

論文要旨等報告書

氏	哇坪 輝寿
授与した学位	博士
専攻分野の名称	歯学
学位授与の番号	博 甲 第 3 8 2 6 号
学位授与の日付	平成 2 1 年 3 月 2 5 日
学位授与の要件	医歯薬学総合研究科病態制御科学専攻(学位規則第4条第1項該当)
学位論文題名	Dynamic contrast-enhanced magnetic resonance imaging for estimating tumor proliferation and microvessel density of oral squamous cell carcinomas(口腔扁平上皮癌におけるDynamic contrast-enhanced MRIを用いた腫瘍増殖能、微小血管密度の評価)
論文審査委員	教授 佐々木 朗 准教授 高木 慎 教授 浅海 淳一

学位論文内容の要旨

緒言

近年、口腔扁平上皮癌の腫瘍血管新生や腫瘍増殖能と転移の関連性について免疫組織学的に評価した報告がある。乳癌、胃癌、甲状腺癌などの他臓器においても腫瘍血管新生が予後予測因子として有用であるという報告があり、酵素抗体反応を用いて免疫組織学的に細胞増殖能を評価するPCNAや血管内皮細胞マーカーであるCD34が口腔扁平上皮癌や乳癌、肝細胞癌などの増殖能や転移に関連があると明らかにされている。

また、口腔癌の画像診断には、解剖学的な形態や質的診断に優れたMRIが広く用いられている。最近では、更に機能的な情報を得るMRIの撮像法も併用されるようになってきた。この機能的な検査のひとつであるdynamic contrast-enhanced MRI(ダイナミックMRI)を用いることにより、病変への造影剤の取り込み・排出を観察し、婦人科領域では腫瘍の良悪性の鑑別が可能であると報告されている。そこで本研究では、口腔扁平上皮癌患者を対象にダイナミックMRIを施行し、得られたパラメータを検討するとともに、同患者の手術材料から病理標本作製、免疫組織学的に腫瘍細胞増殖能、腫瘍血管新生を評価し、両者の相関関係についてretrospectiveに比較検討した。

対象と方法

対象症例は1996年から2006年に岡山大学病院でダイナミックMRI検査を受けた口腔扁平上皮癌患者252例を対象とした。その中からTNM分類においてT1、T4症例を本研究から除外した。T1症例では病変の原発巣のサイズが小さくダイナミックMRIにおいて病変の範囲{Region of interest(ROI)}の設定が難しいこと、またT4症例では腫瘍が周囲組織に浸潤し病変周囲のmargin設定が難しいことから、T2、T3症例だけを本研究の対象とした。またT2、T3症例において放射線療法、化学療法などの術前処置がなされた症例は本研究の対象から除外した。最終的にT2、T3症例28例を本研究の対象とした。原発部位は舌10例、上顎歯肉4例、下顎歯肉7例、口底3例、頬粘膜4例であった。

撮像は、1.5T・ユニット(Magnetom vision、シーメンス社)を使用した。撮像シーケンスは、まずT1強調画像と脂肪抑制T2強調画像もしくは脂肪抑制のSTIR法で軸位を撮像した。以上の画像から腫瘍の最大径が中央になるように設定し、ダイナミックMRIの撮像を14秒スキャン1秒インターバル計15秒スキャンのthree-dimensional fast imaging with a steady-state precession(3D-FISP)を用いて21回撮像した。造影剤は、Gd-DTPA (Magnevist、日本シェーリング社)を用いて、2回目の撮像

直前に投与した。ダイナミック像におけるROIをモニタ上で設定し、造影効果の割合を示すcontrast index(CI)を計測、プロットして、経時的な造影効果を示すCI-curveを作成した。CIの最大値をCI-max、CIの最大増幅量をCI-gain、それらの割合をCI-gain/CI-max ratio(%)としてパラメーターを設定した。

腫瘍増殖能と腫瘍血管新生を評価するために免疫組織学的手法を用いた。一般的な酵素抗体法の間接法で通法に従って行った。一次抗体はPCNA(PC-10,novocastra社),CD34(NU-4A1,ニチレイバイオサイエンス社)を1:100に希釈したもの、二次抗体はEnvision plus kit(Dako社)を使用した。発色はDAB法で行い、ヘマトキシリンで核染色した。免疫組織染色切片は患者データを伏せ、炎症部、壊死部を除いた腫瘍部を選んで、hot spotを計測した。PCNA陽性細胞を顕微鏡下200倍で計測し、平均のPCNA labeling indexを算出した。また、CD34陽性の微小血管数は顕微鏡下100倍で計測し、顕微鏡視野0.58mm²の微小血管数を微小血管密度(MVD)として定義した。

以上、ダイナミックMRIのパラメーターであるCI-max、CI-gain、CI-gain/CI-max ratioと腫瘍増殖能を評価したPCNA labeling index、腫瘍血管新生を評価したMVDをそれぞれ単回帰分析で解析し、相関関係を評価した。

結果

結果は以下の表のようになった。

	PCNA labeling index	MVD
CI-max	r=0.129, p=0.513	r=0.165, p=0.401
CI-gain	r=0.378, p=0.0473	r=0.490, p=0.00821
CI-gain/CI-max ratio	r=0.581, p=0.0012	r=0.674, p=0.0002

また、PCNA labeling indexとMVD間ではr=0.0867,p=0.661であった。

以上から、PCNA labeling index、MVDともに、CI-gain、CI-gain/CI-max ratioと相関を認めたが、PCNA labeling indexとMVD間においては有意な相関はみられなかった。

考察

腫瘍増殖能の有用なマーカーであるPCNA labeling indexはCI-gain、CI-gain/CI-max ratioと相関を認めたが、CI-gain/CI-max ratioとより強い相関を認めた。CI-gain/CI-max ratioを評価することで腫瘍増殖能を数量的に評価できることが示唆された。また、ダイナミックMRIのエンハンスパターンは腫瘍内血管新生、腫瘍内血流量、腫瘍内血管透過性に影響を受けるとされているが、腫瘍血管新生はMVDで評価可能であり、同様にCI-gain/CI-max ratioとより強い相関を認めたことからCI-gain/CI-max ratioを評価することで腫瘍内血管新生の予測が可能であることが示唆された。また、PCNA labeling indexとMVD間においては有意な相関はみられなかったが、過去の文献において同様の見解を得た報告があり確認した。

本研究ではT1およびT4症例は除外したが、T1症例においては、画像上病変が小さくROIの設定が困難であるため、今後、MRI装置や撮像法の改良によって、これらの問題を解決できるようになるかもしれないと考える。また、T4症例においては周囲組織に腫瘍が浸潤していることも多く、病変自体のROI設定が非常に困難であることから本研究では除外症例としたが、今後はROIの設定方法を検討する必要があると考えている。

まとめ

口腔扁平上皮癌のT2、T3症例においてPCNA labeling indexとMVDはCI-gain/CI-max ratioと強い相関関係を示したことから、ダイナミックMRIは非侵襲的かつ迅速に、腫瘍増殖能を数量的に評価可能で、腫瘍内血管新生を予測できる術前検査として有用であると考えられた。

論文審査結果の要旨

口腔扁平上皮癌において腫瘍増殖能や腫瘍血管新生は、転移の頻度や予後と相関する因子と考えられている。一方、Dynamic contrast-enhanced MRI (以下、ダイナミックMRI) を用いることにより、病変への造影剤の取り込み・排出が観察でき、婦人科領域では腫瘍の良悪性の鑑別が可能であると報告されている。本研究では、口腔扁平上皮癌のダイナミックMRIから得られたパラメーターと腫瘍増殖能、腫瘍血管新生との関連性を比較検討することを目的としている。

ダイナミックMRIは、急速に変化する血行動態をとらえることが可能となる15秒間隔で撮像可能な3D-FISPシーケンスが用いられている。造影効果の割合を示すcontrast index(CI)を計測、プロットして、経時的な造影効果を示すCI-curveが作成されている。CIの最大値をCI-max、CIの最大増幅量をCI-gain、それらの割合をCI-gain/CI-max ratio(%)としてパラメーターが設定されている。

また、腫瘍増殖能と腫瘍血管新生を評価するために免疫組織学的手法を用いている。それぞれ、一次抗体をPCNA、CD34を用いて通法に従って行っている。PCNA陽性細胞を顕微鏡下200倍で計測し、平均のPCNA labeling indexを算出し、CD34陽性の微小血管数は顕微鏡下100倍で計測し、顕微鏡視野0.58mm²の微小血管数を微小血管密度(MVD)として定義している。

ダイナミックMRIのパラメーターであるCI-max、CI-gain、CI-gain/CI-max ratioと腫瘍増殖能を評価したPCNA labeling index、腫瘍血管新生を評価したMVDをそれぞれ単回帰分析で解析し、相関関係を評価している。

PCNA labeling index、MVDともに、CI-gain、CI-gain/CI-max ratioと相関を認めた。CI-gain/CI-max ratioのほうがCI-gainよりも、より強い相関を認めた。CI-gain/CI-max ratioを評価することで腫瘍増殖能、腫瘍内血管新生を数量的に評価できることが示唆された。

これらの結果は、ダイナミックMRIが術前検査として口腔扁平上皮癌の腫瘍増殖能、腫瘍内血管新生を数量的に評価可能であることを示唆する価値ある研究業績であり、よって本申請論文は博士(歯学)の学位を得る資格があると判断した。