arita, Yoshihiro Sakamoto, Kiyoshi Hasegawa, Norihiro Kokudo.

2016/6/25 第 26 回日本光線力学学会学術講演会 一般演題 基礎：ICG・新規 PDT 用薬剤

「Indocyanine green 蛍光肝細胞癌に対する近赤外光照射による光線力学療法」

白田 力、金子順一、稲垣善則、國土貴嗣、有田淳一、赤松延久、阪本良弘、長谷川潔、國土典宏



## 謝辞

本研究を遂行し学位論文をまとめるにあたり、ご指導頂いた指導教官である東京大学大学院医学系研究科外科学専攻 臓器病態外科学講座 肝胆膵外科学/人工臓器・移植外科学 教授 長谷川潔先生に深く感謝の意を表します。また、研究を遂行するにあたり多くの知識や示唆を頂いた国立国際医療研究センター 理事長 國土典宏先生、ALICE スコア作成においてご指導頂いた東京大学大学院医学系研究科生物統計学分野 教授 松山裕先生、そして多くのご指摘を下さいました肝胆膵外科、人工臓器・移植外科医局員の皆様に感謝致します。