

学位論文題名

Tumor Angiogenesis and Dynamic CT  
in Lung Adenocarcinoma.

(肺腺癌のダイナミックCTと腫瘍血管新生に関する研究)

学位論文内容の要旨

「目的」原発性肺癌は世界的に主要死因にあげられている。その中でも末梢肺に発生する腺癌は頻度が最も高く、発見時にはすでに遠隔転移を来している場合があり、画像診断にてその悪性度を認知することは疫学的にも治療の上でも重要である。また、近年肺腺癌における分子生物学的な悪性度を知る指標の一つとしてVEGF (Vascular Endothelial Growth Factor: 血管内皮増殖因子) 関連腫瘍血管新生が注目され、一部に治療へ応用されている。一方、ヘリカルCTの技術的進歩による肺腺癌の形態学的診断は向上しているものの、腫瘍の血流動態解析は不十分で、特に分子生物学的指標と血流の関連性についての報告はない。このような背景から、本研究では比較的簡便な方法で肺腺癌のダイナミックヘリカルCTと分子生物学的なVEGF関連腫瘍血管新生との関連について検討し、これをもとに臨床的応用への可能性を追求することを目的とする。

「方法」【肺腺癌症例】手術的治療が検討された35例の末梢型肺腺癌患者(平均年齢58.7歳、男性18例、女性17例)に対し、原則として手術前日に造影剤(非イオン性ヨード造影剤)を用いてダイナミックCTを施行した。

【ダイナミックCT】高速ヘリカルCTを用い、スキャンは2mm厚の高分解能モードで行い、20秒の息止めで撮像開始時間を造影剤注入直後、35秒後、120秒後に設定した。造影剤は自動注入装置により患者の前腕末梢静脈より3ml/秒、100mlに設定した。画像再構成はスタンダードアルゴリズムにより腫瘍の約80%に関心領域を設定し、2コンパートメントモデルによる時間造影曲線を微分方程式を用い作成した。

【画像解析】2コンパートメントモデルの演算処理により最大吸収値を示す時間は40秒前後であったため、時間造影曲線の $A_{pA}$  (peak attenuation: 最大吸収値)、RF (relative flow: 腫瘍局所相対血流)を $\gamma$ 関数補正により算出した。症例の心機能による個体差をなくすため胸部大動脈の最大増強度に対する腫瘍の増強効果を $A_{pA}/A_o$ として算出した。

【VEGF発現と腫瘍内微小血管密度】ホルマリン固定後の手術標本のパラフィン切片を5マイクロメートルで作成しN末端に対するウサギ多クローン性抗体で腫瘍細胞質の染色性有無、程度を調べた。腫瘍内微小血管密度をCD34に対するマウス単クローン性抗体で染色し、0.02~0.10mm径の血管を200倍の拡大率で25視野で測定しその平均を算出した。

【臨床的悪性度の検討】手術所見、病理所見によるステージングと平均観察期間16ヶ月での予後、及びリンパ節転移の有無について調べた。

「結果」肺腺癌の $A_{pA}$ は平均34.1Hounsfield Unit、RFは平均0.014/秒、 $A_{pA}/A_o$ は平均0.19であっ

た。VEGF陽性率は63%であった。VEGF陽性肺腺癌の $A_{pA}$ 、RF、 $A_{pA}/Ao$ はそれぞれ、39.9 Hounfield Unit、0.018/秒、0.23、VEGF陰性肺腺癌では24.3 Hounfield Unit、0.010/秒、0.16であり、VEGF陽性肺腺癌で有意に高値を示した。腫瘍内微小血管密度は平均70.1であり、 $A_{pA}$ と正の相関を示した。この値はVEGF陽性肺腺癌では平均82.5であり、陰性肺腺癌の平均49.2に比較し有意に高値を示した。 $A_{pA}$ 、 $A_{pA}/Ao$ と腫瘍内微小血管密度の関係では、VEGF陽性肺腺癌には正の相関が確認されたが、VEGF陰性肺腺癌では有意差は認められなかった。VEGF陽性肺腺癌では陰性肺腺癌に比し、リンパ節転移が有意に多く見られたが、本研究の平均観察期間では予後に差異は見られなかった。

「考察」造影ダイナミックCTによる肺腺癌の示す $A_{pA}$ 及びRFが腫瘍内の腫瘍血管床をよく反映していることは、原発性肺腺癌では造影ピークが大きさに関係なく一分以内に存在するためと考えられる。これは2コンパートメントモデルによる試算に一致していた。この解析が可能となった主要因としてCTの空間的、時間的分解能が高く、partial volume effectを受けにくいthin sliceでの撮像が可能であることがあげられる。また、病変が血管周囲などの造影剤によるアーチファクトの影響を受けにくい部分に発生しやすいという性質も関与していると考えられる。肺腺癌におけるVEGF関連腫瘍血管新生は腫瘍の臨床的悪性度とくに予後との関連で重要であると報告されている。本研究でも過去の報告と一致した結果が得られた。しかしながら、平均観察期間が短い影響があり、予後の点では一致を見ない。今後、これらの症例の慎重な経過観察を必要とすると考えられる。腫瘍の $A_{pA}$ と腫瘍内微小血管密度の関係や臨床的悪性度との関係から肺腺癌のVEGF関連腫瘍血管新生は腫瘍の悪性度を知る一つの指標となりうると考えられる。これには造影ダイナミックCTの $A_{pA}$ が腫瘍の血流因子のうちblood poolingとしての血管床を反映している事に因る。しかしながら、腫瘍内にはheterogeneityが存在することが知られ、腫瘍内動脈静脈シャント、腫瘍血流の生理学的薬物学的反応性、腫瘍の間質の度合い、そして時間的な腫瘍血管の反応性の変化など同じ組織型の肺腺癌でも個々の腫瘍では多くのバリエーションが存在すると思われる。したがって、本研究で用いた造影ダイナミックCTのパラメータとしての $A_{pA}$ やRFはこれらバリエーションが背後に存在した場合の一つの指標としてとらえられるべきである。この点については上記にあげたバリエーションを測定する方法を画像診断的に研究開発する必要がある。本研究の造影ダイナミックCTの方法は一般の造影CT検査に盛り込むことができ、簡便な検査法と考えられる。臨床的悪性度を判定する上では実際に腫瘍成分を採取するなどの侵襲性の高い手段が用いられる場合が多いが、その点では造影ダイナミックCTは低侵襲的検査であると考えられる。

「結語」VEGF陽性肺腺癌は陰性腫瘍に比較してダイナミックCTで有意に高い $A_{pA}$ 値を示し、臨床的に悪性度が高いと考えられた。

# 学位論文審査の要旨

主 査 教 授 宮 坂 和 男

副 査 教 授 阿 部 和 厚

副 査 教 授 秋 田 弘 俊

学 位 論 文 題 名

## Tumor Angiogenesis and Dynamic CT in Lung Adenocarcinoma.

(肺腺癌のダイナミック CT と腫瘍血管新生に関する研究)

手術的治療が行われた 35 例の末梢型肺腺癌患者 (平均年齢 58 歳、男性 18 例、女性 17 例) に対し、手術前日にダイナミック CT を施行した。高速ヘリカル CT を用い 20 秒の息止めで撮像開始時間を造影剤注入直後、35 秒後、120 秒後に設定した。造影剤は自動注入装置により患者の前腕末梢静脈より 3ml/秒、100ml に設定した。画像再構成は 2mm 厚のスタンダードアルゴリズムにより腫瘍に設定した関心領域から 2 コンパートメントモデルによる時間造影曲線より微分方程式を用い作成した。このモデルの演算処理により最大吸収値を示す時間は約 40 秒であったため、時間造影曲線の  $A_{PA}$  (peak attenuation:最大吸収値)、RF (relative flow:腫瘍局所相対血流) を  $\gamma$  関数補正により算出した。症例の心機能による個体差をなくすため胸部大動脈に最大吸収度に対する腫瘍の増強効果を  $A_{PA}/A_o$  として算出した。ホルマリン固定後の手術標本のパラフィン切片を 5 マイクロメートルで作成し Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF:血管上皮増殖因子) の N 末端に対するウサギ多クローン性抗体で腫瘍細胞質の染色性の有無、程度を調べた。腫瘍内微小血管密度を CD34 に対するマウス単クローン性抗体で染色し、0.02? 0.10mm 径の血管を 200 倍の拡大率で 25 視野測定しその平均値を算出した。肺腺癌の  $A_{PA}$  は平均 34.1 Hounsfield Unit、RF は平均 0.014/秒、 $A_{PA}/A_o$  は平均 0.19 であった。VEGF 陽性肺腺癌の  $A_{PA}$ 、RF、 $A_{PA}/A_o$  はそれぞれ、39.9 Hounsfield Unit、0.018/秒、0.23、VEGF 陰性肺腺癌では 24.3 Hounsfield Unit、0.010/秒、0.16 であり、VEGF 陽性肺腺癌で有意に高値を示した。腫瘍内微小血管密度は平均 70.1 であり、 $A_{PA}$  と正の相関を示した。この値は VEGF 陽性肺腺癌では平均 82.5 であり、陰性肺腺癌の平均 49.2 に比較し有意に高値を示した。 $A_{PA}$ 、 $A_{PA}/A_o$  と腫瘍内微小血管密度の関係では、VEGF 陽性肺腺癌には正の相関が確認されたが、VEGF 陰性肺腺癌では有意差は認められなかった。ダイナミック CT による肺腺癌の示す  $A_{PA}$  及び RF が腫瘍血管床をよく反映する。これは 2 コンパートメントモデルによる試算と一致していた。この解析が可能になった主要因として CT の空間的、時間的分解能が高く、部分体積効果を受けにくい thin slice での撮像が可能であるこ

とがあげられる。また、病変が血管周囲などの造影剤によるアーチファクトの影響を受けにくい部分に発生しやすいという性質も関与していると考えられる。肺腺癌における VEGF 関連腫瘍血管新生は腫瘍の臨床的悪性度とくに予後との関連で重要であるが、本研究でも過去の報告と一致した結果が得られた。今後、これらの症例の慎重な経過観察を必要とすると考えられる。腫瘍の  $A_{PA}$  と腫瘍内微小血管密度の関係や臨床的悪性度との関係から肺腺癌の VEGF 関連腫瘍血管新生は腫瘍の悪性度を知る一つの指標になりうると考えられる。これにはダイナミック CT の  $A_{PA}$  が血流因子のうち blood pooling としての血管床を反映している事に因る。しかしながら、腫瘍内には heterogeneity が存在することが知られ、腫瘍内動脈静脈シャント、腫瘍血流の生理学薬物学的反応性、腫瘍の間質の度合い、そして時間的な腫瘍血管の反応性の変化など同じ組織型の肺腺癌でも個々の腫瘍では多くのバリエーションが存在すると思われる。したがって、本研究で用いたダイナミック CT のパラメータとしての  $A_{PA}$  や RF はこれらバリエーションが背後に存在した場合の一つの指標として捉えられるべきである。本研究のダイナミック CT の方法は一般の CT 検査に盛り込むことができ、簡便な検査法と考えられる。

口頭発表に際し、阿部和厚教授より血管と腫瘍細胞の VEGF の染色性について、秋田弘俊教授より VEGF 染色の判定方法の閾値、検査の再現性、鑑別について、西村正治教授より腫瘍径の解析、腫瘍中心部と辺縁部の検討、予後判定について、宮坂和男教授より血管透過性の検討、検査の将来性について質問がなされた。申請者は過去の報告内容、追試の結果を参考に概ね妥当な回答を行った。

この論文は、肺腺癌の血管新生について分子生物学的かつ病理学的基礎に基づいた初めての腫瘍の血流、機能画像診断、臨床研究として高く評価され、今後増加するであろう肺癌の画像診断における新しい modality として発展することが期待される。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ申請者が博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。