

# 骨軟部腫瘍における ECRI の有用性と新しい画像評価法の 開発

愛知県がんセンター中央病院

整形外科部 部長 杉浦英志

愛知県がんセンター中央病院

整形外科部 医長 山田健志

愛知県がんセンター中央病院

整形外科部 レジデント 奥田洋史

## はじめに

骨軟部腫瘍において、術前の画像診断としての MRI は欠かせないモダリティである。組織中の自由水、腫瘍の大きさや形状、解剖学的位置関係と共に、脂肪成分、粘液成分、線維成分などといった大まかな質的評価を非侵襲的に行うことができ、また造影を用いることで腫瘍内の血行状態など viability の評価が可能である。しかし、組織学的所見と直接結びつくような良悪性の判断を MRI の信号レベルから数値的に評価することは、困難である。Magnetization Transfer Ratio (MTR) による手法では、従来の MRI と異なり組織中の水分とタンパク質の相互関係を評価でき、これが組織中の高分子の定量化に有用であることが報告されてきた<sup>1) 2) 3)</sup>。その後、MTR の算出式を改良した Equivalent Cross-Relaxation Rate Imaging (ECRI) はより鋭敏な定量化ができることが報告された<sup>4) 5) 6)</sup>。臨床的には ECRI によって算出された ECR 値が乳癌組織における腫瘍細胞の悪性度や線維化の程度と相関していることが示され、乳癌のリンパ節転移の評価判断にも利用できる可能性が示唆されてい

る<sup>7)8)9)</sup>。しかしながら骨軟部腫瘍領域に於いては ECR 値が病理学的悪性度や術前化学療法効果にどのように関連を示すのかの報告はいまだなされていない。

今回の研究では、Magnetization Transfer Ratio (MTR) という手法を用いて MTR の算出式を改良した Equivalent Cross-Relaxation Rate (ECR) 値を比較することで骨軟部腫瘍における ECR 値の有用性を検討した。また、病理学的悪性度の一つの指標として組織標本の細胞密度や細胞核数を調査し病理学的悪性度と ECR 値との相関関係について検討し、術前の化学療法効果判定の指標や悪性度評価の指標となるかにつき検討することを目的とした。

## 方 法

### (1) ECR の測定

ECR の測定には、OsiriX software を用いた。ECRI の各スライスより腫瘍実質内の均一な領域を設定し、領域内の平均 ECR を算出した。腫瘍被膜や腫瘍内血管は除外した。全スライスの ECR を測定したが、特に両端部に近いスライスではアーチファクトの影響を強く受けるため、全スライスの平均 ECR $\pm$ SD 以内の数値となるスライスのみを抽出し、平均値を算出した。

### (2) 細胞密度とデータ解析

切除もしくは生検標本より作製した H&E 染色のプレパラートを使用し、細胞数をカウントした。術前に補助療法を施行し、切除標本にて細胞壊死がみられるような症例では生検標本を用いた。光学顕微鏡下で 400 倍の視野で撮影した 340  $\mu$  m<sup>2</sup> の組織像を ROI として設定し、各症例毎に任意の 10 か所 ROI を抽出した。細胞の計測には Image J を用いて、それぞれの撮影画像の核に対して閾値設定を行い、細胞の核数をカウントすることで細胞数を評価し、10 か所の平均値を算出した。

ECR 値と腫瘍の良悪性との相関関係の検定には Mann-Whitney U 検定を用い、ECR 値と標本組織の細胞密度との相関関係の検定に Spearman's rank correlation coefficient を用いた。P value < 0.05 を統計学的有意とした。

## 結 果

骨軟部腫瘍に対して ECR を測定し、かつ切除および生検にて病理学的診断のついた 50 例について検討した。対象症例の病理所見を表 1 に示す。(脂肪腫 5 例、脂肪肉腫 5 例、ALT3 例、骨肉腫 3 例、血管腫 3 例、PVNS3 例、Ewing 肉腫 2 例、骨巨細胞種 2 例、胞巣状軟部肉腫 2 例など)。

| Characteristic              |    |
|-----------------------------|----|
| Age                         |    |
| Sex                         |    |
| Male                        | 27 |
| Female                      | 23 |
| benign / intermediate tumor |    |
| lipoma                      | 5  |
| atypical lipomatus tumor    | 3  |
| hemangioma                  | 3  |
| PVNS                        | 3  |
| giant cell tumor of bone    | 2  |
| others                      | 7  |
| Malignant tumor             |    |
| liposarcoma(WDL/MDXL)       | 5  |
| Osteosarcoma                | 3  |
| Ewing sarcoma               | 2  |
| ASPS                        | 2  |
| othres                      | 4  |

表 1. 症例背景(男女、年齢、組織型)

(1) ECR 値の測定

良性腫瘍において、ECR は幅が大きかった。脂肪腫は 10 未満と特に低い傾向を示したが、PVNS や骨 GCT、線維腫、結節性筋膜炎では 40 以上と高い傾向を認めた。悪性腫瘍は多くが 40 前後と比較的高い値を示したが、脂肪系腫瘍である高分化型脂肪肉腫や粘液型脂肪肉腫では比較的低い傾向を示した。

全体として高悪性度腫瘍の ECR は、良性もしくは低悪性度腫瘍の ECR よりも低い傾向を

認めたが有意差はなかった。良性腫瘍でも、PVNS や骨 GCT では特に高い傾向を認めた。

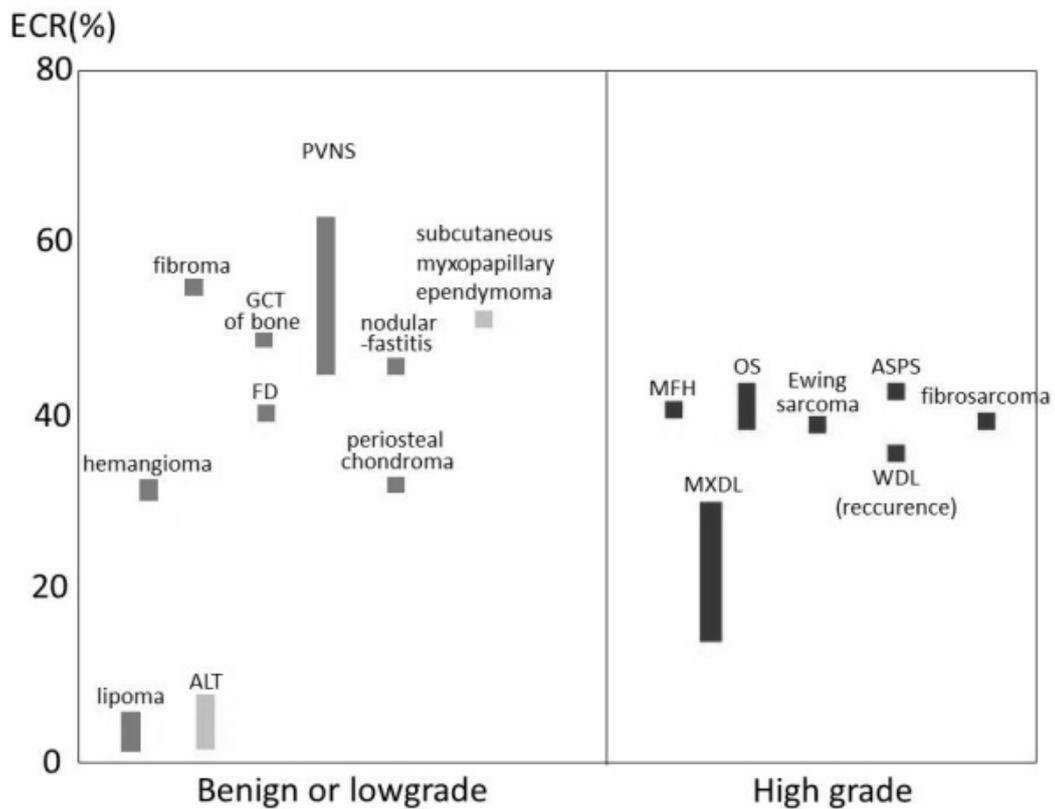


図 1. 腫瘍別 ECR 一覧

(2) ECR と細胞密度との比較

細胞密度は ECRI と同様に、脂肪系腫瘍では少ない傾向を示し、PVNS や骨 GCT などの良性腫瘍や高悪性度腫瘍ら全般において高い傾向を示した。ECR と細胞密度は有意な相関関係を示した。その中でも Ewing 肉腫は、他の腫瘍よりも相対的に ECR に対し特に高い細胞密度を認め、線維腫になどの一部の良性腫瘍では細胞密度に対して相対的に高い ECR を呈する傾向を認めた。

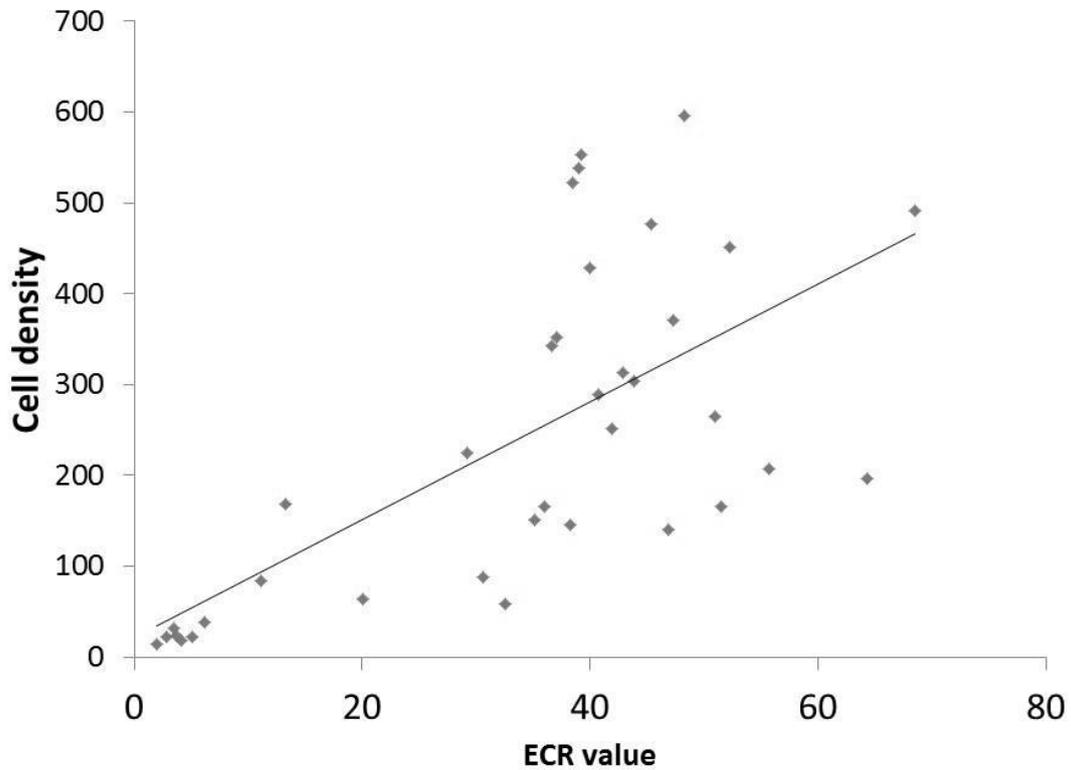


図 2. ECR 値・細胞密度相関関係

### (3) 化学療法前後の比較

3 症例に対して化学療法前後での ECR および細胞密度を測定した。内訳は ASPS 2 症例、Ewing 肉腫 1 症例。3 例とも化学療法に伴い壊死性の変化に伴う細胞密度の低下を認めた。しかし有意に ECR が低下したものは、Ewing 肉腫の症例のみで、他の 2 症例では明らかな ECR の低下は認めなかった。

術前治療前後の変化

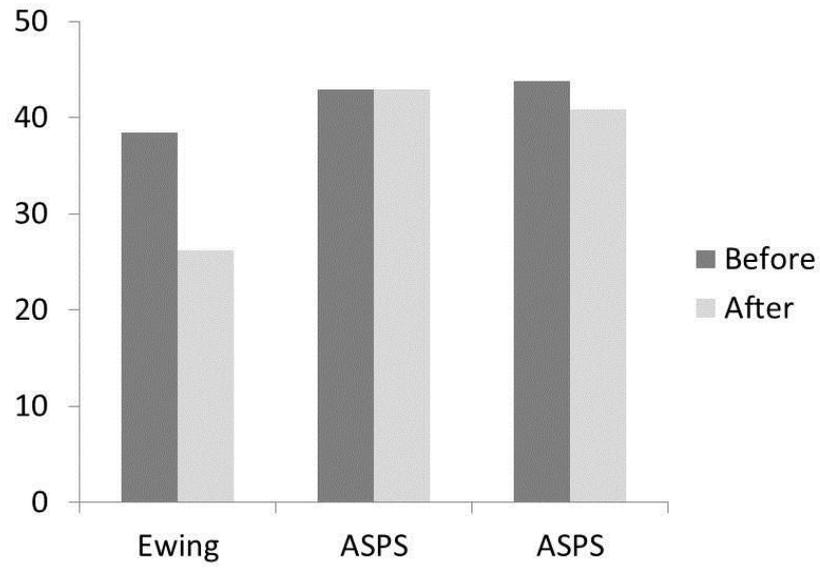


図3. 化学療法前後の ECR 値比較

## 考 察

骨軟部腫瘍は、様々な組織型があり、一般的なMRIなどの画像診断で得られる局在や性状だけでは診断が困難なことが多い。最終的な診断は、生検もしくは切除による組織診断が必要となるが、診断までに時間を要することが多く治療開始が遅れる可能性がある。こうした侵襲を伴う手技を開始する前に、画像診断である程度の組織型を類推できれば治療初期における方針決定に有用であると考えられる。

通常のMRIでは、遊離した水プロトンの信号を反映して脂肪成分・水分・線維成分といった性状を判別できるが、組織診断に不可欠な細胞密度や細胞の形状といった情報は反映されない。それに対し、ECRは核や細胞骨格などを含む細胞成分を構成する蛋白等の高分子の含有量と相関していると報告されている。さらにECRIとして画像化することで腫瘍細胞の細胞像を反映することができる<sup>4) 5) 6) 7) 8)</sup>。

Matsushimaら<sup>9) 10)</sup>は、乳癌のセンチネルリンパ節においてECRと組織標本の細胞密度には有意な相関関係があり、転移リンパ節における画像診断の可能性について報告した。骨軟部腫瘍においては、Tsukushiら<sup>5)</sup>は、良性腫瘍と悪性腫瘍のMTR値に有意差があり、またMTRとDNA indexとの間に相関関係があることを報告した。今回の研究では、より鋭敏な定量化ができるECRを骨軟部腫瘍において測定し、組織標本の細胞密度との比較検討を行った。

ECR値は良性腫瘍において個々の幅が大きく、悪性腫瘍群との有意な相違はなかった。しかし、ECR値が高いほど、細胞密度は高いという有意な相関関係を認めた。今までの報告と同様に、これは核や小器官、細胞骨格などから構成される細胞の密度が、protonを含んだ高分子の含有量としてECRに反映されていると考えられる<sup>11) 12) 13)</sup>。そのため、良性腫瘍でも細胞密度の高いPVNSや骨GCTではECRは高値となる。同様にprotonを含んだ高分子含有物質としてコラーゲンを含む基質はECRが高くなる傾向があり、線維腫など線維成分を多く含む良性腫瘍でもこうした理由でECR値が高くなった可能性がある<sup>14) 15) 16)</sup>。またEwing肉腫では1個当たりの細胞体積の小さい小円型細胞からなる組織像を呈するため、他の腫瘍と比較して高い細胞密度 / ECR比を呈したと考えられる。

化学療法の治療前後に対する評価では、ASPSの2例では明らかな変化を認めなかった。

今回細胞密度はバリエブルな細胞に対してのみカウントしており、ECRIにて組織の壊死性変化がバリエブルな組織とどのように判別されるかに対しては症例も少ないため今回の研究では不明である。ただ Ewing 肉腫では組織の壊死所見に呼応して ECR の低下を認めており、術前化学療法の治療効果判定に利用できる可能性がある。

今回の研究においては、多くの組織型を対象としておりまた n が少ないため、良悪性の診断についてまでは十分な検討を行うことができなかった。しかし、ECR と細胞密度は有意な相関関係を示し、治療前の画像診断として ECR は、通常の MRI の情報に加えて新たな診断的情報となる可能性がある。

## 文 献

1. Hu BS, corolly SM, Wright GA, et al. Pulsed Saturation transfer contrast. Magn Reson Med 1992;26:231-40
2. Koenig SH, Bryant RG, Hallenga K, et al. Magnetic cross-relaxation among protons in protein solutions. Biochemistry 1978;17:4348-58
3. Laremba L. FDA guidance for MR system safety and patient exposures: current status and future considerations. In: Magnetic resonance procedures: health effects and safety. Boca Ration, FL: CRC Press; 2001. p183-196
4. Sogami M, Era S, kinosada S, et al. Basic studies on the equivalent cross-relaxation rate imaging (equivalent CRI) phantom studies. NMR biomed 2001;367-375
5. Tsukushi S, Takahashi M, Nagai N, Matsushima S, Andoh M, Kinosada Y. Magnetization transfer ratios of musculoskeletal tumors. J orthop Sci 2002;7:524-527
6. Matsushima S, Takasu A, Hirabayashi T, Era S, Sogami M, Sakaki S, Ohsaki H, Kinosada Y. Equivalent Cross-Relaxation Rate Imaging in the Synthetic Copolymer Gels and Invasive Ductal

Carcinomas of the Breast Magn Reson Imaging 2002;20:285-293

7. Matsushima S, Sasaki F, Sarumaru S, Ohta D, Era S, Sogami M, Inaba T, Kinosada Y. Equivalent cross relaxation rate image for decreasing a false negative case of sentinel lymph node biopsy. Magn Reson Imaging 2003;21:1045-1047
8. Yuen S, Yamada K, Kinosada Y et al. Equivalent cross-relaxation rate imaging of breast cancer. J Magn Reson Imaging 2004;20:56-65
9. Matsushima S, Sasaki F, Yamaura H, Hiroji I, Ohsaki H, Era S, Sogami M, Inaba T, Uike M, kinosada Y. Equivalent cross-relaxation rate imaging for sentinel lymph node biopsy in breast carcinoma. Magn Reson Med 2005;13:1300-1304
10. Matsushima S, Nishiofuku H, Iwata H, Era S, Inaba Y, Kinosada Y. Equivalent cross-relaxation rate imaging of axillary lymph nodes in breast cancer. J Magn Reson Imaging 2008;27:1278-1283
11. Virta A, Kormano M, Paranko J. Magnetization transfer of pure DNA and purified sperm nuclei. MAGMA 1996;4:135-138
12. Okumura A, Takenaka K, Nishimura Y, Asano Y, Sakai N, Kwwta K, Era S. The characterization of human brain tumor using magnetization transfer technique in magnetic resonance imaging. Neuro Res 1999;21:250-4
13. Kurki T, Loundbom N, Valtonen S. Tissue characterization of intracranial tumours: the value of magnetization transfer and conventional MRI. Neuroradiology 1995;39:515-21
14. Bailey C, Desmond KL, Czarnota GJ, Stanisiz GJ. Quantitative Magnetization transfer studies of apoptotic cell death. Mann Reson Med 2011;66:264-269

15. Pui MH. Magnetization transfer analysis of brain tumor, infection and infarction. *J Magn Reson Imaging* 2000;12:395-9
16. Kurki T, Lundbum N, Valtonen S. Tissue characterization of intracranial tumors; the value of magnetization transfer and conventional MRI. *Neuroradiology* 1995;37:515-21