

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 27 年 9 月 30 日現在

機関番号：14301

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2013～2014

課題番号：25893105

研究課題名(和文) マウスPerfusion CTによる膵腫瘍線維化の定量的測定系の確立

研究課題名(英文) Perfusion CT to evaluate pancreatic stroma in pancreatic cancer mice model

研究代表者

辻 喜久(Tsuji, Yoshihisa)

京都大学・医学(系)研究科(研究院)・その他

研究者番号：10711541

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,100,000円

研究成果の概要(和文)：本年度の結果の意義として、小動物に関する腫瘍の線維化の非侵襲的な測定系は未だ未確立であるが、マウスでPerfusion CTによる線維化の測定ができるようになると分子学的検討や遺伝子学的検討が大変しやすくなることがあげられる。例えば、Perfusion CTを膵癌患者さんに応用し、膵癌の質的变化を正確に観察できれば、正確な分子標的薬剤の効果判定が可能となり、適切な抗がん剤投与の継続・中止の判断を可能とし予後改善に結びつくと考えられる。

研究成果の概要(英文)：In the present study, a significantly strong correlation was found between the imaging parameter (Fis) of perfusion CT, which targeted the contrast accumulation in the interstitial space and reflects tumor-associated stroma in this model, and stromal density quantified using immunohistochemistry; this finding supported our hypothesis that perfusion CT had the potential to depict a similar spatial distribution of tumor-associated stroma to that confirmed using histopathological analysis. In terms of the association between tumor hypoxia and tumor-associated stroma, FMISO uptake had a negative correlation with Fis and stromal density, as well as with vascular parameters. These results suggest that tumor hypoxia was complementarily localized to tumor-associated stroma and the vascular component.

研究分野：膵臓学

キーワード：Perfusion CT 膵 膵癌 線維化

## 1. 研究開始当初の背景

膵癌は、5年生存率が5%未満と予後が悪い。膵癌の特徴として、腫瘍内の著しい線維化が挙げられる。この膵癌の線維化部位の血流は乏しく、抗がん剤の膵内へ移行を妨げる。

近年、通常の造影 CT に画像解析技術を組み合わせた Perfusion CT を用いることで、理論上、組織の繊維化成分を定量的に測定できる可能性が示された。Perfusion CT は造影剤動態を数学的に解析することで得られる機能画像であり、Dynamic CT の一種である。まず、Perfusion CT は造影剤の急速静脈投与(4ml/秒、10 秒間)を行い、同時に 30-60 秒間にわたって同一断面における各ピクセルの CT 値の変化を観察する。ついでこの 1 ピクセルごとの CT 値の変化を関数化し解析することで Perfusion 関連の各因子(実質血流速度、間質量、血管密度など)を算出し、カラーマップで表示する。1-3 秒毎に 1 枚、30-60 秒間(約 30-60 画像)の観察に基づいて解析されるので、前述したような膵炎に伴う動脈相や膵実質相の変化にも対応できる。Perfusion CT の利点は造影剤量が通常の造影 CT と比べ 40ml と半分以下であることが挙げられる。また、体の小さい日本人を対象とした Study では、被ばく線量も通常の Dynamic CT と比べ大きく変わるものではなかった。

筆者らは、Perfusion Parameter のうち、膵組織血流速度(Pancreatic Blood Flow)による膵血流低下領域を診断することで、発症 3 日以内の急性膵炎患者における膵壊死予測能として感度 100%、特異度 95.3%と非常に高い値であることを報告した。また、Perfusion CT の特定のパラメーター値(、Compartment model)が血清 Angiopoietin-2 値と相関し、この値を測定することにより、多臓器不全の発症予想が可能であったことを報告した。

近年、欧米では分子標的薬剤の効果判定を詳細に行うために Perfusion CT の技術が注目されている。Perfusion CT を用いれば膵腫瘍の間質量、血管密度、組織血流量、組織血流密度が測定できると考えられている。Perfusion CT による間質量/線維化の評価は、乳がんなどでは既に報告されているが、膵癌に関してはまだない。また、膵癌における Perfusion CT による線維化の測定結果と実際の病理所見との比較の試みはなく、理論の正確性は不明である。

## 2. 研究の目的

そこで、本研究では、マウス膵癌モデルを使い、Perfusion CT により測定された膵癌の線維化量と病理学所見を比較することで、理論の正確性を確認し、線維化の測定系の確立することを目的とした。

## 3. 研究の方法

まずマウス Perfusion CT の Scanning Protocol を確立した。正常マウス(n=6)を対象に特に、臨床応用を念頭に、ヒト用 Multi slice CT Scanner を使い、被ばく線量に関しては、ヒトでの一般的な CT の被ばく線量(CTDIvol 100mGy)以下とし、この条件で Perfusion CT が撮像可能であることを確認した。

ついで、膵癌移植マウスを用い、膵癌の線維化の Perfusion CT による測定結果と実際の病理像との比較を行い、Perfusion CT の線維化の定量的測定の精度が極めて高いかを確認した。

膵癌 Cell line(Suit-2)をヌードマウスの背側に移植し、腫瘍径が 10mm を超えたことを確認し、かつ、2 ヶ月後に Perfusion CT の撮像を行った。

実際の Perfusion CT はヒトでの応用が可能な 80Kv、40mA(被曝線量 ; 80mGy 以下 ; CTDIvol)とした。既報にしたがい、600mg I/Kg の造影剤を算出し、マウスとヒトの心拍出量比を換算しヒト換算で 4ml/秒で投与した。

CT 撮影後の DICOM Data は、ワークステーション ( ZIOSTATION2 ) に転送され、ガンマ Fitting による関数化の後、Tofts の理論に基づいた 2-Compartment model で数学的に解析し、血流速度および線維化を定量化した。

病理学的には CT で撮像した断面と同じレベルになるように病理組織を採取し、抗 SMA-抗体で免疫染色を行い、結果を Image-J で定量化した。

最後に、Perfusion CT 結果と病理学的結果に挿管が認められるか検討した。

#### 4 . 研究成果

我々の検討では、マウス膵腫瘍モデルに対する Perfusion CT の線維化の測定結果は有意に病理学的な線維化の程度と相関することが示された。さらに、興味深いことに、本検討結果では、酸素シンチとの比較において、線維化部分が一概に低酸素とは限らないことが明確に示された。

本年度の結果の意義として、小動物に関する腫瘍の線維化の非侵襲的な測定系は未だ未確立であるが、マウスで Perfusion CT による線維化の測定ができるようになると分子学的検討や遺伝子学的検討が大変しやすくなることがあげられる。例えば、Perfusion CT を膵癌患者さんに応用し、膵癌の質的变化を正確に観察できれば、正確な分子標的薬剤の効果判定が可能となり、適切な抗がん剤投与の継続・中止の判断を可能とし予後改善に結

びつくと考えられる。

#### 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 12 件 )

1. Koyasu S, Tsuji Y, Harada H, Nakamoto Y, Nobashi T, Kimura H, Sano K, Koizumi K, Hamaji M, Togashi K. Evaluation of Tumor-associated Stroma and Its Relationship with Tumor Hypoxia Using Dynamic Contrast-enhanced CT and 18F Misonidazole PET in Murine Tumor Models. Radiology. 2015 Sep 22:150416. [Epub ahead of print]
2. Eguchi T, Tsuji Y, Yamashita H, Fukuchi T, Kanamori A, Matsumoto K, Hasegawa T, Koizumi A, Kitada R, Tsujimae M, Iwatsubo T, Koyama S, Ubukata S, Fujita M, Okada A. Pancreatology. 2015 Aug 21. pii: S1424-3903(15)00627-4.
3. Sawai Y, Kodama Y, Shimizu T, Ota Y, Maruno T, Eso Y, Kurita A, Shiokawa M, Tsuji Y, Uza N, Matsumoto Y, Masui T, Uemoto S, Marusawa H, Chiba T. Activation-Induced Cytidine Deaminase Contributes to Pancreatic Tumorigenesis by Inducing Tumor-Related Gene Mutations. Cancer Res. 2015 Aug 15;75(16):3292-301.
4. Afghani E, Pandol S, Shimosegawa T, Sutton R, Wu Vege SS, Gorelick F, MD6, Hirota M, Windsor J, Lo SK, Freeman M, Lerch MM, Tsuji Y, Melmed GY, Wassef W, Mayerle J. Acute pancreatitis:

- progress and challenges. A report on an international symposium APA. Pancreas 2015. Accepted
5. Nishikawa Y, Tsuji Y, Isoda H, Kodama Y, Chiba T. Perfusion in the tissue surrounding pancreatic cancer and the patient's prognosis. Biomed Res Int. 2014;2014:648021. doi: 10.1155/2014/648021. Epub 2014 Sep 11.
  6. Kimura M, Tsuji Y, Iwai M, Inagaki M, Madian A, Yoshino T, Matsuura M, Nakase H. Usefulness of Adalimumab for Treating a Case of Intestinal Behçet's Disease With Trisomy 8 Myelodysplastic Syndrome. Intest Res. 2015 Apr;13(2):166-9.
  7. Tsuji Y, Kodama Y, Chiba T. Mo1363 Role of Early Prediction of Pancreatic Necrosis in Evaluating Severity of Acute Pancreatitis in the Early Stage. Gastroenterology. 2015;148(4):S-683.
  8. Tsuji Y, Takahashi N, Fletcher JG, et al. Subtraction color-map of contrast-enhanced and unenhanced CT for prediction of pancreatic necrosis in early stage of acute pancreatitis. Am J Roentgenol. 2014;202(4):W349-56.
  9. Yamada S, Yoshino T, Matsuura M, Minami N, Toyonaga T, Honzawa Y, Tsuji Y, Nakase H. Long-term efficacy of infliximab for refractory ulcerative colitis: results from a single center experience. BMC Gastroenterol. 2014 23;14:80.
  10. 辻喜久, 千葉勉. 膵 Perfusion CT による膵壊死の早期予測. Annual review 消化器病 2015 in printing
  11. 辻喜久, 児玉裕三, 吉田司, 千葉勉. 急性膵炎の診断と治療: 新しい動向-血流から見た急性膵炎の初期病態: Perfusion CT による検討. 膵臓 2014; 29: 178-182
  12. 辻喜久. Pancreatic Perfusion CT の臨床応用. Multi Slice CT 2014 Book. 映像情報 Medical 増刊号 2014;46:151-
- [学会発表](計6件)
1. Tsuji Y. Role of early prediction of pancreatic necrosis in evaluating severity of acute pancreatitis in the early stage. DDW 2015, Washington, poster.
  2. Tsuji Y. The Use and Importance of Intra-arterial Protease Inhibitor Treatment. APA 2014. Hawaii, Symposium
  3. Tsuji Y, Yamada K, Kisimoto M, Yazumi S, Isoda H, Chiba T. Pancreatic blood flow measurements in the pig pancreatitis model using perfusion CT with deconvolution method. MICCAI 2014, Boston. Oral presentation
  4. Tsuji Y, Nishikawa Y, Isoda H, Kodama Y, Chiba T. Perfusion in the tissue surrounding pancreatic cancer and the patient's prognosis. EPC 2014, Southampton, Poster Presentation
  5. Mata LA, Luna A, Silva AC, Tsuji Y,

Broncano J, Volpacchio M. New Functional Techniques in the Pancreas, RSNA 2014. Chicago, Poster Presentation

〔図書〕(計 1 件)

1. Tsuji Y, Yamada K, Kisimoto M, Yazumi S, Isoda H, Chiba T. Pancreatic blood flow measurements in the pig pancreatitis model using perfusion CT with deconvolution method. Abdominal Imaging - Computational and Clinical Applications. 2015 Springer, NY in press

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者 辻 喜久

(TSUJI Yoshihisa)

研究者番号: 10711541

京都大学 医学研究科 医員

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし