

機関番号：12102

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23592053

研究課題名(和文)放射光血管造影を用いた転移性肺腫瘍の早期診断の可能性

研究課題名(英文)Early Diagnosis of metastatic lung cancer by synchrotron radiation angiography

研究代表者

榊原 謙 (Sakakibara, Yuzuru)

筑波大学・医学医療系・教授

研究者番号：60192085

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円、(間接経費) 1,170,000円

研究成果の概要(和文)：肺癌の検出は胸部X線か胸部CTで行われているが、高解像度CTで検出できる最小の腫瘍は2～3 mmである。一方、腫瘍の新生血管では物質透過性が高い。これを利用して高空間分解能、高濃度分解能、高時間分解能のHARP撮像管を用いた放射光血管造影を転移性肺腫瘍ラットモデルに応用し、微小肺転移癌の早期診断の可能性について検討した。その結果、径500 μmの腫瘍が確認された。その診断には造影剤の希釈動態の検出が有用であった。

研究成果の概要(英文)：Detection of lung cancer is usually performed by chest X-ray or chest computed tomography scan. Minimal size of suspected lung tumor by high resolution CT scan is around 2 or 3 mm. One of the main features of tumor vessel is enhanced permeability across the vessel wall. By use of this property applying contrast material, we tried to find out small metastatic lung tumors employing synchrotron radiation angiography, which equipped high spatial resolution, high density resolution and high time resolution. Rat model of lung metastatic tumor was created using C6 cells. As a result, tumors around 500 um in diameter were recognized. The diagnosis was made effectively based on time-density attenuation curve in suspected tumors comparing with other vessels or background of lung field.

研究分野：心臓血管外科学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・胸部外科学

キーワード：転移性肺腫瘍 早期診断 放射光血管造影 ラット 造影剤

1. 研究の背景

(1) 腫瘍と血管新生

血管新生と腫瘍の関係について初めて述べたのは、1971年 Folkman である。固形腫瘍が、2~3 mm³ のときは血管新生を欠き、休眠状態にあるが、しばらく低酸素状態が持続すると腫瘍内から低酸素誘導転写因子 HIF-1 を発現し、その下流にある VEGF を発現する。VEGF は血管新生因子であり、VEGF の増加により腫瘍は血管新生を伴い成長し、血行性転移の能力を著しく増すことになる。血行性転移にあたっては、原発性腫瘍に比べてサイズを著しく減少させて肺や肝臓などの毛細血管に定着するが、毛細血管から組織内への侵入と転移先での腫瘍の増大には、VEGF 産生能と腫瘍血管新生能が大きく関わっている。そのため、転移性腫瘍は血管新生能に富み、腫瘍血管の特徴を強く示す腫瘍ということが出来る。また、血中 VEGF 濃度や腫瘍の血管密度は転移や予後に直接関連している。

(2) 腫瘍血管造影の特徴

腫瘍血管の特徴の1つとして、物質透過性 (permeability) が高いことが上げられる。腫瘍血管における VEGF 発現 (VEGF は透過性因子でもある) の亢進も要因の1つであり、また、電子顕微鏡では、腫瘍血管の間隙が観察されている。これらの結果、腫瘍血管における造影剤は、透過性の亢進により腫瘍組織 (間質) に漏出することが考えられ、腫瘍血管造影における腫瘍濃染 (tumor stain) という臨床画像がそれに相当する。

(3) 放射光と放射光血管造影

放射光は、6.5 GeV の高エネルギー電子シンクロトロンより偏向磁石を用いて分離される広帯域、高輝度、高指向性の特徴を有する電磁波であり分光器 (シリコン結晶) に対

し 13 度の角度で反射させることにより、光子エネルギー 33.3 KeV の高輝度な単色 X 線に変換される。単色 X 線は、通常の X 線線源にくらべ 10⁵ 倍の光子密度を有し (高輝度) かつ、可視光のレーザーに匹敵する直進性 (高解像度) を有する。これに対し、ヨード含有非イオン性造影剤を用いた血管造影を行うと、動脈造影で血管径 50 μm の血管まで判別することが可能になった。また、NHK 放送技術研究所が開発した高感度受像管 (HARP 受像管: 通常の CCD の数百倍の感度を有する) を放射光血管造影に用いることにより、さらに高感度、高解像度の画像を得ることができるようになり、基本的には静脈造影である肺動脈造影でも血管径 50 μm の血管も判別可能になった。

(4) 肺腫瘍の画像診断の現状

肺腫瘍の検出は胸部単純 X 線か胸部 CT で行われている。転移性肺腫瘍に多い末梢部腫瘍は直径 2 cm 近くなると腫瘍としての特徴を X 線上に示すようになるが、1 cm に満たない微小癌ではその特徴に乏しく存在を確認するのが精一杯である。そのため、画像診断には、胸部 CT、胸部 MRI、PET が用いられている。MRI は解像度の限界により 10 mm までの腫瘍が対象であり、PET は感受性はよいが、特異性が悪く解像度も低い。最も解像度の高い high resolution CT で検出される最小の腫瘍様陰影は 2~3 mm であるが、多くはその大きさでは確定診断に至らない。

2. 研究の目的

空間分解能、濃度分解能に優れる高感度放射光血管造影を用いて、最小転移性肺腫瘍の検出とその診断の根拠を検討する。

3. 研究の方法

(1) 転移性腫瘍ラットの作成

Sprague Dawley (SD)ラットに、膠芽腫細胞 (C6 cells, 1.0×10^6 /rat、理化学研究所バイオリソースセンター) を外頸静脈から注入し、転移性肺腫瘍モデルを作成する。注入2週間後に放射光肺動脈造影を行う。造影終了直後に、肺を摘出し、連続切片 ($200 \mu\text{m}$) による病理検索 (腫瘍の同定)、抗 VEGF 抗体による免疫組織化学染色を行う。また、放射光肺動脈造影直前に、ラットの胸部 CT (小動物用 CT 装置; ALOKA LaTheta LCT-100) を行い、肺画像を比較する。

(2) 放射光肺動脈造影

放射光血管撮影は、茨城県つくば市の大学共同利用法人、高エネルギー加速器研究機構放射光施設で行われた。放射光施設 (PF リング) の 6.5 GeV の陽電子電子線ビームのシンクロトロンから放出される放射光を、Silicone 反射板を用いて X 線周波数帯に分光し、光子エネルギーレベル 33.3 keV の単色 X 線を得る。これをラットの肺の区画に照射し、透過 X 線を蛍光板にて可視化する。可視光は散乱の少ない方法 (FOP 法もしくは lens coupling 法) で伝達され (photoconduction)、高感度撮像管 (HARP 管) で増幅され映像用カメラで受像される (30 sec/frame)。視野は $25 \times 16 \text{ mm}$ 。

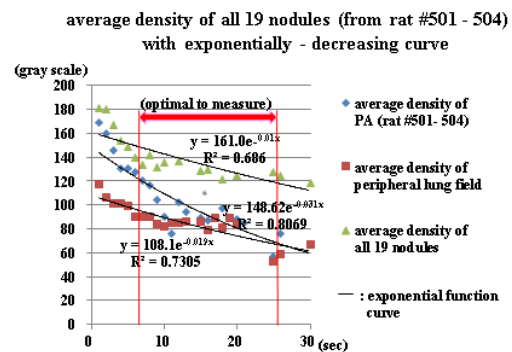
4. 研究成果

(1) 腫瘍様腫瘍の画像上の確認

腫瘍細胞 (C6 cell) を投与し、放射光肺動脈造影を行った 4 匹の左肺野に 19 カ所の腫瘍を疑う陰影が検出された。その検出にあたり、濃度 時間減衰曲線が有用であった (Fig-1)。腫瘍を疑う 19 カ所の陰影では、造影剤の wash out による減衰が遅延し、他の部位と明瞭に区別することができた。この腫瘍様陰影のサ

イズは、平均 $621 \pm 193 \mu\text{m}$ であった。血管造影前に施行されたラット胸部 CT scan では、肺動脈のみが確認され、腫瘍様陰影は確認されなかった。

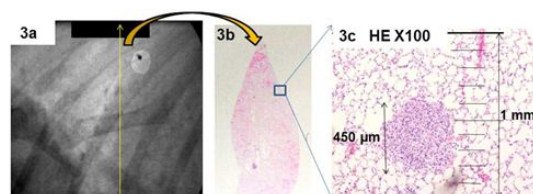
Fig-1 (濃度 時間減衰曲線): 腫瘍を疑う腫瘍では、20 秒以上にわたって、肺動脈分画や肺野 (末梢血管領域) に比較して造影剤減衰が遅延する。



(2) 病理所見から見た腫瘍所見

撮像された肺の連続切片からは、17 カ所の腫瘍組織が検出された。その平均サイズは、 $235 \pm 146 \mu\text{m}$ であった。腫瘍組織は、核の異形成が強く血管組織に富んでいた。VEGF の免疫組織化学染色を行うと、腫瘍血管壁 (血管内皮細胞) および近傍の間質では VEGF の発現が増強していた。血管造影と病理標本における平均サイズの相違については、病理標本では固定処理により収縮する傾向にあること、呼吸する肺の画像では含気の影響があること、腫瘍血管では、透過性の亢進により造影剤が漏出し、腫瘍境界が拡大して見えること、などが理由として考えられる。

Fig-2 撮像された腫瘍像と病理所見との対比



(3) 微小転移性腫瘍の診断に有用な画像を得るための撮像器の性能について

微小な腫瘍の血管透過性の相違に着目して、500 μm 程度の転移性腫瘍を診断するためには、高空間分解能、高濃度分解能、一定の時間分解能が必要である。撮像システムの現在の諸指標について表 1 にまとめた。

表 1 現行の高感度放射光血管造影の性能

機能	性能(現行)	機器(現行)
高い空間分解能	16 line pairs 以下	放射光線源
高い濃度分解能	256 gray scale 以上	HARP撮像管
一定の時間分解能	30 msec/frame	血管造影システム(カメラ機能)

結論

放射光血管造影では、径 500 μm の転移性肺腫瘍をラットモデルで見いだすことができた。その診断の根拠は、単に腫瘍の X 線吸収像でなく、腫瘍血管の血管透過性の相違に着目した微小腫瘍血管の造影剤減衰の時間経過(遅延)であった。

6. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 2 件)

H. Ito, S. Matsushita, K. Hyodo, H. Tsurushima, Y. Sato, Y. Sakakibara: Focusing on delayed clearance for identifying small-sized metastatic lung tumors using synchrotron radiation angiography with a highly sensitive receiver. Gen Thorac Cardiovasc Surg. 2014, in press. 査読あり。

H. Ito, S. Matsushita, K. Hyodo, Y. Sato, Y. Sakakibara: Analysis of pulmonary peripheral perfusion by synchrotron radiation micro-angiography with high sensitive receiver in pulmonary emphysema rat model. Journal of Synchrotron Radiation Vol.20, 2013, 376-382 査読

あり。

[学会発表](計 2 件)

伊藤 博道、松下 昌之助、淀縄 聡、吉田 進、菊池 慎二、井口 けさ人、後藤 行延、酒井 光昭、鬼塚 正孝、佐藤 幸夫、徳永 千穂、坂本 裕昭、榊原 謙；高感度放射光血管造影を用いた微小転移性肺腫瘍の診断 .第 65 回日本胸部外科学会定期学術集会、2012 年 10 月 19 日、福岡国際会議場、福岡
 徳永 千穂、坂本 裕昭、相川 志都、榎本 佳治、佐藤 藤夫、金本 真也、野間 美緒、松下 昌之助、平松 祐司、榊原 謙：高肺血流性肺高血圧ラットにおける高感度放射光微小血管撮影法を用いた肺動脈造影と肺動脈 velocity の計測、第 64 回日本胸部外科学会定期学術集会、2011 年 10 月 12 日、名古屋国際会議場、名古屋

6. 研究組織

- (1) 榊原 謙 (SAKAKIBARA YUZURU)
筑波大学・医学医療系・教授
研究者番号：60192085
- (2) 野口 雅之 (NOGUCHI MASAYUKI)
筑波大学・医学医療系・教授
研究者番号：00198582
- (3) 佐藤 幸夫 (SATO YUKIO)
筑波大学・医学医療系・教授
研究者番号：10312844
- (4) 松下 昌之助 (MATSUSHITA SHONOSUKE)
筑波技術大学・保健科学部・教授
研究者番号：70359579
- (5) 酒井 光昭 (SAKAI MITSUAKI)
筑波大学・医学医療系・講師
研究者番号：60375508
- (6) 兵藤 一行 (HYODO KAZUYUKI)
高エネルギー加速器研究機構・物質構造科学研究所・准教授
研究者番号：60201729