

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 3 年 6 月 7 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K07662

研究課題名(和文)3次元超高周波造影超音波による乳癌腋窩リンパ節微小転移診断法の開発

研究課題名(英文)Development of diagnostic method for breast cancer axillary lymph node micrometastasis by three-dimensional ultrahigh-frequency contrast ultrasound

研究代表者

高澤 千晶 (TAKASAWA, CHIAKI)

東北大学・医学系研究科・非常勤講師

研究者番号：60623189

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：乳癌腋窩リンパ節転移は、転移巣の大きさが2mm以上の粗大転移と2mm未満の微小転移に分けられている。両者では治療方法が異なるため、微小転移なのか粗大転移なのかを判別することが、適切な治療の選択、患者のQOLを保つ上で重要である。我々は術中造影超音波による1対1対応の画像と病理所見の対比、リンパ節の3次元超高周波造影超音波撮像法とperfusion defect検出法の開発、術前3次元超高周波造影超音波によるリンパ節微小転移検出能の確認、を行い、造影超音波によるリンパ節微小転移検出法を確立した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

乳癌腋窩リンパ節転移は、転移巣の大きさが2mm以上の粗大転移と2mm未満の微小転移に分けられている。粗大転移に比べ、微小転移は予後良好である粗大転移の治療は、腋窩リンパ節郭清や全身化学療法を行うことが一般的であるが、微小転移(症例数は転移群全体の1/3程度を占める)は、腋窩リンパ節郭清を省略しても術後補助療法(薬物療法、放射線療法)が行われれば、予後は変わらないということが示された(ASCOSOG Z0011試験)。微小転移なのか粗大転移なのかを判別することが、適切な治療の選択、患者のQOLを保つ上で重要である。

研究成果の概要(英文)：Breast axillary lymph node metastasis is divided into coarse metastasis with a lesion size of 2 mm or more and micrometastasis with a size of less than 2 mm. Since the treatment methods differ between the two, it is important to determine whether the metastasis is micrometastasis or gross metastasis in order to select an appropriate treatment and maintain the patient's QOL. We (1) compare one-to-one correspondence images with intraoperative contrast-enhanced ultrasound and pathological findings, (2) develop three-dimensional ultrahigh-frequency contrast-enhanced ultrasound imaging and perfusion defect detection methods for lymph nodes, and (3) preoperative three-dimensional ultra-high-frequency contrast-enhanced. We confirmed the ability to detect lymph node micrometastasis by ultrasound, and established a method for detecting lymph node micrometastasis by contrast-enhanced ultrasound.

研究分野：画像解析

キーワード：乳癌 リンパ節転移 造影超音波

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

乳癌腋窩リンパ節転移は、転移巣の大きさが2mm以上の粗大転移と2mm未満の微小転移に分けられている。粗大転移に比べ、微小転移は予後良好である(Cancer 1983;52:1551-7)。粗大転移の治療は、腋窩リンパ節郭清や全身化学療法を行うことが一般的であるが、微小転移(症例数は転移群全体の1/3程度を占める)は、腋窩リンパ節郭清を省略しても術後補助療法(薬物療法,放射線療法)が行われれば、予後は変わらないということが示された(ASCOSOG 2011 試験)。微小転移なのか粗大転移なのかを判別することが、適切な治療の選択,患者のQOLを保つ上で重要である。一方で、リンパ節転移に対する術前画像診断は確立されていない。従来法のCT, MRI, 超音波(US)では、10mm以上の短軸径のリンパ節(粗大相当)に対しては、皮質の肥厚やリンパ門の脂肪消失等の形態所見を使ってある程度の診断能(60%超,表1)が得られているが、10mm未満のリンパ節(微小相当)に対する診断能は非常に低い(22-43%,表1)。現状では微小転移は術前に画像で診断できないため、粗大転移同様定型的に術中センチネルリンパ節生検を行うことになり、患者のQOLを下げているし医療費の負担も大きい。

我々はマウスを使った基礎研究でリンパ節微小転移では周囲正常リンパ節組織に比べ血管密度が低いいため、造影効果が低く、造影されない領域(perfusion defect)に見えることを確認した(図1,業績17,18)。臨床乳癌症例でも6.5MHz2Dプローブによるマイクロバブル造影超音波を施行し、リンパ節微小転移が基礎研究同様にperfusion defectを呈することを確認した(図2,2017年日本医学放射線学会総会 CyPos 賞受賞)。本研究では、初期経験を踏まえた学術的問い,perfusion defectが本当に微小転移部と一致するのかどうかを、術中造影超音波を行い確認する。さらに、超高周波造影超音波による分解能向上と3次元化をはかりperfusion defect検出法を確立することにより、臨床的に有用なレベルまで微小転移を検出できるようになるのかどうか、を検証する。

2. 研究の目的

本研究は造影超音波によるリンパ節微小転移検出法を確立することを目的とする。

3. 研究の方法

最新の超音波装置(東芝 Aplio i800),インジェクター(根本杏林堂)を用い,図3の体制で以下の検討を行う。

(1)術中造影超音波による1対1対応の画像と病理所見の対比  
(平成30年,担当:高澤,佐藤)

術中色素とアイソトープの併用法により同定されたセンチネルリンパ節に対し,術中造影超音波を行う。超音波撮像方向との関係が分かるように取り出したセンチネルリンパ節に色素を使ってマーキングする。perfusion defectの有無とセンチネルリンパ節転移の有無,perfusion defectと転移の位置が一致するかどうかを,画像と病理を対比し確認する。症例数は20例程度を予定している。

(2)リンパ節の3次元超高周波造影超音波撮

表1 既存のモダリティの診断能

	Evaluation	diagnostic accuracy
CT	Size> 10 mm in short-axis diameter	61.5%
MRI	Size> 10 mm in short-axis diameter >8 mm	60% 43%
US	Size> 10 mm in short-axis diameter > 4.5 mm in diameter	66.6% 22.2%

Eur Radiol 2005; 15: 1215-1223, Ann Oncol2007;18(3):473-478, Int J Clin Oncol 2008; 13:314-319  
サイズの小さいリンパ節を含めると診断能は低い。

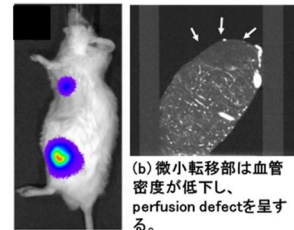


図1 腸骨下から腋窩リンパ節転移の可視化

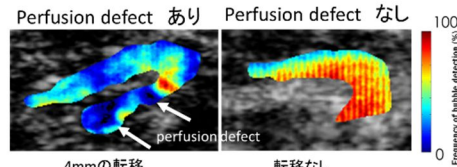


図2 バブル検出回数のカラーマッピング

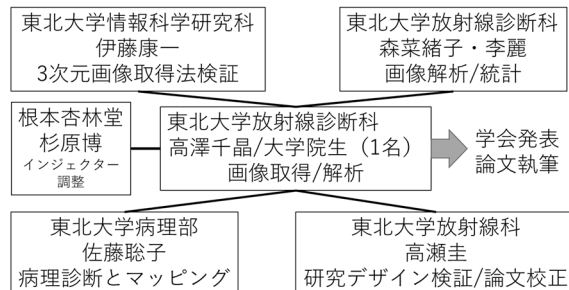


図3 研究体制 東北大学各部門と根本杏林堂の協力で遂行する

### 像法と perfusion defect 検出法の開発

3次元超高周波造影超音波には、造影剤持続注入法、プローブの位置センサーを用いた撮像法検証、perfusion defect 検出プログラム作成の3つのステップが必要である。

#### 造影剤持続注入法（平成30年度，担当：高澤，（根本杏林堂杉原））

造影超音波は動的画像であるため、3次元化を実現するためには造影剤が定常状態になった時間帯に画像を取得する必要がある。現在の bolus 注入法（造影剤 0.8-1ml を生理食塩水 10ml でボラスに手押しで水押し）に対し、持続的なインジェクターによる水押しでリンパ節の良好な造影効果を得られるかどうかを確認する。超音波造影剤専用インジェクターを用い、10名程度のボランティアの正常腋窩リンパ節で異なる速度の生理食塩水注入（2, 0.5, 0.2, 0.1, 0.05ml/s）を行い、造影効果を検証し、造影効果が定常状態となる時間帯を探す。

#### プローブの位置センサーを用いた撮像法検証（平成30年度，担当：高澤，伊藤）

リンパ節は小さな臓器であり、3次元画像化には誤差の少ないプローブの位置情報収集が必要である。従来、超音波では磁気センサーによる位置推定を行っている。我々は簡便に精度の高い位置推定を行うために、プローブに小型カメラを装着し、超音波スキャン中に video を撮像し structure from motion (SfM) を用いることでプローブの位置推定を行い超音波画像の3次元化を行う手法を報告した（業績4）。SfMは多視点画像から3次元形状復元を行うもので、特徴点抽出を行い、対応付け（トラッキング）、位相限定相関法（POC）による画像マッチングを行うものである。従来法と新法のどちらが、位置推定が正確でリンパ節に適した3次元化が可能なのかを検証する。

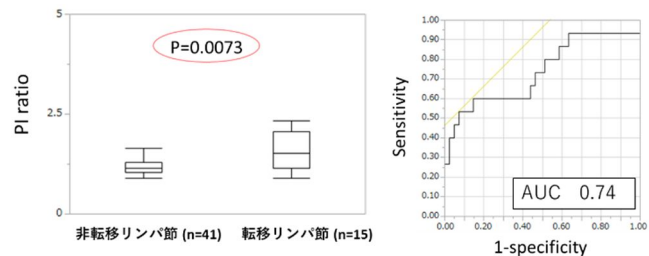
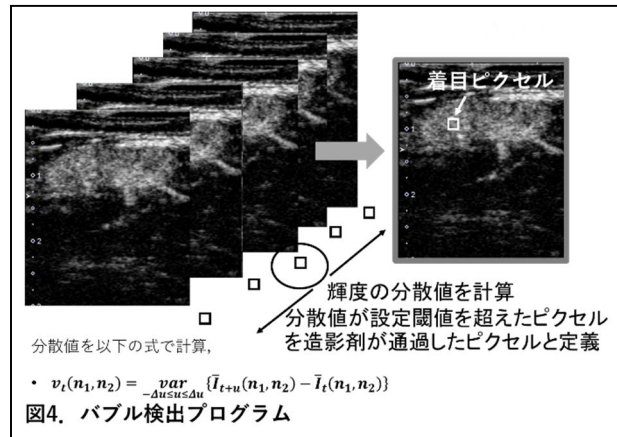


図5 (a) リンパ節内の造影効果のheterogeneityを反映するパラメータ PI ratioと非転移、転移リンパ節群の比較 (b) PI ratioによるROC解析

#### perfusion defect 検出プログラム作成

##### （平成31年度，担当：森，伊藤）

我々は、乳癌主腫瘍の2次元造影超音波画像で、ある位置座標の着目ピクセルの色味が前後方向の frame とどのくらい変化するか (variance) を測定し、色味の変化の強いピクセルをバブルの来たピクセルとして検出するプログラムを作成した（図4，業績1, 10）。2次元での本プログラムを3次元に応用するために、前後方向の frame 枚数や閾値について調整しバブルの検出を確認する。作成されたバブル検出画像において単位時間・体積当たりの検出密度を表示させ、閾値により perfusion defect 部位を同定する。

#### (3)術前3次元造影超音波によるリンパ節微小転移検出能の確認

##### （平成31～32年度，担当：高澤，高瀬）

術前 CT, MRI, 非造影超音波で明らかな腫大リンパ節を認めない臨床的リンパ節転移陰性症例を対象として、で開発した撮像方法を用いて術前日に造影超音波を施行する。2次元超音波を使った初期検討では5例に1例、微小転移が見られた。2年間200例の撮像で40例の転移症例を予測している。微小転移例を術前3次元超高周波造影超音波で正しく予測できたかどうかを検証する。偽陰性、偽陽性症例では、主病変の因子（古典的組織型、ホルモンレセプター、HER2抗体の発現、Ki-67 labeling index など）やリンパ節自体の因子（転移の大きさ）が影響しているかどうかを検証する。

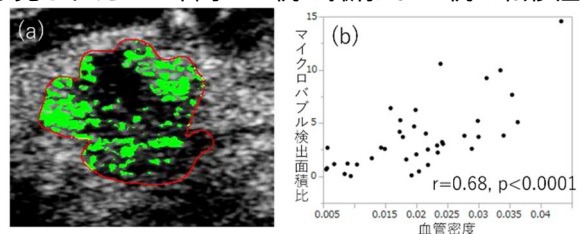


図6 (a) バブルの検出、(b) 定量値（マイクロバブル検出面積比）と血管密度の相関

#### 4. 研究成果

perfusion defect が本当に微小転移部と一致するのかどうかを，術中造影超音波を行い確認した．非転移群では転移群に比べ，リンパ節が均一に強く造影された．転移群では非転移群に比べ，造影効果の低下した部位をリンパ節内に認め，リンパ節内の造影効果は不均一であった．CD34 による免疫染色では，転移巣では血管密度の低下が確認された．

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1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 0件）

1. 著者名 森菜緒子	4. 巻 37
2. 論文標題 Perfusion contrast-enhanced ultrasound to predict early lymph-node metastasis in breast cancer.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Japanese Journal of Radiology	6. 最初と最後の頁 145-153
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s11604-018-0792-6	査読の有無 有
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0件

〔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	佐藤 聡子 (SATO SATOKO) (30815957)	東北大学・大学病院・助教  (11301)	
研究分担者	高瀬 圭 (TAKASE KEI) (60361094)	東北大学・医学系研究科・教授  (11301)	
研究分担者	伊藤 康一 (ITO KOICHI) (70400299)	東北大学・情報科学研究科・准教授  (11301)	
研究分担者	森 菜緒子 (MORI NAOKO) (90535064)	東北大学・大学病院・助教  (11301)	

6. 研究組織（つづき）

	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	李 麗  (LI LI)  (90769960)	東北大学・医学系研究科・非常勤講師    (11301)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関