

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年4月10日現在

機関番号：17301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2012

課題番号：23659881

研究課題名（和文）HYPOXIAトレーサーを用いたリンパ節転移節外進展早期診断の試み

研究課題名（英文）Effective detection of extranodal spread-positive squamous cell carcinoma nodes using hypoxia tracer

研究代表者

中村 卓 (NAKAMURA TAKASHI)

長崎大学・大学院医歯薬学総合研究科・教授

研究者番号：30172406

研究成果の概要（和文）：頭頸部がん患者から得られた節外進展(28個)を有する転移リンパ節(28個)とENSを有しないリンパ節(26個)を対象としてMRおよび超音波画像データと摘出リンパ節病理組織像とを比較したところ、ENS陰性の転移リンパ節と比べて、ENS陽性転移リンパ節は、より大きく($21 \pm 9\text{mm}$ VS $14 \pm 4\text{mm}$)、US上の転移リンパ節外形の不規則さの出現頻度も高く、(75名 VS 12名)、MR上、境界消失、フレアー、およびきょし状辺縁のそれぞれのサインの出現率も高かった(93名,89名,および82名 VS 46名,19名,および19名)。また、ENS陽性転移リンパ節では低酸素分圧によって生じた繊維化を示唆する低エコー領域が多く認められた。MRとUSを比較すると、USはMRと同等の診断能を有していることも明らかになった(感度、特異度および精度=82名,89名,85名 VS.89名,81名,85名)。これらの結果により、USとMRはリンパ節節外進展の早期診断に有用との結論を得た。

研究成果の概要（英文）：US and MR imaging was retrospectively evaluated for differentiating ENS-positive ($n = 28$) from ENS-negative ($n = 26$) SCC nodes (>10 mm short-axis diameter) in 50 patients with head and neck SCCs. The nodal sizes of ENS-positive nodes (21 ± 9 mm) were significantly larger than those of ENS-negative SCC nodes (14 ± 4 mm) ($p < 0.001$). Irregular nodal margins were more frequently observed in ENS-positive SCC nodes (75%) than in ENS-negative SCC nodes (12%). The vanishing nodal margin, flare, and shaggy nodal margin signs were more frequently observed in ENS-positive SCC nodes (93%, 89%, and 82%, respectively) than in ENS-negative nodes (46%, 19%, and 19%, respectively). A combination of size (≥ 22 mm) and imaging criteria (irregular margin or flare sign) best discriminated ENS-positive SCC nodes with 82% sensitivity, 89% specificity, and 85% accuracy for US and 89% sensitivity, 81% specificity, and 85% accuracy for MR imaging. We conclude that US and MR imaging is useful for the effective detection of ENS-positive nodes in the neck of patients with head and neck SCCs.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	2,700,000	810,000	3,510,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：病態科学系歯学・歯科放射線学

キーワード：HYPOXIA、リンパ節転移節外進展

1. 研究開始当初の背景

がん原発巣では、その内部できわめて酸素分圧の低い領域が生じ、その周囲の組織では壊死が進む。しかしながら、一部のがん細胞は生き残り成長を続ける。一般に、hypoxia 状況下で生き残っているがん細胞は放射線療法や化学療法に対し抵抗性で、しかもより悪性度の高いがん細胞であると考えられている。このため原発巣内が hypoxia 状況下にあることは患者の予後に重大な影響を及ぼすことになる。さらに、原発巣での hypoxia はがん細胞の遠隔転移を誘発する可能性のあることが最近報告されており、こうした場合さらに患者の予後を悪化させる原因となる。一方、リンパ節へ転移したがん細胞はそこでも分裂を繰り返し、やがて、リンパ節の被膜を壊してリンパ節外へと進展していく（左図矢印）。この節外進展も、局所再発やさらなる遠隔臓器への転移を引き起こすため、患者の予後を大きく悪化させる結果となる。術前に節外進展の有無を知ることは従って、患者の予後を予測する上で重要な要素である。われわれは最近になって、術前での節外進展の診断には、MRI を用いると比較的よい結果が得られることを報告した（AJNR 29:1335-1359,2008）。しかしながらこの方法では、がん細胞塊がすでに大きく節外に進展した転移リンパ節を画像でとらえることができるのみで、節外進展する前のリンパ節はおろか、被膜をわずかに超える程度の節外進展でさえもこれをとらえることは不可能で

あった。Hypoxia の画像化についてはまだ確たる技術がなく、リンパ節を対象とした研究成果はこれまでも公表されていない。

2. 研究の目的

がん原発巣では、その内部できわめて酸素分圧の低い領域が生じ、その周囲の組織では壊死が進む。しかしながら、一部のがん細胞は生き残り成長を続ける。一般に、hypoxia 状況下で生き残っているがん細胞は放射線療法や化学療法に対し抵抗性で、しかもより悪性度の高いがん細胞であると考えられている。このため原発巣内が hypoxia 状況下にあることは患者の予後に重大な影響を及ぼすことになる。さらに、原発巣での hypoxia はがん細胞の遠隔転移を誘発する可能性のあることが最近報告されており、こうした場合さらに患者の予後を悪化させる原因となる。本研究の目的は、がんリンパ節転移の発症と進展、とくに転移がん細胞の節外進展（extranodal spread, ENS）において、リンパ節内酸素分圧低下（hypoxia）が重要な決定要素となっている証拠を提出し、さらに転移リンパ節におけるhypoxia現象を画像で明示する技術を開発することである。

3. 研究の方法

平成23年度は研究目的の項で述べたように、研究計画の骨子は（1）SPECT用低酸素分圧トレーサー（^{99m}Tc-HL-91）の作成、ならびに^{99m}Tc-HL-91をがんリンパ節転移モデルマウスへ応用する際の使用条件の策定、お

および(2) 99mTc-HL-91 SPECT ならびに FDG PET を併用することによるがんのリンパ節転移発生から節外進展に亘る一連の経時的変化の画像化、である。本研究では項目(1)を実施するよう計画している。

具体的な計画内容については、以下の項目に示す。

- ①99mTc-HL-91SPECT トレーサーの作成
- ②HL-91 の標識
- ③シンチグラフィ撮像条件の策定
- ④リンパ節転移モデルマウス

平成 24 年度は、前年度で決定した SPECT/PET 撮像条件を使って、リンパ節転移発生から節外進展までの経過に沿ってリンパ節内の hypoxia 状況を解析する。さらに、撮像直後に摘出した膝下リンパ節における低酸素関連タンパク質の発現様式と比較検討することで、SPECT/PET をつかった hypoxia 評価の正当性を論じたい。

18F-FDG PET と 99mTc-HL-91 SPECT とは検出するエネルギーが大きく異なるため同時に撮像が可能である。なお、リンパ節摘出は撮像翌日に実施し、パラフィンに包埋後、免疫組織染色のために薄切(4-6 mm)切片を作成する。これらの作業、およびリンパ節パラフィン切片作成並びに免疫組織染色・解析過程はすべて当大学アイソトープセンターにて行う。

4. 研究成果

まず、本年度は頭頸部がん患者 MR 画像データと摘出リンパ節病理組織標本との比較を行った。

対象は、43名の頭頸部がん患者よりえられた54個の転移リンパ節で、このうち26個は節外進展(extranodal spread, ENS)が病理にて確認できた転移リンパ節、残りの28個はENSが確認できなかったものである。これらのリンパ節について、造影後のリンパ

節の時間—MR 信号強度曲線(time-intensity curve, TIC) 解析をおこない、得られた結果をコンピュータ解析にてピクセルごとに4つのパターン(flat, slow uptake, rapid uptake with low washout ratio, rapid uptake with high washout ratio)に分類し、それぞれのパターンが転移リンパ節全体に占める面積の割合を計算した(MR ファクター解析)。また、転移リンパ節の大きさ(短形および長径)も MR 画像上にて測定し、ENS を予測する因子として解析に加えた。

多変量解析(multivariate logistic regression analysis)により、リンパ節の短径と TIC パターンのうち、slow uptake pattern のみが ENS の存在を予測し得るという結果となった。すなわち、リンパ節が 25 mm 以上の短径をもつか、あるいは slow uptake TIC パターンを示す部分が転移リンパ節全体の 44% を超える場合、その転移リンパ節には ENS があると 96% の sensitivity、100% の specificity、および 98% の accuracy で予測できた。病理組織蔵を見ていくと、TIC 解析にて slow uptake パターンをしめすのは、転移リンパ節のなかでリンパ節皮膜が断裂した部分の近傍に観察できる線維成分に富んだ組織(fibrous tissue)であることがわかった。この線維性組織の中には比較的小さな癌泡巣が散在していた。

以上の結果は、TIC 解析を加えることにより、ENS の診断精度が飛躍的に高くなることを示唆している。また、slow uptake TIC パターンと ENS との関連が示唆されたが、このことは、この TIC パターンを持つ転移がん組織は非常に aggressive な組織である可能性がある。さらに、このパターンを持つ転移がん組織では低酸素状態に陥っていると考えられる。リンパ節中の転移がん組織では一部低酸素分圧状況にあり、そのことが癌細胞の

悪性を助長し、皮膜を破ってリンパ節外に進展している可能性があると考えた。

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2件)

① Sumi M, Nakamura T, Extranodal spread in the neck: MR imaging detection on the basis of pixel-based time-signal intensity curve analysis, J Magn Reson Imaging, 査読有、33巻、2011、830-838、DOI 10.1002/jmri.22454

② Katayama I, Sasaki M, Kimura Y, Hotokezaka Y, Eida S, Tashiro S, Sumi M, Nakamura T, Comparison between ultrasonography and MR imaging for discriminating squamous cell carcinoma nodes with extranodal spread in the neck, Eur J Radiol, 査読有、81巻、2012、3326-3331、DOI 0.1016/j.ejrad.2012.06.018

[学会発表] (計2件)

① 中村 卓、頸部22218: 胞性病変・膿瘍のADC、日本歯科放射線学会 第31回関西・九州合同地方会、2011年12月10日、今池ガスビル7階B会議室

② 中村 卓、cPLA2 コンディショナル・ノックアウトマウスの作成、日本歯科放射線学会 第31回関西・九州合同地方会、2011年12月10日、今池ガスビル7階B会議室

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中村 卓 (NAKAMURA TAKASHI)
長崎大学・大学院医歯薬学総合研究科・教授
研究者番号：30172406

(2) 研究分担者

角 美佐 (SUMI MISA)
長崎大学・大学院医歯薬学総合研究科・准教授
研究者番号：90284702

佛坂 由可 (HOTOKEZAKA YUKA)
長崎大学・大学病院・講師
研究者番号：10244089

片山 郁夫 (KATAYAMA IKUO)
長崎大学・大学病院・助教
研究者番号：80295089

田川 一夫 (TAGAWA KAZUO)
長崎大学・大学病院・診療放射線技師
研究者番号：00380931

佐々木 美穂 (SASAKI MIHO)
長崎大学・大学病院・助教
研究者番号：10437874

柴田 智 (EIDA SATO)
長崎大学・大学院医歯薬学総合研究科・助教
研究者番号：80325662

市川 陽子 (ICHIKAWA YOKO)
長崎大学・大学病院・助教
研究者番号：90380857

(3) 連携研究者
該当なし