

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 9 日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26461819

研究課題名(和文)肝細胞膜トランスポーターイメージングによる早期肝細胞癌スクリーニング手技の確立

研究課題名(英文) Establishment of screening method for early hepatocellular carcinoma using novel MR transporter imaging using Gd-EOB-DTPA

研究代表者

小林 聡 (KOBAYASHI, Satoshi)

金沢大学・保健学系・教授

研究者番号：30313638

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：肝細胞癌の診断に用いられるGd-EOB-DTPA (EOB)造影MRIでは一部の症例において画像不良が生じ肝細胞癌の十分な診断が不能である。今回の検討で通常の20分後の肝細胞相撮像では画質不良な場合でも肝予備能がChild A,Bの場合は超遅延相として静注60-80分後の画像を撮像することでほとんどの場合良好な画像を得ることができると判明した。

研究成果の概要(英文)：Hepatobiliary phase of Gd-EOB-DTPA (EOB) enhanced MRI which is used for detection of early hepatocellular carcinoma, occasionally shows poor image quality. In this analysis, if the case shows Child A or B liver damage, poor quality image obtained on hepatobiliary phase (HBP) is improved on super-delayed phase (SDP) image acquisition which is about 60 minutes after HBP. However, if the case shows Child C liver damage, improvement of image quality on SDP is not expected.

研究分野：放射線医学

キーワード：肝細胞癌 磁気共鳴画像 Gd-EOB-DTPA

### 1. 研究開始当初の背景

肝癌の多くはB型あるいはC型慢性肝炎ウイルス感染者(キャリア数約300~370万人、患者数約44万人)から発生する。そのため、肝癌ハイリスク群であるウイルス感染患者を対象に種々のスクリーニング検査を行い、肝癌死亡率の減少が目指されている。しかし、いまだに肝癌は我が国における死亡者数第4位の癌であり年間およそ3.5万人が死亡している。

2008年に臨床使用が可能となったGd-EOB-DTPA(EOB)はこれまで不可能であった肝細胞膜表面のトランスポーター蛋白の発現状態をMRIで可視化する画期的な造影剤で早期肝癌の診断精度が最も高いとされている。

申請者らはこの薬剤がおもに細胞膜に発現するトランスポーターであるOATP8により肝細胞内に取り込まれMRPにより排泄されることを明らかにした。また、分子病理学的手法を用い肝癌の多段階発癌の進展と肝細胞膜のOATP8の発現程度に相関関係がありEOB造影MRIがOATP8の発現程度の視覚的評価を可能とするバイオマーカーであることを示した。

臨床画像の解析では肝細胞癌の多段階発癌に伴いEOB造影MRI肝細胞相の画像所見が段階的に変化することを明らかにした(研究業績10. Kitao A, et al. Eur Radiol 2011)。

さらに高危険前癌病変の画像所見を解析しEOB造影MRI所見から肝癌発生率を予測可能であることを明らかにした(研究業績9. Kobayashi S, et al. J Comput Assist Tomogr 2010, 研究業績6,7. Kobayashi S, et al. Eur J Radiol 2012)。

申請者らが明らかにしたこれら特徴からMRIで最初の分子イメージング造影剤であるEOBを用いた造影MRIは実際の臨床現場において早期肝癌の診断に必須の検査となりつつある。

しかし、種々の要因によりOATP8によるEOBの肝細胞取り込みが不良でありEOB造影MRIを細胞膜表面トランスポーター蛋白の分子イメージングとして使用できない肝癌ハイリスク患者が推定50万人存在し、現在普及している検査法をそのまま肝癌ハイリスク患者の早期肝癌スクリーニング方法として広く普及させることは困難である。

先行研究ではOATP8によるEOBの肝細胞内取り込み不良のメカニズムとして肝障害に伴う肝細胞膜トランスポーターの機能低下や減少、併用薬剤によるトランスポーターの競合阻害などが疑われているが正確な機序は不明である。

現状では肝予備能が不良な肝癌ハイリスク患者ではOATP8によるEOBの肝細胞取り込み不良が生じると考えられEOB造影MRI検査の施行は控えられている。しかし、肝予備能が不良でもトランスポーター(OATP8)

と基質であるEOBの反応時間を延長することや競合薬剤の休薬などによりこれまで診断不可能と考えられてきた患者に対しても早期肝癌の診断が可能となることが期待される。

申請者らは臨床例を対象とした予備的な検討で約80%の症例においてOATP8とEOBの反応時間の延長がEOBの肝細胞取り込みを改善することを確認している。

また、肝予備能良好(Child-Pugh A)患者にも一定の割合でEOBの肝細胞取り込み不良例が存在することを確認しており、このような例では併用薬剤によるトランスポーターの競合阻害やトランスポーターの遺伝子多型などがEOBの肝細胞取り込み不良のメカニズムとなっていると推察している。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は臨床例および動物モデルを用いEOBの肝細胞取り込み不良のメカニズムを解明し、イメージング手技を最適化することによりEOB造影MRIを肝癌ハイリスク群における鋭敏な早期肝癌スクリーニング検査として確立し、肝癌の早期発見・早期治療を実現し死亡者数の減少を目指すことである。

### 3. 研究の方法

#### 検討1 小動物モデルを対象にした肝細胞膜トランスポーター分子イメージング手技の最適化

肝障害ラット、EOB競合薬剤投与ラットを作成しそれぞれにおけるラット肝細胞のEOB取り込み動態(OATP8の反応速度)を明らかにする。さらにイメージング時間を延長しOATP8の反応時間を長くすることが肝細胞のEOB取り込み程度上昇につながることで、競合薬剤の休薬がOATP8の反応速度上昇につながることを証明する。

肝障害ラットは四塩化炭素投与による肝障害モデルラットを使用、競合阻害薬投与ラットは既に先行研究でOATP8と競合作用があるとされているスタチン類(テルミサルタン、バルサルタン)をラットに投与して作成する。ラットのイメージングは麻酔としてネブタール30mg/kgを腹腔内投与後、検査用ステージに固定、実体顕微鏡下に経静脈よりSilastic laboratory tubing(内径0.3mm/外径0.64mm)を挿入しEOB投与用静脈ルートを確保して行う。

予備実験で得た正常ラット肝細胞のEOB取り込み動態の時間-信号強度曲線をもとに肝障害ラットの肝障害の程度とEOB取り込み不良の程度の間関係を把握、さらにイメージング時間を延長させOATP8の反応時間を長くすることにより肝細胞のEOB取り込み程度がどの程度改善するか調べる。

また、競合阻害薬投与ラットでは上記の検討の他に競合阻害薬の休薬期間とEOB取り込み不良の改善の程度の間関係についても調べ

る。

## 検討2 臨床例のEOB造影MRI画像を用いたEOB取り込み不良例における超遅延相(SDP)画像撮像の有用性の検討

臨床例のEOB造影MRI画像を用い、肝細胞内へのEOB取り込み程度の変化を経時的に観察しヒト肝細胞のEOB取り込み動態(OATP8の反応速度)を明らかにする。

通常のEOB造影MRIではEOB静注20分後の肝細胞相画像を肝細胞膜のOATP8発現程度を反映する分子イメージングと考えて評価している。しかし、一部のケースでは20分後の画像が不良であり60-80分経過後の超遅延相画像を追加撮像して評価を行っている。このような追加撮像例をレトロスペクティブに検討し、肝予備能の程度と超遅延相撮像の有用性についての関連について調査した。画像データは金沢大学附属病院放射線科で施行したEOB造影MRI画像を使用した。

## 4. 研究成果

### 検討1 小動物モデルを対象にした肝細胞膜トランスポーター分子イメージング手法の最適化

予備段階としてラットにDENを投与して肝硬変ラットの作成を試みた。

当初の計画では薬剤投与に伴うラットの死亡は考慮していなかったが、参考文献に従った薬剤量の投与ではラットが投与数日で死亡したため他大学の類似実験の経験者の指導のもと、DEN投与量・方法の変更などを行いながらラット肝硬変の作成を試み、少数例に関しては肝硬変モデルの作成に成功し、今後のラット肝硬変モデル研究の基礎は確立した。

### 検討2 臨床例のEOB造影MRI画像を用いたEOB取り込み不良例における超遅延相(SDP)画像撮像の有用性の検討

具体的にはEOB造影MRI肝細胞相(HBP)で肝実質/血管コントラスト不良症例のうち患者の同意が得られEOB投与60分後以降にSDPの撮像が可能であった76例を対象とし、肝実質/血管コントラストは正常であるが肝腫瘍精査目的で同様に超遅延相の撮像を施行した20例をコントロールとしてHBP、SDPそれぞれで門脈臍部および肝部下大静脈に置いたROIの信号値と近接する肝実質のROIの信号値の比を平均したものをhepatic vascular/parenchymal enhancement ratio (HER)とし、Child-Pugh(CP)分類ごとに比較した。その結果、肝実質/血管コントラスト不良症例のHERはHBPで $0.88 \pm 0.16$ 、SDPで $0.64 \pm 0.16$ 。コントロール例のHERはHBPで $0.54 \pm 0.08$ 、SDPで $0.39 \pm 0.06$ 。肝実質/血管コントラスト不良症例のうちCP-A(n=27)、CP-B(n=47)、CP-C(n=2)のHBP、SDPのHERはそれぞれ $0.83 \pm 0.14$ 、 $0.60 \pm 0.13$ 、 $0.90 \pm 0.16$ 、 $0.65 \pm 0.16$ 、 $1.03 \pm 0.16$ 、 $0.99 \pm$

0.19でありCP-CのHBP、SDPの組み合わせ以外は全て有意差を認めた。したがってHBPにおける肝実質/血管コントラスト不良症例のうちCP-A,B例ではSDP撮像でコントラストの改善を認めるがCP-C群では画像改善は期待できないことが判明した。

## 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 4件)

Takatsu Y, Kobayashi S, Miyati T, Shiozaki T. Hepatobiliary phase images using gadolinium-ethoxybenzyl-diethylenetriamine penta-acetic acid-enhanced MRI as an imaging surrogate for the albumin-bilirubin grading system. Eur J Radiol. 査読有, 2016, 85, 2206-2210.

Takatsu Y, Kobayashi S, Miyati T, Shiozaki T. A novel method for evaluating enhancement using gadolinium-ethoxybenzyl-diethylenetriamine penta-acetic acid in the hepatobiliary phase of magnetic resonance imaging. Clinical Imaging. 査読有, 40; 1112-1117, 2016

Kitao A, Matsui O, Yoneda N, Kozaka K, Kobayashi S, Sanada J, Koda W, Minami T, Inoue D, Yoshida K, Yamashita T, Yamashita T, Kaneko S, Takamura H, Ohta T, Ikeda H, Nakanuma Y, Kita R, Gabata T. Hepatocellular Carcinoma with -Catenin Mutation: Imaging and Pathologic Characteristics. Radiology. 査読有, 2015; 275(3): 708-17. doi: 10.1148/radiol.14141315. PMID: 25668519

Yoneda N, Matsui O, Ikeno H, Inoue D, Yoshida K, Kitao A, Kozaka K, Kobayashi S, Gabata T, Ikeda H, Nakamura K, Ohta T. Correlation between Gd-EOB-DTPA-enhanced MR imaging findings and OATP1B3 expression in chemotherapy-associated sinusoidal obstruction syndrome. Abdom Imaging. 査読有, 2015 Oct;40(8):3099-103. doi: 10.1007/s00261-015-0503-z. PMID: 26187715

[学会発表](計 3件)

33th Annual Scientific Meeting of European Society for Magnetic Resonance in Medicine and Biology (ESMRMB 2016) 2016年9月30日-10月2日 ウィーン(オーストリア) The

significance and indication of super-delayed phase image acquisition of Gd-EOB-DTPA enhanced MRI to improve poor contrast images on routine hepatobiliary phase images for detection of liver lesion. S. Kobayashi, K. Kozaka, T. Minami, A. Kitao, Y. Yoshida, N. Yoneda, H. W. Koda, T. Gabata.

RSNA 2014 100th Scientific assembly and annual meeting 2014年11月30日-12月5日 シカゴ(米国) Technical Aspects of Optimization for Gadoteric Acid-enhanced Liver MR Imaging. Satoshi Kobayashi, Naoki Ohno, Yasunari Fujinaga, Tosiaki Miyati, Toshifumi Gabata, Osamu Matsui, Hiroshi Ikeno, Wataru Koda, Kazuto Kozaka, Dai Inoue, Kotaro Yoshida, Norihide Yoneda, Tetsuya Minami.

The American association for the study of liver diseases 65th Annual meeting and postgraduate course (The Liver Meeting 2014) 2014年11月7日-11日 ボストン(米国) Hynes convention center Indication of super-delayed phase image acquisition of Gd-EOB-DTPA enhanced MRI to improve poor contrast images on routine hepatobiliary phase images for detection of liver lesion Satoshi Kobayashi, Kazuto Kozaka, Azzusa Kitao, Norihide Yoneda, Hiroshi Ikeno, Osamu Matsui, Toshifumi gabata.

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況(計 0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等 なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者  
小林 聡 (KOBAYASHI, Satoshi)  
金沢大学・保健学系・教授  
研究者番号：30313638

(2) 研究分担者  
なし

(3) 連携研究者  
なし

(4) 研究協力者  
なし