

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 31 日現在

機関番号：37114

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2012～2015

課題番号：24592855

研究課題名(和文) 超音波ドプラ画像の血管分布・走行を定量化した頭頸部癌の診断基準の作成

研究課題名(英文) Quantitative diagnostic criteria for oral cancer using Doppler ultrasonigraphy

研究代表者

湯浅 賢治 (Yuasa, Kenji)

福岡歯科大学・歯学部・教授

研究者番号：40136510

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：舌癌の超音波ドプラ像を定量解析し、腫瘍の悪性度や頸部リンパ節転移との関連を評価することを目的とした。定量解析するために以下の指標を作成した。1. 腫瘍内部を占める血流信号の割合(BAR) 2. 腫瘍辺縁における血流貫通部位数の割合(BNR) 3. 腫瘍辺縁における血流貫通域の割合(BWR)。BNRとBWRは頸部リンパ節転移の有する症例で有意に高値を示した。悪性度の高い症例は有意にBWRが高値であった。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study is to quantitatively evaluate the relationship of vascularity of tongue cancer on intraoral US images with pathological grade of malignancy and presence of cervical lymph node metastases. Eighteen patients with tongue cancer were enrolled in this study. Using Doppler US images of the invasion front of the cancers along the length of their tumor boundaries, three vascular indexes were analyzed, namely ratio of blood flow signal area within the cancer to whole tumor area (BAR), blood flow signal number ratio (BNR), and blood flow signal width ratio (BWR). The associations between these three indexes and occurrence of cervical lymph node metastasis and pathological grade of malignancy were assessed. The BNR and BWR of patients with cervical lymph node metastasis were significantly higher than those of patients without nodal involvement. The BWR of patients with high grade malignancy were significantly higher than those of patients with low grade malignancy.

研究分野：画像診断学

キーワード：超音波ドプラ法 舌癌 口腔癌 頸部リンパ節転移 悪性度

### 1. 研究開始当初の背景

口腔内超音波法は非侵襲的でありかつ簡便な検査法である。舌癌の評価にも有用な検査法であり、超音波画像上における舌癌の深達度は頸部リンパ節転移を予測するのに有用であると報告されている。また、超音波画像上における舌癌の浸潤最深部 (invasion front) の腫瘍辺縁の複雑度は病理組織学的悪性度と関連すると報告されている。しかしながら、ほとんどの報告が B モード超音波画像における形態的評価である。

腫瘍増殖による血管増生は、腫瘍の発育や転移に対する重要な因子である。血管増生を引き起こす血管内皮細胞増殖因子の強い発現は、頭頸部扁平上皮癌患者の病期や生存率と関連している。また、口腔扁平上皮癌において、強い血管増生や病理組織学的悪性度は頸部リンパ節転移の発現と強く関連している。shinozaki らは超音波ドプラ像における高い血管新生が頸部リンパ節転移発現に強く関連していると述べている。しかしながら、舌扁平上皮癌の invasion front の超音波ドプラ像を定量的分析した報告はない。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、口腔扁平上皮癌の超音波ドプラ像を定量的に分析し、病理組織学的悪性度や頸部リンパ節転移の発現との関連を評価することを目的とした。

### 3. 研究の方法

#### 対象症例

2012年4月～2014年10月に本院を受診し超音波検査を行った全21例の舌癌患者(扁平上皮癌19例、疣状癌2例)をretrospectiveな評価の対象とした。しかし、非常に表層に存在するために超音波ドプラ法で血流が描出できなかった疣状癌2例および超音波ドプラ像のノイズが多いために画像評価できない扁平上皮癌1例を評価から除外し、18例を本研究の対象とした。対象症例の内訳は、男性16例、女性2例であり、年齢分布は26歳～90歳(中央値60.5歳)であった(表1)。

なお、対象患者に対しては、病院 website に掲示し、患者への説明および同意を得た。

病理組織学的悪性度の評価は、Yamamoto-Kohama (YK) 分類を用いた。YK-1の患者はいなかった。YK-2は6例、YK-3は9例、YK-4Cは3名でありYK-4Dはいなかった。

術前のCTおよび超音波検査で、18例中7例に頸部リンパ節転移が疑われ、頸部郭清術が施行された。これら7例のうち6例において病理組織学的に頸部リンパ節転移が認められた。他の11例は術前のCTおよび超音波検査では転移リンパ節を疑う所見は認められなかった。

経過観察期間は12～41ヶ月(中央値:26ヶ月)であり、6例に後発転移が出現した。これら6例の内3例は、初診時はN0症例であった。他の3例は初回手術時に頸部郭清術を施

行され、pN1またはpN2Bであった。これらの3例は反対側に後発転移が出現した。なお、全症例において術前の放射線照射は施行されていない。

#### 超音波検査法

口腔超音波検査は、Sequoia 512 (Acuson Mountain View, CA, USA)を用いて行った。Bモードの周波数は12MHz、gainは80dBであった。パワードプラモードの周波数は10MHz、流速スケールは0.013m/sec、CD gainは40dBであった。

口腔超音波検査は、エコージェリーをプローブ表面に塗り、クリンラップで覆った。プローブの走査は、舌を術者が軽く伸展させ舌の長軸方向に行った。できるだけ舌に圧をかけないように走査を行い、Bモード法とドプラ法においた腫瘍の最大断層面を撮像した。さらに、3秒間のドプラの動画(40静止画像で構成)を撮像した。口腔超音波検査は3人の放射線科医が行った。

#### 口腔超音波画像の分析

すべての超音波画像はDICOMデータとして蓄積され、PSCS (Centricity PACS SE-J; GE Healthcare, Milwaukee, WI, USA)で管理した。PACSのサーバーからCD-R経由でPCに移行し、Image J (NIH, Bethesda, MD, USA)を用いてDICOMからTIFFに変換した。舌癌の深達度はBモード画像上で計測した。

ドプラ画像は3つのindexを用いて定量的に評価を行った。これらのindexは腫瘍の血流量を評価したものであり、以下の手順で分析を行った。1. ドプラ画像上の血流信号からノイズを除去し真の血流信号の抽出を行った(図1A-D)。ドプラ画像上で不規則に点滅している信号をノイズと定義した。しかし、黄色から赤へと連続的に描出されているドプラ信号の原画像からは、ノイズ信号の除去は困難であるため、原画像(256階調)を64階調のカラー画像へ変換した。この画像は黄色から赤への8-12段階で描出されている。ノイズ信号は2-4段階の信号であったので、これらの除去することにより真のドプラ信号の抽出を行った。2. Yamaneらによって開発されたCADシステムを用いて腫瘍のinvasion frontの辺縁の抽出をBモード画像上で行った(図1E-H)。まず、フィルターを用いてBモード画像上のノイズの除去を行った(図1E, F)。次に、画像の2値化を行った(図1G)。最後に、Laplacian filterを用いて辺縁の抽出を行った(図1H)。3. 上記の方法で抽出した真の血流信号を辺縁抽出画像と重ね合わせた(図1I)。4. 舌癌の血流像の定量的分析を行うために以下の3つのindexを考案した(2A, B)。Blood Area signal Ratio (BAR): 舌癌の最大断層面における単位面あたりの血流信号領域面積の割合。Blood Number signal Ratio (BNR): 舌癌のinvasion frontの辺縁の単位長さ当たりの辺縁を突き抜ける血流信号の数。Blood Width signal Ratio (BWR): 舌癌の

invasion front の辺縁の単位長さ当たりの辺縁を突き抜ける血流信号の幅。

図 1

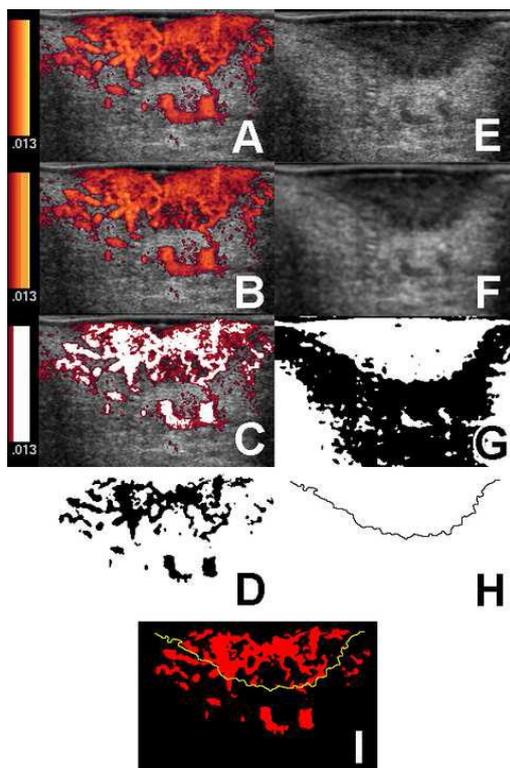


図 2



#### 病理組織学的悪性度の評価

病理組織学的悪性度の評価は、YK 分類を用いた。ヘマトキシリン染色を行い、口腔病理医を含む 2 人で評価を行った。

YK-4C および YK-4D は YK-1-3 に比して、腫瘍の再発や頸部リンパ節転移に対して強いリスクファクターであると報告されているので、本研究では YK-4 と YK-1-3 の 2 つのグループに分けて分析を行った。

#### 統計学的処理

統計処理は JMP11(SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)を用いた。Mann-Whitney U-test で  $p$ -value  $< 0.05$  を有意差ありとした。ROC 分析を用いて、頸部リンパ節転移の予測の診断能を算出した。

#### 4. 研究成果

超音波画像上の腫瘍の深達度と頸部リンパ節転移発現および病理組織学的悪性度との関連

YK-4C であった患者の深達度は 3-17mm (中央値: 10mm)、YK-2C または YK-3 であった患者

の深達度は 2-19mm (中央値: 6mm) であり、統計学的有意差は認められなかった ( $p = 0.2104$ )。

頸部リンパ節転移が発現した患者の深達度は 3-19mm (中央値: 10mm)、頸部リンパ節転移が発現しなかった患者の深達度は 2-19mm (中央値: 5.5mm) であり、統計学的有意差は認められなかった ( $p = 1.0000$ )。

#### BAR と頸部リンパ節転移発現および病理組織学的悪性度との関連

頸部リンパ節転移が発現した 9 名の患者の BAR は 3.82-57.72% (中央値: 21.11%)、頸部リンパ節転移が発現しなかった 9 名の患者の BAR は 0-89.49% (中央値: 10.12%) であり、統計学的有意差は認められなかった ( $p = 0.4265$ )。

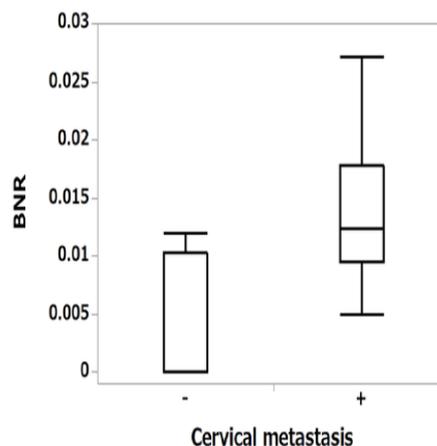
YK-4C であった患者の BAR は 5.36-41.70% (中央値: 9.36%)、YK-2C または YK-3 であった患者の BAR は 0-89.49% (中央値: 19.90%) であり、統計学的有意差は認められなかった ( $p = 1.0000$ )。

#### BNR と頸部リンパ節転移発現および病理組織学的悪性度との関連 (図 3)

頸部リンパ節転移が発現した 9 名の患者の BNR は 0.005-0.0272 (中央値: 0.0124)、頸部リンパ節転移が発現しなかった 9 名の患者の BNR は 0-0.012 (中央値: 0) であり、統計学的有意差が認められた ( $p = 0.0057$ )。

YK-4C であった患者の BNR は 0.005-0.0272 (中央値: 0.0117%)、YK-2C または YK-3 であった患者の BNR は 0-0.0185 (中央値: 0.00945) であり、統計学的有意差は認められなかった ( $p = 0.4020$ )。

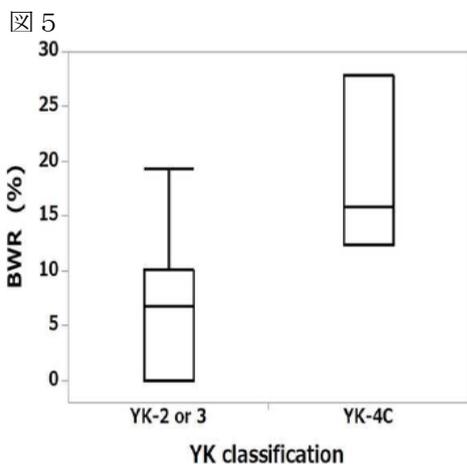
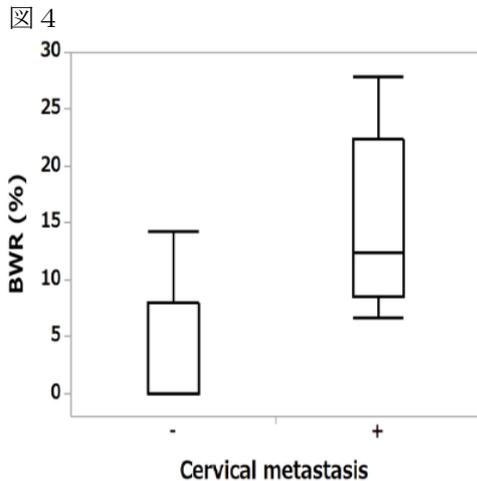
図 3



#### BWR と頸部リンパ節転移発現および病理組織学的悪性度との関連 (図 4、5)

頸部リンパ節転移が発現した 9 名の患者の BNR は 6.6-27.9% (中央値: 12.4%)、頸部リンパ節転移が発現しなかった 9 名の患者の BNR は 0-14.3% (中央値: 0%) であり、統計学的有意差が認められた ( $p = 0.0043$ )。

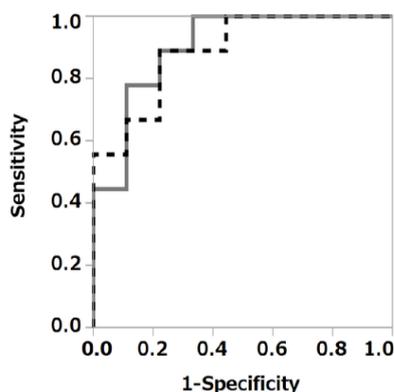
YK-4Cであった患者のBNRは12.4-27.9%(中央値:15.8%)、YK-2CまたはYK-3であった患者のBNRは0-25.5%(中央値:6.8%)であり、統計学的有意差が認められた( $p = 0.0418$ )。



ROC分析(図6)

BNRとBWRを用いた頸部リンパ節転移を予測する診断能のROC分析を行った。BNRとBWRのAUCはそれぞれ0.889と0.901であった。BNRにおいてカットオフを0.0943とすると感度は88.9%、特異度は77.9%であった。BWRにおいてカットオフを6.6%とすると感度は100%、特異度は66.7%であった。

図6



以上の結果より、本研究で考案した超音波ドプラ画像上の血流信号の定量的指標であるBNRとBWRは、頸部リンパ節転移の発現の予測を行う上で有用であるとともに、病理組織学的悪性度を推定する上でも有用であると考えられる。

〈引用文献〉

- ① Helbig M, Flechtenmacher C, Hansmann J, Dietz A, Tasman AJ. Intraoperative B-mode endosonography of tongue carcinoma. *Head Neck* 2001; 23:233-7.
- ② Yamane M, Ishii J, Izumo T, Nagasawa T, Amagasa T. Noninvasive quantitative assessment of oral tongue cancer by intraoral ultrasonography. *Head Neck* 2007; 29:307-14.
- ③ Kaneoya A, Hasagawa S, Tanaka Y, Omura K. Quantitative analysis of invasive front in tongue cancer using ultrasonography. *J Oral Maxillofac Surg* 2009; 67:40-6.
- ④ Chammam MC, Macedo TAA, Moyses RA, Gerhard R, Durazzo MD, Cernea CR, et al. Relationship between the appearance of tongue carcinoma on intraoral ultrasonography and neck metastasis. *Oral Radiol* 2011; 27:1-7.
- ⑤ Shinozaki Y, Jinbu Y, Ito H, Noguchi T, Kusama M, Matsumoto N, et al. Relationship between appearance of tongue carcinoma on intraoral ultrasonography and histopathologic findings. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol* 2014; 117:634-9.
- ⑥ Yamamoto E, Miyakawa A, Kohama G. Mode of invasion and lymph node metastasis in squamous cell carcinoma of the oral cavity. *Head Neck* 1984; 6:938-47.
- ⑦ Byers RM, El-Naggar AK, Lee YY, Rao B, Fornage B, Terry NHA, et al. Can we detect or predict the presence of occult nodal metastases in patients with squamous carcinoma of the oral tongue? *Head Neck* 1997; 20:138-44.
- ⑧ Hayashi T, Ito J, Taira S, Katsura K. The relationship of primary tumor thickness in carcinoma of the tongue to subsequent lymph node metastasis. *Dentomaxillofac Radiol* 2001; 30:242-5.
- ⑨ Ellis LM, Fidler IJ. Angiogenesis and Metastasis. *Eur J Cancer* 1996; 32:2451-60.
- ⑩ Kyzas PA, Stefanou D, Batistatou A, Agnantis NJ. Prognostic significance

- of VEGF immunohistochemical expression and tumor angiogenesis in head and neck squamous cell carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol* 2005; 131:624-30.
- ⑪Hannen EJM, Riediger D. The quantification of angiogenesis in relation to metastasis in oral cancer: a review. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2004; 33:2-7.
- ⑫Schimming R, Reusch P, Kushnierz J, Schmelzeisen R. Angiogenic factors in squamous cell carcinoma of the oral cavity: do they have prognostic relevance? *J Craniomaxillofac Surg* 2004; 32:176-81.
- ⑬Okada Y. Relationships of cervical lymph node metastasis to histopathological malignancy grade, tumor angiogenesis, and lymphatic invasion in tongue cancer. *Odontology* 2010; 98:153-9.
- ⑭Yamamoto E, Kohama G, Sunakawa H, Iwai M, Hiratsuka H. Mode of invasion, Bleomycin sensitivity, and clinical course in squamous cell carcinoma of the oral cavity. *Cancer* 1983;51:2175-80.
- ⑮Rasband WS. ImageJ, U. S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA, <http://rsb.info.nih.gov/ij/>, 1997-2012.
- ⑯Schneider CA, Rasband WS, Eliceiri KW. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nat Methods* 2012; 9: 671-5
- ⑰Abramoff MD, Magelhaes PJ, Ram SJ. Image Processing with ImageJ. *Biophotonics International* 2004; 11. 7:36-42.
- ⑱Otsu N. A threshold selection method from gray-level histograms. *IEEE Trans Syst Man Cybern* 1979; 9: 62-6.
- ⑲Jakobsson PA, Eneroth CM, Killander D, Moberger G, Martensson B. Histologic classification and grading of malignancy in carcinoma of the larynx. *Acta Radiol Ther Phys Biol* 1973; 12:1-8.
- ⑳Willen R, Nathanson A, Moberger G, Anneroth G. Squamous cell carcinoma of the gingiva. Histological classification and grading of malignancy. *Acta Otolaryngol* 1975; 79: 146-54.
- ㉑Tewari M, Rai P, Singh GBIR, Kumar M, Shukla HS. Long-term follow-up results of Nd: YAG laser treatment of premalignant and malignant (stage I) squamous cell carcinoma of the oral cavity. *J Surg Oncol* 2007; 95:281-5.
- ㉒Tanaka K, Endo K, Nakamura K, Sakamoto T, Moroyama T, Yoshiga K. Clinicostatistical investigation on the cervical lymph node metastasis of oral malignant tumor. *Jpn J Oral Maxillofac Surg* 1988; 34:872-8.
- ㉓Umeda M, Omori A, Yokoo S, Teranobu O, Nakanishi K, Shimada K. A clinicopathological study of secondary neck metastasis of oral squamous cell carcinoma. *Jpn J Oral Maxillofac Surg* 1991; 37:143-51.
- ㉔Kurokawa H, Murata T, Yamashita Y, Miura K, Tokudome S, Yoshikawa T, et al. Clinicopathological evaluation of secondary cervical lymph node metastasis in oral squamous cell carcinoma. *Jpn J Oral Maxillofac Surg* 1997; 43:661-6.
- ㉕Kirita T, Okabe S, Yagihara K, Matsuki K, Endoh T, Matsuki S, et al. Secondary cervical lymph node metastases of squamous cell carcinoma of the head and neck. *Jpn J Oral Maxillofac Surg* 1993; 39:1320-9.
- ㉖Harada H, Tei K, Makino S, Satoh A, Hanzawa M, Yamashita T, et al. Mode of metastasis and treatment outcome of patients with secondary cervical lymph node metastases. *Jpn J Oral Maxillofac Surg* 1998; 44:508-10.
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)
- ①Chika Yamamoto, Kenji Yuasa, Kazuhiko Okamura, Tomoko Shiraishi and Kunihiro Miwa, Vascularity as assessed by Doppler intraoral ultrasound around the invasion front of tongue cancer is a predictor of pathological grade of malignancy and cervical lymph node metastasis. *Dentomaxillofacial Radiology*, 査読あり、45, 2016 in press.
- ②Tomoko Shiraishi, Toru Chikui, Daisuke Inadomi, Marie Hashimoto, Chika Horio, Toyohiro Kagawa, Kunihiro

Miwa, Kenji Yuasa. MRI findings of extranodal malignant lymphoma and squamous cell carcinoma in the head and neck regions, Oral Radiol, 査読あり、32, 2015. 98-104

[学会発表] (計4件)

- ①湯浅賢治、香川豊宏、三輪邦弘、白石朋子。経過観察中における頸部リンパ節の超音波診断。第34回日本口腔腫瘍学会、2016年1月、横浜
- ②堀尾千佳、三輪邦弘、白石朋子、岡村和彦、湯浅賢治。口腔内超音波検査法における舌悪性腫瘍ドプラ像の定量的解析。第33回日本口腔腫瘍学会、2015年1月、奈良
- ③Marie Hashimoto, Tomoko Shiraishi, Kunihiro Miwa, Kenji Yuasa. Characteristic findings of MRI and US for differentiating malignant from benign salivary gland tumors. The 10th Asian Congress of Oral and Maxillofacial Radiology. Bali-Indonesia, November 20 - 22, 2014.
- ④Tomoko Shiraishi, Toru Chikui, Marie hashimoto, Kenji Yuasa. Imaging findings of extranodal malignant lymphoma (ML) in the head and neck region. The 10th Asian Congress of Oral and Maxillofacial Radiology. Bali-Indonesia, November 20 - 22, 2014.

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

○取得状況 (計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

[その他]

ホームページ等

## 6. 研究組織

(1) 研究代表者

湯浅 賢治 (Yuasa Kenji)  
福岡歯科大学・口腔歯学部・教授

研究者番号：40136510

(2) 研究分担者

香川 豊宏 (Kagawa Toyohiro)  
福岡歯科大学・口腔歯学部・准教授

研究者番号：00258592

三輪 邦弘 (Miwa Kunihiro)  
福岡歯科大学・口腔歯学部・講師

研究者番号：10136509

筑井 (白石) 朋子 (Chikui (Shiraishi) Tomoko)

福岡歯科大学・口腔歯学部・助教

研究者番号：80580472

堀尾 (山本) 千佳 (Horio (yamamoto) Chika)

福岡歯科大学・口腔歯学部・医員

研究者番号：20636584

(3) 連携研究者

( )

研究者番号：