

原 著

腹腔鏡下直腸癌手術における

術前マーキング法の検討

—点墨法と ICG 蛍光法の比較—

小沢 慶彰* 村上 雅彦 渡辺 誠
大野 浩平 藤井 智徳 北島 徹也
吉澤 宗大 青木 武士

抄録：直腸癌手術では、腹膜翻転部以下での切離に際して、従来の点墨法による術前マーキングは視認性が悪く術中内視鏡の併用を余儀なくされることも少なくない。教室では腹腔鏡下大腸癌手術において腫瘍占拠部位確定や血流評価として ICG 蛍光法の有用性を報告してきた。腹膜翻転部以下での肛門側腸管切離部位確定の有用性について、点墨法と ICG 蛍光法の視認性の視点から前向きに比較・検討した。2014年8月から2015年7月の1年間に当科で待機的に腹腔鏡下手術が予定され、切離部位が腹膜翻転部以下と想定された直腸癌18例である。全例に手術当日以前に内視鏡下に通常点墨（腫瘍肛門側腹側の粘膜下層に0.2 ml局注）に併せ、腫瘍直下の粘膜下層に0.25% ICG 溶液を0.5 ml局注した。術中にPINPOINTを用いて可視光ならびにoverlayモード（蛍光画像とHigh Vision画像のイメージを重ね合わせ表示する方法）により、墨と ICG 蛍光の視認性を比較・検討した。また、Priceらが使用したvisibility scaleを用いて点墨と ICG 蛍光の視認性の程度を数値化し、各々を比較・検討した。統計学的処理はMann-Whitney's U testならびにWilcoxon signed-rank testを用い、 $p < 0.05$ をもって有意差ありとした。男女比は10:8で、平均年齢は67.0歳（47-81）であった。癌の占居部位はRaが14例、Rbが4例であった。局注時期は、手術前日が7例、手術3日前が9例、5日以前が2例であった。点墨ならびに ICG 局注による有害事象は認めなかった。ICG 蛍光の視認率は88.9（16/18）%で、点墨の視認率50.0（9/18）%に比して有意に良好であった（ $p = 0.0293$ ）。点墨（+）ICG 蛍光（+）症例は8例（44.4%）、点墨（+）ICG 蛍光（-）が1例（5.56%）、点墨（-）ICG 蛍光（+）が8例（44.4%）であり、点墨（-）ICG 蛍光（-）が1例（5.56%）であった。点墨のvisibility scaleの中央値は0.94（0-2）で、ICG 蛍光のvisibility scaleの中央値は1.5（0-2）であり、ICG 蛍光の視認の程度が有意に高かった（ $p = 0.0370$ ）。腹腔鏡下直腸癌手術における ICG 蛍光法を用いた術前マーキングは点墨法にかわる有用な手法であると考えられた。

キーワード：大腸癌術前マーキング、ICG 蛍光法、点墨法、術中腫瘍部位同定

緒 言

腹腔鏡による大腸癌手術では腫瘍占拠部位や切離部位決定において、術前マーキングは必須であると言っても過言ではない。従来から墨を用いた点墨汁法¹⁾やクリップ法²⁾が広く用いられてきた。しかし

ながら、腹膜翻転部以下での点墨による術前マーキングは、墨が周囲に拡散したり、局注深度が浅かったりと、視認性が不良となりやすく術中内視鏡の併用を余儀なくされることも少なくない。一方、クリップ法ではクリップの触診ができないという弱点があった。教室では ICG 蛍光法を使用した開腹大

昭和大学医学部外科学講座（消化器・一般外科部門）

*責任著者

〔特別掲載（査読修正後受理）〕

腸癌手術における術前マーキングを初めて報告³⁾し、腹腔鏡下大腸癌手術における近赤外線蛍光内視鏡装置を用いた術中腫瘍部位同定法の有用性を報告してきた⁴⁻⁶⁾。本研究の目的は、腸管切離部位が腹膜翻転部以下と想定される直腸癌手術症例の術前マーキングにおける点墨法とICG蛍光法の視認性について前向きに比較・検討することである。

研究方法

対象は、昭和大学病院において2014年8月から2015年7月の1年間に待機的に腹腔鏡下手術が予定され腸管切離部位が腹膜翻転部以下と想定された直腸癌18例である。対象者には本研究の目的・方法について口頭および書面にてインフォームドコンセントを行った後に、文書にて同意を得た。

全例、手術当日以前に内視鏡下に通常の墨汁（原液、滅菌されたもの）を腫瘍肛門側腹側の粘膜下層に0.2 ml局注する点墨法に併せ、腫瘍直下の粘膜下層にICG（ジアグノグリン[®]注射用25 mg、第一三共株式会社、東京）を10 mlの注射用水で溶解した溶液を0.5 ml局注した。術中にSPY[™] 小血管画像データ処理システム（SPY System[®]：NOVADAQ

社、カナダ）を応用して開発された近赤外線蛍光内視鏡イメージング装置であるPINPOINT endoscopic fluorescence imaging system[®]（以下PINPOINT）を用いて可視光ならびにoverlayモード（蛍光画像とHigh Vision画像のイメージを重ね合わせ表示する方法）により、墨とICG蛍光の視認性を比較・検討した。また、Priceら⁷⁾が使用したvisibility scale (Fig. 1A-C)を用いて点墨とICG蛍光の視認性の程度を数値化し、各々を比較・検討した。統計解析はJMP 14 Pro[®]（SAS Institute Inc., Cary, NC, USA）を使用し、視認性の比較にはMann-Whitney's U testを、視認性の程度の比較にはWilcoxon signed-rank testを用い、 $p < 0.05$ をもって有意差ありとした。また、本研究は昭和大学医学部の人を対象とする研究等に関する倫理委員会で承認されている（承認番号1754）。

結 果

患者背景をTable 1に示す。男性は10例、女性8例で平均年齢は67.0歳（47-81）であった。癌の占居部位はRaが14例、Rbが4例であった。ICGと墨の局注時期は、手術前日が7例、手術3日前が9

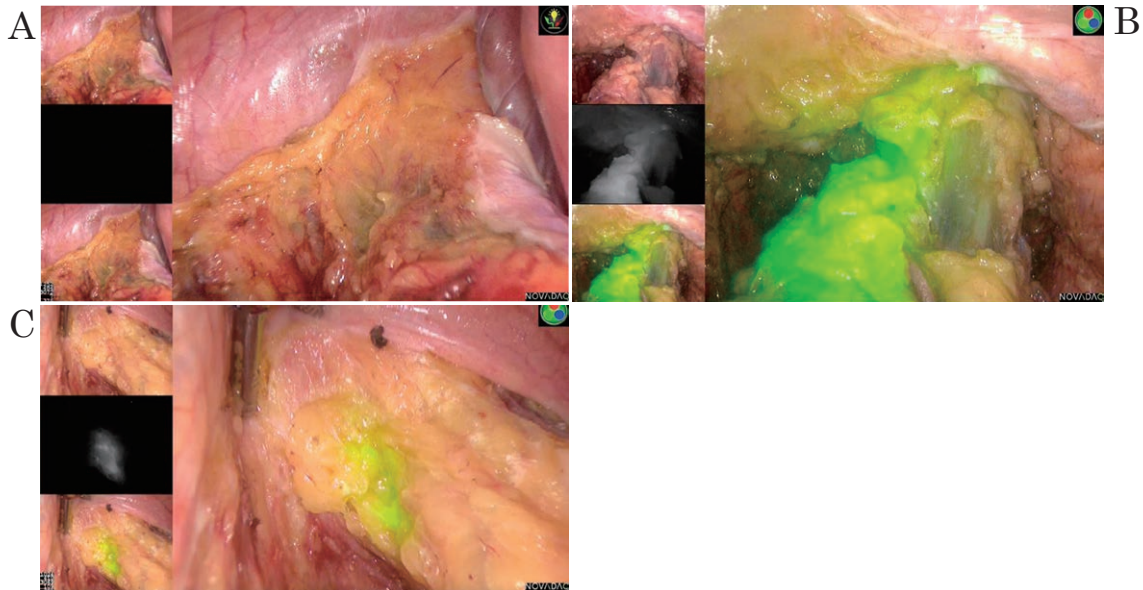


Fig. 1

A : Visibility scale of India Ink Grade 1, ICG fluorescence Grade 0
 B : Visibility scale of India Ink Grade 2, ICG fluorescence Grade 2
 C : Visibility scale of India Ink Grade 0, ICG fluorescence Grade 1
 by the scale of Price *et al*⁷⁾. (Grade 0: agent not seen, Grade1: agent seen with difficulty, Grade2: agent seen easily)

Table 1 Patient characteristics and surgical outcomes (n = 18)

Age, years	Median (range)	67.0 (47-81)
Gender, n	Female/male	8/10
BMI, kg/m ²	Median (range)	21.5 (14.7-28.2)
Tumor location, n (%)		
	Rs	0
	Ra	14 (77.8)
	Rb	4 (22.2)
Tumor type, n (%)		
	Carcinoma	15 (83.3)
	After EMR	3 (16.7)
Surgical approach, n (%)	Laparoscopic	18 (100)
Tumor size, mm	Median (range)	35.9 (0-77.5)
Depth of tumor (TNM 9th), n (%)		
	T1	3 (16.7)
	T2	5 (27.8)
	T3	10 (55.6)
	T4	0
Interval between ICG injection and operation, days		
	1 day ago	7 (38.9)
	3 days ago	9 (50.0)
	over 5 days before	2 (11.1)
Postoperative complications, n(%)		
	None	13 (72.2)
	Paralytic ileus	3 (37.5)
	Leakage	1 (5.56)
	Colitis (MRSA)	1 (5.56)
Length of hospital stay, days (range)		15.1 (7-27)

BMI: body mass index, ICG: indocyanine green, Rs: rectosigmoid, Ra: rectum above the peritoneal reflection, Rb: rectum below the peritoneal reflection, EMR: endoscopic mucosal resection, MRSA: Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus

例, 5日以前が2例であった。点墨ならびに ICG 局注による有害事象は認めなかった。ICG 蛍光の視認率は 88.9 (16/18) %で, 点墨の視認率 50.0 (9/18) % に比して有意に良好であった (p=0.0293) (Table 2)。ICG 蛍光と点墨共に視認できた症例 (点墨 (+) ICG 蛍光 (+)) は 8 例 (44.4%), 点墨が視認でき

ICG 蛍光が視認できなかった症例 (点墨 (+) ICG 蛍光 (-)) が 1 例 (5.56%), 点墨が視認できず ICG 蛍光が視認できた症例 (点墨 (-) ICG 蛍光 (+)) が 8 例 (44.4%), いずれも視認できなかった症例 (点墨 (-) ICG 蛍光 (-)) が 1 例 (5.56%) であった (Table 2)。点墨の visibility scale の中央値は 0.94 (0-2) で, ICG 蛍光の visibility scale の中央値は 1.5 (0-2) であり ICG 蛍光の視認の程度が有意に高かった (p=0.0370) (Table 3)。

考 察

今回の結果から, 腹腔鏡下直腸癌手術における術前マーキングに関して, 点墨法に比して ICG 蛍光法の視認の優越性が示唆された。医学中央雑誌にて, 「直腸癌」, 「マーキング」, 「ICG 蛍光法」, 「点墨法」をキーワードとして, また Pub Med にて 「rectal cancer」, 「tattooing」, 「ICG fluorescence」, 「India ink」をキーワードとして検索したところ, 直腸癌における ICG 蛍光法と点墨法の視認性について比較・検討した論文はなく, 本研究が初めての報告であると考えられた。

大腸癌治療ガイドライン 2019 年度版⁸⁾において, 直腸癌における切離腸管長は, 大腸癌取扱い規約第 9 版⁹⁾に定める腸管傍リンパ節が郭清されるよう, 口側は最下 S 状結腸動脈流入点, 肛門側は腫瘍辺縁からの距離が, cStage0 ~ cStage III の症例では, RS および Ra 癌で 3 cm 以上, Rb で 2 cm 以上の遠位切離端の確保が必要と定義されている。そのため, 直腸癌手術における術前マーキングの意義は, 結腸癌手術のそれと比較し高いと考えられる。

ICG 蛍光法は, ICG が組織血清と結合することにより, 800 ~ 810 nm の波長の光で励起され蛍光発色する特性を応用したもの¹⁰⁾であり, 心臓血管外科領域¹¹⁾や乳癌のセンチネルリンパ節生検¹²⁾など幅広い分野で応用されている。消化器外科領域では, 腸管血流評価¹³⁾, 肝切除における術中ナビゲーションへの応用^{14, 15)}, 術中胆道造影¹⁶⁾などその有用性が多く報告されている。従来の ICG 蛍光装置は, 暗視下で観察する必要があったのに対し, PINPOINT は画像処理が行われた蛍光画像と可視光画像を重ね合わせることで, 可視光下に蛍光画像を捉えることができる。したがって, 従来の ICG 蛍光法のように暗視下に観察する必要がなく, 可視光下に腫瘍部

Table 2 Visibility of India ink and ICG fluorescence ($n = 18$)

		India ink		
		visible	nonvisible	
ICG fluorescence	visible	8	8	16 (88.9%)
	nonvisible	1	1	2 (11.1%)
		9 (50.0%)	9 (50.0%)	18
ICG: Indocyanine green				p -value 0.0293

Table 3 Comparison of Visibility scale between India ink and ICG fluorescence ($n = 18$)

	Grade	p -value
India ink	0.94 (0-2)	0.037
ICG fluorescence	1.5 (0-2)	

位を確認しながらリアルタイムな腹腔鏡下手術の遂行が可能である。

今回われわれは、ICG 蛍光法と従来法の中でも広く一般的に普及している点墨法との視認性の比較を目的として計画を立案し検証した。その結果、今回提示した 18 例において、ICG 蛍光の視認率は、88.9 (16/18) % で点墨の 50.0 (9/18) % に比べ有意に良好であった (Table 2)。手術中に ICG 蛍光を視認できなかった症例は 2 例であったが、このうち 1 例は点墨も視認できなかった。この症例に関しては、局注から手術までの期間が 17 日であったことから、局注時期が視認性に影響した可能性は否定できない。実際、過去の教室での検討⁶⁾でも、手術までの局注時期が 10 日を超えると ICG 蛍光の視認性が有意に低下することを報告している。また、もう 1 例に関しては点墨は視認できた症例であった (Fig. 1A)。この症例に関しては、開腹手術の既往があり腹膜翻転部周囲に強固な線維性癒着を認めたため剥離操作に難渋し、直腸間膜周囲を十分剥離することができなかった。腹側の漿膜面に少量漏出した点墨をかるうじて視認できたが、ICG 蛍光は視認することはできなかった。剥離できていない間膜の背側に局注された可能性も否定できないと考えられた。点墨で視認できなかった 9 例中、8 例 (88.9%) で ICG 蛍光モードにて腫瘍部位を視認することが

できた。さらに、ICG 蛍光モードの visibility scale の中央値は 1.5 (0-2) であり、点墨の中央値 0.94 (0-2) に比べ有意に視認性が高かった (Table 3)。色素法としての墨は、局注する部位・深さや腸管壁・脂肪の厚みにより、墨を視認することが困難な場合がある。一方、蛍光法としての ICG の場合は、赤外線にて血漿タンパクと結合した ICG を蛍光色として視認するため、局注部位や脂肪の厚み、さらには障害物などの影響をうけることが少なく視認が可能であると考えられるが、教室における過去の検討⁶⁾では、BMI が 25 以上の大腸癌症例に関しては ICG 蛍光の視認性が低くなる傾向があることを報告しており、濃度、局注量、局注時期も含めて今後さらなる検討が必要であると考ええる。また、視認はできるものの症例によっては、点墨と同様に色素の拡散により蛍光領域にばらつきがあり切離ラインとしては不明瞭になる事があり、本研究の限界点であると考えている。

近年、直腸癌手術における腫瘍部位同定法として術中内視鏡の有用性¹⁷⁾が報告されている。しかしながら限られた内視鏡機器や人員の問題、さらには内視鏡の送気による腸管壁の伸展により、腫瘍肛門側から切離端までの距離が実際よりも短くなるなどの問題も懸念される。本研究では腸管外側から触知できないような早期病変に対しても、簡便に且つ腸管壁の伸展に影響されない自然な形で十分な margin を確保して切離できるという点で優れた方法であり、術中内視鏡に変わる方法としても期待されると考えられる。

今回の検討では、ICG 局注による臨床症状や有害事象は認められず、摘出検体の組織学的所見からも ICG 局注による炎症性所見は認められなかった。しかしながら、ICG 静脈注射に関連する有害事象の報

告¹⁸⁾もあり，特にアレルギー素因のある患者にはその使用に関する適応を慎重に考慮する必要があると考えられた。

結 語

ICGの濃度や局注量，局注時期については今後，さらに症例を重ね検討を行っていく必要がある。また，ICG蛍光は腫瘍部位の特定だけでなく，吻合部血流の評価やリンパ流の確認といった適応拡大についても，今後の研究が望まれる。PINPOINTは，点墨では確認できない症例や腹膜翻転部以下の直腸病変でも認識可能であり，またリアルタイムな腹腔鏡手術の遂行が可能であることから，次世代の大腸癌術前マーキング法として期待される。

利益相反

本論文に関して，開示すべき利益相反関連事項はない。

文 献

- 1) Ponsky JL, King JF. Endoscopic marking of colonic lesions. *Gastrointest Endosc.* 1975;22:42-43.
- 2) Ohdaira T, Konishi F, Nagai H, *et al.* Intraoperative localization of colorectal tumors in the early stages using a marking clip detector system. *Dis Colon Rectum.* 1999;42:1353-1355.
- 3) Watanabe M, Tsunoda A, Narita K, *et al.* Colonic tattooing using fluorescence imaging with light-emitting diode-activated indocyanine green: a feasibility study. *Surg Today.* 2009;39:214-218.
- 4) 小沢慶彰, 村上雅彦, 渡辺 誠, ほか. 近赤外線蛍光内視鏡イメージングシステムを応用した次世代の大腸癌術前マーキング. *日鏡外会誌.* 2015;20:541-545.
- 5) Ozawa Y, Murakami M, Watanabe M, *et al.* Preoperative colonic cancer tattooing using the near-infrared fluorescence laparoscopic imaging system. *Asian J Endosc Surg.* 2016;9:340-343.
- 6) Watanabe M, Murakami M, Ozawa Y, *et al.* Intraoperative identification of colonic tumor sites using a near-infrared fluorescence Endoscopic Imaging System and indocyanine green. *Dig Surg.* 2017;34:495-501.
- 7) Price N, Gottfried MR, Clary E, *et al.* Safety and efficacy of India ink and indocyanine green as colonic tattooing agents. *Gastrointest Endosc.* 2000;51:438-442.
- 8) 大腸癌研究会編. 大腸癌治療ガイドライン: 医師用. 2019年版. 東京: 金原出版; 2019.
- 9) 大腸癌研究会編. 大腸癌取扱い規約. 第9版. 東京: 金原出版; 2018.
- 10) Vogt PR, Bauer EP, Graves K. Novadaq Spy (TM) Intraoperative Imaging System: current status. *Thorac Cardiovasc Surg.* 2003;51:49-51.
- 11) Rubens FD, Ruel M, Fremes SE. A new and simplified method for coronary and graft imaging during CABG. *Heart Surg Forum.* 2002;5:141-144.
- 12) Giuliano AE, Kirgan DM, Guenther JM, *et al.* Lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy for breast cancer. *Ann Surg.* 1994;220:391-401.
- 13) Boni L, David G, Rausei S, *et al.* Indocyanine green-enhanced fluorescence to assess bowel perfusion during laparoscopic colorectal resection. *Surg Endosc.* 2016;30:2736-2742.
- 14) Aoki T, Koizumi T, Mansour A, *et al.* Ultrasound-guided preoperative positive percutaneous indocyanine green fluorescence staining for laparoscopic anatomical liver resection. *J Am Coll Surg.* 2019;19:32180-32185.
- 15) Aoki T, Murakami M, Koizumi T, *et al.* Determination of the surgical margin in laparoscopic liver resections using infrared indocyanine green fluorescence. *Langenbecks Arch Surg.* 2018;403:671-680.
- 16) Aoki T, Murakami M, Yasuda D, *et al.* Intraoperative fluorescent imaging using indocyanine green for liver mapping and cholangiography. *J Hepatobiliary Pancreat Sci.* 2010;17:590-594.
- 17) 榎本俊行, 齊田芳久, 高林一浩, ほか. 左側結腸・直腸癌手術における術中内視鏡検査の検討. *Prog Dig Endosc.* 2015;86:63-65.
- 18) Hope-Ross M, Yannuzzi LA, Gragoudas ES, *et al.* Adverse reactions due to indocyanine green. *Ophthalmology.* 1994;101:529-533.

PREOPERATIVE MARKING METHOD IN LAPAROSCOPIC
RECTAL CANCER SURGERY:
—INDIA INK TATTOOING VS NEAR-INFRARED (NIR) FLUORESCENCE METHOD—

Yoshiaki OZAWA*, Masahiko MURAKAMI, Makoto WATANABE,
Kohei ONO, Tomonori FUJII, Tetsuya KITAJIMA,
Sota YOSHIZAWA and Takeshi AOKI

Abstract — In rectal cancer surgery, in order to identify a tumor site during surgery, preoperative marking using an endoscope, and a method such as the India ink tattooing method is generally performed. However, India ink tattooing causes problems because of adverse events due to India ink leakage into the peritoneal cavity. For preoperative marking of rectal cancer for laparoscopic colorectal surgery, we devised a method of applying the fluorescent properties of indocyanine green (ICG); here, we report its usefulness. We prospectively evaluated the visibility of the India ink tattooing method compared to the ICG fluorescence method in laparoscopic rectal cancer surgery in which the anal side intestinal tract is dissected below the peritoneal reflection. A total of 18 patients who underwent laparoscopic surgery were enrolled. Study approval was obtained from the Ethics Committee of the Showa University School of Medicine. ICG and India ink were injected into the same patients undergoing preoperative colonoscopy for rectal cancer. Identification of the tumor site during surgery was carried out using the PINPOINT® endoscopic fluorescence imaging system (Novadaq Technologies Inc., Mississauga, Canada), which was developed by applying the near-infrared fluorescent endoscope imaging system; tumor sites were observed with visible and fluorescent light. The visibility of ICG fluorescence was 88.9% (16/18), which was significantly better than the visibility of India ink tattooing [50.0% (9/18)] ($p = 0.0293$). The median value of the visibility scale of the tattoo was 0.94 (0–2), the median value of the ICG fluorescence visibility scale was 1.5 (0–2), and the visibility of the ICG fluorescence was significantly higher ($p = 0.0370$). Perioperative complications attributed to dye use were not observed. In cases where ICG was not visible, the cause was suspected to be due to the period of local injection, adhesions and mesenteric fat of omentum. Preoperative marking in laparoscopic rectal cancer surgery by the ICG fluorescence method was considered to be a useful alternative to the India ink tattooing.

Key words: preoperative colonic cancer tattooing, ICG fluorescence method, india ink tattooing, perioperative identification of tumor site

[The publication of this paper was given a priority date]