

令和 2 年 5 月 29 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2017～2019

課題番号：17K11264

研究課題名（和文）マイクロバブル造影超音波画像定量解析による子宮体癌センチネルリンパ節転移診断

研究課題名（英文）The utility of microbubble perfusion contrast-enhanced ultrasound imaging for detection of sentinel node metastasis in endometrial cancer

研究代表者

新倉 仁 (NIIKURA, Hitoshi)

東北大学・医学系研究科・非常勤講師

研究者番号：80261634

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000 円

研究成果の概要（和文）：婦人科癌においてマイクロバブル造影超音波画像定量解析によるセンチネルリンパ節転移診断の確立のため、基礎的検討にて骨盤内操作における至適条件を検討し、当院で手術を予定した子宮体癌28例、子宮頸癌11例に対し有用性を検証した。定量解析によりPeak intensity (PI)max, PI min, PI ratio, PI differenceを算出し、従来法、造影法、造影定量解析の結果と病理結果を各々対比した。リンパ節転移陽性症例でPI ratio およびPI differenceが有意に高く、骨盤内リンパ節でも造影超音波がセンチネルリンパ節転移診断に有用な可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

子宮体癌をはじめとする婦人科がんにおいてマイクロバブル造影超音波画像定量解析によるセンチネルリンパ節転移診断が可能になることで、広範囲のリンパ節郭清によるリンパ浮腫の発現をはじめとする患者のQOLの低下は勿論のことこれまで少数のセンチネルリンパ節を生検することにより発生していた副障害に至るまで予防することが可能になる。さらには手術中の迅速病理診断にかかわる病理医をはじめとするスタッフの負担軽減がはかれ、医療にかかわる人的資源の有効活用も可能になる。

研究成果の概要（英文）：This research was performed to evaluate whether quantitative analysis of perfusion contrast-enhanced ultrasound (CE-US) could predict early lymph node metastasis in clinically node-negative endometrial cancer. Sentinel lymph nodes could be detected at pelvic cavity in 28 endometrial cancer patients and 11 cervical cancer patients. They were selected for perfusion CE-US imaging. Forty lymph nodes were histologically diagnosed as negative for metastasis and 17 were positive. There was a significant difference in PI ratio and the PI difference between the LN-negative and LN-positive metastasis groups. Parameters from the quantitative analysis of perfusion CE-US imaging showed significant differences between the LN-negative and -positive metastasis groups in endometrial cancer and cervical cancer. Quantitative analysis of perfusion contrast-enhanced ultrasound may be effective for detection of sentinel node metastasis in patients with gynecological cancer.

研究分野：婦人科腫瘍学

キーワード：子宮体癌 センチネルリンパ節 マイクロバブル造影 超音波 パワードップラー 微小転移

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

子宮体癌におけるリンパ節郭清の意義についてはいまだ議論が続いている。骨盤あるいは傍大動脈リンパ節の系統的郭清が必要な群を適切に選択できることが理想で郭清の省略により QOL の改善や医療資源の節約につながる。われわれは子宮体癌を対象としてセンチネルリンパ節 (SLN) の同定法を世界に先駆けて確立し臨床応用に成功した (Niikura, Gynecol Oncol 94,528-32, 2004; Niikura, Gynecol Oncol 92,669-74, 2004; Niikura, Int J Gynecol Cancer 22,1244-50,2012)。さらに最適な SLN 検出法について検討し、簡便な子宮頸部へのトレーサー投与方法についての有用性も明らかにしてきた (Niikura, Gynecol Oncol 131,299-303,2013)。また、子宮体癌において我々の同定する SLN における微小転移の検出について検討した。 (Niikura, Gynecol Oncol 105,683-6, 2007; Okamoto, Int J Gynecol Cancer 19,708-11, 2009) 先行研究 (平成 16 年度 -17 年度、平成 18 年度 -20 年度 基盤研究 C 研究代表者: 新倉仁) のように子宮体癌についても実際に SLN 生検を利用したリンパ節郭清の省略に応用するためには、術中迅速診断によって転移の有無を検出可能かが非常に重要で、迅速診断の精度、簡便性も求められる。われわれはサイトケラチン (CK) 19 mRNA を One-step Nucleic Acid Amplification (OSNA) 法を利用して検出し、術中のリンパ節転移診断に応用可能な可能性を初めて示した。 (Nagai, Niikura Ann Surg Oncol 22,980-6,2015) 先行研究 (平成 26 年度 - 28 年度 基盤研究 C 研究代表者: 新倉仁) しかしながら、センチネルリンパ節生検の数が左右で合計 10 個以上に及ぶ場合には OSNA 法を用いても診断には時間を要し、また実際に生検されなければ転移は診断できないため、われわれのこれまでの検討でもセンチネルリンパ節生検のみに終わった症例にもかかわらず術後にリンパ浮腫を生じた症例を認めた。微小な転移を含めてもわれわれの検討では初期の子宮体癌のリンパ節の転移率は 20% 程度であり、80% をしめる転移のないリンパ節を非侵襲的に、病理医の手を煩わせずに残すことが必要であると考えた。しかしながらこれまで利用可能なモダリティである CT, MRI, PET を用いて微小な転移を検出することは困難であった。

一方、これまで共同研究者 (Mori) らはマウスの転移リンパ節について経時的に超音波造影剤 (マイクロバブル) を投与後の超音波検査により、転移リンパ節ではサイズの増大に先行して、血管密度の上昇が観察され、造影剤によるリンパ節内の造影効果が増強することを証明した。 (Mori Cancer Res 73,2082-92,2013) 乳癌患者に対するパイロット研究でも造影の欠損や造影強度の peak の最大値と最小値の比による血管密度の定量的な解析は転移リンパ節と非転移リンパ節の鑑別に有用で微小な転移の検出の可能性が示されている。

そこでパワードップラーとマイクロバブル造影を用いた術中超音波検査画像の血管密度の定量解析による子宮体癌 SLN の微小なリンパ節転移診断方法の確立を着想した。最終的には 100 μ m 間隔での情報が得られる 3D 超音波画像の定量解析により、リンパ節全体の volume に対するドップラー信号、造影領域の体積比を求めることが可能となり、100 ~ 200 μ m 間隔の切片を病理学的に検討する ultrastaging に匹敵する新たな転移診断法となる。

2. 研究の目的

我々はこれまでに子宮体癌におけるセンチネルリンパ節(SLN)同定方法、有用性を確立し、リンパ節転移の術中診断を容易かつ精度を上げるためこれまでの迅速病理診断に代わりうる分子生物学的な手法によるリンパ節転移の診断法を開発してきた。さらなる低侵襲化、リンパ節転移診断にかかる労力の低減を目指して、パワードップラーとマイクロバブル造影を用いた術中超音波検査画像の血管密度の定量解析による子宮体癌 SLN の微小なリンパ節転移診断方法を確立することを目的とする。本研究においてはまず、2次元(2D)プローブによる診断方法の妥当性、有用性を検討し、最終的には高分解能 4D プローブによる 3D の画像取得によるリンパ節全体における定量的な評価を開発することで、術中の迅速病理診断に代わる新たなリンパ節転移診断法を確立することを目的とする。

3. 研究の方法

(1)子宮体癌の転移リンパ節、骨盤内非転移リンパ節における微小血管密度の病理学的解析
当科でこれまでに SLN の検索において得られている様々な大きさの転移巣(0.2mm 以下の孤立性腫瘍細胞を含む)を有するリンパ節および転移を認めなかったリンパ節のパラフィン包埋切片で抗 CD31 抗体を用いた免疫染色を行い、病理学的に微小血管を同定し、密度を測定する。子宮体癌においても乳癌と同様の転移に伴う微小血管密度の変化が認められるか検証する。

(2)子宮体癌の正常リンパ節におけるパワードップラーとマイクロバブル造影による超音波画像定量解析

子宮体癌転移センチネルリンパ節のコントロールとなる正常リンパ節におけるペルフルブタンマイクロバブルを用いたマイクロバブル造影によるパワードップラーエコー画像を取得し、微小血管密度の定量解析のデータを集積する。具体的には、子宮体癌手術においてこれまでわれわれが確立している手技で血管、リンパ管を損傷しないように後腹膜を展開し、リンパ節を同定する。Bモードにてリンパ節のサイズと形状を評価、記録してから、パワードップラー画像にきりかえる。その後、マイクロバブル造影剤を血管内に注入し、超音波画像を取得する。動画として取得されたデータをソフト(MATLAB)で解析し、今後の測定に最適な撮像条件を検討する。

(3) 子宮体癌の正常センチネルリンパ節と正常大で微小な転移を有するセンチネルリンパ節におけるパワードップラーとマイクロバブル造影による微小血管密度の超音波画像定量解析

術前の CT、MRI にてリンパ節転移を疑う所見がなく、実際に骨盤内の様々な部位に同定される子宮体癌のセンチネルリンパ節において術中のマイクロバブル造影によるパワードップラーエコー画像を取得し、微小血管密度の定量解析を行う。下図のようにカラーマッピングされるとバブルの同定頻度の最も高い領域と最も低い領域、造影欠損領域(perfusion defect)の有無が明らかとなる。それぞれの領域の Time intensity curve より Peak intensity of the maximum enhanced area (PI_{max})と Peak intensity of the minimum enhanced area (PI_{min})、PI_{ratio}(PI_{max}/PI_{min})を算出、解析する。術中の 2mm 毎のスライスによる迅速診断および術後の 0.1mm 毎のスライスによる ultrastaging、CD31 抗体による免疫染色との結果と対比する。

4. 研究成果

基礎実験により術中の SLN 同定、マイクロバブル造影によるパワードップラーエコー画像の取得が可能であることを確認した(図1)。

引き続き、図2に示したような背景の子宮体癌症例28例からの37個のリンパ節(転移陽性10個、陰性27個)、子宮頸癌症例11例からの20個のリンパ節(転移陽性7個、陰性13個)について解析した。

解析に供されたリンパ節の視覚的な評価の結果を図3に示した。

短径はリンパ節転移陰性例で $4.1 \pm 0.4\text{mm}$ 、陽性例で $6.2 \pm 0.6\text{mm}$ と陽性例で有意に厚く、造影パターンでもリンパ節転移陰性例では均一であることが多く、有意差が認められた。

転移陰性リンパ節40例、転移陽性リンパ節17例の PI_{max} はそれぞれ 92 ± 40 、 112 ± 47 、 PI_{min} はそれぞれ 74 ± 36 、 56 ± 36 、 PI_{ratio} はそれぞれ 1.3 ± 0.4 、 3.3 ± 3.2 、 $PI_{difference}$ はそれぞれ 18 ± 15 、 56 ± 40 であった。 PI_{ratio} 、 $PI_{difference}$ とともにリンパ節転移陽性例で有意に高値を示した。

マイクロバブル造影によるパワードップラーエコー画像の解析により、術中迅速病理診断による婦人科がんにおけるセンチネルリンパ節転移診断の可能性が示された。

図1

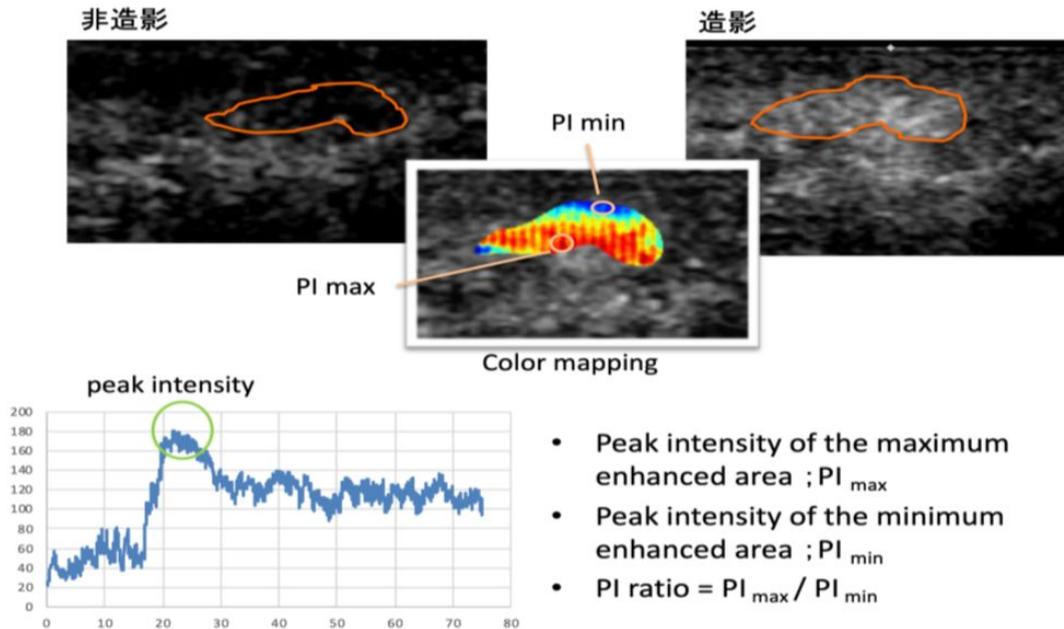


図 2

子宮体癌			子宮頸癌		
	n, median	(%)		n, median	(%)
症例数	28		症例数	11	
年齢	57		年齢	48	
組織型	G1	10 (35.7)	組織型	SCC* ¹	5 (45.5)
	G2	9 (32.1)		adeno* ²	4 (36.4)
	G3	3 (10.7)		ASC* ³	1 (9.1)
	serous	3 (10.7)		LCNEC* ⁴	1 (9.1)
	mixed	3 (10.7)	術後病期	I A1	1 (9.1)
術後病期	I A	10 (35.7)		I B1	4 (36.4)
	I B	5 (17.9)		I B2	3 (27.3)
	II	1 (3.6)		II A	2 (18.2)
	III A	2 (7.1)		II B	1 (9.1)
	III C1	6 (21.4)	解析可能リンパ節	20	
	III C2	3 (10.7)		転移あり	7 (33.3)
	IVB	1 (3.6)		転移なし	13 (66.7)
解析可能リンパ節	37				
	転移あり	10 (27.0)			
	転移なし	27 (73.0)			

*1 SCC; squamous cell carcinoma, *2 adeno; adenocarcinoma, *3 ASC; adenosquamous cell carcinoma, *4 LCNEC; large cell neuroendocrine carcinoma

図 3

		リンパ節転移陰性(n=40)	リンパ節転移陽性(n=17)	p値
年齢(歳)	median(range)	53(37-70)	51(40-72)	0.61
原発	子宮頸癌	13	7	
	子宮体癌	27	10	0.55
長径(mm)		11.5±0.8	15±1.2	0.0611
短径(mm)		4.1±0.4	6.2±0.6	0.0323
長径/短径比	2≦	33	12	
	<2	7	5	0.4783
辺縁エコー	平滑	35	11	
	不整	5	6	0.0677
リンパ門	あり	20	9	
	消失	20	8	1
実質エコー	均一	36	13	
	不均一	4	4	0.1785
造影パターン	均一	21	4	
	不均一	15	13	
	不良	4	0	0.0216
造影欠損の有無	欠損なし	36	11	
	欠損あり	4	6	0.0507

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Niikura Hitoshi, Tsuji Keita, Tokunaga Hideki, Shimada Muneaki, Ishikawa Mitsuya, Yaegashi Nobuo	4. 巻 49
2. 論文標題 Sentinel node navigation surgery in cervical and endometrial cancer: a review	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Japanese Journal of Clinical Oncology	6. 最初と最後の頁 495 ~ 500
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jjco/hyz062	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Niikura Hitoshi	4. 巻 -
2. 論文標題 Sentinel Node Navigation Surgery	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Surgery for Gynecological cancer (Springer)	6. 最初と最後の頁 237 ~ 245
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-981-13-1519-0_15	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 新倉仁、八重樫伸生	4. 巻 76 巻増刊 2
2. 論文標題 子宮頸癌 センチネルリンパ節同定	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 日本臨床	6. 最初と最後の頁 314-318
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 新倉仁	4. 巻 70(11)
2. 論文標題 リンパ流を意識した手術解剖学	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 日本産科婦人科学会雑誌	6. 最初と最後の頁 2259-2265
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 新倉 仁	4. 巻 第71巻3号
2. 論文標題 婦人科がん低侵襲治療の現状と展望 子宮体癌、センチネルリンパ節生検	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 臨床婦人科産科	6. 最初と最後の頁 328 - 334
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 新倉 仁
2. 発表標題 子宮頸がんセンチネルリンパ節生検
3. 学会等名 第71回日本産科婦人科学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 新倉 仁、岡本 聡、土岐麻実、永井智之、徳永英樹、島田宗昭、八重樫伸生
2. 発表標題 婦人科がんにおけるSNNSのこれまでとこれから
3. 学会等名 第20回SNNS研究会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 新倉仁
2. 発表標題 リンパ流を意識した手術解剖学
3. 学会等名 第70回日本産科婦人科学会学術講演会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hitoshi Niikura, Asami Toki, Tomoyuki Nagai, Satoshi Okamoto, Hideki Tokunaga, Masafumi Toyoshima, Michiko Kaiho, Muneaki Shimada, Nobuo Yaegashi
2. 発表標題 Feasibility of sentinel node navigation surgery in gynecological cancers
3. 学会等名 The 5th Biennial Meeting of ASGO, (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 新倉仁
2. 発表標題 センチネルリンパ節生検の考え方と実際
3. 学会等名 第30回日本産婦人科手術学会 (招待講演)
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	森 菜緒子 (MORI Naoko) (90535064)	東北大学・大学病院・助教 (11301)	
研究分担者	岡本 聡 (OKAMOTO Satoshi) (40420020)	東北大学・大学病院・臨床検査技師 (11301)	