

《原 著》

大腸癌に対する ^{111}In -トランスフェリンシンチグラフィの
臨床的有用性の検討

平野 盛久* 成木 行彦* 瓜田 純久* 中谷 尚登*
野口 雅裕** 高野 政明*** 丸山 雄三*** 大塚 幸雄*

要旨 大腸癌患者 26 症例 28 病変に対し、 ^{111}In -トランスフェリンを用いてシンチグラフィを試み、その臨床的有用性を検討した。28 病変中 21 病変 (75%) と高率に描出された。腫瘍部位での検討では、上行結腸、横行結腸で描出率が高い傾向にあったが、Borrmann による形態分類、組織型および肉眼的壁深達度では明らかな傾向は認めなかった。しかし、腫瘍最大径が大きく深達度が進展している例でシンチグラム陽性率が高くなる傾向を示した。切除標本 10 例のシンチグラフィでは全例陽性の所見を示した。

腫瘍部分の放射能は、非腫瘍部分に比較し 4.41 ± 2.96 倍と高値であった。抗トランスフェリンレセプター抗体による免疫組織染色では、癌組織に一致し強く染色された。以上より、 ^{111}In -トランスフェリンは大腸癌組織に集積することが明らかであり、シンチグラフィとして臨床的に有用であると思われる。

(核医学 30: 1369-1377, 1993)

I. はじめに

大腸癌に対するシンチグラフィには、これまで ^{67}Ga が主に用いられてきた。しかし、その陽性率は一般に低く 20-40% と報告され¹⁻³⁾、臨床的評価も低かった。

癌細胞表面にはトランスフェリンレセプター (TfR) が豊富に存在し、トランスフェリン (Tf) は結合した後細胞内へ取り込まれることが知られ⁴⁾、それを利用し、Tf-抗癌剤複合体によるターゲティング療法も試みられている⁵⁾。このことより、Tf に放射性同位元素を標識することにより癌の局在診断も可能ではないかと考え、今回 ^{111}In -Tf を用いて大腸癌患者に対し画像診断を試み、さらに

手術後の切除標本の撮像も行い、その有用性について検討した。

II. 対象と方法

対象は注腸 X 線または大腸内視鏡にて大腸癌と診断された患者 26 例で、1 例は早期癌、25 例は進行癌であり、病変部位および腫瘍径は Table 1 のごとくである。

^{111}In -Tf の標識は、 ^{111}In -chloride (日本メジフィジックス社) 74-111 MBq を約 20 ml の患者血漿と室温で 1 時間無菌的にインキュベートして行った。 ^{111}In と Tf の結合率はセルロースアセート膜を用いた電気泳動およびヤギ抗ヒト Tf 抗体結合ビーズを用いて行い、前者では ^{111}In の 99% が蛋白と結合し、後者では ^{111}In の 90% 以上が Tf と結合していた^{6,7)}。

イメージングは、 ^{111}In -Tf を静注後 24, 48, 72 時間目にガンマカメラを用いて背臥位で腹部前面像を撮像した。腹部前面像において、脊椎、骨盤以外の腹部をバックグラウンドとして ROI を設定しカウントし集積部とで比較した。また、切除

* 東邦大学医学部第一内科

** 同 佐倉病院放射線科

*** 同 大森病院中央放射線科

受付: 5 年 2 月 1 日

最終稿受付: 5 年 8 月 18 日

別刷請求先: 東京都大田区大森西 6-11-1 (☎ 143)

東邦大学医学部附属大森病院第一内科

平野 盛久

の72時間前に静注した10症例においては24時間、48時間後に撮像し手術当日に切除標本も撮像した。5症例では腫瘍部分と非腫瘍部の1g当たりの比放射能も検討した。

癌組織の immuno-peroxidase 染色は、一次抗体としてマウス抗トランスフェリンレセプター抗体 NU-TfR1 (ニチレイ) を 100 倍希釈し、ヒストファイン SAB-PO キット (ニチレイ) を用い免疫染色を行った。

III. 結 果

1. 撮像時間の検討

24, 48, 72 時間後の 3 回撮像し検討したところ、24 時間後に比べ 48, 72 時間後の像が優れていた。本論文には 72 時間後の像を用いた。

2. ^{111}In -Tf シンチグラム陽性率の腫瘍占拠部位での検討

28 病変中 21 病変 (75%) が描出された。腫瘍占拠部位との関係は、上行結腸および横行結腸はそれぞれ 8 例、4 例のすべてが陽性であった。しか

し、下行結腸は 2 例中 1 例 50%, S 状結腸は 9 例中 6 例 66.7%, 直腸は 5 例中 2 例 40% とやや陽性率は低い傾向であった (Table 2)。

3. Borrmann の形態分類での検討

早期癌の 1 例は陰性であったが、進行癌では Borrmann 1 型は 3 例中 3 例 100%, 2 型は 18 例中 13 例 72.2%, 3 型は 7 例中 6 例 85.7% と陽性率は高率であった (Table 3)。

4. 組織型での検討

高分化型腺癌では 19 例中 14 例 73.7%, 中分化型腺癌では 7 例中 5 例 71.4%, 粘液腺癌では 2 例中 2 例 100% といずれも陽性率は高く、組織型での差は認められなかった (Table 4)。

5. 肉眼的壁深達度での検討

手術にて摘出された 26 例について大腸癌取扱規約による肉眼的壁深達度にて分類し検討した。早期癌の 1 例は sm で陰性であったが、A₁ (SS) では 3 例中 3 例 100%, A₂ (S) では 12 例中 9 例

Table 1 Summary of subjects

Location	
Rectum	5 cases
Sigmoid colon	9 cases
Descending colon	2 cases
Transverse colon	4 cases
Ascending colon	8 cases
Tumor size	
2 cm >	1 case
2-4 cm	4 cases
4-6 cm	10 cases
6-8 cm	7 cases
8 cm ≤	4 cases
unknown	2 cases

Table 2 Relationship between positive rate of ^{111}In -Tf scintigram and tumor site

Rectum	2/5	(40%)
Sigmoid colon	6/9	(66.7%)
Descending colon	1/2	(50%)
Transverse colon	4/4	(100%)
Ascending colon	8/8	(100%)
Total	21/28	(75%)

Table 3 Relationship between positive rate of ^{111}In -Tf scintigram and macroscopic type

Borrmann 1	3/3	(100%)
Borrmann 2	13/18	(72.2%)
Borrmann 3	5/6	(83.3%)
Early I	0/1	(0%)
Total	21/28	(75%)

Table 4 Relationship between positive rate of ^{111}In -Tf scintigram and histological type

well differentiated adenocarcinoma	14/19	(73.7%)
moderately differentiated adenocarcinoma	5/7	(71%)
mucinous carcinoma	2/2	(100%)
Total	21/28	(75%)

Table 5 Relationship between positive rate of ^{111}In -Tf scintigram and depth of invasion

A _i (Si)	8/10	(80%)
A ₂ (S)	9/12	(75%)
A ₁ (SS)	3/3	(100%)
SM	0/1	(0%)
Total	20/26	(76.9%)

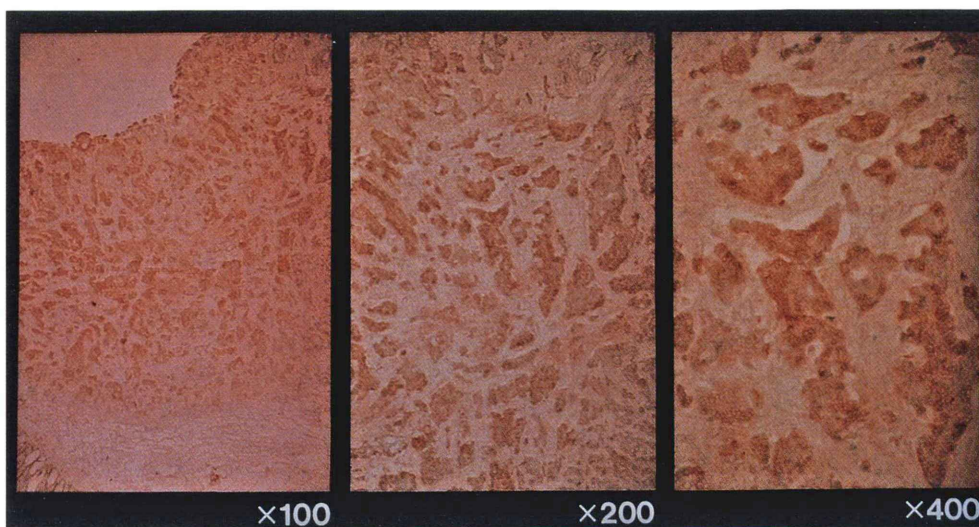


Fig. 1 Immuno-peroxidase stain with anti-Tf·R monoclonal antibody, the tumorous tissues were stained strongly.



Fig. 2 62-year-old man with ascending colon carcinoma of Borrmann 1 type. The anterior image of abdomen (right inferior) showed the accumulation of ^{111}In in the ascending colon which corresponded to the elevated lesion in the colonoscopy (right superior) and the barium enema (left).

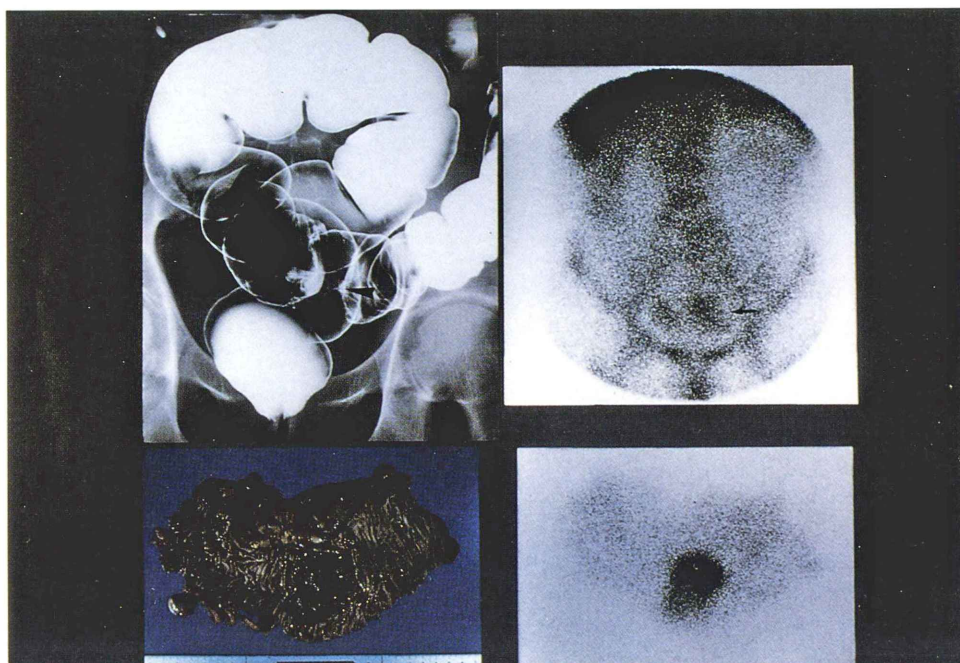


Fig. 3

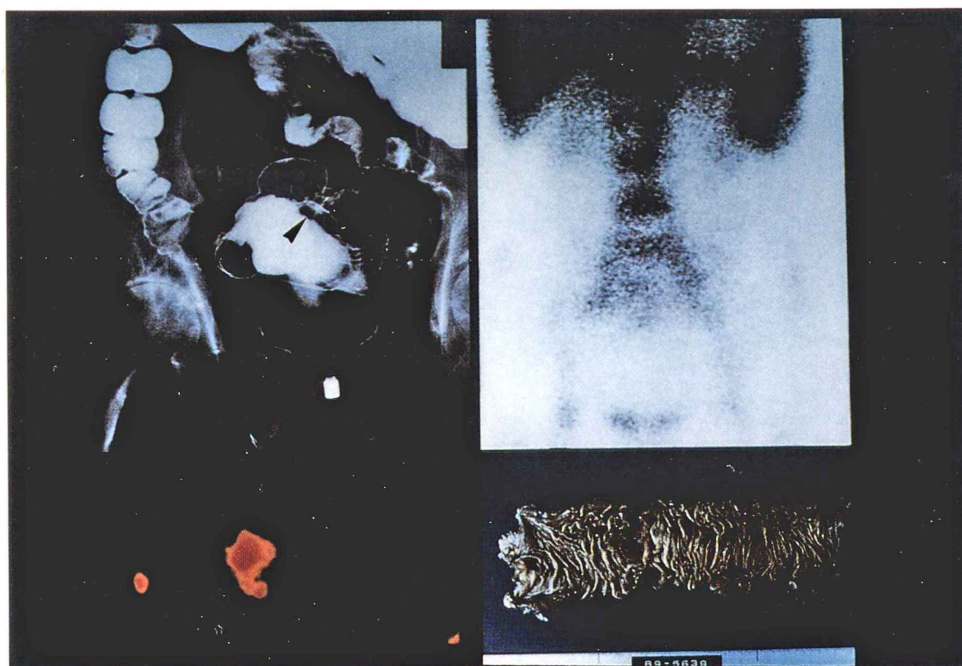


Fig. 4

75%, $A_1(S_1)$ では 10 例中 8 例 80% が陽性であった。しかし、深達度による明らかな傾向は認められなかった (Table 5)。

6. 腫瘍最大径での検討

陽性率においては、最大径が大きい症例にやや

陽性例が多い傾向がみられ、4 cm 以上では 21 例中 18 例 85.7% と高率であった (Table 6)。

7. 切除標本での検討

手術により摘出された標本のうち、手術の 72 時間前に ^{111}In -Tf を静注した 10 検体について検討した。切除標本では 10 例すべてが陽性であった。体外からのシンチグラムでは 10 例中 7 例 70% の陽性率であり、陰性の 3 例の中には最大径 1.1 cm、壁深達度 sm の早期癌も含まれていたが、この症例も切除標本では陽性であった (Table 7)。

8. 腫瘍部分と非腫瘍部分の放射能の検討

腫瘍を中心部より楔状に分割し、組織 1 g 当た

Table 6 Relationship between positive rate of ^{111}In -Tf scintigram and tumor size

2 cm>	0/1	(0%)
2-4 cm	2/4	(50%)
4-6 cm	9/10	(90%)
6-8 cm	6/7	(85.7%)
8 cm≤	3/4	(75%)
Total	20/26	(76.9%)

Table 7 Findings of surgical specimen in patients underwent ^{111}In -Tf scintigraphy

Case	Age	Sex	Location	Macroscopic type	Maximum diameter (cm)	Histology	Depth invasion	Scintigram	
								Abdomen	Surgical specimen
1. Y.M.	58	M	Sigmoid colon	Borr. 1	5.7	mucinous ca.	s	+	+
2. J.N.	82	M	Sigmoid colon	Borr. 2	4.0	well diff. ad. ca.	si	-	+
3. T.S.	71	F	Ascending colon	Borr. 2	5.5	well diff. ad. ca.	ss	+	+
4. S.K.	58	M	Rectum	I	1.1	mod. diff. ad. ca.	sm	-	+
5. M.K.	72	M	Transverse colon	Borr. 3	7.5	well diff. ad. ca.	si	+	+
6. N.K.	75	M	Descending colon	Borr. 2	4.5	mod. diff. ad. ca.	si	+	+
7. K.O.	77	M	Transverse colon	Borr. 2	4.0	well diff. ad. ca.	ss	+	+
8. J.N.	62	M	Ascending colon	Borr. 2	5.5	mod. diff. ad. ca.	si	+	+
9. S.H.	83	M	Sigmoid colon	Borr. 2	3.5	well diff. ad. ca.	s	+	+
10. T.M.	79	M	Sigmoid colon	Borr. 2	3.0	well diff. ad. ca.	s	-	+

◀**Fig. 3** 58-year-old man with sigmoid colon carcinoma of Borrmann 1 type. The anterior image of the abdomen (right upper) showed the accumulation of ^{111}In in the sigmoid colon which corresponded to the elevated lesion in the barium enema (left upper). The image of surgical specimen (right inferior) showed the accumulation of ^{111}In in center which corresponded to the lesion of the surgical specimen (left inferior).

Fig. 4 82-year-old man with sigmoid colon carcinoma of Borrmann 2 type. The anterior image of abdomen (right upper) not showed the accumulation of ^{111}In in the sigmoid colon which corresponded to the stenotic lesion in the barium enema (left upper). But the image of surgical specimen (left inferior) showed the accumulation of ^{111}In in the large and small lesion which corresponded to the lesion of surgical specimen (right inferior).

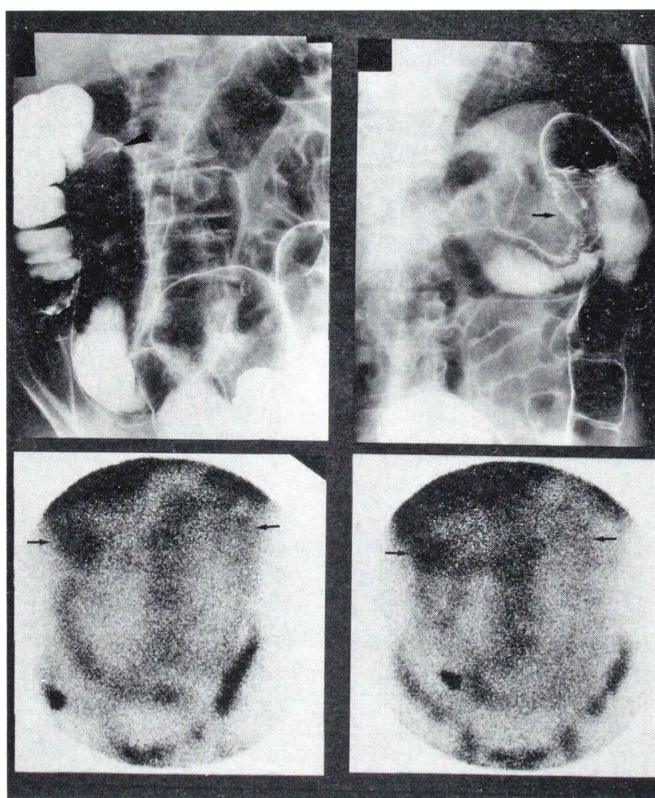


Fig. 5 72-year-old man with hepatic flexure carcinoma of Borr. 2 type and transverse colon carcinoma of Borr. 3 type. The anterior image of abdomen (inferior) showed the accumulation of ^{111}In in the hepatic flexure and transverse colon which corresponded to the stenotic lesion in the barium enema (right and left upper).

りの放射能を 5 例について検討した。腫瘍部分放射能は、非腫瘍部分の 4.41 ± 2.96 倍と高値であり、腫瘍中心部は 6.56 ± 4.78 倍とさらに高値であった。

9. 抗 Tf・R 抗体を用いた免疫組織染色 (Fig. 1)

3 例に施行し 3 例とも癌部に一致して強い染色性が認められた。強拡大での観察では癌組織の細胞質の濃染が認められた。

IV. 症例呈示

症例 1 60 歳, 男性。大腸内視鏡のごとく Borr. 1 型の上行結腸癌であり、注腸 X 線の病巣に一致して、72 時間後のシンチグラムで ^{111}In の

明らかな集積を認めた (Fig. 2)。

症例 2 58 歳, 男性。Borr. 1 型の S 状結腸癌であり、72 時間後のシンチグラムでは、体外からの撮像でも注腸 X 線の病巣に一致して ^{111}In の集積を認めた。手術当日の切除標本の撮像では、腫瘍への集積がより明白であった (Fig. 3 (Table 7 の No. 1))。

症例 3 82 歳, 男性。Borr. 2 型の S 状結腸癌であるが、体外からの撮像では 72 時間後のシンチグラムでは、 ^{111}In の腫瘍部への明らかな集積は認められなかったが、手術当日の切除標本の撮像では、腫瘍への集積は明らかであった (Fig. 4 (Table 7 の No. 2))。

症例 4 72 歳, 男性。Borr. 2 型と Borr. 3 型

の横行結腸癌であるが、72時間後のシンチグラムでは、注腸 X 線の病巣に一致して ^{111}In の集積が両病変とも明らかに認められた (Fig. 5).

V. 考 察

大腸癌の診断には注腸造影、大腸内視鏡等で行われることが多く、radioisotope (RI) が利用されることは少ない。その理由としてこれまでは ^{67}Ga が主に用いられていたが、陽性率が 20–40% と低いこと、便へのガリウムの生理的排泄により癌との鑑別が困難となる例が多くなるなどが上げられる^{1–3)}。

^{111}In は、従来造血骨髄シンチグラフィに用いられていた核種であるが、近年は静注後血中蛋白であるトランスフェリン (Tf) と結合することを利用して蛋白漏出性胃腸症の診断にも用いられている^{6,7)}。Tf は鉄イオンと強い親和性を有しており、細胞内への取り込みは、細胞表面の Tf レセプター (TfR) を介して行われる⁴⁾。TfR は網赤血球⁸⁾、胎盤絨毛膜⁹⁾、レクチン刺激リンパ球¹⁰⁾、各種継代培養細胞¹¹⁾、さらには悪性腫瘍組織¹²⁾ にも多数存在することが知られている。われわれも抗 TfR モノクローナル抗体を用いた免疫染色にて大腸癌組織に TfR が存在することを確認した。 ^{111}In は腸管への生理的排泄はないが出血や蛋白漏出がある場合肛側腸管が濃染されることもある。その場合、経時的に撮像することにより腫瘍との鑑別は可能と思われる。

そこで、 ^{111}In を標識した Tf による大腸癌のイメージングを試みたところ、28 病変中 21 病変 75% と陽性率は非常に高率であった。さらに、10 例は切除標本の撮像も行い早期癌も含めて全例陽性であった。これは、 ^{67}Ga シンチグラフィでの報告^{1–3)} に比べ高率であった。その理由の一つには in vivo での標識のため in vitro 標識の ^{67}Ga よりも有利であったのかもしれない。

腫瘍と正常粘膜との放射能を比較検討したところ、腫瘍全体では 4.41 ± 2.96 倍、腫瘍中心部では 6.56 ± 4.78 倍と正常粘膜に比し高値であり、癌部に特異的に取り込まれたものと考えられた。また、

大腸癌の腫瘍占拠部位、肉眼分類、組織型、肉眼的壁深達度および腫瘍最大径での陽性率を検討した。腫瘍占拠部位では上行結腸、横行結腸では 100% の陽性率であった。その理由としては、腸管の重なりが少ないことや、骨盤腔外のため骨髄への集積との鑑別が不要であることなどが考えられた。肉眼分類では Borr. 1 型が症例数は 3 例と少なかったが 3 例とも陽性であった。これらの中には、静注後数分より集積が認められたものもあり、TfR のみならず血流の影響もイメージングに関与することが示唆された。また、組織型では ^{67}Ga での検討で、未分化癌での集積率が高いとの報告²⁾ がある。著者らの症例には未分化癌はなかったが、粘液癌は 2 例とも陽性であった。腫瘍最大径と深達度での検討では大きく、また深く浸潤しているほど陽性率が高い傾向であった。しかし、切除標本では深達度 sm の早期癌も陽性であったことより、 ^{111}In の量、撮像時間、撮像方法のより詳細な検討や、SPECT の使用にて、より微小な癌も検出できる可能性もあると思われた。

腫瘍シンチグラフィにとって癌の転移巣の検出の有無も重要である。特に肝転移の場合、本研究に使用した ^{111}In は、正常肝へ強く集積するため肝転移巣の描出は困難である¹³⁾。著者らも肝転移、肺転移 1 例ずつ試みたが両方とも陰性であった。近年、大腸癌に対して ^{111}In 標識抗 CEA モノクローナル抗体を使用した報告が数多くなされている^{14,15)} が、われわれの陽性率 75% と比較して決して高いとはいえない。しかし、転移巣の検出は比較的良好であったとの報告¹⁶⁾ もある。

マウスモノクローナル抗体を使用した場合、HAMA の生成のため頻回の検査が不可能となる¹⁷⁾。しかし、Tf では自己血清を用いるため、安全にかつ繰り返し検査が行えるという利点がある。したがって、今後は症例や病態を考慮して両者を使い分けることによって検出率の向上が期待できると思われる。

VI. 結 語

大腸癌患者 26 例に対し ^{111}In -Tf シンチグラフ

ィを試み、以下の結果を得た。

1) 28 病変中 21 病変 (75%) に陽性所見が得られた。占拠部位では上行結腸、横行結腸では全例陽性であった。切除標本では早期大腸癌も含め全例陽性であった。

2) 組織中の放射能の検討では、腫瘍部は非腫瘍部の 4.41 倍と高値であった。

3) 大腸癌組織の抗 TfR 抗体による免疫染色にて TfR の存在を確認したことにより、 ^{111}In -Tf の集積は TfR を介して細胞内に取り込まれることによると考えられた。

4) 自己の血清を用いるため安全にかつ繰り返し行える検査として有用と思われた。

本論文の要旨は第 30 回日本核医学会総会、第 50 回日本癌学会総会において発表した。

文 献

- 利波紀久：最新臨床核医学，第 1 版，金原出版，1986, p. 513
- Nash AG, Dance DR, McCready VR, Griffiths VR: Uptake of gallium-67 in colonic and rectal tumours. *Br Med J* 3: 508-510, 1972
- Douds HN, Berens SV, Long RF, Caplan GE: ^{67}Ga -citrate scanning in gastrointestinal malignancies. *Clin Nucl Med* 3: 179-183, 1978
- 漆崎一郎，漆崎洋一，高後 裕：細胞増殖と Transferrin receptor. *Oncologia* 5: 109-120, 1983
- 高後 裕，加藤淳二，佐々木勝則，近藤 仁：Transferrin-neocarzinostatin によるターゲティング療法。癌と化学療法 15: 1072-1076, 1988
- 成木行彦，瓜田純久，大塚幸雄，野口雅裕： ^{111}In トランスフェリンを用いた蛋白漏出性胃腸症の診断法。消化と吸収 13: 30-34, 1990
- 瓜田純久：蛋白漏出性胃腸症の診断に関する ^{111}In トランスフェリンの臨床的研究。日消誌 88: 2644-2652, 1991
- Leibman A, Aisen P: Transferrin receptor of the rabbit reticulocyte. *Biochemistry* 16: 1268-1272, 1977
- Wada HG, Hass PE, Sussman HH: Transferrin receptor in human placental brush border membranes. *J Biol Chem* 254: 12629-12635, 1979
- Galbraith GMP, Goust JM, Mercurio SM, Galbraith RM: Transferrin binding by mitogen-activated human peripheral blood lymphocytes. *Clinical Immunol Immunopathol* 16: 387-395, 1980
- Hamilton TA, Wada HG, Sussman HH: Identification of transferrin receptors on the surface of human cultured cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 76: 6406-6410, 1979
- Faulk WP, Hsi BL, Stevens PJ: Transferrin and transferrin receptors in carcinoma of the breast. *Lancet* Au: 390-392, 1980
- Halpern SE, Hagan PL, Garver PR, Koziol JA, Chen AWN, Frincke JM, et al: Stability, characterization, and kinetics of ^{111}In -labeled monoclonal antitumor antibodies in normal animals and nude mouse-human tumor models. *Cancer Res* 43: 5347-5355, 1983
- Beatty JD, Williams LE, Yamauchi D, Morton BA, Hill LR, Beatty BG, et al: Presurgical imaging with indium-labeled anti-carcinoembryonic antigen for colon cancer staging. *Cancer Res* 50: 922s-926s, 1990
- Patt YZ, Lamki LM, Shanken J, Jessup JM, Charnsangavei C, Ajani JA, et al: Imaging with indium 111 -labeled anticarcinoembryonic antigen monoclonal antibody ZCE-025 of recurrent colorectal or carcinoembryonic antigen-producing cancer in patients with rising serum carcinoembryonic antigen levels and occult metastasis. *J Clin Oncol* 8: 1246-1254, 1990
- Lamki LM, Patt YZ, Rosenblum MG, Shanken LJ, Thompson LB, Schweighardt SA, et al: Metastatic colorectal cancer: Radioimmunosintigraphy with a stabilized In-111-labeled F(ab') $_2$ fragment of an anti-CEA monoclonal antibody. *Radiology* 174: 147-151, 1990
- Schroff RW, Foon KA, Beatty SM, Oldham RK, Mogan AC Jr: Human anti-murine immunoglobulin responses in patients receiving monoclonal antibody therapy. *Cancer Res* 45: 879-885, 1985

Summary

Clinical Usefulness of ^{111}In Transferrin Scintigraphy in Colorectal Cancer

Morihisa HIRANO*, Yukihiro NARUKI*, Yoshihisa URITA*,
Naoto NAKATANI*, Masahiro NOGUCHI**, Masaaki TAKANO***,
Yuuzou MARUYAMA*** and Sachio OTSUKA*

**First Department of Internal Medicine,*

***Department of Radiology, Sakura Hospital,*

****Radiological Center, School of Medicine, Toho University*

As assessment was made regarding the clinical value of ^{111}In transferrin in scintigraphy on 28 lesions in 26 cases of colorectal cancer. The positive rate of colorectal cancer was high: 21 lesions out of the 28 (75%) were found to be positive. As for the location of cancer, there was a tendency for the positive rate to be high in the ascending and transverse colon. There was no obvious trend regarding Borrmann's classification, histological type, or macroscopic depth of invasion. There was a trend for cases in which the maximum diameter of the tumor was large and depth of invasion was in progress to be positive. Ten cases in which a

specimen was resected were all shown to be positive by scintigraphy. Radioactivity in the tumorous regions was 4.41 ± 2.96 times that of the non-tumorous regions. Moreover, tumorous tissue was strongly stained by the immuno-histological staining with anti-Tf-receptor antibody. From the above findings, it was considered that ^{111}In transferrin is clinically useful in scintigraphy, since it is evident that it accumulates in the tissue of colorectal cancer.

Key words: ^{111}In transferrin scintigraphy, Colorectal cancer, Transferrin receptor.