

学位申請論文

乳癌PET検査におけるFDG集積と病理組織学的所見 との関連について

獨協医科大学 第一外科学

下田 渉

要旨 ポジトロン放出断層撮影 (Positron emission tomography, PET) は、乳癌の局在診断及び病期分類が可能な低侵襲な検査である。いくつかの要因が腫瘍へのF-18フルオロデオキシグルコース (18 fluorodeoxyglucose, FDG) 取り込みに影響を及ぼすことが知られている。FDG集積にもっとも影響を及ぼす指標を明らかにするために、FDGの集積の度合いを定量化した半定量値 (standardized uptake value, SUV) と臨床病理学的因子並びに免疫組織学的因子との関連を検討した。対象は術前乳癌患者37人。SUVは、FDG注射後の1時間目 (早期相)、2時間目 (後期相) の2回測定した。FDG集積と早期相および後期相の核分裂像、Ki-67陽性細胞%、組織学的異型度の間で有意差を認めた。リンパ節転移では有意な相関はなかった。他の臨床病理学的因子及び免疫組織学的因子、腫瘍径、年齢、組織型、エストロゲン受容体、プロゲステロン受容体、ヒト上皮細胞増殖因子受容体2 (Her2/neu) などの因子はFDG集積との相関を認めなかった。核分裂像とKi-67は腫瘍細胞の増殖性を反映すると考えられている。以上の結果から、我々の研究結果では増殖性の高い乳癌はFDGの集積も高いことが示唆された。

Key Words : ポジトロン放出断層撮影 (PET), F-18標識フルオロデオキシグルコース (FDG), 核分裂像, standardized uptake value (SUV), 乳癌

緒言

F-18フルオロデオキシグルコース (FDG) を用いたポジトロン放出断層撮影 (FDG-PET) は乳癌の原発巣の評価と病期分類を行うことができる検査であることが知られている¹⁻¹⁰⁾。集積に影響を与える因子は乳癌以外の癌腫でいくつか検討されている。また、それらの研究では、FDG-PET検査が腫瘍の悪性度予測を可能にしたことが示された¹¹⁾。たとえば、神経膠腫とリンパ腫に対して行われた研究では、増殖能が亢進した腫瘍は高集積であり予後も不良であることが示されている¹²⁾。

一方、乳癌にはさまざまな予後因子が知られている¹³⁾。例えば、腋窩リンパ節の転移個数、腋窩リンパ節の解剖学的レベル、エストロゲン受容体、プロゲステロン受容体などである。さらにはKi-67標識指数、p53と予後の

関連を認めているという報告もあるが、通常、予後因子に用いられることはない。これらの因子は、手術後あるいは生検などの侵襲的な検査によって得られる検体によって評価される。FDG-PET検査の利点は、術前に非侵襲的な検査でFDGの取り込みを評価できることである。他の癌腫と同様に腫瘍の集積の度合いが予後と関係することが判明すれば有用と考えられる。

本研究の目的は、FDG-PETを使用し、乳癌に対する組織学的増殖能に関連する因子及び、乳癌の一般的な予後因子と、FDGの取り込みとの比較をstandardized uptake value (SUV)¹⁴⁾を用い検討することである。

対象と方法

本研究で登録された全ての患者は、書面でのインフォームドコンセントを施行した37人の原発性乳癌患者 (平均年齢56歳) に対し、術前に検査を施行した。全ての患者は、PET/CT検査を受ける2週間以上前に、組織学的または細胞学的に乳癌と診断されている。侵襲的検査から間隔をあけた理由は炎症細胞の存在によって起こりえる疑陽性を避けるためである。

平成18年12月11日受付, 平成18年12月15日受理
別刷請求先: 下田 渉

〒321-0293 栃木県下都賀郡壬生町北小林880
獨協医科大学 第一外科学

表1 患者背景

年齢	32 - 78歳	56.0 (平均)
腫瘍径	12 - 100 mm	23.4 (平均)
組織型		
	浸潤性乳管癌	乳頭腺管癌 17
		充実腺管癌 7
		硬癌 11
	粘液癌	1
	アポクリン癌	1
リンパ節転移個数	0 - 15個	1.5 (平均)
エストロゲン受容体 (ER)		
	陽性	23
	陰性	14
プロゲステロン受容体 (PgR)		
	陽性	24
	陰性	13
ヒト上皮細胞増殖因子受容体2 (Her2/neu)		
	陽性	5
	陰性	32

患者背景の詳細は、表1に記載した。

1. PET 画像撮影法

患者は6時間以上の絶食、安静とし、4.5 MBq/KgのFDGを腫瘍と反対側の腕静脈から投与した。PET検査の前の患者の血糖値は全て正常値だった。PET/CT装置はシーメンス社製Biograph Sensation 16を用いた。BiographのCT装置は検出器が16列ありPET装置の空間分解能は4.5 mm、また1フレームあたりの撮影範囲は体軸方向約15 cmである。画像は付属のワークステーションで再構成した。患者は、健側にやや斜位をかけた仰臥位とし、手術と同じ体位で検査を行った。画像はまず単純CT検査を施行し、そのデータをPET画像の減衰補正のためと、PET画像との融合に用いた。FDG投与の60分後に、1フレーム3分間の早期相撮影を行い、120分後に後期相の撮影を行った。

2. 画像解析

全てのPET/CT画像は、コンピュータ・ワークステーションのモニターから直接読影し、原発巣を確認後、腫瘍のSUVの最高値を測定した。SUVとは、FDGの取り込みを半定量化した指標であり、組織FDG濃度/(FDG投与量/体重)で定義される無名数である。仮に投与した放射能が体全体に均一に分布すると1となる。通常乳癌におけるSUVのカットオフ値は2.5とすることが多い。

3. 病理組織学的並びに免疫組織学的検査所見

摘出腫瘍材料をホルマリン固定後、パラフィン包埋組織切片を作成し、ヘマトキシリン・エオジンで染色を行い、日本乳癌学会が定める乳癌取り扱い規約¹⁵⁾に則り分類した。すなわち、浸潤性乳管癌は、乳頭腺管癌、充実腺管癌、硬癌に分類した。腫瘍の核グレード (Nuclear grade, NG)、核異型度 (Nuclear atypia, NA) と核分裂像 (Mitotic counts, MC) はN-SAS-BCの診断基準に準じて判定した¹⁶⁾。すなわち、NGは核異型度 (NA) と核分裂像 (MC) のスコアの合計として表現される。NAは (スコア1: 低異型, スコア2: 中間異型, スコア3: 高異型) である。またMCは10視野中の核分裂像数 (×40対物レンズ) で評価される (スコア1: 0-4個の核分裂像, スコア2: 5-9個の核分裂像, スコア3: 10個以上の核分裂像)。NGはNAとMCのスコアの合計で判定を行うが、それぞれの合計点がそれぞれ2-3点のときはグレード1、4点の時はグレード2、5-6点であった時はグレード3とする。ER、PgR、Her2、Ki-67LIなどの免疫染色は、ホルマリン固定パラフィン包埋組織切片を使用し、ビオチン-ストレプトアビジン・ペルオキシダーゼ法によって行った。抗体はER (6F11)、PgR (1A6)、Her-2 (CB11)、Ki-67 (MM1) を使用した。染色にはジアミノベンゼンを使用し、全て染色はVentana XT System Benchmarkを用いた自動免疫染色装置を用いて、labeled streptavidin-biotin (LSAB) 法にて染色した。

4. 免疫組織学的評価

ERとPgRの免疫染色は、核の染色反応性に従って評価を行った。

陽性率は、以下の通りに0 (陽性細胞0%) ; 1+ (陽性細胞10%未満) ; 2+ (陽性細胞10~50%) ; 3+ (陽性細胞50%以上) と陽性細胞のパーセンテージで層別化した。

一般的にはスコア2+, 3+を、ホルモン感受性陽性と判断しホルモン療法を考慮する¹⁷⁾。また、Her2/neu蛋白の発現は細胞膜における染色態度により評価した。判定はBilousら¹⁸⁾の判定に従い、ER、PgRと同様に0から3+までに分けられた。スコア3+の場合にはtrastuzumab治療に反応性であることから3+を陽性と判定した。Ki-67陽性細胞数は400倍拡大視野で無作為に5視野を抽出し、陽性細胞数を肉眼で算定し、各視野での全細胞数 (600個) に対するKi-67陽性細胞の比率をKi-67 LIと定義した。

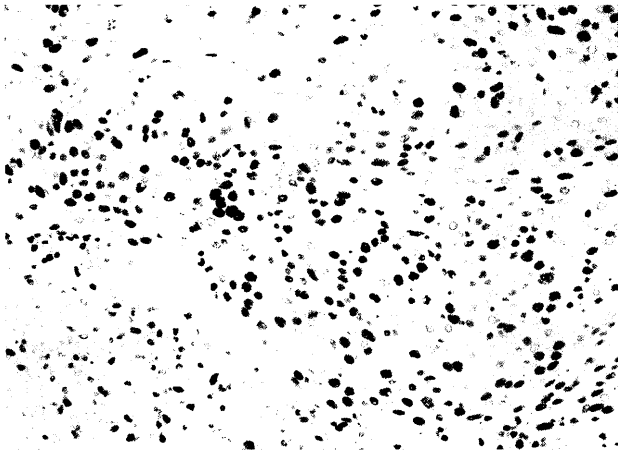


図1 Ki67陽性組織像

Ki67の免疫組織染色所見. 本症例では78%の強陽性であった. 400倍

5. 統計分析

本研究におけるSUVと他の因子との比較にはKruskal-Wallis 検定, 単回帰分析法, Mann-Whitney U検定を使用した.

また有意水準はp値0.05未満とした. 解析ソフトはStat View ver.4.5 Windows版を使用した.

結 果

37人の患者の平均腫瘍径は, 組織での最大浸潤径より計測を行うと23.4 mm (12 - 100 mm)であった. 典型的なKi-67陽性組織像とPET/CTの3次元融合画像を図1と図2にそれぞれ示した. また, 平均SUVは, 早期相3.9 (1.0 - 19.3), 後期相4.5 (1.0 - 26.3)であった. 年齢とSUVの間に相関はなかった. また, 腫瘍径10 mm以下の小腫瘍は, partial volume effectによってSUVは低く評価されるとの報告があるため⁶⁾, 本研究では, 最小の腫瘍径は12 mmとしたが, 腫瘍径とSUVには相関はなかった (図3). NGは, SUVと有意な相関 (早期相 $p = 0.0232$, 後期相 $p = 0.0195$)を示したが, MCはさらに強い相関 (早期相 $p = 0.0018$, 後期相 $p = 0.0010$)を示した (図4, 5). しかしながら, NAとSUVに相関はなかった (図6). リンパ節転移とSUVとの関連では有意な相関はなかった. また, 組織の悪性度と関連がある脈管浸襲とSUVにも相関はなかった. ホルモン受容体, Her2, Ki-67LIなどの免疫組織学的因子との関連ではER, Pgr, Her2とSUVとの間に有意な相関を認めなかった. しかし, Ki-67 LIで有意な相関 (早期相 $p = 0.0098$, 後期相 $p = 0.0062$)を認めた (図7). 一方, R値が低いとため, Ki-67LIを2群; 低 (20%以下), 高 (20%以上)に分類した上でさらに解析してみると, やはり



図2 PET/CT 3次元融合画像

PETとCTの3次元融合画像

症例55歳女性, T2N0M0 ステージII A 乳頭腺管癌 SUVは26.28

矢印は腫瘍を示す.腫瘍はFDGの強い集積を示した. 更に, コンピュータ断層撮影(CT)によって造影されている範囲は, FDG集積の範囲を越えている. その結果より, 乳房温存手術ではなく乳房切除術を選択した.

高Ki-67群は低Ki-67群に比べ, 有意に高いFDGの集積を認めた (図8).

解析結果のまとめを表2に示した.

考 察

FDG-PET検査は, 腫瘍へのFDG取り込みを集積という形で画像に表すことが可能な撮影装置である. Brockらは代謝が亢進した腫瘍は, 低代謝腫瘍より浸潤性があることを明らかにし, 予後因子としてのFDG-PETの可能性を示した¹²⁾. しかしながら, FDG-PET画像の解釈にはいくつか注意すべき点もある. たとえば, 癌細胞へのFDGの取り込みは, 実際の腫瘍細胞内の増殖活性をもつ細胞数以上に集積を示すこともあるという¹⁹⁾. また, PETによって検出される放射線は, 癌細胞だけでなく炎症性細胞などからも放出されているとの報告もある²⁰⁾. 今回は細胞診や針生検による炎症反応が遅延していることによる偽陽性を避ける目的で, こうした侵襲的な検査はPET検査の2週間以上前に行った. また, 腫瘍径が小さい乳癌の場合, PET検査の空間分解能の限界から低感度であると言われている⁶⁾ (partial volume effect). このような原因でFDGの集積が過小評価されることを避けるために, 本研究では腫瘍径が10 mm未満

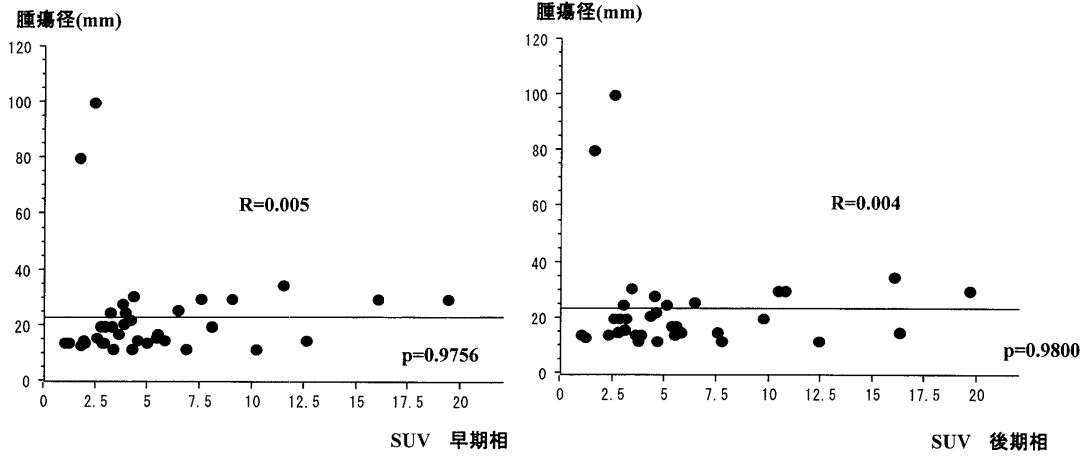


図3 腫瘍径とSUV

腫瘍径はSUVと相関していなかった。単回帰分析法によって解析した。腫瘍径は浸潤巣部分のみを測定した。

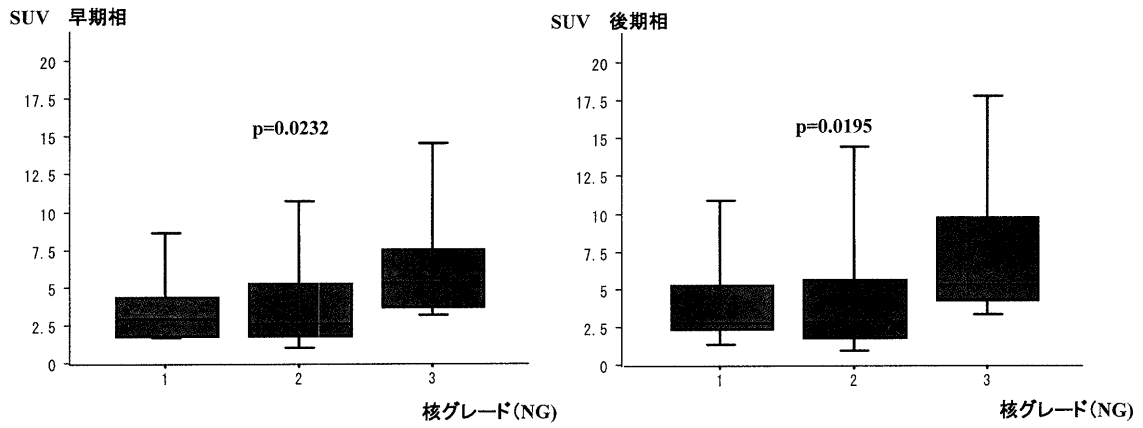


図4 核グレードとSUV

核グレードは、SUVと強い相関を示した。解析はKruskal-Wallis testを使用した。P = 0.0232 (早期相), 0.0195 (後期相)であった。

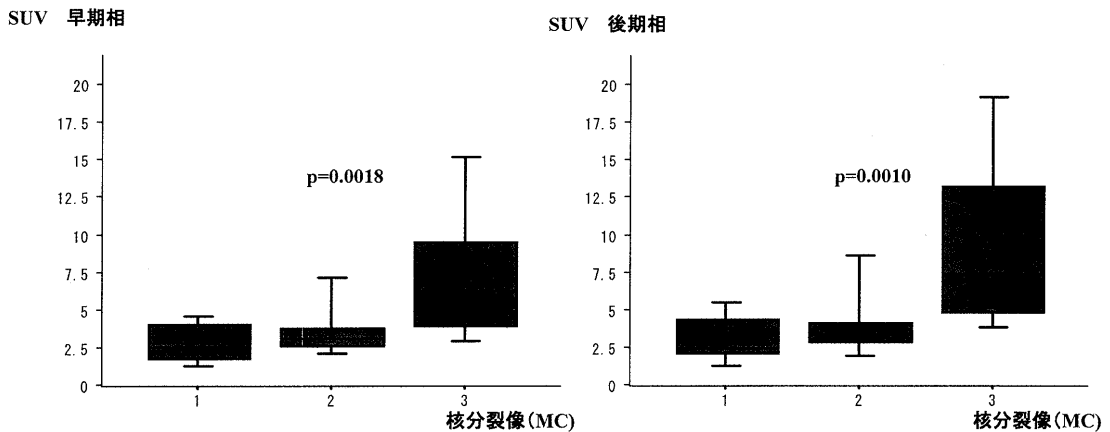


図5 核分裂像とSUV

核分裂像は、SUVと強い相関を示した。解析はKruskal-Wallis testを使用した。p = 0.0018 (早期相), 0.0010 (後期相)であった。

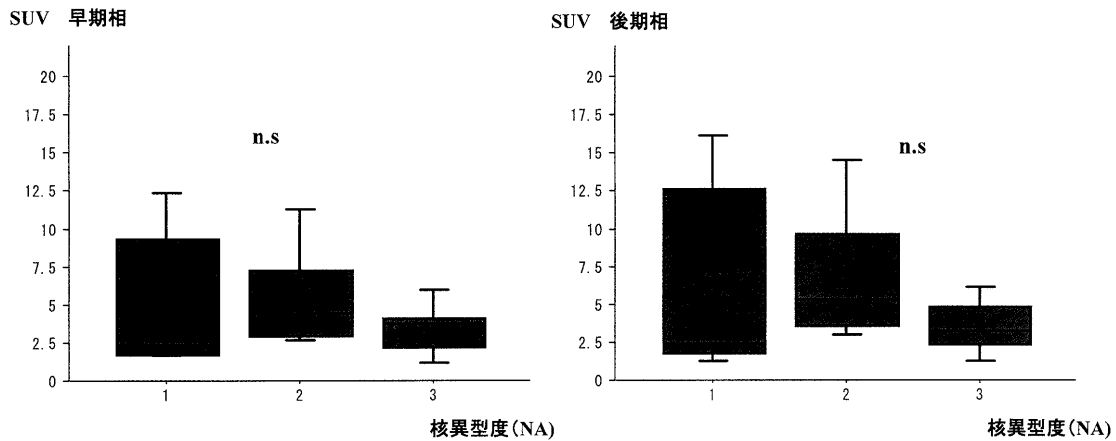


図6 核異型度とSUV

核異型度 (NA) とSUVに相関はなかった. 解析はKruskal-Wallis testを使用した. むしろスコア2はスコア3より高い集積を示す傾向があった.

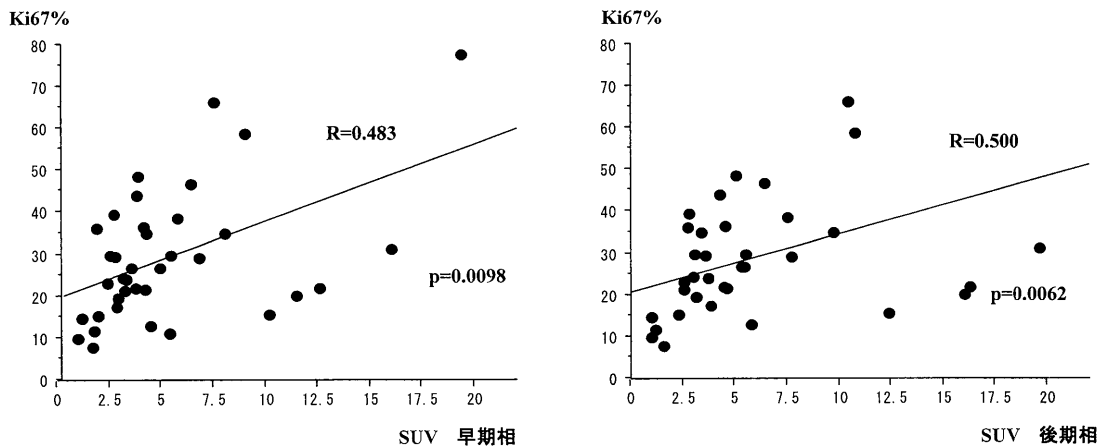


図7 Ki67%とSUV

Ki67陽性細胞数 (%)はSUVと相関していた. 解析は単回帰分析を使用した. P = 0.0098 (早期相), 0.0062 (後期相)であった.

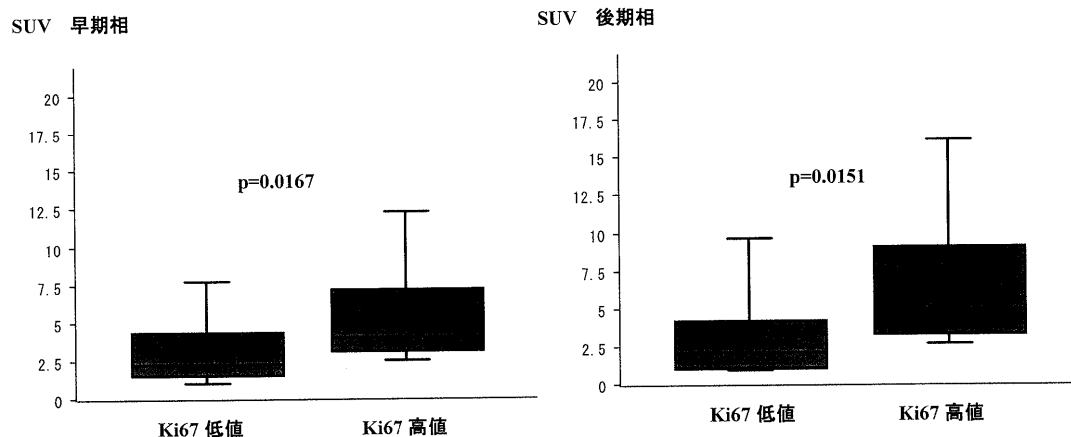


図8 Ki67染色度とSUV

Ki67染色度はSUVと強い相関を示した. 解析はMann-Whitney U-testを使用した. P = 0.0167 (早期相), 0.0151 (後期相)であった. 高Ki67群の染色陽性率は20%以上, 低Ki67群は20%未満と定義した.

表2 解析結果一覧

	P (SUV 早期相)	P (SUV 後期相)
核分裂像	0.0018 †	0.0010 †
Ki67 %	0.0098 †	0.0062 †
Ki67 指数	0.0167 †	0.0151 †
核グレード	0.0232 †	0.0195 †
脈管浸潤	0.1443	0.1443
核異型度	0.2017	0.0729
リンパ節転移	0.0907	0.1791
腫瘍径	0.9756	0.9800
年齢	0.6986	0.6121
組織型	0.1457	0.2330
ER	0.1583	0.1621
PgR	0.0894	0.1324
Her2/neu	0.2447	0.4244

† : P < 0.05 を有意差あり.

の患者を除外した。こうした患者選択を行ったにもかかわらず、今回の研究では腫瘍径と SUV に相関は認められなかった。同様に腫瘍径と SUV が相関しないという結果は他の癌腫でも報告されている^{21,22)}。一方、乳癌の予後因子としての SUV の可能性は、かつて Crippa らによって報告されている¹⁰⁾。彼らは原発性乳癌における高 SUV はしばしば腋窩リンパ節転移と関係するとしている。しかし我々の研究ではリンパ節転移は、SUV と有意な相関を認めなかった。Adler らは、浸潤性乳管癌において SUV と腫瘍の悪性度は相関していると述べており⁴⁾、今回の結果と一致する。しかし彼らは、NA と MC の比較検討は行っていないため、腫瘍の悪性度を規定するどの因子が SUV と関連しているのかは分からなかった。一方、我々の検討では NG と SUV で有意な相関が得られ、その大きな影響をあたえている因子は MC であることを示した点が新しい発見と思われる。さらに、Ki-67 も SUV と強い相関を示した。これらの結果は、増殖性の強い腫瘍は、増殖に必要なエネルギーを得るために糖の取り込みが亢進していると解釈されよう。

SUV と NA が相関しない理由は、NA が代謝活性に関与しないということである。そして MC は細胞の増殖において NA よりもより重要な因子であると考えられる。また、今回の検討では、ホルモン受容体や Her2/neu 蛋白の過剰発現と SUV の間に相関を見出せなかった。Dehdashti らも同様、乳癌におけるエストロゲン受容体陽性と陰性の間に FDG の集積に差はないことを報告している²³⁾。

最近、ホルモン受容体と Her2/neu タンパクの過剰発現の組合せが分子生物学的な悪性度分類と相関すること

が示された²⁴⁾。しかしながら、本研究ではホルモン受容体や Her2/neu の過剰発現は SUV に影響しなかった。本研究では FDG の取り込みは MC と Ki-67 のような乳癌において増殖に關与する予後因子に關連があることが示された。こうした因子は、手術あるいは生検といった侵襲的な検査によってのみ判明する項目であるが、今回の結果から非侵襲的な PET 検査がそれらに代わって重要な情報を与える可能性が示された。

今回の研究で残る問題点は、SUV が他の良く知られている予後因子と同様に独立した予後因子として残るかどうかである。今回は観察期間も短く症例数も限られていたため解析することができなかった。今後、さらに多くの症例を積み重ね、5年以上の予後調査を行い、無病再発期間と生存率を評価し、SUV と他の予後因子との間で多変量解析を行い独立した予後因子たるかを評価する必要がある。その結果、もし SUV が独立した予後因子であることを証明できれば、FDG-PET 検査を手術または化学療法の前に行うことであらかじめ患者の予後を非侵襲的に推定することができる。その結果、PET 検査は乳癌診療において現在より重要な役割を果たすと思われる。

結 論

本研究において SUV として表される FDG の集積は、乳癌における他の良く知られた予後因子と相関が認められ、特に、MC と Ki-67 など腫瘍の増殖能を表す因子と強い相関があった。今回報告した結果の臨床的意義は、SUV が多変量解析により、他の予後因子と独立した因子であると確認されてはじめて意味を持つ。そして SUV が独立した予後因子として確認された場合、FDG-PET 検査は乳癌患者における適切な治療戦略決定に重要な役割を担うと思われる。

謝 辞 稿を終えるにあたり、本研究に対し終始御指導、御高閲を賜りました獨協医科大学第一外科学教室の砂川正勝教授に深甚なる感謝の意を表します。また、本研究を直接御指導いただきました同教室の林光弘講師、御協力いただきました第一外科学教室員、病理学教室員、放射線科各位の皆様に深謝いたします。

文 献

- 1) Wahl RL, Cody RL, Hutchins GD, et al : Primary and metastatic breast carcinoma : initial clinical evaluation with PET with the radiolabeled glucose analogue 2-[F-18] -fluoro-2-deoxy-D-glucose. *Radiology*, **179** : 765-770, 1991.

- 2) Tse NY, Hoh CK, Randall AH, et al : The application of positron emission tomographic imaging with fluorodeoxyglucose to the evaluation of breast disease. *Ann Surg*, **216** : 27-34, 1992.
- 3) Nieweg OE, Kim EE, Wong WH, et al : Positron emission tomography with fluorine-18-deoxyglucose in the detection and staging of breast cancer. *Cancer*, **71** : 3920-3925, 1993.
- 4) Adler LP, Crowe JP, Al-Kaisi NK, et al : Evaluation of breast masses and axillary lymph nodes with [F-18] 2-deoxy-2-fluoro-D-glucose PET. *Radiology*, **187** : 743-750, 1993.
- 5) Bruce DM, Evans NTS, Keys SD. : Positron emission tomography : 2-deoxy-2- [18F] -fluoro-D-glucose uptake in locally advanced breast cancers. *Eur J Surg Oncol*, **21** : 280-283, 1995.
- 6) Avril N, Dose J, Janicke F, et al. : Metabolic characterization of breast tumours with positron emission tomography using F-18 fluorodeoxyglucose. *J Clin Oncol*, **14** : 1848-1857, 1996.
- 7) Utech CI, Young CS, Winter PF. : Prospective evaluation of fluorine-18 fluorodeoxyglucose positron emission tomography in breast cancer for staging of the axilla related to surgery and immunocytochemistry. *Eur J Nucl Med*, **23** : 1588-1593, 1996.
- 8) Scheidhauer K, Scharl A, Pietrzyk U, et al : Qualitative [18F] FDG positron emission tomography in primary breast cancer : clinical relevance and practicability. *Eur J Nucl Med*, **23** : 618-623, 1996.
- 9) Avril N, Dose J, Janicke F, et al : Assessment of axillary lymph node involvement in breast cancer patients with positron emission tomography using radiolabeled 2-(fluorine-18) fluoro-2-deoxy-D-glucose. *J Natl Cancer Inst*, **88** : 1204-1209, 1996.
- 10) Crippa F, Agrest R, Seregni E, et al : Prospective evaluation of [18F] FDG positron emission tomography (PET) in the presurgical staging of the axilla in breast cancer : comparison between PET and postoperative pathology. *J Nucl Med*, **39** : 4-8, 1998.
- 11) Folpe L, Lyles H, Sprouse T, et al : F-18 fluorodeoxyglucose positron emission tomography as a predictor of pathologic grade and other prognostic variables in bone and soft tissue sarcoma. *Clin Cancer Res*, **4** : 1279-1287, 2000.
- 12) Brock CS, Meikle SR, Price P. : Does fluorine-18 fluorodeoxyglucose metabolic imaging of tumours benefit oncology ? *Eur J Nucl Med*, **24** : 691-705, 1997.
- 13) Eberlein TJ. : Current management of carcinoma of the breast. *Ann Surg*, **2** : 121-136, 1994.
- 14) Schomburg A, Bender H, Reichel C. : Standardized uptake values of fluorine-18 fluorodeoxy glucose : the value of different normalization procedures. *Eur J Nucl Med*, **23** : 571-574, 1996.
- 15) Sakamoto G, Inaji H, Akiyama F, et al : The Japanese Breast Cancer Society. General rules for clinical and pathological recording of breast cancer 2005. *Breast Cancer*, **12** Suppl : 1-27, 2005.
- 16) Tsuda H, Akiyama F, Kuroisumi M, et al : Establishment of histological criteria for high-risk node-negative breast carcinoma in a randomized clinical trial of adjuvant therapy. *Jpn J Clin Oncol*, **28** : 486-491, 1998.
- 17) 林光弘, 岡部総寛, 佐野宗明他 : Estrogen receptor, Progesterone receptorの免疫組織化学染色法とEnzyme Immuno Assay法の比較について. 乳癌の臨床, **17** : 306-310, 2002.
- 18) Bilous M, Dowsett M, Hanna W, et al : Current perspectives on HER2 testing : a review of national testing guidelines. *Mod Pathol*, **16** : 173-182, 2003.
- 19) Higashi K, Clavo AC, Wahl R. Does FDG uptake measure proliferative activity of human cancer cells ? In vitro comparison with DNA flow cytometry and tritiated thymidine uptake. *J Nucl Med*, **34** : 414-419, 1993.
- 20) Kubota K, Yamada S. FDG accumulation in tumour tissue. *J Nucl Med*, **34** : 419-421, 1993.
- 21) Higashi T, Tamaki N, Torizuka T, et al : FDG uptake, GLUT-1 glucose transporter and cellularity in human pancreas tumors. *J Nucl Med*, **39** : 1727-1735, 1998.
- 22) Kato T, Fukatsu H, Ito K, et al : Fluorodeoxyglucose positron emission tomography in pancreatic cancer : an unsolved problem. *Eur J Nucl Med*, **22** : 32-39, 1995.
- 23) Dehdashti F, Mortimer JE, Siegel BA, et al : Positron tomographic assessment of estrogen receptors in breast cancer : a comparison with FDG-PET and in vitro receptor assays. *J Nucl Med*, **36** : 1766-1774, 1995.
- 24) Andre F, Pusztai L. : Molecular classification of breast cancer : implications for selection of adjuvant chemotherapy. *Nat Clin Pract Oncol*, **11** : 621-632, 2006.