

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 4月18日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22591319

研究課題名（和文） 固形癌分子標的治療の早期客観的治療効果判定法の確立

研究課題名（英文） Early prediction of therapeutic effect of molecular targeting therapy for solid malignant tumor with imaging biomarkers

研究代表者

小林 聡 (KOBAYASHI SATOSHI)

金沢大学・保健学系・准教授

研究者番号：30313638

研究成果の概要（和文）：肝細胞癌の分子標的治療開始後の腫瘍血管の拡張所見が治療有効例の予測に応用可能と考えられた。Perfusion CTによる治療後早期の血流パラメータ値の変化と長期経過後の腫瘍の画像上変化との間には有意な相関は得られなかった。一方、Dual-Energy CTによる腫瘍内ヨード量定量値は腫瘍の血流と関連があることが示され、早期治療効果判定のバイオマーカーとして使用できる可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：Dilatation of intratumoral vessels on multiphasic contrast enhanced CT was estimated to be one of the key findings for prediction of early therapeutic effect evaluation of molecular-targeting therapy for hepatocellular carcinoma (HCC). There are no significant correlation between hemodynamic parameters of CT perfusion just after starting of molecular-targeting therapy for HCC and long term therapeutic effect of it. In contrast, intratumoral iodine measurement obtained by dual-energy CT technique might be used as surrogate marker for early prediction of therapeutic effect of molecular targeting therapy for HCC.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	800,000	240,000	1,040,000
2011年度	600,000	180,000	780,000
2012年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総計	2,000,000	600,000	2,600,000

研究分野：放射線医学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・放射線科学

キーワード：肝細胞癌，分子標的治療，造影CT，Dual-Energy CT，ヨードマップ

1. 研究開始当初の背景

最近注目されている癌治療法の一つに血管新生抑制剤に代表される分子標的治療薬を用いた癌治療がある。従来の抗癌剤のような癌細胞の直接壊死を期待する治療法と異なり、分子標的療法では腫瘍細胞の増殖に必要な腫瘍血管新生などをブロックすること

により間接的な抗腫瘍効果を期待するため、治療後早期の効果判定時には腫瘍サイズの縮小がみられず従来の画像診断による腫瘍サイズをもとにした効果判定法による評価が困難な場合が多いという特徴がある。実際、これら薬剤は開発段階ではおもに治療後の癌組織の血管密度(MVD)の減少の有無を病理組織学的に検討することにより、その有

用性の評価、抗癌治療効果判定が行われてきた。

現在、種々の分子標的治療薬が実際の臨床現場で使用されはじめているが、治療後効果判定目的に腫瘍生検を繰り返し、組織学的に血管密度の変化を評価することは現実的ではなく臨床現場では新たな分子標的療法の効果判定法の確立が望まれている。

CT 灌流画像は CT 撮影範囲内における任意の関心領域の血管容積、血液流入量、組織血流平均通過時間、血管透過性といった血流に関する生理学的パラメータを非侵襲的・定量的に算出可能な検査手法であり、特殊な研究用の機器ではなく通常一般に病院で使用されている汎用の CT 装置により可能な手技であり現在おもに脳梗塞における脳血流評価を中心に臨床使用されている。

現在、体幹部の CT 灌流画像についても臨床応用されつつあり我々は固形癌の診断、治療効果判定への応用について動物を用いた基礎的検討を行ってきた (Kan Z, Kobayashi S, et al. Functional CT for quantifying tumor perfusion in antiangiogenic therapy in a rat model. *Radiology*. 2005; 237:151-8. Kan Z, Kobayashi S, et al. Functional CT quantification of tumor perfusion after transhepatic arterial embolization in a rat model. *Radiology*. 2005; 237:144-50.)。実際に CT 灌流画像を腫瘍血流評価の客観的指標として使用する場合、脳梗塞における脳血流評価では必要性が乏しかったいくつかの前提条件を満たしている必要がある。

例えば、脳梗塞の診断に CT 灌流画像を使用する場合には、梗塞が疑われた時点の 1 回の検査のデータをもとに病的領域と正常領域の比較を行うことで脳虚血の診断が可能であるのに対して、抗癌治療の効果判定の場合には同一個体の異なる時点での検査データの比較が必要となる。

従って、ある患者における治療前の CT 灌流画像で得られた血流パラメータ値と治療後の CT 灌流画像で得られた血流パラメータ値を同一の尺度で比較して良いと担保されていないなければならない。

つまり、異なる時期に行った検査で得られた血流パラメータ値 (絶対値) の比較が可能でなければ治療効果判定の客観的指標とはならない。

ところが、CT 撮影から CT 灌流画像ソフトウェアを用いて血流パラメータ値を入手するプロセスには CT 撮影条件 (管電圧、スライス圧など)、造影剤注入条件 (注入造影剤濃度、速度など)、生体の生理学的条件 (心拍数、循環血液量など)、ソフトウェア操作条件 (関心領域の設定誤差など) と言った様々な変数が存在しており、これら撮影時の条件の変化が実際に算出される血流パラメ

ータ値にどの程度反映されるか十分解明されていない。

この疑問を解明するため、我々は既に、これら変数のうち CT 撮影後のデータの解析のみで検討が可能な、CT 撮影後のソフトウェア操作条件の差が血流パラメータ値に及ぼす影響に関して、実際の臨床データを用いて同一患者の同一データを異なる験者がソフトウェア操作を行うことにより検討し、ソフトウェア操作条件の差は血流パラメータ値に有意な影響を及ぼさず客観性が保たれることを北米放射線学会において発表した (Faria SC, Kobayashi S, et al. Inter-Observer Variability in the Measurement of Functional CT Parameters in Patients with Hepatic Metastases. (abstr.). In: Radiologic Society of North America Scientific assembly and annual meeting program, Oak Brook, Ill: Radiologic Society of North America, 2003.)

しかし、他の変数を検討する場合、同一個体で複数回の CT 撮影が必要となるため被曝量増加など倫理的な問題があり実際の人体で検討することは不可能であり未検討となっている。

2. 研究の目的

分子標的治療の早期客観的効果判定が、特殊な装置・設備を使用することなく臨床現場で用いられている汎用の CT 撮影装置を用いて容易に可能となることをめざす。

すなわち、本研究の目的はこれまで研究代表者らが施行してきた検討を踏まえ、多相造影 CT 画像、CT 灌流画像や最近臨床使用が可能となった Dual-Energy CT を用いた腫瘍血流評価などを駆使し、造影 CT を用いた固形癌に対する分子標的治療後の早期客観的効果判定法を確立することである。

3. 研究の方法

まず、実際の分子標的治療前後の固形癌の変化の特徴をつかむため、肝細胞癌の分子標的治療薬であるソラフェニブ投与例を対象に投与前と投与後の腫瘍の変化に関して CT 画像で解析した (検討 1)。

対象症例は 26 例。ソラフェニブ投与日数は平均 58 日の患者群で 30 日以上投与例で最終的に画像上 PD と判断され投与が中止された例は 15 例、SD は 3 例である。

具体的には治療直前と治療開始後の多相造影 CT 画像を用い、腫瘍サイズの変化、腫瘍内部濃染の変化、腫瘍内部性状の変化 (腫瘍血管の拡張、腫瘍内壊死など) について検討し治療効果と対比した。

次いで、検討 1 で得られた結果を踏まえ、肝

細胞癌に対するソラフェニブ治療前後における perfusion CT パラメータの変化に関する初期検討を行った（検討2）。肝細胞癌の分子標的治療薬であるソラフェニブの治療効果判定に際しては従来の RECIST のサイズクライテリアの観点からの効果判定のみではなく腫瘍の血流変化に関する評価も加味する必要があると考えられてきている。Perfusion CT は造影剤急速静注後に目的臓器の CT 撮影を複数回撮影し、そのデータから種々の血流パラメータを算出することが可能な手法であり脳血流の評価法として現在臨床応用されている。我々は肝細胞癌に対するソラフェニブ投与前後に腫瘍部をターゲットとした perfusion CT を施行し、血流パラメータ値の変化を評価し、検討1で得られたソラフェニブ投与後に見られる血管拡張所見を客観的数値として把握可能かに関して検討した。

具体的には肝細胞癌に対するソラフェニブ投与前後に腫瘍部をターゲットとした perfusion CT を施行し、血流パラメータ値の変化を評価した。

対象は進行肝細胞癌に対してソラフェニブ投与を施行した7例10病変。ソラフェニブ投与開始前及び開始後早期（約1週間後）に Siemens 社製 SOMATOM Definition flash に搭載された Adaptive 4D Spiral を使用し全肝の perfusion CT を施行し腫瘍部位の血流パラメータ (Blood flow (BF, ml/100ml/min), Blood volume (BV, ml/100ml)) を測定した。ここで、Perfusion CT を使用して行った検討2では検討1で得られた分子標的治療後の腫瘍変化所見を十分客観化できなかったため、Dual-Energy CT (DE-CT) 装置を用いた肝造影 CT 画像で得られる腫瘍内ヨード量定量値に着目し、腫瘍内ヨード量定量値がどの程度腫瘍血流の評価に有用であるかを検討し、DE-CT によるヨードマップ画像の応用が分子標的治療の早期効果判定のバイオマーカーとして使用可能かどうか判断するための基礎検討を行った。

具体的にはシーメンス社製 DE-CT で肝臓の3相造影 CT を施行した176例のうち血管造影、動注 CT を行って腫瘍性病変の血流解析を行った8例（男性5例、女性3例；平均年齢 71 ± 9 歳）に観察された直径1cm以上の結節14結節（平均 3.0 ± 3.6 cm）を対象とし、動脈相、門脈相、平衡相のヨードマップ上で腫瘍部、背景肝、大動脈の ROI のヨード量を測定し比較した。

4. 研究成果

実際の分子標的治療で固形癌がどのような変化を画像上呈するかについて肝細胞癌の分子標的治療薬であるソラフェニブ投与

例を対象に投与前と投与後の腫瘍の変化を CT 画像で解析したところ、腫瘍サイズの縮小は4%のみで、他は不変～増大を呈した。腫瘍内部濃染の低下あるいは不染部を呈する病変が42%に見られた。腫瘍血管の拡張（腫瘍内の動脈性血管の顕在化～偽動脈瘤様所見）を呈する病変が23%に見られ、うち15%は経過中に出現していた。腫瘍血管の拡張は投与期間30日以上群で認められたが30日未満群では確認されなかった。30日以上投与された SD 例の全例で腫瘍血管の拡張が観察された。また、PD 例において腫瘍血管の拡張が観察された腫瘍では腫瘍サイズの増大は見られたが比較的広範な内部壊死も伴っていた。

以上から造影 CT 上、ソラフェニブ投与後30日以上経過例で観察された腫瘍血管の拡張所見は SD 例で見られる頻度が高く、PD 例でも内部壊死を呈した病変に認められており治療効果予測に応用できる可能性があることが判明した。

これまで分子標的治療後の腫瘍内部の形態学的変化に関するまとまった報告はなく観察母数を増やした上で今回着目した所見と治療効果との間に有意な相関が確認されれば早期治療効果判定のメルクマールとなる可能性があり意義深い新知見と考えられた。分子標的治療の治療効果を早期に判断する手がかりは腫瘍血管の拡張所見と考えられたため、次のステップは perfusion CT で腫瘍血管の拡張所見を客観的に評価することと考えて肝細胞癌に対するソラフェニブ治療前後における perfusion CT パラメータの変化に関する初期検討を行った。

肝細胞癌の分子標的治療薬であるソラフェニブの治療効果判定に際しては従来の RECIST のサイズクライテリアの観点からの効果判定のみではなく腫瘍の血流変化に関する評価も加味する必要があると考えられてきている。Perfusion CT は造影剤急速静注後に目的臓器の CT 撮影を複数回撮影し、そのデータから種々の血流パラメータを算出することが可能な手法であり脳血流の評価法として現在臨床応用されている。我々は肝細胞癌に対するソラフェニブ投与前後に腫瘍部をターゲットとした perfusion CT を施行し、血流パラメータ値の変化を評価した。全病変の平均 BF 値は治療前 33.8 ± 9.8 (average \pm SD)、治療後 27.7 ± 12.5 、BV 値は治療前 7.6 ± 1.6 、治療後 6.6 ± 2.2 であった。治療開始後1-6ヶ月の画像と治療開始前の画像を比較し、観察病変を腫瘍サイズの増大がみられず、かつ腫瘍部分の濃染低下を示している群（濃染低下群；n=4）とそれ以外の所見群（非濃染低下群；N=6）の2群に大別し、治療前後のパラメータ変化の比〔治療前値-治療開始後値〕/治療前値を比較し

たが BF では濃染低下群 0.24 に対し非濃染低下群 0.13 ($p=.57$)、BV では濃染低下群 0.25 に対し非濃染低下群 0.09 ($p=.18$)といずれも濃染低下群においてより大きな値の減少を認めたが有意差は得られなかった。この検討では治療開始後早期の血流パラメータ値の変化と長期経過後の腫瘍の画像上変化との間には有意な相関は得られなかった。

Perfusion CTによる腫瘍血管の拡張所見の客観的評価は現時点では困難であると考えられたため次のステップとして Dual-Energy CT (DE-CT)装置を用いた肝造影 CT 画像で得られる腫瘍内ヨード量定量値の検討がどの程度腫瘍血流の評価に有用であるかを検討し、DE-CT によるヨードマップ画像の応用が分子標的治療の早期効果判定のバイオマーカーとして使用可能かどうか判断するための基礎検討を行った。

DE-CT の応用法の一つとして異なる管電圧による X線吸収値の差を利用し、造影画像から単純 CT 像を計算にて求める virtual non-contrast (VNC)技術が知られている。その際、副次的に得られるヨードマップ上に ROI を設定することにより任意の部位の単位体積あたりのヨード量を得ることができる。ヨードマップが簡便な血流解析のツールとして用いることができるかの検討の予備段階として肝腫瘍、背景肝などのヨード量測定を行ったところ、動注 CT 上、多血性肝細胞癌と診断された 10 結節 (平均径 2.0 ± 0.8 cm) の動脈相、門脈相、平衡相のヨード量 (mg/ml) は 2.5 ± 0.8 、 2.3 ± 0.4 、 1.7 ± 0.4 、乏血性肝細胞性腫瘍と診断された 4 結節 (平均径 5.7 ± 6.3 cm) のヨード量 (mg/ml) は、 1.1 ± 0.8 、 1.8 ± 1.2 、 1.4 ± 0.8 であった。背景肝のヨード量 (mg/ml) は、 1.0 ± 0.5 、 2.3 ± 0.5 、 1.8 ± 0.3 、大動脈のヨード量 (mg/ml) は、 12.5 ± 2.8 、 5.3 ± 1.0 、 4.0 ± 0.6 であった。多血性肝細胞癌と乏血性肝腫瘍の間では動脈相のヨード量において有意差が認められた ($p=0.01$)。

以上のように DE-CT のヨードマップでヨード量を定量的に解析した結果、動脈相において多血性肝癌、乏血性肝腫瘍のヨード量に有意差が認められ DE-CT によるヨードマップ画像が分子標的治療の早期効果判定のバイオマーカーとして使用できる可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 8 件)

- ① Kobayashi S, Matsui O, Gabata T, Koda W, Minami T, Kozaka K, Kitao A, Yoneda N, Yoshida K, Intrahepatic periportal

enhancement on hepatobiliary phase images of Gd-EOB-DTPA enhanced MRI: Imaging findings and the prevalence in various hepatobiliary diseases. *Jpn J Radiol*, 31: 9-15, 2013, 査読有, doi: 10.1007/s11604-012-0136-x.

- ② Kobayashi S, Matsui O, Gabata T, Koda W, Minami T, Ryu Y, Kozaka K, Kitao A, Intranodular signal intensity analysis of hypovascular high-risk borderline lesions of HCC that illustrate multi-step hepatocarcinogenesis within the nodule on Gd-EOB-DTPA-enhanced MRI. *Eur J Radiol*. 81: 3839-3845, 2012, 査読有, doi: 10.1016/j.ejrad.2012.06.027.
- ③ Kobayashi S, Matsui O, Gabata T, Koda W, Minami T, Ryu Y, Kozaka K, Kitao A, Relationship between signal intensity on hepatobiliary phase of gadolinium ethoxybenzyl diethylenetriaminepentaacetic acid (Gd-EOB-DTPA)-enhanced MR imaging and prognosis of borderline lesions of hepatocellular carcinoma. *Eur J Radiol*. 81: 3002-3009, 2012, 査読有, doi: 10.1016/j.ejrad.2012.03.029.
- ④ Kobayashi S, Matsui O, Gabata T, Koda W, Minami T, Ryu Y, Kawai K, Kozaka K, Gadolinium ethoxybenzyl diethylenetriamine pentaacetic Acid-enhanced magnetic resonance imaging findings of borderline lesions at high risk for progression to hypervascular classic hepatocellular carcinoma. *J Comput Assist Tomogr*, 35: 181-186, 2011, 査読有, doi: 10.1097/RCT.0b013e3182026f3b.
- ⑤ 小林 聡, 松井 修, 蒲田敏文, 香田 渉, 南 哲弥, 龍 泰治, 小坂一斗, 北尾 梓, 画像を用いた肝細胞性結節の悪性度推定および早期肝細胞がんの画像診断の進歩, *最新医学*, 66: 1760-1764, 2011, 査読無, URL: <http://ci.nii.ac.jp/naid/40018951688>
- ⑥ 小林 聡, 北尾 梓, 松井 修, 蒲田敏文, 眞田順一郎, 香田 渉, 南 哲弥, 龍 泰治, 川井恵一, 新村理絵子, 小坂一斗, 中村功一, 米田憲秀, 薬物トランスポーターからみた Gd-EOB-DTPA 造影 MRI, *臨床画像*, 27: 302-309, 2011, 査読無, URL: <http://www.medicalview.co.jp/catalog/MAGA09471-11-03-0.html>
- ⑦ Kobayashi S, Gabata T, Matsui O, Radiologic manifestation of hepatic

pseudolesion and pseudotumor in the third inflow area. *Imaging in Medicine*, 2: 519-528, 2010, 査読有, doi: 10.2217/iim.10.50

- ⑧ 小林 聡, 松井 修, 蒲田敏文, 眞田順一郎, 香田 渉, 南 哲弥, 龍 泰治, 川井恵一, 新村理絵子, 小坂一斗, 米田憲秀, 杉盛夏樹, 五十嵐紗耶, 松原崇史, Gd-EOB-DTPA 造影 MRI による肝腫瘍画像診断, *Rad Fan*, 8: 78-80, 2010, 査読 無, URL: <http://www.e-radfan.com/category/sho-p-radfan/>

[学会発表] (計 8 件)

- ① Kobayashi S, Gabata T, Matsui O, Image Based Analysis of Reduction Effect On Multicentric Type Recurrence of Hepatocellular Carcinoma With Peretinoin, International Liver Cancer Association (ILCA) 2012, 2012 年 9 月 15 日, Intercontinental Hotel Berlin (Germany)
- ② Kobayashi S, Matsui O, Radiologic manifestation of hepatic pseudolesions and pseudotumors in the third inflow area, 9th Barcan Congress of Radiology, 2011 年 10 月 7 日, Cluj Napoca conference center (Romania)
- ③ 小林 聡 ほか, 肝細胞癌に対するソラフェニブ治療前後における perfusion CT パラメータの変化に関する初期検討, 第 47 回日本肝癌研究会, 2011 年 7 月 28 日, 静岡県コンベンションセンター (静岡県)
- ④ Kobayashi S, Matsui O, Otani K, Gabata T, Koda W, Minami T, Ryu Y, Kawai K, Kozaka K, Quantitative analysis of Iodine concentration in hepatic tumors using dual-energy multiphase CT as objective index for assessment of tumor vascularity: initial experience, European congress of radiology (ECR), 2011 年 3 月 4 日, Austria Center (Austria)
- ⑤ Kobayashi S, Matsui O, Gabata T, Koda W, Minami T, Ryu Y, Kawai K, Kozaka K, Initial experience of Dual source Dual energy CT for hepatic imaging: Impact of Iodine Map on hemodynamic analysis of the liver lesion, European congress of radiology (ECR), 2011 年 3 月 3 日, Austria Center (Austria)
- ⑥ 小林 聡, Gd-EOB-DTPA 造影 MRI による肝細胞性結節性病変の診断, 先端医用画像技術講演会 in 金沢, 2011 年 2 月 19 日, 地場産業センター (石川県)

- ⑦ 小林 聡 ほか, 分子標的治療による画像の変化と治療効果判定 ソラフェニブ投与後の肝細胞癌の造影 CT 所見と治療効果に関する初期検討, 第 3 回肝がん分子標的治療研究会, 2011 年 1 月 15 日, 海峡メッセ (山口県)

- ⑧ 小林 聡 ほか, 動注 CT で診断した高危険度肝細胞癌境界病変の EOB 造影 MRI 肝細胞相所見と結節の転帰について, 第 38 回日本磁気共鳴医学会大会, 2010 年 9 月 30 日, 筑波国際会議場 (茨城県)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小林 聡 (KOBAYASHI SATOSHI)
金沢大学・保健学系・准教授
研究者番号: 30313638

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし