

令和 3 年 6 月 7 日現在

機関番号：32404

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K09752

研究課題名(和文) 口腔癌転移性リンパ節の新しい診断基準の開発ーオーダーメイドの診断を目指してー

研究課題名(英文) Development of new diagnostic criteria for metastatic lymph nodes in oral cancer  
-Aiming for custom-made diagnosis-

研究代表者

鬼頭 慎司 (KITO, Shinji)

明海大学・歯学部・教授

研究者番号：80347682

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)： 口腔癌症例における18F-FDG-PET/CT画像上の頸部リンパ節への18F-FDG集積の程度と臨床診断および予後が合致しないことが多くある。今回、患者の年齢、性別、体重、検査時血糖値、歯性感染症、骨髄炎等の炎症の有無と部位と程度、個々人におけるリンパ節の大きさ、原発腫瘍の大きさ並びに原発腫瘍とリンパ節のSUVmaxを計測した。統計学的解析を用いて各患者ごとに、また左右側別に転移性リンパ節と炎症性集積の鑑別を患者個々人に対してオーダーメイドに作成できるように分析を加えた。  
原発腫瘍への18F-FDG集積程度と口腔顎顔面領域の炎症は頸部リンパ節への18F-FDG集積を上昇させることがわかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

基礎医学的アプローチとしては核小体蛋白が悪性腫瘍細胞におけるグルコース輸送と代謝、細胞増殖及びアポトーシスと密接に関係していることが示唆された。臨床核医学的アプローチでは患者個々の体重等の体格、扁桃腺炎の程度、口腔領域の炎症の部位、部位数及び18F-FDG集積の程度等のバイアスを考慮した転移性リンパ節診断基準確立の足がかりとなる結果を得た。

どのような患者に対しても十把一絡げであった混沌とした各種検査の診断基準を統合し、体内分子イメージングである18F-FDG-PET-CTを合わせることで各個人に最適な精度の高い口腔癌転移性リンパ節診断システムを開発することに一歩近づいた。

研究成果の概要(英文)： The degree of 18F-FDG accumulation in the cervical lymph nodes on 18F-FDG-PET / CT images in oral cancer cases often does not match the clinical diagnosis and prognosis. In this study, the patient's age, gender, weight, blood glucose level at the time of examination, presence / absence and site and degree of inflammation such as dental infection and osteomyelitis, lymph node size in each individual, primary tumor size, and primary tumor and lymph node SUVmax were measured. Statistical analysis was used to analyze metastatic lymph nodes and inflammatory accumulation on each patient and on the left and right sides so that they could be tailor-made for each individual patient.

It was found that the degree of 18F-FDG accumulation in the primary tumor and inflammation of the oral and maxillofacial region increased 18F-FDG accumulation in the cervical lymph nodes.

研究分野： 歯科放射線学分野

キーワード： 口腔癌 転移性リンパ節 原発巣 歯性感染症 扁桃腺炎 唾液腺炎 骨髄炎 PET/CT

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

本研究の目的は基礎歯科医学的アプローチと臨床核医学的アプローチを融合して予知性に富んだ口腔癌転移性リンパ節診断システムの開発を目指すものである。具体的には癌細胞の増殖と共にグルコース輸送や代謝と関係する nucleolin 等の核内タンパクが新たな分子イメージングの対象となりうるかの追求と  $^{18}\text{F}$ -FDG(2-( $^{18}\text{F}$ )-fluoro-2-deoxy-D-glucose)-PET(Positron Emission Tomography)/CT を用いた患者各個人レベルでの予知性に富む転移性リンパ節に対する診断アプローチを行ってきた。現状では口腔癌における  $^{18}\text{F}$ -FDG-PET/CT 画像上の頸部リンパ節への  $^{18}\text{F}$ -FDG 集積と臨床的な所見や予後が一致しない事象が多く存在しているが、この不一致や予後の予測困難さを我々独自の患者各個人に対するオーダーメイドの診断システムを開発することで突き破っていくことを研究背景として今回の研究を行った。

### 2. 研究の目的

基礎医学的アプローチとしては nucleolin 等の核内蛋白が悪性腫瘍細胞におけるグルコース輸送と代謝、細胞増殖及びアポトーシスに対してどのような役割を果たしているか解明することを目的として、我々独自の手法を生かしつつ検討した。

臨床歯科医学的アプローチとしてはそれぞれの患者のリンパ節の大きさやリンパ節への  $^{18}\text{F}$ -FDG 集積の傾向を探り、レトロスペクティブ及びプロスペクティブに検討を重ねることを目的に研究を行った。

### 3. 研究の方法

臨床核医学的アプローチでは実際に私自身が口腔癌の患者に接し、CT、MRI 及び超音波検査と  $^{18}\text{F}$ -FDG-PET/CT 画像を詳細に分析できる環境を最大限に生かして研究を行った。患者の年齢、性別、体重、体脂肪率あるいは頬部脂肪層の厚み、検査時血糖値、菌性感染症、扁桃炎の有無及び部位数と個々人におけるリンパ節の大きさ、並びに  $^{18}\text{F}$ -FDG 集積の程度をパノラマエックス線画像、CT、MRI (拡散強調画像を含む)、超音波検査所見及び SUVmax を計測することにより詳細に解析した。

臨床歯科医学的アプローチとしてはそれぞれの患者のリンパ節の大きさやリンパ節への  $^{18}\text{F}$ -FDG 集積の傾向を探り、レトロスペクティブ及びプロスペクティブに検討を重ねることを目的に研究を行った。体重が重く、体脂肪率が高ければもとのリンパ節が大きい、口腔領域の炎症性変化の部位数が多くその SUVmax が高ければ高いほど頸部リンパ節の SUVmax の平均値も高い等、概ね予想通りの結果となった。この患者であれば SUVmax=2.0 程度でも転移リンパ節の可能性がある、この患者であれば SUVmax=4.0 を超えていても転移リンパ節の可能性は低い等の具体的なフローチャートを患者個人に対してオーダーメイドに作成できるようになる足がかりとなる成果となった。摘出したリンパ節に関しては病理所見を参考に診断の成否を分析した。

これまでの研究報告では患者個々人の体重等の体格、扁桃腺炎の程度、口腔領域の炎症の部位数及び  $^{18}\text{F}$ -FDG 集積の程度によるバイアスを考慮した診断基準は確立されていなかったが、今回、これらの修飾因子の関与の一端が解明できつつある。どのような患者に対しても十把一絡げであった混沌とした各モダリティの診断基準を統合し、現時点で使用可能な体内分子イメージ

ングである  $^{18}\text{F}$ -FDG-PET-CT を合わせることで各個人に最適な最も精度の高い口腔癌転移性リンパ節診断システムを開発する足がかりとなった。

基礎医学的アプローチとしては nucleolin 等の核小体蛋白が悪性腫瘍細胞におけるグルコース輸送と代謝、細胞増殖及びアポトーシスに対してどのような役割を果たしているかを我々独自の手法を生かしつつ検討を重ねた。その上で分子イメージングの対象となるかどうかを判定してきた。

臨床核医学的には以下の事を詳細に明らかにしようと試みた。口腔癌患者ではその高い喫煙率、副流煙暴露率及び飲酒歴から歯性感染症や上気道炎、扁桃腺炎によりリンパ節への  $^{18}\text{F}$ -FDG 集積が上昇している (unpublished data)。すなわち転移リンパ節を検出する際のリンパ節への  $^{18}\text{F}$ -FDG 集積は修飾されていることが多いと思われる。この反応性集積のマスキングで微小な転移リンパ節を見落とししたり、過大評価している可能性が高い。今回の研究では転移性リンパ節の手術前の見落としや誤診を減らして適正な郭清をアシストできる足がかりが得られた。さらに術後の炎症に修飾されやすい後発リンパ節転移を早期に診断し、予後の改善を図ることのできる可能性があることが示唆された。

#### 4. 研究成果

基礎歯科医学的研究成果としては

(1) 口腔扁平上皮癌細胞 (SCC-25) とヒト顎下腺癌由来唾液腺細胞 (HSG) を通法通り培養した。市販の UV 照射装置を工夫して用い、培養細胞の入ったシャーレに適正な量の UV 照射を行った結果、DNA ladder formation により細胞のアポトーシスを確認した。UV 照射量依存的に DNA ladder formation が認められた。

(2) SDS-PAGE 電気泳動法で蛋白を分離し、PVDF 膜上に転写し、膜上で硝酸銀を用いた独自の鍍銀染色を行った。膜上の 110 kDa の蛋白は UV 照射量依存的に減少した。また新たに 85-, 95-, 65 kDa の蛋白が現れ、UV 照射量依存的に増加した。

(3) 次に抗 nucleolin 抗体を用いてウエスタンブロッティングを行い、これらの蛋白を検出した。110 kDa の蛋白は UV 照射量依存的に減少した。また新たに 85-, 95-kDa の蛋白が現れ、UV 照射量依存的に増加した。鍍銀染色の結果と類似する点が多いものと考えられた。

(4) シャーレ上の培養細胞に鍍銀と Hoechst の二重染色を行った。正常細胞ではドット状に局在した AgNOR 蛋白が UV 誘導アポトーシス細胞ではその局在は劇的に変化した。

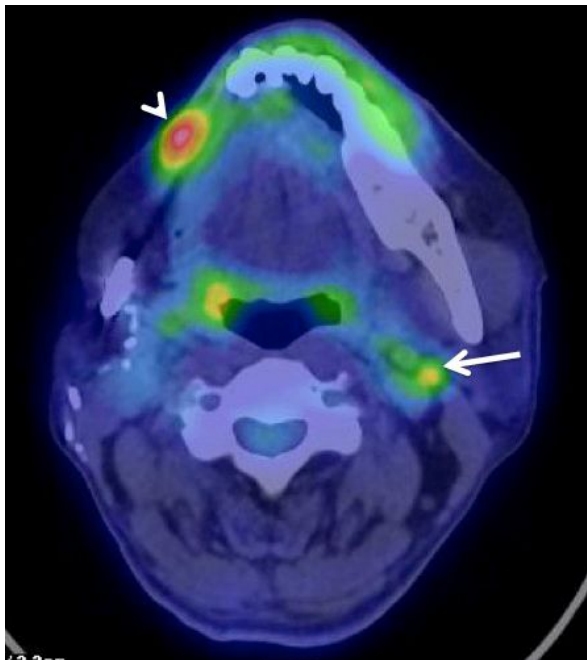
(5) その他 nucleolin の mRNA 量は UV 照射により変化しなかった。このことはアポトーシスによる nucleolin の発現量の減少、あるいは分解は蛋白分解レベルで調節されており、転写量の減少ではないということの意味する。さらに RNA 干渉を用いた系では細胞の増殖能が低下し UV 照射に対する感受性が増大することが示唆された。このように悪性腫瘍細胞におけるアポトーシスにおいて核内蛋白の 1 つである nucleolin の役割の一端が解明されつつある。

臨床歯科医学的研究成果としては実際に私自身が口腔癌の患者に接して CT、MRI 及び超音波検査を施行している利点及び近隣の最先端施設での  $^{18}\text{F}$ -FDG-PET/CT 画像を詳細に分析できる環境を最大限に生かしたものとなった。各モダリティの診断基準を統合し、各個人に最適な最も精度の高い診断結果を提供できる可能性が高いことが示唆された。

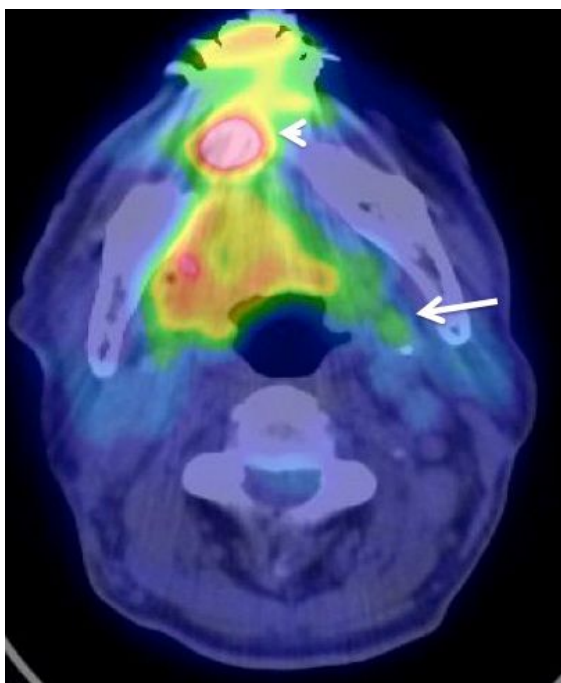
患者の年齢、性別、体重、体脂肪率あるいは頬部脂肪層の厚み、検査時血糖値、歯性感染症、扁桃炎の有無及び部位数、個々人におけるリンパ節の大きさ、原発腫瘍の大きさ並びに SUVmax、

metabolic volume(MV)、Total lesion glycolysis(TLG)を計測し、パノラマエックス線画像、CT、MRI（拡散強調画像分析を含む）及び超音波検査所見の分析を併せて、ROC 解析等の統計学的解析を加える事で詳細に分析した。

具体的にはそれぞれの患者のリンパ節の大きさとリンパ節への  $^{18}\text{F}$ -FDG 集積 (Fig1,2.) 等の半定量的値の傾向を探り、レトロスペクティブ及びプロスペクティブに検討を重ねた。

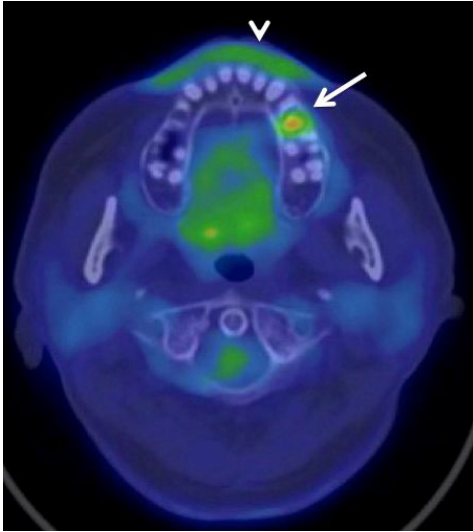


( Fig1. )



( Fig2. )

体重及び体脂肪率とリンパ節の大きさとの相関、口腔領域の炎症性変化 ( Fig3. ) の部位数と頸部リンパ節の SUVmax の平均値との相関データを導いた。



( Fig3. )

この患者であれば SUVmax=2.0 程度でも転移リンパ節の可能性がある、この患者であれば SUVmax=4.0 を超えていても転移リンパ節の可能性は低い等の具体的なフローチャートを概ね、患者個人々人に対して作成できる事が分かった。摘出したリンパ節に関しては病理所見を参考に診断の成否を分析した。ROC 解析等で診断結果予測能を解析した。陽性的中率も陰性的中率も比較的良好な結果となった。

$^{18}\text{F}$ -FDG-PET/CT を始めとする生体内の代謝画像について、辺縁性歯周炎や根尖性歯周炎の  $^{18}\text{F}$ -FDG 集積 ( Fig3. ) と所属リンパ節への  $^{18}\text{F}$ -FDG 集積の関係を調べた。歯性感染による歯槽骨吸収が進行するにつれて  $^{18}\text{F}$ -FDG 集積の程度は強くなり、さらに歯性感染の程度が強い患側と同側の所属リンパ節への  $^{18}\text{F}$ -FDG 集積は上昇する傾向となった。

また、口腔癌の患者において悪性腫瘍以外の非特異的集積について調べた。悪性腫瘍の原発巣以外にも舌前方の内舌筋 ( Fig1,2. ) 表情筋 ( Fig1,2,3. ) 及び顎骨に多数の集積があった。また、舌癌切除後の患者では舌内の後方への非特異的集積が現れることがあった ( Fig2. )

口腔癌の画像診断を行う上で、原発巣以外の非特異的集積について常に詳細に分析することで、より正確な転移性リンパ節診断システムを構築出来るものと考えた。また、長径 10 mm 以下の所属リンパ節でも同側での歯性感染や骨髄炎による炎症所見が顕著な場合、比較的高度の  $^{18}\text{F}$ -FDG 集積を認める傾向がある事が分かった ( Fig3. )。今後はさらに臨床核医学と歯科基礎医学的研究との融合を図りたいと考えている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 5件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Maeda T, Oda M, Kito S, Tanaka T, Wakasugi-Sato N, Matsumoto-Takeda S, Joujima T, Miyamura Y, Kiyota K, Tsutsumi K, Morimoto Y.	4. 巻 49
2. 論文標題 Can the lower rate of CT- or MRI-related adverse drug reactions to contrast media due to stricter limitations on patients undergoing contrast-enhanced CT or MRI?	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Dentomaxillofac Radiol.	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1259/dmfr.20190214.	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 該当する

1. 著者名 Tanaka T, Shiiba S, Yoshino N, Harano N, Sago T, Kito S, Matsumoto-Takeda S, Wakasugi-Sato N, Oda M, Joujima T, Miyamura Y, Imamura Y, Morimoto Y.	4. 巻 48
2. 論文標題 Predicting the therapeutic effect of carbamazepine in trigeminal neuralgia by analysis of neurovascular compression utilizing magnetic resonance cisternography.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Int J Oral Maxillofac Surg.	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.ijom.2018.09.012.	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 該当する

1. 著者名 高橋 信生, 小澤 智宣, 高橋 伸年, 小松 真, 鬼頭 慎司, 奥村 泰彦	4. 巻 59
2. 論文標題 DEMOT法を用いたパノラマX線画像での焦点サイズと拡大率の影響	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 歯科放射線	6. 最初と最後の頁 75 - 83
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 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 -

1. 著者名 Nishimura S, Osawa K, Tanaka T, Imamura Y, Kokuryo S, Habu M, Jyoujima T, Miyamura Y, Mochida KI, Inoue T, Kito S, Wakasugi-Sato N, Matsumoto-Takeda S, Oda M, Yoshiga D, Kodama M, Sasaguri M, Tominaga K, Yoshioka I, Morimoto Y.	4. 巻 34
2. 論文標題 Multiple mandibular static bone depressions attached to the three major salivary glands.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Oral Radiol.	6. 最初と最後の頁 277-280
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 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 該当する

1. 著者名 Wakasugi-Sato N, Habu M, Oda M, Tanaka T, Nishida I, Wakasugi T, Kokuryo S, Yoshiga D, Sago T, Harano N, Kito S, Matsumoto-Takeda S, Jyoujima T, Miyamura Y, Yada N, Sasaguri M, Morimoto Y.	4. 巻 127
2. 論文標題 Characteristics of diffusion-weighted images and apparent diffusion coefficients of ranulas and other masses in and around the floor of the mouth.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.	6. 最初と最後の頁 77-84
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 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 該当する

1. 著者名 Oda M, Nishida I, Miyamoto I, Saeki K, Tanaka T, Kito S, Yamamoto N, Yada N, Yoshiga D, Matsumoto-Takeda S, Wakasugi-Sato N, Habu M, Kodama M, Kokuryo S, Osawa K, Nishimura S, Joujima T, Miyamura Y, Matsuo K, Tominaga K, Yoshioka I, Maki K, Morimoto Y.	4. 巻 6
2. 論文標題 Significance and usefulness of imaging characteristics of gubernaculum tracts for the diagnosis of odontogenic tumors or cysts.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 PLoS One.	6. 最初と最後の頁 -
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 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 該当する

〔学会発表〕 計3件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 鬼頭慎司
2. 発表標題 口腔顎顔面領域における18F-FDG集積-非特異的集積を中心に-
3. 学会等名 第13回口腔顎顔面核医学フォーラム学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 大高 祐聖、井澤 真希、小澤 智宣、高橋 伸年、鬼頭慎司
2. 発表標題 内容成分が変化した下顎骨線維性骨異形成症の一例
3. 学会等名 NPO法人日本歯科放射線学会 第24回臨床画像大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鬼頭慎司
2. 発表標題 口腔顎顔面領域における18F-FDG集積 非特異的集積を中心に
3. 学会等名 第13回口腔顎顔面核医学フォーラム学術集会（招待講演）
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 編集：倉林 亨 他 著者：鬼頭慎司 他	4. 発行年 2020年
2. 出版社 医歯薬出版株式会社	5. 総ページ数 282
3. 書名 歯科臨床における画像診断アトラス 第2版	

1. 著者名 編集：中山英二、森本泰宏 著者：鬼頭慎司他	4. 発行年 2019年
2. 出版社 医学情報社	5. 総ページ数 249
3. 書名 口腔・歯・顎・顔面 ポケット画像解剖	

〔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

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
---------	---------