

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 3月31日現在

機関番号： 82606
 研究種目： 基盤研究（B）
 研究期間： 2010～2012
 課題番号： 22390240
 研究課題名（和文） センチネルリンパ節ナビゲーション高精度放射線治療のための融合画像診断技術の開発
 研究課題名（英文） Fusion imaging for sentinel node navigation high-precision radiotherapy
 研究代表者
 藤井 博史（FUJII HIROFUMI）
 独立行政法人国立がん研究センター・臨床開発センター・分野長
 研究者番号： 80218982

研究成果の概要（和文）：

早期がんを最低の侵襲で治癒させることを目指して、核医学画像、MRI画像およびこれらの融合画像を活用して、がんのリンパ行性転移が初発するセンチネルリンパ節内の転移状態および低酸素状態やインテグリン発現等のがん病巣の内部性状を *in vivo* で可視化する技術の開発を進めた。さらに、陽子線治療におけるペンシルビームを用いたスポットスキニング照射法の開発を行い、機能画像情報に基づいた最適化された高精度放射線治療を施せるようにした。

研究成果の概要（英文）：

This study was aimed to develop the least invasive therapeutic methods to cure early-stage cancer. We tried to visualize the metastatic status of sentinel lymph nodes that are the first nodes involved by cancer and conditions of tumor interiors such as hypoxia and the expression of integrin *in vivo* by using nuclear medicine images, magnetic resonance images and their fusion images. We also developed spot scanning irradiation methods by pencil beams in proton beam therapy so that the optimized therapy would be performed according to the findings of functional imaging tests.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	5,200,000	1,560,000	6,760,000
2011年度	4,300,000	1,290,000	5,590,000
2012年度	4,400,000	1,320,000	5,720,000
年度			
年度			
総計	13,900,000	4,170,000	18,070,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・放射線科学

キーワード：核医学、センチネルリンパ節、高精度放射線治療、融合画像

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

1. 研究開始当初の背景

がんの治療において、生命の維持のみならず治療後の生活の質が重視されるようになり、根治性を担保しながらも、侵襲性が低い放射線治療が選択される機会が増えている。

遠隔転移を伴わない早期のがんでは、原発巣と所属リンパ節に対する治療により根治が期待できるが、早期がんでは、所属リンパ節も転移陰性であることが少なくない。我々を含めたこれまでの研究から、多くのがんでは、所属リンパ節へのリンパ行性転移が原発巣からのリンパ流を直接受けるリンパ節（センチネルリンパ節、SN）に初発すること（センチネルリンパ節の概念、SN concept）が明らかとなった。この結果、外科的治療においては、まず、SN 生検を行い、SN が転移陰性であれば所属リンパ節の郭清を省略するという SN ナビゲーション手術(SNNS)が開発された。この術式は、早期の乳癌や悪性黒色腫では標準的治療になりつつあり、頭頸部癌や消化管癌に適応を拡大している。

この SN concept に基づいた治療の低侵襲化は放射線治療に対しても重要であり、かつ、有用性が高いと考えられる。最近の放射線照射技術の進歩は著しく、強度変調放射線治療や粒子線治療により高精度の治療が可能となっているため、これらを活用し、SN concept に基づいた低侵襲治療技術(SN ナビゲーション放射線治療: SNNR) を確立することが期待される。

現在、根治的放射線治療は、外科的治療が侵襲性や整容性の点で問題となるがん（食道癌、頭頸部癌など）に対して行われる傾向にあるが、これも SNNR に関する研究が進まない理由の一つである。これらのがんでは、1) SN 生検自体が侵襲的である、2) リンパ流

が複雑で SN 生検の結果の偽陰性率が高い、3) 残存・再発リンパ節転移に対する salvage 治療がしばしば困難である、といった問題がある。また、原発巣に対しても侵襲性や整容性の点で生検により十分な量の組織を採取することが難しく、しばしば不均一性を呈する腫瘍内の性状を正確に評価し、至適な線量分布を実現させるための照射方法や照射線量を設定することに難渋している。

このため、SNNR を標準治療として確立させるためには、1) SN の転移状態を高い正診率で診断あるいは予測することができること（至適照射野の設定に重要）、2) 腫瘍内の性状を不均一性を含めて正確に評価することができること（至適照射線量の設定に重要）、といった条件を満たす画像診断技術を開発することが必須と考えられた。

2. 研究の目的

(1) SPECT/MRI 融合画像によるセンチネルリンパ節(SN)内小転移病巣の可視化技術およびセンチネルリンパ節の転移状態の予測技術を確立させること。

小動物用 SPECT 装置と臨床用 MRI 装置を用いて、齧歯類を対象として検討を始めた小転移病巣の可視化技術を発展させ、さらに臨床用 SPECT 装置を用いた方法に展開することを目指す。

腫瘍によっては、SN 生検自体が侵襲的であるので、これを省略する手法の確立を目指す。また、画像診断検査により、SN 内の転移病巣を直接的に描画するには限界があるため、腫瘍の機能的性状から所属リンパ節転移の可能性を予測する技術を確立する。

(2) 核医学と CT や MRI との融合画像を用いた腫瘍内性状の不均一性を含めた可視化技

術を確立させること。

SNNS では原発巣を外科的に切除するため、原発巣の形状の評価だけで治療を行うことが可能であるが、放射線治療では原発巣の性状により照射線量、線量分布を最適化する必要がある。核医学画像と造影検査を含めたCT検査やMRI検査とを融合させ、放射線感受性に関係する腫瘍内低酸素状態などの腫瘍内性状をその不均一性を含めて可視化する技術を確立する。

(3) 腫瘍内性状の不均一性を考慮した重み付け高精度放射線治療技術を確立させること。

照射技術の進歩に伴い高精度の治療が可能となっているので、腫瘍内不均一性を考慮して、周囲健常組織への影響を最小限にとどめるための重み付け照射技術を確立する。

3. 研究の方法

(1) SPECT/MRI 融合画像によるセンチネルリンパ節(SN)内小転移病巣の可視化技術およびSNの転移状態の予測技術の開発

SPECT検査とMRI検査で共通で利用できる検査台を作成し、SPECT-MRI融合画像を得られるようにした。動物モデルとして、Freund's complete adjuvantで膝窩部に炎症性腫大をもたらしたddYマウスを作成した。このマウスモデルの足部に^{99m}Tc標識フチン酸を投与してリンパシンチグラフィを実施し、SNを同定した。また、superparamagnetic iron oxide (SPIO) MRI造影剤を用いた高分解能MRIを得た後、融合画像を作成し、得られた融合画像を用いて、SNの内部構造について検討を加えた。

その後、B16メラノーマ細胞をC57BL/6Jマウスの足蹠に注入して作成したリンパ節転移モデルを用いて、SN内の免疫状態を評価した。足部移植病変のSNと考えられる膝窩リンパ節内の細胞をFACSで解析し、転移病巣の出

現に伴って変動した免疫細胞クローンの同定を試みた。

(2) 核医学とCTやMRIとの融合画像を用いた腫瘍内性状の不均一性を含めた可視化技術の開発

腫瘍内性状に関しては、がんの悪性度に関係する腫瘍内低酸素領域の存在やインテグリンの発現状態を可視化することを目指した。いずれも分子イメージング技術の臨床応用を目指して、放射性核種で標識した分子プローブの開発を進めた。

低酸素領域イメージングプローブとしては、PETプローブおよびSPECTプローブの両者について開発を進めた。いずれも低酸素領域で還元反応が亢進する現象を利用して、放射性核種が低酸素領域に停滞し、低酸素領域が陽性に描画されるような分子設計に基づいて分子プローブの作成を進めた。

インテグリンの発現に関しては、 $\alpha v \beta_3$ インテグリンに親和性を示すRGDを¹¹¹Inで標識したプローブを作成し、膝癌モデルなどを使ってイメージングを試みた。

(3) 腫瘍内性状の不均一性を加味した重み付け高精度放射線治療技術の開発

ペンシルビームを用いたスポットスキニング陽子線治療により、腫瘍内性状の不均一性に対応した線量分布の重み付けを行うことにした。シミュレーションで算出した線量分布の精度を、ファントム実験で検証することを繰り返し、ペンシルビームを用いたスポットスキニング陽子線治療での詳細な線量分布の実現を目指した。

(4) 本研究で実施する動物実験については、当施設の動物実験に関する倫理審査を経たうえで実施した。

4. 研究成果

(1) SPECT/MRI 融合画像によるセンチネルリンパ節(SN)内小転移病巣の可視化技術およびSNの転移状態の予測技術

リンパシンチグラフィで見つけたSNの内部構造をSPIO造影MRIで詳細に観察できるように、SPECT検査とMRI検査で共通する寝台を作成し、SPECT-MRI融合画像の作成を試みた。共通寝台に位置合わせ用のマーカーを設置し、このマーカーを基準にSPECT画像とMRI画像を重ね合わせることで、高い精度の重ね合わせ画像を得ることができ、MRI画像上にSNの局在を明示することが可能となった。

リンパ節転移モデルでの検討に先立ち、炎症モデルでのリンパ節内部構造の可視化について検討した。Freund's complete adjuvantで膝窩部に炎症性腫大をもたらしたddYマウスの足部に^{99m}Tc標識フチン酸を投与してリンパシンチグラフィを実施すると、^{99m}Tc標識フチン酸はSNと考えられる腫大した膝窩リンパ節に流入し、リンパ節の辺縁部に留まり、リンパ節内に不均等な集積を示した。このため^{99m}Tc標識フチン酸の集積状態を高分解能SPECTで詳細に観察しても、SN内の小転移病巣の診断は難しいことが確認できた。このため、SPIO MRI造影剤を用いた高分解能MRIによるSNの内部構造の撮像を検討したが、非転移性腫大リンパ節においてもSPIOは不均一な分布を示し、あたかもリンパ節内に転移病巣があるかの様な所見を呈した。病理組織学的検討から、非腫瘍性腫大リンパ節内でもSPIOを貪食するマクロファージの分布が不均一に分布しており、これが偽陽性所見の原因となっていることが考えられた。このため、^{99m}Tc標識コロイドを用いたSNシンチグラフィで同定したSNをSPIO投与高分解能MRIで精査するだけでは、小リンパ節転移を

高い正診率で診断することが難しいことが明らかとなった。

これらの結果を受けて、転移病巣の存在によりSN内に生じる免疫学的な変化を観察することにより、SN内の転移病巣(特に予後の増悪に関する転移病巣)の存在を予測する技術の開発を検討することを目指した。B16メラノーマ細胞をC57BL/6Jマウスの足蹠に注入して作成したリンパ節転移モデルを用いた検討で、転移を生じたリンパ節ではT細胞よりもB細胞の方が大きく増加することが示された。これまでB細胞についての検討は不十分であったため、今後、B細胞のサブクローン解析などにより、予後の増悪につながるリンパ節転移の診断につながる検査法の開発を目指すこととした。

(2) 核医学とCTやMRIとの融合画像を用いた腫瘍内性状の不均一性を含めた可視化技術

腫瘍内性状の評価については、低酸素イメージングプローブや $\alpha v\beta_3$ インテグリンに親和性を示すRGDを¹¹¹Inで標識したプローブを用いて、SPECT検査による腫瘍内低酸素領域の局在や血管新生について検討を進め、これらのプローブの腫瘍内不均一分布を可視化できるようになった。

腫瘍内性状の評価については、低酸素イメージングプローブを中心に検討を進めた。^{99m}Tc標識低酸素プローブに関しては、前年までに開発したプローブを改良し、*in vivo*イメージングが可能な体内動態を示すことができた。PETプローブに関しては、これまで検討が進められてきた¹⁸F FMISOよりも健常組織からの洗い出しが良好なピモニダゾール類似の構造を持った新規プローブの合成に成功し、腫瘍/バックグラウンドの良好な画像が得られるようになった。

(3) 腫瘍内性状の不均一性を加味した重み付け高精度放射線治療技術

腫瘍内性状の不均一性を加味した重み付け高精度放射線治療技術については、陽子線治療におけるペンシルビームを用いたスポットスキヤニング照射法に改良を加えるべく、シミュレーションによる検討を進めた。シミュレーションによる線量分布の精度の改善を、ファントム実験での線量分布を評価・検証することを繰り返し、詳細な線量分布を実現しつつある。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 5 件)

- ① Yoshimoto M, Hayakawa T, Mutoh M, Imai T, Tsuda K, Kimura S, Umeda IO, Fujii H, Wakabayashi K: In Vivo SPECT Imaging with ¹¹¹In-DOTA-c(RGDfK) to Detect Early Pancreatic Cancer in a Hamster Pancreatic Carcinogenesis Model. J Nucl Med, 査読有, 53(5): 765-771, 2012.
DOI: 10.2967/jnumed.111.099630
- ② Fujii H, Yamaguchi M, Inoue K, Mutou Y, Ueda M, Saji H, Kizaka-Kondoh S, Moriyama N, Umeda IO: *In vivo* visualization of heterogeneous intratumoral distribution of hypoxia-inducible factor-1alpha activity by the fusion of high-resolution SPECT and morphological imaging tests. J Biomed Biotechnol, 査読有, 2012(262741): 1-6, 2012.
DOI: 10.1155/2012/262741
- ③ Fujii H, Idoine JD, Gioux S, Accorsi R, Slochower DR, Lanza RC, Frangioni JV:

Optimization of coded aperture radiosintigraphy for sentinel lymph node mapping. Mol Imaging Biol, 査読有, 14(2): 173-82, 2012.

DOI: 10.1007/s11307-011-0494-2

- ④ Kitamura N, Kosuda S, Araki K, Tomifuji M, Mizokami D, Shiotani A, Shinmoto H, Fujii H, Ichihara K: Comparison of animal studies between interstitial magnetic resonance lymphography and radiocolloid SPECT/CT lymphoscintigraphy in the head and neck region. Ann Nucl Med, 査読有, 26(3): 281-5, 2012.
DOI: 10.1007/s12149-011-0565-0
- ⑤ Suzuki D, Yamaguchi M, Furuta T, Okuyama Y, Yoshikawa K, Fujii H: Central High Signal in Inflammatory Swollen Lymph Nodes on SPIO-enhanced Interstitial MR Lymphograms: A Mimic of Lymph Node Metastasis. Magn Reson Med Sci, 査読有, 11(1): 61-3, 2012.
DOI: 10.2463/mrms.11.61

[学会発表] (計 9 件)

- ① Yoshimoto M, Hayakawa T, Yamaguchi M, Kimura S, Umeda IO, Fujii H: Development of RGD-liposomes for MR imaging of pancreatic tumor. WMIC 2012, Dublin, Ireland, 2012/09/08
- ② Kimura S, Kuriyama T, Kojima YK, Umeda IO, Moriyama N, Fujii H: A novel PET probe for tumor hypoxia imaging with excellent renal clearance. SNM 2012 Annual Meeting, Miami Beach, FL, USA, 2012/06/10
- ③ Suzuki D, Yamaguchi M, Furuta T, Nakagami R, Okuyama Y, Yoshikawa K,

- Fujii H: Pitfalls of SPIO-enhanced MR Lymphography in Sentinel Lymph Nodes: Pathogenesis of High Signals Mimicking Metastasis in Inflamed Lymph Nodes. ISMRM 2012 Annual Meeting, Melbourne, Australia, 2012/5/7
- ④ Suzuki D, Yamaguchi M, Furuta T, Yoshikawa K, Fujii H: High-Resolution Interstitial MR Lymphography for the Diagnosis of Sentinel Lymph Nodes: Inhomogeneous Distribution of SPIO within Non-Malignant Lymph Nodes. ISMRM 2011 Annual Meeting, Montreal, Quebec, Canada, 2011/05/09
- ⑤ Suzuki D, Yamaguchi M, Inoue K, Umeda IO, Yoshikawa K, Fujii H: SPECT-MRI co-registration for lymph node imaging: a feasibility study using a lymphadenitis animal model. ISNS2010,横浜, 2010/11/20
- ⑥ Araki K, Tomifuji M, Fujii H, Kosuda S, Shiotani A: Sentinel node concept in clinically N0 laryngeal and hypopharyngeal cancer. ISNS2010,横浜, 2010/11/20
- ⑦ Kitamura N, Araki K, Kosuda S, Tomifuji M, Shiotani A, Shigematsu N, Fujii H: Interstitial MR lymphangiography in the head and neck region using superparamagnetic iron oxides and gadoxetate sodium -preliminary animal study. ISNS2010, 横浜, 2010/11/19
- ⑧ Fujii H: The detection of small LN metastases using radiocolloids. ISNS2010, 横浜, 2010/11/19
- ⑨ Yamaguchi M, Suzuki D, Shimizu R,

Nakagami R, Tsuda K, Umeda IO, Okuyama Y, Yoshikawa K, Fujii H: Precise Co-registration of SPECT and MRI for Small Animal Imaging using a Common Animal Bed with External References: Visualization of Macrophage Distribution within Inflammatory Lymph Nodes. ISMRM-ESMRMB Joint Annual Meeting 2010, Stockholm, Sweden, 2010/05/06

6. 研究組織

(1)研究代表者

藤井 博史 (FUJII HIROFUMI)
独立行政法人国立がん研究センター・臨床開発センター・分野長
研究者番号：80218982

(2)研究分担者

河野 良介 (KOHNO RYOSUKE)
独立行政法人国立がん研究センター・臨床開発センター・研究員
研究者番号：20392227

徳植 公一 (TOKUUE KOICHI)
東京医科大学・医学部・教授
研究者番号：00334061

荻野 尚 (OGINO TAKASHI)
独立行政法人国立がん研究センター・臨床開発センター・部長
研究者番号：50415519
(H22年度のみ)

(3)連携研究者

山口 雅之 (YAMAGUCHI MASAYUKI)
独立行政法人国立がん研究センター・臨床開発センター・ユニット長
研究者番号：90450577

梅田 泉 (UMEDA O. IZUMI)
独立行政法人国立がん研究センター・臨床開発センター・ユニット長
研究者番号：40160791