

博士論文

大腸癌肝転移のグリソン鞘浸潤の術中超音波検査所見
についての研究

廣吉 淳子

大腸癌肝転移のグリソン鞘浸潤の術中超音波検査所見
についての研究

所属：肝胆膵・人工臓器移植外科

指導教員名：長谷川 潔

申請者：廣吉 淳子

目次

要旨	3
序文	4
研究 1 大腸癌肝転移におけるグリソン鞘浸潤の性質および予後について	
1. 背景	8
2. 方法	10
3. 結果	13
4. 考察	27
5. 小括	31
研究 2 大腸癌肝転移におけるグリソン鞘浸潤と術中造影超音波所見	
1. 背景	32
2. 方法	35
3. 結果	41
4. 考察	49
5. 小括	53
本研究の意義と総括	54
結論	55
謝辞	56
引用文献	57

要旨

大腸癌肝転移のグリソン鞘浸潤は 2-40%程度存在し、根治的肝切除後の独立予後因子であると言われている。本研究は、大腸癌肝転移のグリソン鞘浸潤と予後因子との関連を調べた後ろ向き研究と、術中造影超音波検査によるグリソン鞘浸潤の診断能を評価した前向き研究から構成される。

前者の検討では、病理組織学的にグリソン鞘浸潤を認める症例では R1 切除となりやすい傾向があることが示唆された。後者の前向き研究では、術中造影超音波で 3 つの所見を捉えることで、79%の感度、96%の特異度でグリソン鞘浸潤を診断できることが示された。

大腸癌肝転移の切除で術中造影超音波検査を活用してグリソン鞘浸潤を診断することで、肝切除の範囲を適切に拡大し、R1 切除を回避できる可能性が示唆された。

序文

本研究の契機は、術前画像診断で大腸癌肝転移の脈管浸潤を疑う所見がなかったにもかかわらず、術中造影超音波で責任グリソン鞘（門脈、肝動脈、胆管、リンパ管を含む結合組織、図1）の壁不整を認め、浸潤を疑って切除範囲を拡大した症例[1]を経験したことである。本症例は病理学的に同部位にグリソン鞘浸潤を認めたため、術中造影超音波を活用しなければR0切除が達成されなかった可能性があった（図2）。

術中造影超音波を用いたグリソン鞘浸潤の診断については、原発性肝癌では既報があるが[2][3]、大腸癌肝転移では診断基準や同定能、臨床的な意義に関する報告が乏しい。そこで本研究では、まず当科で行った大腸癌肝転移切除例（6年間、244例）を対象に、グリソン鞘浸潤の特徴と頻度、および予後との関連について後ろ向きに検討した（研究1）。このコホートでは、グリソン鞘浸潤陽性群（49例、20%）の方が陰性群（195例、80%）よりもR1切除率（顕微鏡的断端陽性率、切除断端に顕微鏡的に癌細胞が指摘されたもの）が高い傾向にあった（31% vs. 18%, $P = 0.0496$ ）。R1切除率に関する統計学的な有意差はわずかであったが、これは術前または術中診断に基づき、適切に肝切除範囲が設定された結果である可能性もあった。実際、グリソン鞘浸潤陽性群の方が陰性群よりも系統的肝切除（肝転移巣のみを部分切除するのではなく、担癌肝区域全体を解剖学

的に切除すること[4])の割合が高かった(55% vs. 30%, $P = 0.001$)。

次に、大腸癌肝転移のグリソン鞘浸潤に関する術中造影超音波の診断基準を構築し、その有用性を評価するために、大腸癌肝転移手術予定の患者 50 例を対象に前向き研究を実施した(研究 2)。この検討では、過去の症例[1]および研究 1 で得られた超音波画像を元に、術中造影超音波によるグリソン鞘浸潤の特徴的所見として①腫瘍栓、②末梢グリソン鞘の拡張、③壁不整／口径比の有無、の 3 つの所見を候補として採用した。また、病理組織学的なグリソン鞘浸潤の診断能を、術中造影超音波と、術前に実施される常磁性のガドキセト酸ナトリウムを有効成分とする肝特異性造影剤を使用した MRI 検査(以後 EOB-MRI とする)との間で比較検討した。

図 1：グリソン鞘の模式図

グリソン鞘とは、門脈、動脈、胆管、リンパ管、間質を内包する線維鞘である

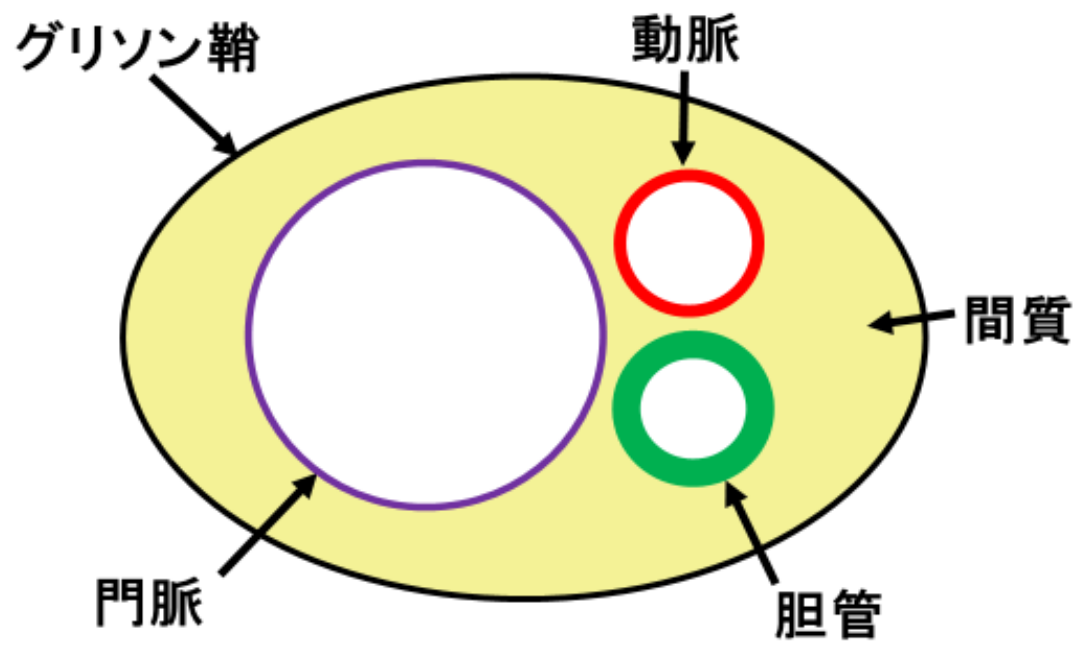


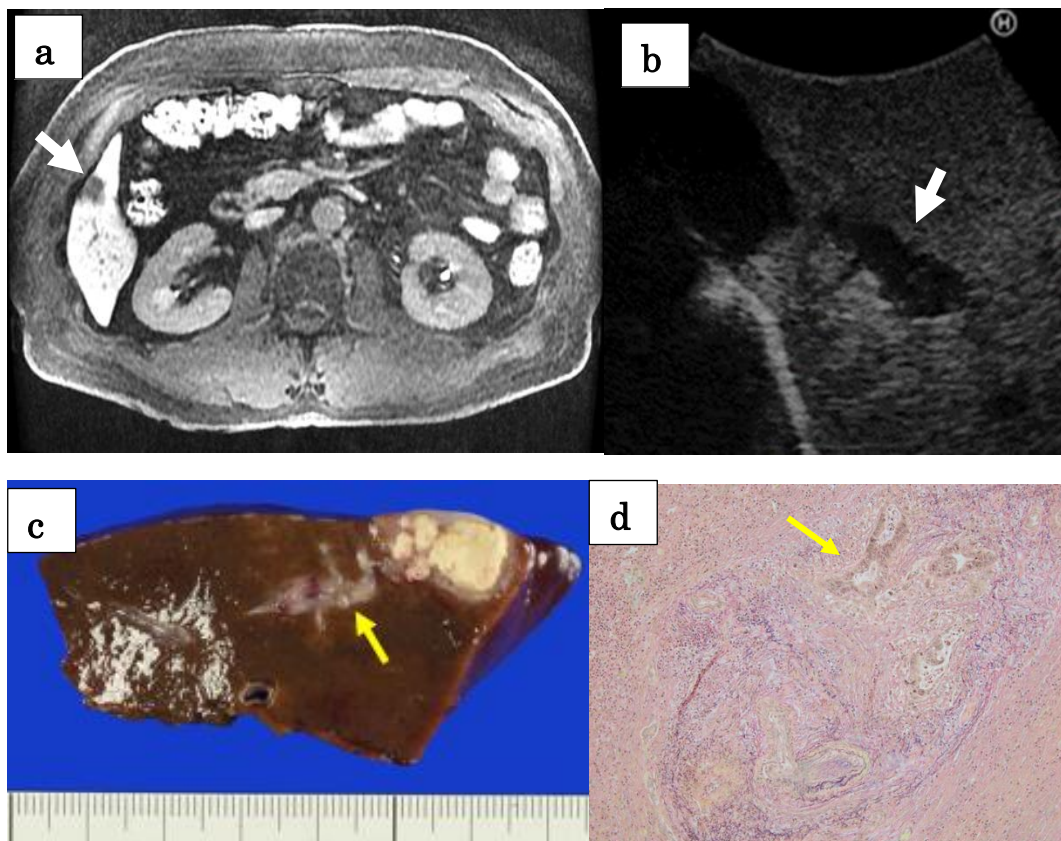
図 2：術中造影超音波検査で大腸癌肝転移のグリソン鞘浸潤が指摘された症例

a 術前の EOB-MRI では腫瘍（矢印）の指摘はあったが、グリソン鞘浸潤は指摘されず

b 術中造影超音波検査で腫瘍の近接するグリソン鞘の壁不整（矢印）を認めた

c 切除標本でエコーと同一部位に肉眼的グリソン鞘浸潤（矢印）を認めた

d グリソン鞘浸潤（矢印）を認めた（EVG（Elastica van Gieson）染色、×40）



研究1 グリソン鞘浸潤の性質および予後について（後ろ向き研究）

1. 背景

大腸癌肝転移は、結腸・直腸癌の内、30-50%に起こると言われており、結腸・直腸癌の死因の約66%に関連すると言われている[5][6]。肝切除は大腸癌肝転移患者の長期生存を延長させる最善の治療であるが[7]、周術期化学療法[8]や腫瘍生物学の解明[9]が進んでいるにもかかわらず、肝切除後2年以内に50%の患者が再発をきたしており、再発の内、50%以上が肝内再発である[10]。これらの再発は肝不全により致命的となる可能性もあり[11]、腫瘍に対する集学的治療や遺伝子型に対応した治療を行っている現代においても、R1切除は大腸癌肝転移切除後の肝内再発の独立予後因子である[10]。

大腸癌肝転移は肝実質内に結節を形成することで知られているが[12]、グリソン鞘への浸潤を起こすことも報告されている[13]。肝実質をできるかぎり温存し、腫瘍を切除する大腸癌肝転移の手術治療は、再発時の切除可能性を引き上げたが[14]、グリソン鞘浸潤を伴う大腸癌肝転移では、初回肝切除における、腫瘍から断端までの距離を可能な限り短くする従来の切除方法では、R1切除の可能性が高くなり、それによって肝切除後の肝内再発率を高くする可能性がある[15]。今まで、肝細胞癌のグリソン鞘浸潤に比べ、大腸癌肝転移のグリソン鞘浸潤は臨

床的に重要視されていなかったが、大腸癌肝転移のグリソン鞘浸潤が、根治的肝切除後の独立的な予後関連因子であるとした報告があり [13][16]、また、過去の文献では、顕微鏡的・肉眼的グリソン鞘浸潤の頻度が、各々、2.6-42%・2.2-40%であったと報告されていることから[13,15-19]、一定数存在する予後と関連した重要な所見と考えた。実際のグリソン鞘浸潤の頻度と大腸癌肝転移におけるグリソン鞘浸潤の腫瘍学的および臨床における影響は十分わかっていない。この研究では(1)大腸癌肝転移の肝切除例におけるグリソン鞘浸潤の特性、(2)大腸癌肝切除例における肝切除後の予後とグリソン鞘浸潤の関連について調べた。

2. 方法

この研究は東京大学医学部附属病院の倫理規約に則り、倫理委員会で承認された倫理申請番号 2158-(7)に基づき、また、ヘルシンキ宣言に準じた研究である。

2011 年の 1 月から 2016 年の 12 月までの 6 年間に治癒を目的とし、大腸癌肝転移で手術を受けた 244 人の患者を対象とした。臨床記録、放射線科レポート、病理レポートを参照した。244 人の患者を、病理組織学的にグリソン鞘浸潤を認めた患者群（以後 **Group1**）とグリソン鞘浸潤を認めなかった患者群（以後 **Group2**）に 2 分した。なお、大腸癌肝転移が多発した症例では、少なくとも 1 つの腫瘍にグリソン鞘浸潤を認めた場合は、**Group1** に割り付けた。

肉眼的グリソン鞘浸潤は、腫瘍栓のように標本の切片で肉眼的にグリソン鞘浸潤を認めた例、顕微鏡的グリソン鞘浸潤は顕微鏡的に胆管を中心としたグリソン鞘に癌の浸潤を認めた例と定義した。グリソン鞘浸潤を認めた症例に関しては、術前 **EOB-MRI** 検査および術中造影超音波検査所見を確認し、グリソン鞘浸潤を指摘されていたかどうかを確認した。治療戦略について当科では、2012 年頃まで切除可能な初発の大腸癌肝転移については、化学療法等は行わずに手術を行っていた[15]。2012 年以降は、初回大腸癌肝転移で切除不能な例で化学療法を行って切除可能となった症例（**conversion** 症例）や、切除可能な大腸癌に対して、術前化学療法の影響を調べるために、術前化学療法を行う群

と行わない群にランダム割り付けを行った研究

(UMIN000007787,<http://www.umin.ac.jp/ctr/index.htm>) が行われたため、その参加者も症例も本研究に含まれている。

切除可能かどうかの判断は以下の通りである：(1) すべての病変が適切なマージンで切除可能であり、残肝容積が許容範囲であること、(2) 原発の大腸癌と肝外転移が切除可能およびコントロール可能であること、(3) 患者が手術に耐えること[15]。基本的な手術方法は肝部分切除である[14]が、系統的切除（腫瘍の存在領域の責任グリソン鞘および責任グリソン鞘の領域を切除する方法）が術前または術中の所見で切除マージンを担保[20][21]するために選択されることもあった。術中迅速診断は切除断端を確認するために用いられ、断端陽性の場合は追加切除を行うこともあった。

術後に関しては、合併症については Clavian-Dindo 分類で評価し、3a+以上は深刻な合併症と判断した、また、術後 90 日死亡に関しても評価した[22-24]。術後化学療法に関しては、原発巣に基づき、または臨床研究 (UMIN000007787 and UMIN000000013, <http://www.umin.ac.jp/ctr/index.htm>) [25]に同意した患者についてはそれに則り行った。患者は術後、身体所見、採血検査、最初の 2 年は 3-4 か月ごとに、その後の 3 年は 4-6 か月ごとに画像検査を行った。再発を認めた場合は、どの治療を行うかを、他分野の医師とともに検討し、切除可能な肝転

移を認めた場合は、初回と同様に切除した。

統計分析に関しては、連続した値に関しては中央値で示し、ウィルコクソンの符号順位検定で比較した。分類可能な値に関してはピアソンのカイ 2 乗検定で比較した。全生存および無再発生存は初回肝切除から死亡までの期間、および、肝切除から初回再発までの期間とした。生存曲線はカプラインマイヤー法で作成し、生存曲線の比較はログランク検定で行った。全生存および無再発生存は、コックス比例ハザードモデルを使い、単変量および多変量解析を行った。単変量解析で P 値 0.2 未満の項目を多変量解析に入れた。また、すべての分析で P 値 0.05 未満は統計学的に有意とした。統計学的分析は JMP PRO software,v13.2.0 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)を用いた。

3. 結果

<患者背景>

Group 1 は 49 例 (20%)、Group 2 は 195 例 (80%) であった。Group1 では腫瘍径が大きく、右側大腸癌が多い傾向を認めた (表 1)。Group1 で術前画像診断、術中超音波検査所見を再度検討し、術前の CT および MRI でグリソン鞘浸潤が認められた症例は 8 例、術中超音波検査で腫瘍栓を認めたのは 6 例、胆管拡張を認めたのは 7 例、口径比を認めたのは 2 例であった。肝外の転移および術前化学療法については両群間で差はなかった。

Group 1 のうち、肉眼的グリソン鞘浸潤は 8 例 (16%)、顕微鏡的グリソン鞘浸潤は 41 例 (84%) であった。肉眼的/顕微鏡的グリソン鞘浸潤の 2 群の間では患者背景に差はなかった (表 2)。

表 1 患者背景（全症例）

	Group 1 (グリソン鞘浸潤あり) n=49		Group 2 (グリソン鞘浸潤なし) n=195		P [†]
年齢(歳)	66	(29–83)	65	(34–87)	0.262 [‡]
男性, n (%)	29	(59)	118	(61)	0.865
BMI, kg/m ²	21.7	(14.6–30.2)	21.5	(15.7–30.7)	0.763 [‡]
原発巣					
右側, n (%)	13	(27)	28	(14)	0.042
T3/T4, n (%)	42	(84)	182	(93)	0.285
リンパ節転移陽性, n (%)	32	(64)	135	(69)	0.916
分化度					
高分化, n (%)	22	(45)	69	(35)	0.095
中分化, n (%)	21	(43)	117	(60)	
低分化, n (%)	4	(8)	4	(2)	
CEA, ng/dl	14.1	(1.8–591)	10.1	(0.8–710)	0.349 [‡]
CA19-9, U/ml	26	(1–4825)	20	(1–4346)	0.103 [‡]
KRAS 変異型, n (%)	16	(33)	58	(30)	0.284
肝転移について					
腫瘍数	2	(1–19)	2	(1–28)	0.852 [‡]
最大径, cm	3.0	(0.8–12)	2.5	(0.4–15)	0.015[‡]
肝臓以外の転移, n (%)	6	(12)	40	(21)	0.186
肺転移, n (%)	3	(6)	25	(13)	0.189
リンパ節転移, n (%)	2	(4)	10	(5)	0.762
播種病変, n (%)	1	(2)	10	(5)	0.352
副腎転移, n (%)	1	(2)	1	(1)	0.289
その他, n (%)	0	(0)	5	(3)	0.257
肝切除前の化学療法, n (%)	19	(39)	73	(37)	0.863
オキザリプラチンを含む, n (%)	16	(33)	64	(33)	0.690
イリノテカンを含む, n (%)	6	(12)	18	(9)	0.541
ベバシズマブを含む, n (%)	11	(22)	39	(20)	0.728
抗 EGFR 抗体薬を含む, n (%)	9	(18)	33	(17)	0.866
≥7 サイクル, n (%)	9	(18)	43	(22)	0.366
≥2 レジメン, n (%)	8	(16)	23	(12)	0.384

* ()のない数値は中央値、† カイ 2 乗検定、‡ ウィルコクソンの順位和検定、

BMI : Body Mass Index、CEA : Carcinoembryonic antigen（癌胎児性抗原）、

CA19-9: Carbohydrate antigen 19-9 (糖鎖抗原 19-9)、KRAS: v-Ki-ras2 Kirsten

rat sarcoma viral oncogene homolog（カーステンラット肉腫ウイルス癌遺伝子

ホモログ)、EGFR : Epidermal Growth Factor Receptor (上皮成長因子受容体)

表 2 患者背景 (Group 1 のみ)

	肉眼的グリソン鞘 浸潤 n=8	顕微鏡的グリソン鞘 浸潤 n=41	P†
年齢 (歳)	64 (53-78)	67 (29-83)	0.223‡
男性, n (%)	5 (63)	24 (59)	0.835
BMI, kg/m ²	22.3 (20.2-27.2)	21.7 (14.6-30.2)	0.516‡
原発巣			
右側, n (%)	4 (50)	9 (22)	0.100
T3/T4, n (%)	8 (100)	34 (87)	0.284
リンパ節転移陽性, n (%)	7 (89)	25 (68)	0.259
分化度			
高分化, n (%)	2 (25)	20 (49)	0.117
中分化, n (%)	3 (38)	18 (44)	
低分化, n (%)	2 (25)	2 (5)	
CEA, ng/dl	11.6 (2.9-121.7)	14.2 (1.8-590.6)	0.665‡
CA19-9, U/ml	61.5 (8-4825)	22 (1-2300)	0.168‡
KRAS 変異, n (%)	3 (38)	13 (32)	0.489
肝転移について			
腫瘍数	2 (1-7)	2 (1-19)	0.514‡
最大径, cm	4.5 (1.7-8.5)	3 (0.8-12)	0.119‡
肝臓以外の転移, n (%)	2 (25)	4 (10)	0.229
肺転移, n (%)	1 (13)	2 (5)	0.411
リンパ節転移, n (%)	0 (0)	2 (5)	0.524
播種病変, n (%)	0 (0)	1 (2)	0.655
副腎転移, n (%)	0 (0)	1 (2)	0.655
その他, n (%)	0 (0)	0 (0)	-
肝切除前の化学療法, n (%)	4 (50)	15 (37)	0.476
オキザリプラチンを含む, n (%)	3 (38)	13 (32)	0.570
イリノテカンを含む, n (%)	1 (13)	5 (12)	0.750
ベバシズマブを含む, n (%)	2 (25)	9 (22)	0.719
抗 EGFR 抗体薬を含む, n (%)	2 (25)	7 (17)	0.906
≥7 サイクル, n (%)	2 (25)	7 (17)	0.906
≥2 レジメン, n (%)	2 (25)	6 (15)	0.719

* () のない数値は中央値、† カイ 2 乗検定、‡ ウィルコクソンの順位和検定、

BMI : Body Mass Index、CEA : Carcinoembryonic antigen (癌胎児性抗原)、

CA19-9: Carbohydrate antigen 19-9 (糖鎖抗原 19-9)、KRAS: v-Ki-ras2 Kirsten

rat sarcoma viral oncogene homolog (カーステンラット肉腫ウイルス癌遺伝子

ホモログ)、EGFR : Epidermal Growth Factor Receptor (上皮成長因子受容体)

＜グリソン鞘浸潤と関連因子について＞

Group 1 は Group 2 に比べ、系統的切除の頻度と出血量が優位に高値であった（表 3）。Group1 の患者は R1 切除の頻度が高く（15 例、31%）、また最終的に R0 が達成された 34 例のうち 4 例は術中診断によりグリソン鞘断端に陽性が判明し追加切除を行った症例であった。Group1 で切除断端陽性であった例では、グリソン鞘断端陽性であった頻度と肝実質で切除断端陽性となった頻度は同等であった。

肉眼的グリソン鞘浸潤群（8 例）と顕微鏡的グリソン鞘浸潤群（41 例）との間では、前者の方が系統的切除の頻度、手術時間、R 1 切除の頻度が高値である傾向を認めた（表 4）。肉眼的グリソン鞘浸潤群、顕微鏡的グリソン鞘浸潤群、グリソン鞘浸潤なし群における R1 切除の頻度はそれぞれ、63%、24%、18%であった（表 3、4）。

表 3 術中および術後の所見

	Group 1 (グリソン鞘 浸潤あり) n=49		Group 2 (グリソン鞘 浸潤なし) n=195		P [†]
手術所見					
系統的切除*, n (%)	27	(55)	59	(30)	0.001
手術時間 (分)	423	(137–868)	393	(113–970)	0.274 [‡]
出血量 (ml)	625	(30–1920)	490	(10–2750)	0.043[‡]
輸血, n (%)	5	(10)	15	(8)	0.567
R1 切除, n (%)	15	(31)	35	(18)	0.0496
肝実質での R1 切除, n (%)	8	(16)	33	(17)	0.921
グリソン鞘での R1 切除, n (%)	8	(16)	0	-	
肝静脈に接した部分, n (%)	0		1	(0.5)	0.615
他臓器に接した部分, n (%)	0		1	(0.5)	0.615
大腸癌肝転移の分化度					
高分化, n (%)	18	(37)	51	(26)	0.182
中分化, n (%)	19	(39)	90	(46)	
低分化, n (%)	2	(4)	2	(1)	
不明, n (%)	10	(20)	52	(27)	
深刻な術後合併症 (Clavien–Dindo Grade 3a 以上)	3	(6)	23	(12)	0.250
術後 90 日の死亡率, n (%)	1	(2)	4	(2)	0.996
再発, n (%)	33	(67)	136	(70)	0.745
肝臓, n (%)	29	(59)	76	(39)	0.011
肺, n (%)	8	(16)	46	(24)	0.274
リンパ節, n (%)	4	(8)	17	(9)	0.902
播種, n (%)	3	(6)	10	(5)	0.782
大腸, n (%)	1	(2)	6	(3)	0.698
その他, n (%)	0	(0)	8	(4)	0.149
術後化学療法, n (%)	16	(33)	92	(47)	0.067

データは中央値

†カイ 2 乗検定

‡ウィルコクソンの順位和検定

*多発肝転移症例で一部でも系統的切除を行った場合は系統的切除とカウントした

表 4 術中および術後所見の肉眼的グリソン鞘浸潤例と顕微鏡的グリソン鞘

浸潤の比較

	肉眼的 グリソン鞘 浸潤例 n=8	顕微鏡的 グリソン鞘 浸潤例 n=41	P†
術中所見			
系統的切除*, n (%)	7 (88)	20 (49)	0.044
手術時間 (分)	547 (281-868)	406 (137-649)	0.045‡
出血量 (ml)	845 (305-1920)	500 (30-1600)	0.358‡
輸血, n (%)	1 (13)	4 (10)	0.815
R1 切除	5 (63)	10 (24)	0.032
肝転移の分化度			
高分化, n (%)	3 (38)	15 (37)	0.007
中分化, n (%)	1 (13)	18 (44)	
低分化, n (%)	2 (25)	0 (0)	
不明, n (%)	2 (25)	8 (20)	
深刻な合併症 (Clavien–Dindo grade ≥3a)	0 (0)	3 (7)	0.430
術後 90 日以内の死亡	0 (0)	1 (2)	0.655
再発, n (%)	7 (88)	26 (63)	0.184
肝臓, n (%)	5 (63)	24 (59)	0.835
肺, n (%)	3 (38)	5 (12)	0.077
リンパ節, n (%)	0 (0)	4 (10)	0.357
播種, n (%)	0 (0)	3 (7)	0.430
大腸, n (%)	0 (0)	1 (2)	0.655
その他, n (%)	0 (0)	0 (0)	-
術後化学療法, n (%)	4 (50)	12 (29)	0.253

データは中央値で表示

†カイ 2 乗検定

‡ウィルコクソンの順位和検定

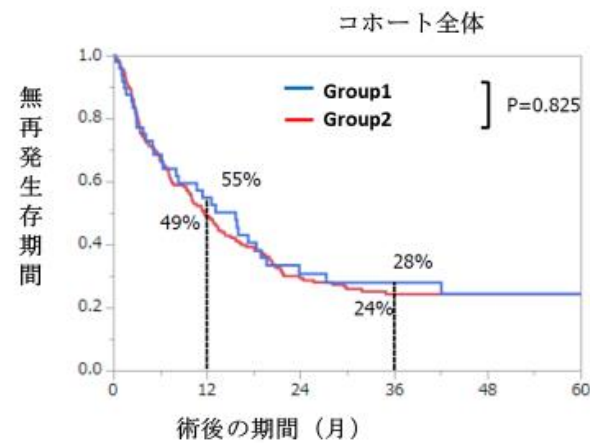
*多発肝転移症例で一部でも系統的切除を行った場合は系統的切除とカウントした

＜グリソン鞘浸潤と予後について＞

長期予後に関しては、Group1 で治癒切除後の肝内再発の頻度が高かったのに対して、術後再発に関しては明らかな差はなかった（表 3）。

Group1 で、治癒切除後に肝内再発を認めた 29 人の内、13 人が再度肝切除となり、4 人（31%）が再肝切除時もグリソン鞘浸潤を認めた。フォローアップ期間の中央値の 33 か月（0.9-82 か月）の Group1 と Group2 の無再発生存期間（Recurrence-free survival、以後 RFS とする）と全生存期間（Overall survival、以後 OS とする）では有意差はなかった（図 3A、図 3B）。また、肉眼的グリソン鞘浸潤陽性群（n=8）は、顕微鏡的グリソン鞘浸潤陽性群（n=41）に比べて RFS は比較的に不良であったが、統計的有意差はなかった（図 4A）。OS は肉眼的グリソン鞘浸潤陽性群と顕微鏡的グリソン鞘浸潤陽性群で有意差はなかった（図 4B）。

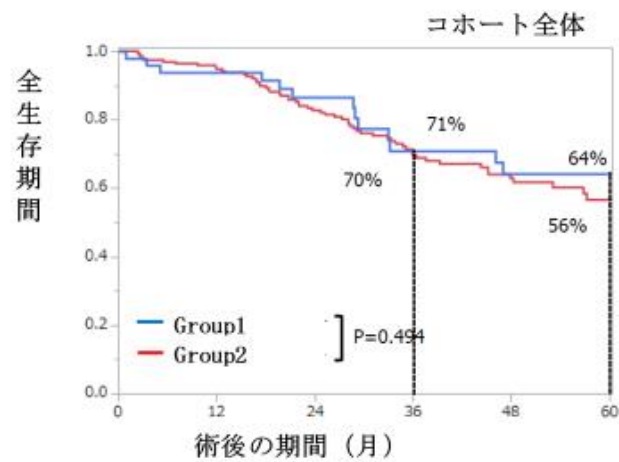
図 3A Group1(グリソン鞘浸潤群)と Group2(グリソン鞘浸潤なし群)の RFS



カプランマイヤー曲線

患者人数						
Group1	49	25	12	9	8	7
Group2	195	89	47	29	21	11

図 3B Group1 と Group2 の OS



患者人数						
Group1	49	44	31	22	20	12
Group2	195	182	133	84	58	24

図 4A 肉眼的グリソン鞘浸潤陽性群と顕微鏡的グリソン鞘浸潤陽性群の RFS

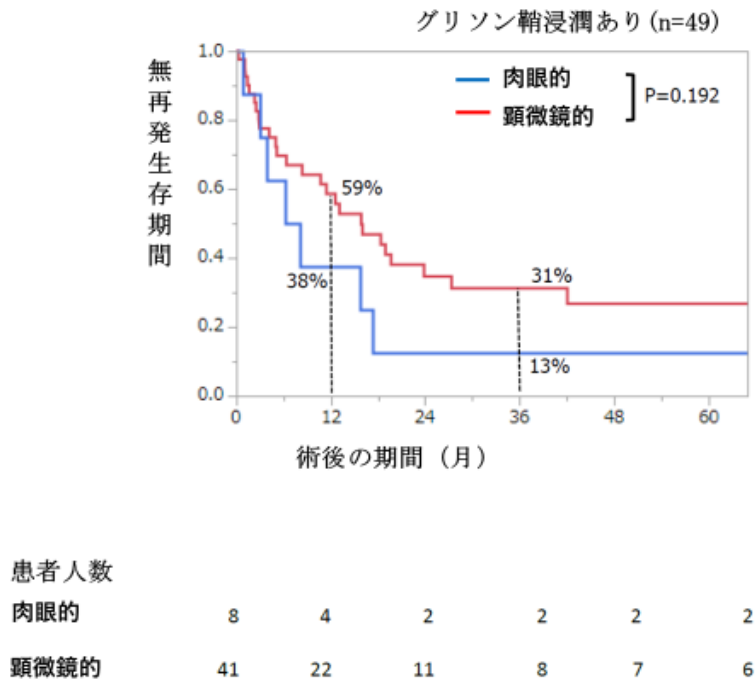
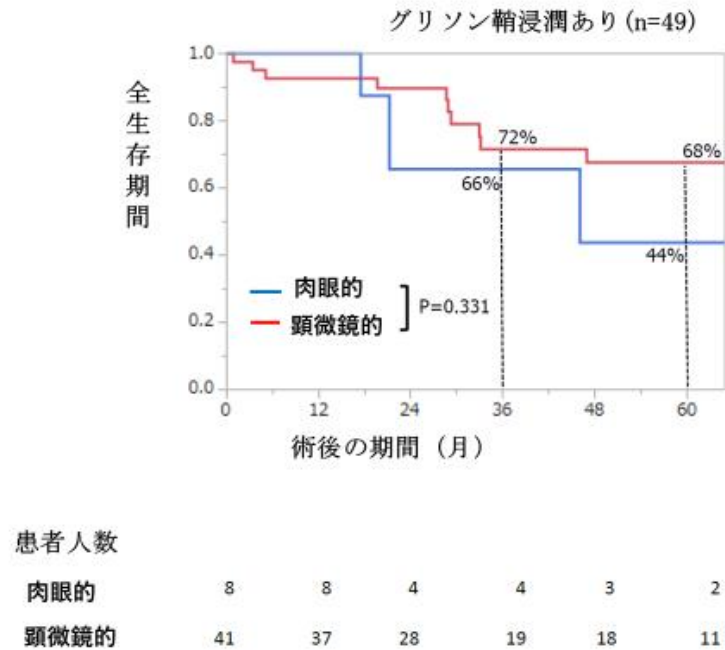


図 4B 肉眼的グリソン鞘浸潤陽性群と顕微鏡的グリソン鞘浸潤陽性群の OS



＜予後予測因子についての検討＞

予後予測因子に関して、全症例（n=244）における RFS の多変量解析で独立予後予測因子は、原発 T 因子の進行例（ $\geq T3$ ）、原発のリンパ節転移陽性例、CA19-9 高値例（ >37 U/ml）、術前化学療法例、肝転移多発例、腫瘍径が大きい例（ >5 cm）、そして R1 切除例であった（表 5）。また、OS の多変量解析では、術前化学療法、腫瘍径が大きい例（ >5 cm）、肝転移の分化度が中または未分化の例、R1 切除例であった（表 6）。

表 5 無再発生存期間に関する単変数および多変数解析

変数	N	無再発生存期間(%)*			ハザード比 (95% 信頼区間)	多変量 P 値‡
		1 年	3 年	単変量		
				P 値†		
全患者	244	50	25			
性別						
男性	147	48	25	0.658	-	-
女性	97	53	26			
年齢 (歳)						
≤70	74	54	24	0.877	-	-
>70	170	47	25			
BMI (kg/m ²)¶						
≤25	198	54	21	0.889	-	-
>25	45	49	26			
原発巣の位置						
右側の結腸	41	57	17	0.566	-	-
左側の結腸	203	49	26			
原発巣の深達度(T)¶§						
≥T3	224	49	25	0.146	2.18 (1.02–5.67)	0.045
≤T2	17	69	33			
原発巣のリンパ節転移¶§						
陽性	167	44	21	0.005	1.73 (1.14–2.71)	0.001
陰性	70	67	38			
CEA§						
>5 ng/ml	184	43	21	0.003	1.40 (0.91–2.24)	0.130
≤5 ng/ml	60	71	37			
CA19-9§						
>37 U/ml	80	41	14	0.001	1.94 (1.31–2.83)	0.001
≤37 U/ml	164	54	30			
KRAS¶						
変異型	74	43	17	0.552	-	-
野生型	122	46	23			
肝切除前の化学療法§						
あり	92	35	13	<0.001	1.99 (1.33–2.96)	0.001
なし	152	59	32			
肝転移の個数§						
多発	159	44	17	<0.001	1.57 (1.04–2.41)	0.032
単発	85	61	41			
肝転移の最大径§						
>5cm	31	28	9	0.001	2.51 (1.30–4.49)	0.008
≤5cm	213	53	27			
肝転移以外の転移の有無§						
あり	50	25	12	0.026	1.43 (0.88–2.26)	0.146
なし	194	57	28			
大腸癌肝転移の切除断端§						
R1	50	31	10	<0.001	1.65 (1.06–2.51)	0.026

R0	194	55	29			
大腸癌肝転移の分化度 ^{¶§}						
中～低分化	113	46	22	0.167	1.40 (0.96–2.08)	0.080
高分化	69	55	25			
大腸癌肝転移の グリソン鞘浸潤						
あり	49	55	28	0.825	-	-
なし	195	49	24			
術後化学療法 [§]						
なし	136	46	26	0.182	1.21 (0.82–1.78)	0.334
あり	108	55	25			

*カプランマイヤー曲線の分析.

†ログランク検定.

‡Cox 回帰分析.

¶いくつかのデータはなかった.

§変数は Cox 回帰分析で検討した.

CEA および CA19-9 の値は当院での正常値の上限で決定した

表 6 全生存期間に関する単変数および多変数解析

変数	N	3 年	5 年	全生存期間 (%)*		
				単変量 P 値†	ハザード比 (95% 信頼区間)	多変量 P 値‡
全患者	244	70	58			
性別						
男性	147	71	63	0.202	-	-
女性	97	67	50			
年齢						
≤70	74	67	64	0.671	-	-
>70	170	71	56			
BMI (kg/m ²)¶						
≤25	198	68	56	0.338	-	-
>25	45	77	70			
原発巣の位置						
右側の結腸	41	61	51	0.332	-	-
左側の結腸	203	71	60			
原発巣の深達度(T)¶						
≥T3	224	71	58	0.656	-	-
≤T2	17	66	66			
原発巣のリンパ節転移¶§						
あり	167	68	57	0.135	1.24 (0.67–2.47)	0.511
なし	70	78	65			
CEA						
>5 ng/ml	184	68	55	0.239	-	-
≤5 ng/ml	60	74	71			
CA19-9§						
>37 U/ml	80	59	51	0.056	1.32 (0.75–2.30)	0.337
≤37 U/ml	164	75	61			
KRAS¶						
変異型	74	52	52	0.903	-	-
野生型	122	54	54			
肝切除前の化学療法§						
あり	92	58	36	<0.001	2.68 (1.48–4.89)	0.001
なし	152	76	69			
肝転移の個数§						
多発	159	66	53	0.055	1.02 (0.52–1.92)	0.953
単発	85	76	68			
肝転移の最大径§						
>5cm	31	55	41	0.027	4.39 (1.83–9.46)	0.002
≤5cm	213	72	61			
肝転移以外の転移の有無§						
あり	50	47	63	0.002	1.70 (0.85–3.22)	0.131
なし	194	73	62			
大腸癌肝転移の切除断端§						
R1	50	55	37	0.001	1.92 (1.05–3.40)	0.035
R0	194	74	65			
大腸癌肝転移の分化度§						
中～低分化	113	60	49	0.021	2.38 (1.32–4.50)	0.004

高分化	69	77	67			
大腸癌肝転移の						
グリソン鞘浸潤						
あり	49	71	64	0.494	-	-
なし	195	69	57			
術後化学療法						
あり	108	71	57	0.636	-	-
なし	136	69	61			

*カプランマイヤー曲線の分析.

†ログランク検定.

‡Cox 回帰分析.

¶いくつかのデータはなかった.

§変数は Cox 回帰分析で検討した.

CEA および CA19-9 の値は当院での正常値の上限で決定した

4. 考察

本研究の症例では、大腸癌肝転移で治癒切除を行った症例の内、20%にグリソン鞘浸潤を認めた。また、グリソン鞘浸潤陽性例の内、84%が顕微鏡学的グリソン鞘浸潤であった。既報によると、大腸癌肝転移の根治切除における肉眼的グリソン鞘浸潤と顕微鏡学的グリソン鞘浸潤の頻度はそれぞれ 2.2-20%、2.6-42%であり、本研究の結果もこの範囲に含まれていた（表 7） [13,15-19,26]。

表 7 治癒切除を行った大腸癌肝転移のグリソン鞘浸潤例の頻度と予後

著者	出版年	頻度		術後 5 年の全生存率	予後に関する事項
		肉眼的グリソン鞘浸潤	顕微鏡的グリソン鞘浸潤		
Yamamoto ら ^[17]	1995	8/40 (20%)	16/40 (40%)	該当なし	該当なし
Okano ら ^[13]	1999	18/149 (12%)	62/149 (42%)	80% (肉眼的グリソン鞘浸潤) 48% (顕微鏡的グリソン鞘浸潤) 57% (グリソン鞘浸潤なし)	肉眼的グリソン鞘浸潤は独立した予後良好因子
Povoski ら ^[18]	2000	7/313 (2.2%)	8/313 (2.6%)	該当なし	該当なし
Kubo ら ^[16]	2002	23/217 (11%)	89/217 (41%)	該当なし	該当なし
Sugiura ら ^[15]	2006	6/103 (5.8%)	該当なし	該当なし	該当なし
Estrella ら ^[19]	2013	9/170 (5.3%, 前向き研究)	18/170 (11%, 前向き研究)	33% (肉眼的グリソン鞘浸潤)	有意差なし
		22/1144 (1.9%, 後ろ向き研究)	41/1144 (3.6%, 後ろ向き研究)	57% (顕微鏡的グリソン鞘浸潤) 49% (グリソン鞘浸潤なし)	
本研究 ^[26]	2019	8/244 (3.3%)	49/244 (20%)	64% (グリソン鞘浸潤あり) 56% (グリソン鞘浸潤なし)	有意差なし

肝切除を行った大腸癌肝転移のグリソン鞘浸潤群の予後については、ある文献が肉眼的グリソン鞘浸潤群は顕微鏡学的グリソン鞘浸潤群に比べて予後がよいと示唆している[13]が、本研究と同様の他の報告では、その結論には至っていない[19]。本研究では、大腸癌肝転移で肝切除を行った、肉眼的グリソン鞘浸潤群では、RFS がやや不良であった。大腸癌肝転移で手術を行った症例の内、グリソン鞘浸潤群では系統的切除の頻度が高かったが、グリソン鞘浸潤と R1 切除との関連が示唆された。さらに、グリソン鞘浸潤陽性例で R1 切除となった症例 (n=15) の内、8 名 (53%) がグリソン鞘断端部での R1 切除となっていた。Group1 (グリソン鞘浸潤群) の R1 切除の頻度の高さは、グリソン鞘浸潤断端陽性の頻度に寄与すると考えられた。腫瘍学的にもグリソン鞘浸潤、特に胆管浸潤がある場合、胆管に沿った腫瘍進展が認められることがあることから[15][17][19]、術前もしくは術中のグリソン鞘浸潤の認識は、大腸癌肝転移の手術において、必要な R1 切除を避けるために重要であると考えた。しかし、大腸癌肝転移のグリソン鞘浸潤の画像所見については、いまだに確立していない。症例報告では、術中造影超音波検査でグリソン鞘浸潤の範囲を確認でき、R0 切除を達成したとの報告があり[1]、追加研究が必要と考えた。

Group1 は Group2 に比べて原発巣が右側に多い。現在までの研究によると、右側発生の大腸・結腸癌は、脈管侵襲（リンパ・血管）の頻度が左側のものと比

べて高く [27][28]、これはグリソン鞘浸潤が予後不良である可能性を示唆する。これと一見矛盾するが、肉眼的学的グリソン鞘浸潤は予後不良因子ではないという報告があり、肉眼的グリソン鞘浸潤は組織学的に高分化である頻度が高く、原発巣の脈管侵襲が少なく、原発巣切除から肝転移までの期間が短いと言われている [13]。グリソン鞘浸潤の予後に関連するこの乖離の説明は困難であり、グリソン鞘浸潤を予測するさらなる研究が必要と考える。また、R1 切除自体は、治癒切除後の RFS および OS の独立予後不良因子であったが、本研究ではグリソン鞘浸潤自体が予後不良因子とは言い切れず、グリソン鞘浸潤の予後についてもさらなる研究が必要と考えた。

この研究にはいくつかの制限がある。後ろ向き研究であり、病理レポートを参照したという側面から、微小なグリソン鞘浸潤に関してはレポートして記述されていない可能性もあり、グリソン鞘浸潤陽性例は実際の数よりも少ない可能性がある。また、この研究の症例は大部分 (159/244、65%) が多発肝転移であり、グリソン鞘浸潤、R0/R1 切除、そして同一患者でも 1 つの腫瘍当たりの局所進行の腫瘍学的な予後検討については、さらなる研究が必要と考える。さらに、本研究では、KRAS の変異の有無の情報が欠落しているものもある (KRAS については、244 例中、196 例[80%]のみ検査されている)。最後に、術前化学療法の研究の側面から、術前化学療法は腫瘍病勢が強いもの、つまり、術前化学療法を

行った例は手術前から予後不良の傾向があり、また、同様に、術前化学療法を行った症例は 92/244 (38%)、術後化学療法を行った症例は 108/244 (44%) と少数であった。また、グリソン鞘浸潤と R1 切除の関連、大腸癌肝転移において R1 切除は予後不良因子であることは示されたが、グリソン鞘浸潤の予後については追加検討が必要だと考えた。

5. 小括

今回の後ろ向き研究で大腸癌肝転移のグリソン鞘浸潤は一定数存在することと、それが R1 切除に関連することが分かった。大腸癌肝転移の R1 切除は予後不良因子であり、R1 切除を回避するためにも、術前もしくは術中にグリソン鞘浸潤を認識することは重要である。また、グリソン鞘浸潤と予後との直接的な関連には不明な点も残り、後続研究で解明していきたい。

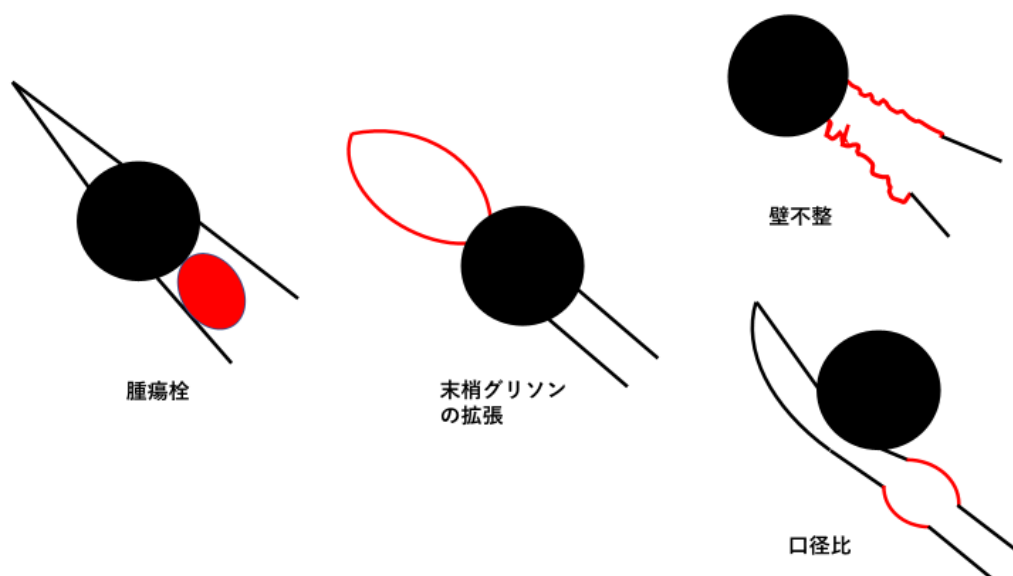
研究 2.大腸癌肝転移のグリソン鞘浸潤の術中造影超音波所見（前向き研究）

1. 背景

大腸癌肝転移におけるグリソン鞘浸潤は決して稀ではなく、顕微鏡的グリソン鞘浸潤は 2.6-42%、肉眼的グリソン鞘浸潤は 2.2%-40%とされている[13,15-19,26]。研究 1 で、肝切除された大腸癌肝転移におけるグリソン鞘浸潤を認めた患者は全体の 20%であった。また、グリソン鞘浸潤は R1 切除と関連があることがわかった。R1 切除は、進行した肝転移例、特に静脈に接した部分で R1 切除され、術後化学療法を行う場合は、許容されうると言われている[29][30]が、基本的には肝内再発と肝切除後の生存率の悪化に関連しており[16][27]、また、研究 1 でグリソン鞘浸潤例の R1 切除部位の 53%がグリソン鞘であったことから、グリソン鞘浸潤の術前および術中の診断基準を確立することは重要であると考えられた。術前もしくは術中にグリソン鞘浸潤があることを認識すれば、外科医が肝切除範囲を変えることで、R1 切除を回避することができるからである。門脈域の肥厚、肝内胆管の拡張、楔形の造影効果といった CT の所見が腫瘍の胆管内進展の診断に重要であるとの報告[31]があるが、EOB-MRI を含めて術前の画像診断における、大腸癌肝転移のグリソン鞘浸潤の診断基準は確立されていない。当科では、大腸

癌肝転移の手術の際、執刀医が腫瘍の位置確認および術前画像検査で指摘されていなかった病変の有無の確認の目的に、ルーチンで術中造影超音波検査を行っている[32][33]。以前、術前の画像検査では、グリソン鞘浸潤は指摘されず、術中造影超音波検査でグリソン鞘の壁不整という形でグリソン鞘浸潤を診断でき、切除範囲を当初の予定より拡大することで、グリソン鞘断端を含めて R0 切除を達成した経験もあった[1]。このような経験および後ろ向き研究の際に術中造影超音波検査所見と病理所見を比較検討した結果より、大腸癌肝転移のグリソン鞘浸潤の 3 つの所見を診断基準の候補とした。この 3 つの候補は腫瘍の支配領域のもっとも近接するグリソン鞘（以後責任グリソン鞘とする）における、(1) 腫瘍栓、(2) 末梢グリソン鞘の拡張、(3) グリソン鞘の壁不整・口径比の 3 つである（図 5）。この前向き研究は術中造影超音波検査における、正確性および、大腸癌肝転移の肝切除例におけるグリソン鞘浸潤の診断基準を明確にするために行われた。

図 5 術中造影超音波検査におけるグリソン鞘浸潤を疑う所見



2. 方法

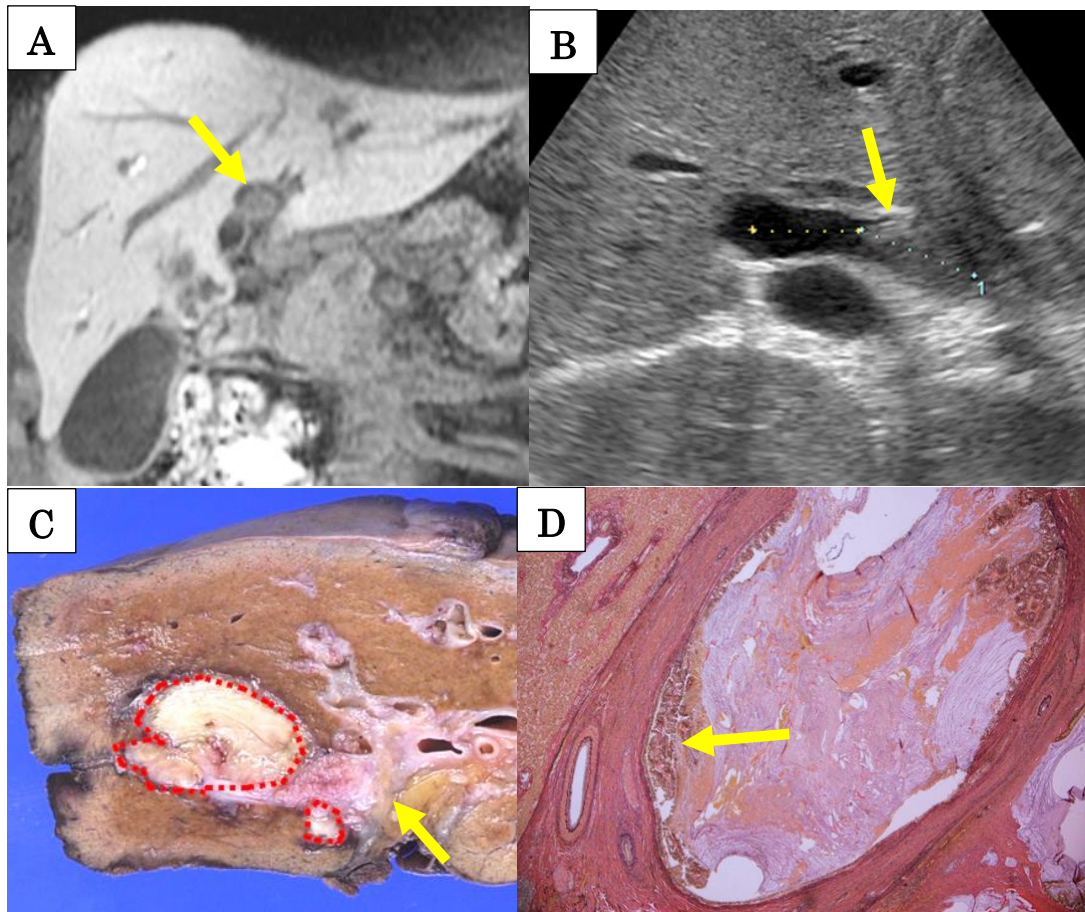
東京大学医学部附属病院の倫理委員会に許可されておこなった研究(No.11878-(1))である。2018 年 4 月から 2019 年 6 月までに東京大学医学部附属病院で開腹または腹腔鏡で大腸癌肝転移を行った患者すべてを対象とした。除外基準は術前に局所ラジオ波治療をおこなった患者、超音波造影剤として使用するソナゾイド®（一般名：ペルフルブタン）は卵黄を成分に含んでいるため、卵アレルギーのある患者は除外とした。すべての患者に術前に研究に関する説明を行い、同意を得た。すべての患者は術前に CT と EOB-MRI の検査を行った。大腸癌肝転移におけるグリソン鞘浸潤の CT および EOB-MRI の所見は明らかになっていないため、術前の EOB-MRI の所見で胆管拡張、動脈優位相の腫瘍周囲の造影効果、肝胆道相で腫瘍周囲の肝実質の信号低下が認められるといった、肝細胞癌におけるグリソン鞘浸潤の典型的な MRI 所見がないかについてレポートを参照し、確認した[2][3]。術中は、通常診療の通りに肝授動後に肝臓全体を術中超音波で観察を行い、次に 0.5ml のソナゾイド®を静脈注射し、大腸癌肝転移および責任グリソン鞘を観察した。エコープローブについては、開腹時は 3-10 MHz のものを、腹腔鏡手術時は 2-13MHz のものを使用した。超音波診断装置は、ARIETTA 70（日立アロカメディカル）を使用した。今回の研究は責任グリソン鞘の観察であり、術中造影超音波ではソナゾイド®投与後 15 分のクーパー

相を主に観察した。グリソン鞘浸潤が疑われる所見については、過去の症例報告[1]の経験、および、後ろ向き研究で術中造影超音波所見と病理所見を比較検討した結果より、以下の3パターンを候補とした。パターン1：腫瘍栓（腫瘍の責任グリソン鞘内のエコー域、ドップラーエコーにおいて、グリソン鞘内の血流低下をしめすものも含む）、パターン2：責任グリソン鞘の末梢側の所見として、末梢グリソン鞘の拡張（責任グリソン鞘の腫瘍より末梢側のグリソン鞘拡張）、パターン3：責任グリソン鞘の中枢側の所見として、グリソン鞘の壁不整および口径比（キャリバーチェンジ）（図6）。パターン3に関しては、腫瘍より中枢側のグリソン鞘で認める所見として、2つの所見を1つのパターンとしてまとめた。また口径比に関しては、術中は肉眼的な認識の有無に基づいて判断し、後に定量的なカットオフ値を求めるための検討を行った。術中造影超音波検査はそれぞれの手術の執刀医が行い、すべて研究代表者が所見を確認した。また、切除標本は摘出後、最大径を含む数か所に断面を入れ、断面で肉眼的グリソン鞘浸潤の有無を観察し、腫瘍の最大径を測定し、病理部に提出した。病理部ではグリソン鞘浸潤の有無を診断された。グリソン鞘浸潤の有無とは、グリソン鞘を構成する、門脈・動脈・胆管の浸潤のみにとどまらず、間質・神経等の浸潤に関しても診断を行った。すべての病理診断は本研究の病理部責任者2名によって確認された。

術中造影超音波検査の所見のグリソン鞘浸潤の各パターンの感度・特異度、また、術前の EOB-MRI のグリソン鞘浸潤についても感度・特異度を調べた。術前・術中のグリソン鞘浸潤有の患者と、グリソン鞘浸潤無の患者の特性比較については、ウィルコクソンの順位和検定、フィッシャーの正確確率検定、カイ 2 乗検定を使用して比較した。P 値<0.05 を有意差ありとした。受信者動作特性曲線（以下 ROC 曲線とする）を用いて、術中造影超音波検査における口径比（%）のカットオフ値を求め、また、ROC 曲線の AUC の 95%信頼区間を求め、その信頼性を評価した。統計分析は、JMP Pro software、バージョン 14.2.0（SAS Institute Inc., Cary, NC, USA）を使用して行った。

図 6 術中造影超音波所見の 3 パターンの実例

I. パターン 1 の実例



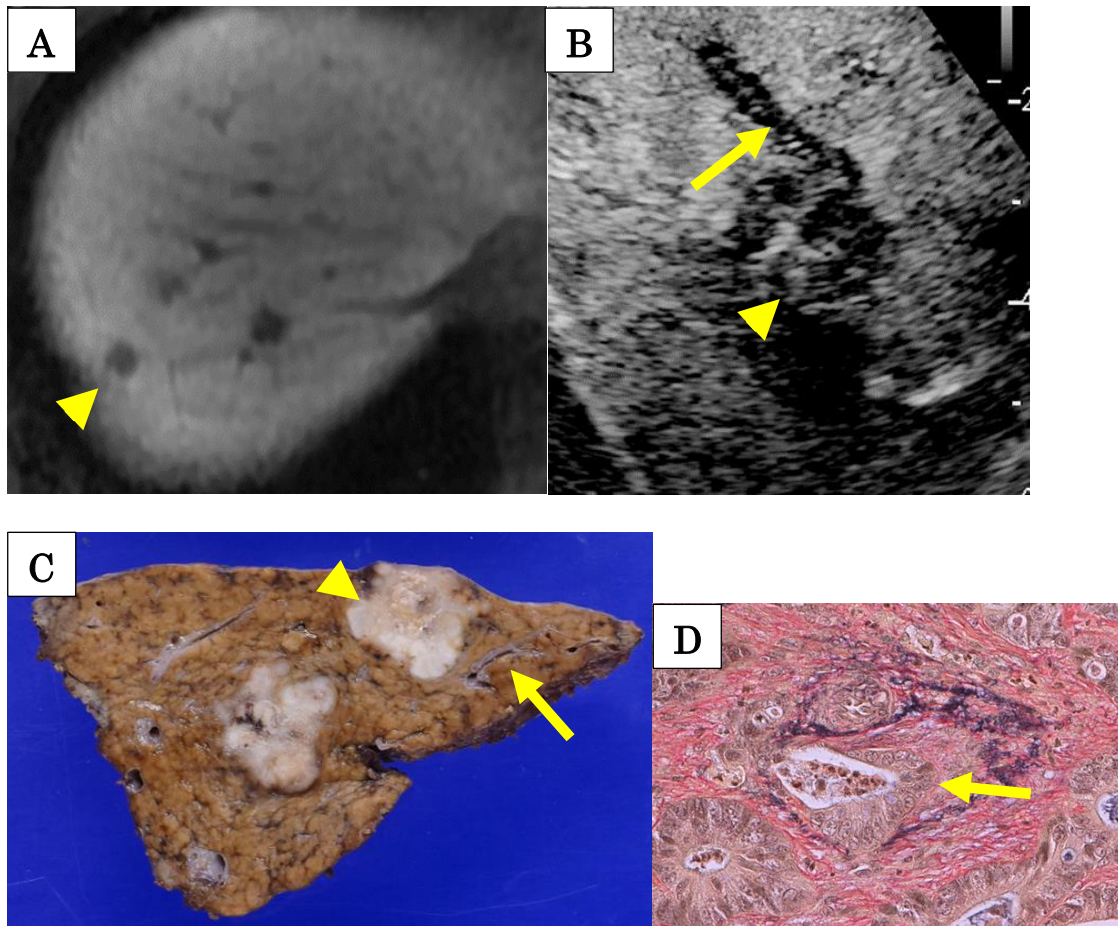
A: 術前の EOB-MRI 画像で腫瘍栓を認めた (矢印)。

B: 術中造影超音波検査で腫瘍から伸びた腫瘍栓を認めた (矢印)。

C: 切除標本で肉眼的グリソン鞘浸潤を認めた (矢印)。点線で囲まれた部分は腫瘍本体。

D: 病理所見で胆管内に腫瘍浸潤を認めた (矢印)。 EVG 染色 (×20)。

Ⅱ.パターン 2 の実例



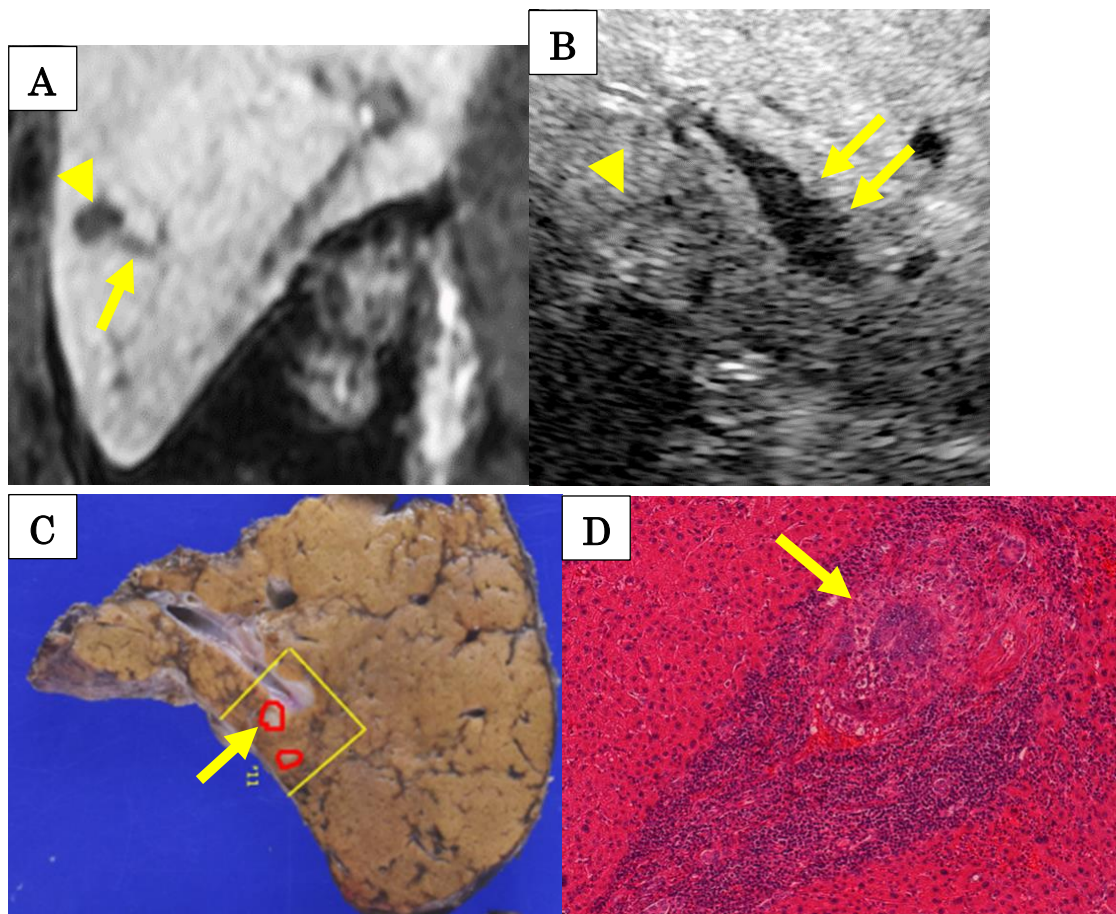
A:術前の EOB-MRI ではグリソン鞘浸潤は認められなかった。腫瘍は矢じり。

B:術中造影超音波検査で腫瘍の末梢のグリソン鞘の拡張を認めた (矢印)。腫瘍は矢じり。

C:エコーで末梢グリソン鞘の拡張を認めたグリソン鞘 (疑い) は矢印部分、標本では拡張ははっきりしなかった。腫瘍は矢じり。

D: 末梢のグリソン鞘に顕微鏡的グリソン鞘浸潤を認めた (矢印)、EVG 染色 (x200)

Ⅲ.パターン 3 の実例



A:術前の EOB-MRI では腫瘍の中枢側のグリソン鞘にグリソン鞘浸潤を疑う所見はなかった（グリソン鞘は矢印、腫瘍は矢じり）。

B:術中造影超音波検査ではグリソン鞘浸潤の口径比（矢印部分）を認めた。
腫瘍は矢じり。

C:標本の矢印部分で腫瘍のグリソン鞘浸潤が疑われた。 .

D:門脈への浸潤が認められた。HE 染色（×100）。

3. 結果

<患者背景について>

本研究の期間で、連続した大腸癌肝転移手術例 50 人を分析した。39 人は開腹手術を行い、11 人は腹腔鏡下手術を行った。すべての患者は除外項目を満たさなかった。全部で 187 個の大腸癌肝転移が切除された。この内、グリソン鞘浸潤を認めたのは 17 人（34%）で、24 腫瘍（13%）であった。グリソン鞘浸潤を認めた 24 腫瘍の内、肉眼的グリソン鞘浸潤（切除した標本の切片で認められたもの）は 7 腫瘍であり、顕微鏡的グリソン鞘浸潤（顕微鏡的病理検査で分かったもの）は 17 腫瘍であった。それぞれのグリソン鞘の浸潤部位は、門脈（10 腫瘍）、胆管（5 腫瘍）、間質（9 腫瘍）であった。表 8 および表 9 でグリソン鞘浸潤があった患者となかった患者の臨床的特徴についてまとめた。この 2 群間では、グリソン鞘浸潤がある患者群の方が、腫瘍が大きく、系統的切除の割合の高かったが、その他に有意差を認める所見はなかった。また、術中造影超音波検査でグリソン鞘浸潤が疑われた 4 症例で、術前の予定術式から拡大する形で変更され、すべて切除断端は陰性であった。（表 10）

表 8 患者背景

	グリソン鞘浸潤あり		グリソン鞘浸潤なし		P*
	n = 17		n = 33		
年齢（歳）	70	(50–84)	66	(36–79)	0.075 [†]
性別（男性）	11	(65)	25	(75)	0.511
原発巣の病理所見					
右側結腸	2	(12)	4	(12)	1.000
T3/T4	15	(88)	28	(85)	1.000
リンパ節転移あり	10	(59)	21	(64)	0.740
分化度					
高分化	8	(47)	11	(33)	0.729 [‡]
中分化	8	(47)	19	(58)	
不明	1	(6)	2	(6)	
CEA (ng/dl)	11.2	(1.9–158)	7.1	(1.2–321)	0.884 [†]
CA19-9 (U/ml)	16	(1–459)	18	(1–695)	0.657 [†]
KRAS 変異型	5	(29)	14	(42)	0.551 [‡]
肝転移について					
同時性	12	(71)	23	(70)	1.000
腫瘍数	3	(1–22)	1	(1–26)	0.276 [†]
最大径(cm)	3.2	(0.9–7)	2.3	(0.4–7)	0.036[†]
肝切除前化学療法	8	(47)	12	(36)	0.549
オキザリプラチンベース	4	(24)	7	(21)	1.000
イリノテカンベース	3	(18)	8	(24)	0.377
ベバシズマブ	1	(6)	7	(21)	0.650
抗 EGFR 抗体	4	(24)	5	(15)	0.515
Response rate (RECIST)					0.311 [‡]
PD	2	(12)	1	(3)	
SD	3	(18)	2	(6)	
PR	3	(18)	9	(27)	
手術所見					
系統的切除	9	(53)	5	(15)	0.008
手術時間（分）	366	(140–720)	349	(101–681)	0.105 [†]
出血量(ml)	350	(100–3158)	270	(10–1801)	0.183 [†]
輸血	3	(18)	3	(9)	0.286
R0 切除	14	(82)	28	(85)	1.000
R1 切除[§]	3	(18)	5	(15)	0.168
主要な合併症 (Clavien–Dindo grade ≥3a)	0	(0)	4	(12)	0.236

データは全て中央値もしくは数 (%) で表記されている

*特に記載がなければフィッシャーの正確確率検定で計算した

† ウィルコクソンの順位和検定、‡ カイ 2 乗検定

§ R1 切除は肝実質での断端陽性であり、グリソン鞘での断端陽性例はなかった。また、R2 切除例もなかった。

表 9 術前もしくは術中にグリソン鞘浸潤を疑う所見の有無について

	グリソン鞘浸潤あり n = 24		グリソン鞘浸潤なし n = 163
	肉眼的 n = 7	顕微鏡的 n = 17	
術前 EOB-MRI			
胆管拡張 (n = 3)	2(29)	1(6)	0(0)
腫瘍周囲の造影効果/肝実質の信号低下 (n = 1)	0(0)	1(6)	0(0)
上記いずれかの所見あり (n = 4)	2(29)	2(12)	0(0)
術中造影超音波			
腫瘍栓 (n = 3)	3*(43)	0*(0)	0(0)
末梢グリソン鞘の拡張 (n = 4)	3†(43)	1†(6)	0(0)
壁不整／口径比 (n = 24)	7‡(100)	11‡(65)	6(4)
上記いずれかの所見あり (n = 25)	7(100)	12(71)	6(4)

() の値は%

病理診断でのグリソン鞘浸潤の部位について

*胆管 (n=3)

†門脈 (n=1)、胆管 (n=3)

‡門脈 (n=6)、胆管 (n=5)、間質 (n=7)

EOB-MRI : gadolinium ethoxybenzyl diethylenetriamine pentaacetic acid-enhanced magnetic resonance imaging

表 10 術中造影超音波検査でグリソン鞘浸潤が疑われ、予定術式より拡大して

切除した 4 例

症 例 番 号	年 齢	性 別	予定術式	実際の術式	術中造影 超音波 検査所見	グリソン鞘 浸潤の部位	切除 断端
1	71	女性	部分切除(S3)	左肝切除	口径比	門脈	陰性
2	50	女性	部分切除(S4)	部分切除だが さらにグリソン鞘 中枢側で処理	壁不整	間質	陰性
3	54	男性	部分切除(S4)	左肝切除	腫瘍栓 口径比	胆管	陰性
4	78	男性	部分切除(S7)	系統的切除 (S7 lateral)	口径比	胆管	陰性

＜術中超音波検査および術前の EOB-MRI のグリソン鞘浸潤診断能について＞

187 腫瘍の内、術中超音波検査で腫瘍栓を認めたものは 3 腫瘍（1.6%）であった（表 9）、末梢グリソン鞘の拡張を認めたものは 4 腫瘍（2.1%）（表 9）、グリソン鞘の壁不整もしくは口径比をみとめたものは 24 腫瘍（12.8%）（表 9）であった。対して、術前の EOB-MRI でグリソン鞘浸潤を認めたものは 4 腫瘍のみであった。

表 9 で、病理診断でグリソン鞘浸潤を認めた腫瘍と、術前の EOB-MRI 所見および術中超音波検査所見について比較した。感度および特異度は、3 つの項目の内、いずれかの項目を満たすものを陽性とする、術中造影超音波で 79%と 96%であった（表 11）。術前の EOB-MRI では感度 17%、特異度 100%であった。術前の EOB-MRI 検査から手術までの日数は、中央値で 18 日（2-49 日）であった。

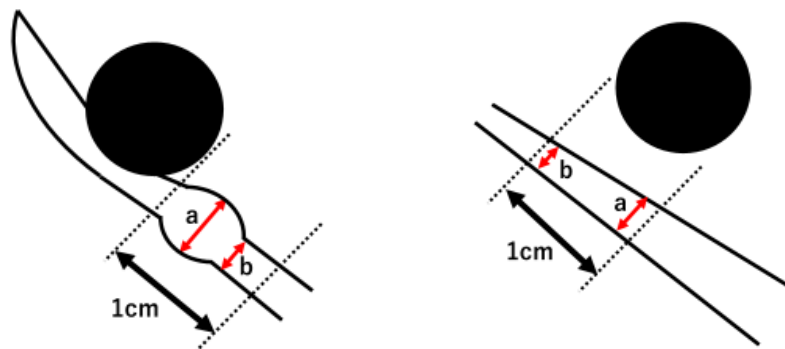
表 11 術前および術中所見の感度・特異度

	正確性 (%)	感度 (%)	特異度 (%)	陽性的中率 (%)	陰性的中率 (%)
術前 EOB-MRI					
胆管拡張(n = 3)	89	13	100	100	88
腫瘍周囲の造影効果 /肝実質の信号低下(n = 1)	88	42	100	100	88
いずれかの所見あり (n = 4)	89	17	100	100	89
術中造影超音波					
腫瘍栓(n = 3)	89	13	100	100	88
末梢グリソン鞘の拡張(n = 4)	89	17	100	100	89
壁不整／口径比(n = 24)	94	75	96	75	96
いずれかの所見あり (n = 25)	94	79	96	76	97

＜グリソン鞘浸潤の診断項目としての口径比 (%) のカットオフ値を決めるための ROC 曲線の分析について＞

187 個の大腸癌肝転移の術中造影超音波所見に基づいて、グリソン鞘浸潤の口径比のカットオフ値を決めることとした。口径比は腫瘍の最大径と責任グリソン鞘を長軸方向に描出し、責任グリソン鞘の腫瘍から近接している部分 1cm 以内で一番径が小さな部分と一番径が大きな部分の差と定義した (図 7)。187 腫瘍の内、67 腫瘍は上記条件での責任グリソン鞘の描出が困難であったため、除外した。残りの 120 腫瘍 (内、24 腫瘍はグリソン鞘浸潤を認めた) は口径比の中央値が 120% (100-240%) であった。図 8 に口径比とグリソン鞘浸潤の関係を示した ROC 曲線があるが、AUC は 0.763 であり、AUC の 95%信頼区間は 0.581-0.882 であった。Youden's index (0.604) に基づいて、口径比のカットオフ値を 140%とした場合、感度は 67%、特異度は 94%であった。

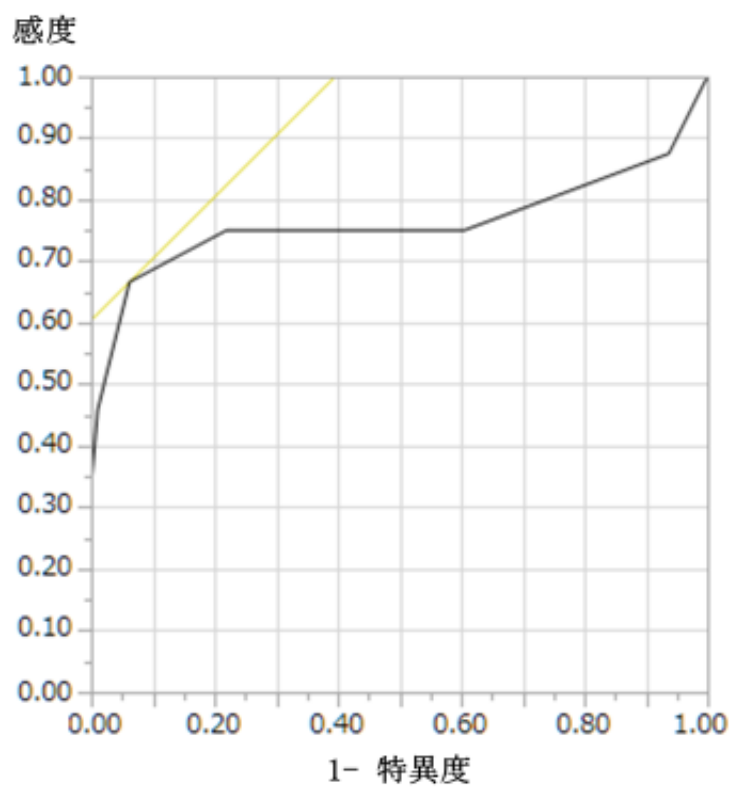
図 7 口径比の算出法



腫瘍の最大径と責任グリソン鞘を長軸方向に同一画面に描出し、 $a > b$ のときは、

口径比($\%$) $=a/b \times 100$ 、 $b > a$ のときは、口径比($\%$) $=b/a \times 100$ として計算した

図 8 口径比に関する ROC 曲線



4. 考察

術前もしくは術中にグリソン鞘浸潤を同定することは、大腸癌肝転移の肝切除で R0 切除率を向上させるために、外科医にとって必要なことである。しかしながら、大腸癌肝転移のグリソン鞘浸潤の診断基準は胆管腫瘍栓を認める症例[22]を除いては十分に確立されていない。造影 CT 検査では、門脈域の肥厚、肝内胆管の拡張、楔形の造影効果として診断されることがある[31][34]。肝細胞癌の脈管浸潤については、術前の EOB-MRI を用いた診断基準がすでに提唱されており、[2][3]、今回の大腸癌肝転移を対象とした前向き研究でもこの基準を使用し、評価した。結果として術前の EOB-MRI では全 187 腫瘍、グリソン鞘浸潤と診断された 24 腫瘍の内、4 腫瘍のグリソン鞘浸潤を同定できた。さらに術中造影超音波検査の (1) 腫瘍栓、(2) 末梢グリソン鞘の拡張、(3) グリソン鞘の壁不整・口径比の 3 つの診断基準の候補の所見を使用することで、特異度 (96%) をあまり低下させることなく、感度を 79%まで上げることが分かった。腫瘍が大きい程、グリソン鞘浸潤のリスクがあることが分かったが、それ以上の臨床的リスク因子ははっきりしていない。術中造影超音波検査は造影剤の注入から腫瘍近傍のグリソン鞘の観察まで 20 分程度の時間がかかるが、この検査を行うことで、グリソン鞘浸潤の診断能を向上させられる。これらの結果から、術前の画像診断に加えて、大腸癌肝転移の手術の際には、毎回、術中造影超音波をグリソ

ン鞘浸潤のスクリーニングとして行うことが有用であると思われた。研究 1 ではグリソン鞘浸潤と R1 切除の関連が示されたが、本研究ではグリソン鞘浸潤のある症例でも、R0 切除率が 82%とグリソン鞘浸潤のない症例の 85%と比べ、有意差はなかった。本研究は大腸癌肝転移の肝切除における R0 切除率を術中造影超音波検査を行うことで向上させることを目的に計画された研究ではないので、以前の症例報告[1]と同様に術中造影超音波所見でグリソン鞘浸潤を疑われた場合に拡大切除を行うかどうかは、執刀医に委ねられたものである。実際には 4 例は術式を変更することで、R0 切除となっており、これが R0 切除率の変わらない原因の一つとして考えられた。

また、グリソン鞘浸潤と R1 切除の長期予後への影響については、本研究の患者の予後を調べることによって得られると考えた。

本研究の限界としては、術中造影超音波検査はそれぞれの執刀医によって行われているため、術中造影超音波検査による腫瘍およびグリソン鞘の描出能に個人差があることが挙げられる。当科ではルーチンに術中造影超音波検査が行われているため、描出には慣れており、すべての腫瘍の責任グリソン鞘を観察することができたが、以後触れる口径比の基準のための画像に関しては全例で描出できたわけではない。本研究で使われたグリソン鞘浸潤の診断基準（3 項目）の候補の中では、腫瘍栓と末梢グリソン鞘の拡張は比較的に同定しやすい、口径比

は感度が高いが、基準は曖昧であり、カットオフ値を決めたのはこのためである。

ROC 曲線の分析で、大腸癌肝転移のグリソン鞘浸潤は、腫瘍の責任グリソン鞘の腫瘍から最も近い部分から 1cm 以内の最も狭い部分と最も広い部分の口径比 (%) のカットオフ値を 140%としたとき、感度 67%、特異度 94%で診断できることが分かった。これらの術中造影超音波検査での診断基準を用いて、検証研究が必要である。今回の前向き研究では、壁不整と口径比を一括にして扱った。これは、実臨床においては、術中超音波検査中にこれらの変化が「腫瘍より中枢側に観察される異常」として認識されるものの、両者を区別することが必ずしも容易でないからである。今後の検証研究では、術中超音波における壁不整または口径比がどのような病理組織学的所見と関連しているか明らかにし、両者の鑑別が可能か、必要か、について複数の観察者を設定して解明していきたい。

腫瘍および責任グリソン鞘を同一画像に描出する技術は、ラーニングカーブが必要である。特に、繰り返し肝切除をされている患者や腹腔鏡下手術においては、腹腔内のスペースやエコープローブの動作に制限がある。術中造影超音波の技術は習得が難しく[35]、さらにこのような症例では難易度が上がる。本研究では執刀医が術中造影超音波検査を行い、描出困難な場合は熟練した肝胆膵外科医が代わり描出を行ったが、187 腫瘍中、67 腫瘍（38%）は腫瘍の最大径と責任グリソン鞘の長軸方向に同じ画像で描出することができなかった。このように

術中超音波検査でグリソン鞘の画像描出が技術的に困難な場合の代わりにインドシアニングリーン（ICG）による ICG 蛍光法が役立つかもしれない。方法としては、術前に静脈にインドシアニンググリーン（ICG）を静注し、術中肝表を ICG 蛍光カメラで観察を行う。実際、ICG 蛍光法で胆管腫瘍栓を認めたとする報告がある（開腹での報告[36]、腹腔鏡での報告[37]）。術中造影超音波も ICG 蛍光法も安全性は確立されている。ただし、術中造影超音波では、胆管への浸潤だけでなく、門脈・間質といった胆管以外のグリソン鞘内への浸潤が分かる点ではグリソン鞘浸潤の診断において、ICG 蛍光法よりも有用であると考えられた。本研究は症例数が 50 例と少なく、単施設の研究であり、今後検証目的の追加研究が必要と考えた。

5. 小括

術中造影超音波の診断項目3つ（1）腫瘍栓、（2）末梢グリソン鞘の拡張、
（3）グリソン鞘の壁不整・口径比、はグリソン鞘浸潤の診断に有用である
ことが示唆された。

本研究の意義と総括

大腸癌肝転移におけるグリソン鞘浸潤は、今まで一定数存在していたが、広く認知されておらず、また、肝細胞癌のグリソン鞘浸潤ほど重要視されていなかった。今回、研究1（後ろ向き研究）で、大腸癌肝転移のグリソン鞘浸潤の頻度、および、大腸癌肝転移のグリソン鞘浸潤がR1切除となりやすい傾向にあり、その内の半数以上がグリソン鞘断端であることが明らかになった。さらに、当科での術中造影超音波検査でグリソン鞘浸潤を示唆する所見の経験から、術中造影超音波検査でグリソン鞘浸潤が診断できないかと考え、研究2（前向き研究）で3つの診断基準の候補（1）腫瘍栓（グリソン鞘内の低エコー域）、（2）末梢グリソン鞘の拡張、（3）グリソン鞘の壁不整・口径比（140%）を設定し、感度・特異度ともに十分であり、診断基準としての有用性が示されたことから、今後、術中超音波検査の際にグリソン鞘を観察することでグリソン鞘浸潤を術中に同定できれば、術中の切除範囲を変更することで、R1切除を回避できうる可能性が示唆された。本研究は単施設の研究であり、また、症例数も少ないが、今後、検証のための研究を行い、診断基準の有用性を示せればと考えた。また、本研究に関連した予後の実際についても調査が必要である。

結論

大腸癌肝転移のグリソン鞘浸潤が、R1 切除と関連する傾向が示唆された。大腸癌肝転移の切除において、術中造影超音波検査で（１）腫瘍栓（グリソン鞘内の低エコー域）、（２）末梢グリソン鞘の拡張、（３）グリソン鞘の壁不整・口径比（140%）のいずれか１つを満たす場合、グリソン鞘浸潤を疑い、切除範囲適切に拡大することで、R1 切除を回避できる可能性がある。

謝辞

指導教官として、多岐にわたりご指導いただいた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・人工臓器移植外科教授 長谷川潔先生に深く感謝いたします。

研究の原案から論文の執筆、研究の総括まで、直接ご指導いただいた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・人工臓器移植外科 准教授 有田淳一先生、講師 石沢武彰先生に深く感謝いたします。

研究の病理所見につきまして、ご診断・ご指導いただきました東京大学人体病理学・病理診断学教授 牛久哲男先生、講師 阿部浩幸先生に深く感謝いたします。

日常の議論を通じて多くの知識や示唆をいただいた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・人工臓器移植外科 講師 金子順一先生、講師 赤松延久先生、さらに医局員の皆様に感謝いたします。

引用文献

- [1] Hiroyoshi J, Yamashita S, Tanaka M, Hayashi A, Ushiku T, Kaneko J, Akamatsu N, Arita J, Sakamoto Y, Hasegawa K. Contrast-enhanced intraoperative ultrasound in the resection of colorectal liver metastases with intrabiliary growth. *Clinical Journal of Gastroenterol.* 2018;11(5):348-353.
- [2] Kim KA, Kim MJ, Jeon HM, Kim KS, Choi JS, Ahn SH, Cha SJ, Chung YE. Prediction of microvascular invasion of hepatocellular carcinoma: usefulness of peritumoral hypointensity seen on gadoxetate disodium-enhanced hepatobiliary phase images. *Journal of Magnetic Resonance Imaging.* 2012;35(3):629-34.
- [3] Huang M, Liao B, Xu P, Cai H, Huang K, Dong Z, Xu L, Peng Z, Luo Y, Zheng K, Peng B, Li ZP, Feng ST. Prediction of Microvascular Invasion in Hepatocellular Carcinoma: Preoperative Gd-EOB-DTPA-Dynamic Enhanced MRI and Histopathological Correlation. *Contrast Media MOI Imaging* Published online 2018 Jan 23. doi: 10.1155/2018/9674565.
- [4] Makuuchi M, Hasegawa H, Yamazaki S. Ultrasonically guided subsegmentectomy. *Surgical Gynecology and Obstetrics* .1985;161:346-350.
- [5] Dutton SJ, Kenealy N, Love SB, Wasan HS, Sharma RA, FOXFIRE

Protocol Development Group and the NCRI Colorectal Clinical Study Group.

FOXFIRE protocol: an open-label, randomised, phase III trial of 5-fluorouracil, oxaliplatin and folinic acid (OxMdG) with or without interventional Selective Internal Radiation Therapy (SIRT) as first-line treatment for patients with unresectable liver-only or liver-dominant metastatic colorectal cancer. *BMC Cancer*.2014;14:497.

[6] Kopetz S, Chang GJ, Overman MJ, Eng C, Sargent DJ, Larson DW, Grothey A, Vauthey JN, Nagorney D, McWilliams RR. Improved survival in metastatic colorectal cancer is associated with adoption of hepatic resection and improved chemotherapy. *Journal of Clinical Oncology*.2009;27(22):3677-3683.

[7] Saiura A, Yamamoto J, Hasegawa K, Koga R, Sakamoto Y, Hata S, Makuuchi M, Kokudo N. Liver resection for multiple colorectal liver metastases with surgery up-front approach: bi-institutional analysis of 736 consecutive cases. *World Journal of Surgery*.2012;36(9):2171-2178.

[8] Nordlinger B, Sorbye H, Glimelius B, Poston GJ, Schlag PM, Rougier P, Bechstein WO, Primrose JN, Walpole ET, Jones MF, Jaeck D, Mirza D, Parks RW, Collette L, Parget M, Bethe U, Cutsem EV, Scheithauer W, Gruenberger T, EORTC Gastro-Intestinal Tract Cancer Group, Cancer Research Onkologie

(ALM-CAO), Australasian Gastro-Intestinal Trials Group (AGITG), Fédération Francophone de Cancérologie Digestive (FFCD) . Perioperative chemotherapy with FOLFOX4 and surgery versus surgery alone for resectable liver metastases from colorectal cancer (EORTC Intergroup trial 40983): a randomised controlled trial. Lancet 2008;371(9617):1007-1016.

[9] Margonis GA, Buettner S, Andreatos N, Wagner D, Sasaki K, Barbon C, Beer A, Kamphues C, Løes IM, He J, Pawlik TM, Kaczirek K, Poultides G, Lønning PE, Cameron JL, Mischinger HJ, Aucejo FN, Kreis ME, Christopher LW, Weiss MJ. Prognostic factors change over time after hepatectomy for colorectal liver metastases: a multi-institutional, international analysis of 1099 patients. Ann Surg.2018;269(6):1129-1137.

[10] de Jong MC, Pulitano C, Ribero D, Strub J, Mentha G, Schulick RD, Choti MA, Aldrighetti L, Capussotti L, Pawlik TM. Rates and patterns of recurrence following curative intent surgery for colorectal liver metastasis: an international multi-institutional analysis of 1669 patients. Annals of Surgery 2009;250(3):440-8.

[11] Helling TS, Martin M. Cause of death from liver metastases in colorectal cancer. Annals of Surgical Oncology. 2014;21(2):501-6.

- [12] Yasui K, Hirai T, Kato T, Torii A, Uesaka K, Morimoto T, Kodera Y, Yamamura Y, Kito T, Hamajima N. A new macroscopic classification predicts prognosis for patient with liver metastases from colorectal cancer. *Ann Surg.*1997;226(5):582-586.
- [13] Okano K, Yamamoto J, Moriya Y, Akasu T, Kosuge T, Sakamoto M, Hirohashi S. Macroscopic intrabiliary growth of liver metastases from colorectal cancer. *Surgery.*1999;126(5):829-834
- [14] Mise Y, Aloia TA, Brudvik KW, Schwarz L, Vauthey JN, Conard C. Parenchymal-sparing Hepatectomy in Colorectal Liver Metastasis Improves Salvageability and Survival. *Annals of Surgery.* 2016;263(1):146-152
- [15] Sugiura T, Nagino M, Oda K, Ebata T, Nishio H, Arai T, Nimura Y. Hepatectomy for colorectal liver metastases with macroscopic intrabiliary tumor growth. *World Journal of Surgery.*2006;30(10):1902-1908
- [16] Kubo M, Sakamoto M, Fukushima N, Yachida S, Nakanishi Y, Shimoda T, Yamamoto J, Moriya Y, Hirohashi S. Less aggressive features of colorectal cancer with liver metastases showing macroscopic intrabiliary extension. *Pathology International.*2002;52(8):514-518
- [17] Yamamoto J, Sugihara K, Kosuge T, Takayama T, Shimada K, Yamasaki

S, Sakamoto M, Hirohashi S. Pathologic support for limited hepatectomy in the treatment of liver metastases from colorectal cancer. *Annals of Surgery*.1995;221(1):74-78

[18] Povoski SP, Klimstra DS, Brown KT, Schwartz LH, Kurtz RC, Jarnagin WR, Fong Y, Blumgart LH. Recognition of intrabiliary hepatic metastases from colorectal adenocarcinoma. *HPB Surgery*. 2000;11(6):383-390

[19] Estrella JS, Othman ML, Taggart MW, Hamilton SR, Curley SA, Rashid A, Abraham SC. Intrabiliary growth of liver metastases: clinicopathologic features, prevalence, and outcome. *American Journal of Surgical Pathology*. 2013; 37(10):1571-1579

[20] Kokudo N, Miki Y, Sugai S, Yanagisawa A, Kato Y, Sakamoto Y, Yamamoto J, Yamaguchi T, Muto T, Makuuchi M. Genetic and Histological Assessment of Surgical Margins in Resected Liver Metastases From Colorectal Carcinoma. *Archives of Surgery*.2002;137(7):833-840

[21] Viganò L, Costa G, Cimino MM, Procopio F, Donadon M, Fabbro DD, Belghiti J, Kokudo N, Makuuchi M, Vauthey JN, Torzilli G. R1 Resection for Colorectal Liver Metastases: a Survey Questioning Surgeons about Its Incidence, Clinical Impact, and Management. *Journal of Gastrointestinal*

Surgery.2018;22(10):1752-1763

[22] Dindo D, Demartines N, Clavien PA. Classification of surgical complications: a new proposal with evaluation in a cohort of 6336 patients and results of a survey. *Annals of Surgery* 2004;240(2):205-13.

[23] Clavien PA, Barkun J, de Oliveira ML, Vauthey JN, Dindo D, Schulick RD, de Santibañes E, Pekolj Juan, Slankamenac K, Bassi C, Graf R, Vonlanthen R, Padbury R, Cameron JL, Makuuchi M. The Clavien–Dindo classification of surgical complications: five-year experience. *Ann Surg.* 2009;250(2):187-96.

[24] Mise Y, Vauthey JN, Zimmitti G, Parker NH, Conrad C, Aloia TA, Lee JE, Fleming JB, Katz MH. Ninety-day postoperative mortality is a legitimate measure of hepatopancreatobiliary surgical quality. *Ann Surg* 2015;262(6):1071-8.

[25] Hasegawa K, Saiura A, Takayama T, Miyagawa S, Yamamoto J, Ijichi M, Teruya M, Yoshimi F, Kawasaki S, Koyama H, Oba M, Takahashi M, Mizunuma N, Matsuyama Y, Watanabe T, Makuuchi M, Kokudo N. Adjuvant oral uracil-tegafur with leucovorin for colorectal cancer liver metastases: a randomized controlled trial. *PLOS One*.2016;11(9):e0162400.

- [26] Hiroyoshi J, Arita J, Gono W, Akamatsu N, Kaneko J, Hasegawa K. Significance of Glisson's capsule invasion in patients with colorectal liver metastases undergoing resection. *American Journal of Surgery*.2019;218(5):887-893
- [27] Hussain M, Waqas O, Hassan U, Loya A, Akhtar N, Mushtaq S, Yusuf MA, Syed AA. Right-sided and left-sided colon cancers are two distinct disease entities: an analysis of 200 cases in Pakistan. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. 2016;17(5):2545-2548.
- [28] Ishihara S, Muro K, Sasaki K, Yasuda K, Otani K, Nishikawa T, Tanaka T, Kiyomatsu T, Kawai K, Hata K, Nozawa H, Sugihara K, Watanabe T. Impact of primary tumor location on postoperative recurrence and subsequent prognosis in nonmetastatic colon cancers: a multicenter retrospective study using a propensity score analysis. *Annals of Surgery*.2018;267(5):917-921.
- [29] Viganó L, Procopio F, Cimino MM, Donadon M, Gatti A, Costa G, Fabbro DD, Torzilli G. Is Tumor Detachment from Vascular Structures Equivalent to R0 Resection in Surgery for Colorectal Liver Metastases?. *Annals of Surgical Oncology*.2016;23(4):1352-1360.

- [30] Procopio F, Viganó L, Cimino M, Donadon M, Fabbro DD, Torsilli. Does KRAS mutation status impact the risk of local recurrence after R1 vascular resection for colorectal liver metastasis? An observational cohort study. *European Journal of Surgical Oncology*.2020;46(5):818-824.
- [31] Okano K, Yamamoto J, Okabayashi T, Sugawara Y, Shimada K, Kosuge T, Yamasaki S, Furukawa H, Muramatsu Y. CT imaging of intrabiliary growth of colorectal liver metastases: a comparison of pathological findings of resected specimens. *British Journal of Radiology*.2002;75(894):497-501.
- [32] Arita J, Ono Y, Takahashi M, Inoue Y, Takahashi Y, Matsueda K, Saiura A. Routine preoperative liver-specific magnetic resonance imaging does not exclude the necessity of contrast-enhanced intraoperative ultrasound in hepatic resection for colorectal liver metastasis. *Annals of Surgery*.2015;262(6):1086-91.
- [33] Takahashi M, Hasegawa K, Arita J, Hata S, Aoki T, Sakamoto Y, Sugawara Y, Kokudo N. Contrast-enhanced intraoperative ultrasonography using perfluorobutane microbubbles for the enumeration of colorectal liver metastases. *British Journal of Surgery*. 2012;99(9):1271-1277.
- [34] Latorre Fragua RA, Manuel Vazquez A, Rodrigues Figueira Y, Ramiro

Pérez C, López Marcano AJ, de la Plaza Llamas R, Ramia Ángel JM.

Intrabiliary metastases in colorectal cancer: a systematic review. *Journal of Hepato-Biliary-Pancreatic Sciences*.2019; 26(7):270-280.

[35] Zhu P, Liao W, Ding ZY, Luo HC, Zhang BH, Zhang WG, Zhang W, Zhang ZG, Zhang BX, Chen XP. Intraoperative ultrasonography of robot-assisted laparoscopic hepatectomy: initial experiences from 110 consecutive cases. *Surgical Endoscopy*.2018; 32(10):4071-4077.

[36] Harada N, Ishizawa T, Muraoka A, Ichiji M, Kusaka K, Shibasaki M, Yamamoto K, Hasegawa K, Bandai Y, Kokudo N. Fluorescence Navigation Hepatectomy by Visualization of Localized Cholestasis from Bile Duct. 2010; *Journal of American College of Surgeons*.2010;210(6):e2-6.

[37] Muga T, Ishizawa T, Mise Y, Inoue Y, Ito H, Takahashi Y, Saiura A. Applications of fusion-fluorescence imaging using indocyanine green in laparoscopic hepatectomy. *Surgical Endoscopy*.2017;31(12):5111-5118

研究 1

<発表>

2019 年 6 月 3 日 第 13 回 E-AHPBA(European-African Hepato-Pancreato-Biliary Association)総会で発表

2019 年 6 月 15 日 第 31 回 日本肝胆膵外科学会学術集会で発表

<論文>

Hiroyoshi J, Arita J, Gono W, Akamatsu N, Kaneko J, Hasegawa K.
Significance of Glisson's capsule invasion in patients with colorectal liver
metastases undergoing resection. American Journal of
Surgery.2019;218(5):887-893

研究 2

<発表>

2020 年 8 月 14 日 第 120 回 日本外科学会定期学術集会で発表、Young
Investigator's Award 受賞

2020 年 11 月 27 日～29 日 第 13 回 IHPBA (International Hepato-Pancreato-Biliary Association) 総会で発表

<論文>

Hiroyoshi J, Ishizawa T, Abe H, Arita J, Akamatsu N, Kaneko J, Ushiku T, Hasegawa K. Identification of Glisson's capsule invasion during hepatectomy for colorectal liver metastasis by contrast-enhanced ultrasonography using perflubutane. World Journal of Surgery.2020 in press