

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 29 日現在

機関番号：13301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24791283

研究課題名(和文)肝幹細胞由来肝癌の画像所見と病理・病態の解析

研究課題名(英文)Hepatic cancer stem cell derived cancer: radiologic pathologic correlation

研究代表者

小坂 一斗 (Kazuo, Kozaka)

金沢大学・医学系・助教

研究者番号：80547175

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：混合型肝癌の亜型である肝幹細胞由来肝癌は典型、中間型、細胆管細胞癌型の3亜型がある。これらの診断法・予後・治療法は定まっていない。本研究ではCT・MRI・FDG-PETによりこれらの分別を後方視的に検討した結果、細胆管細胞癌亜型は特徴的な画像所見を呈することが明らかとなった。さらに細胆管細胞癌亜型は通常の肝内胆管癌との間には癌遺伝子発現においては差違を認め、別の病態であることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Liver stem cell-derived liver cancer is classifiable into a typical, mixed, cholangiolocellular subtypes. These diagnostics, prognosis and treatment is not determined. In this retrospective study, though we couldn't determine the specific findings in typical and mixed type, we could reveal that cholangiolocellular subtype showed characteristic findings on dynamic CT/MRI and low accumulation of FDG compared with ordinary cholangiocellular carcinoma. Furthermore there were different cancer gene expressions between cholangiolocellular subtype and intrahepatic cholangiocellular carcinoma. We believe that cholangiolocellular subtype is unique and it should be considered as a independent disease from ordinary cholangiocellular carcinoma.

研究分野：腹部画像診断

キーワード：混合型肝癌 細胆管細胞癌 CT MRI

### 1. 研究開始当初の背景

近年、肝幹細胞由来肝癌（あるいは幹細胞形質を発現する原発性肝癌）が盛んに研究されている一方で画像診断法が確立されていない。現時点ではこれらの肝幹細胞由来肝癌の生物学的な悪性度は不明であるが、肝細胞癌と治療方法が異なることが予想されている。そのため、術前診断（画像診断法）の確立が急務である。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は本邦の肝癌取扱い規約およびWHO分類(2010)に準じて診断された細胆管細胞癌、混合型肝癌の病理学的背景（増殖・浸潤形態やステムセルマーカー、血管新生因子、血管構築、細胞外間質）を明らかにし、その病態を臨床画像（CTおよびMRIにおける造影パターンおよびMRIによる信号強度など）との関連で解明することである。

### 3. 研究の方法

#### 3 - 1 .混合型肝癌ステムセルサブタイプの動注CT所見の検討

ステムセル feature を有する原発性肝癌をWHO分類4版(2010年)に準じて亜分類し、これらの癌のサブタイプに応じた動注CT所見を検討した。

外科切除標本を対象として組織形態学的および免疫組織化学的に混合型肝癌ステムセルサブタイプと診断された10例を対象とした。内訳は typical subtype (TS型) (n=4), intermediate subtype (IS型) (n=2), cholangiolocellular subtype (CS型) (n=4)であった。画像所見をHCC型（早期濃染～洗い出し像）、CCC型（乏血～リング濃染、漸増性濃染）、スキラスHCC (s-HCC)型（早期濃染～遅延濃染、コロナ濃染を伴う）、細胆管癌 (BDC)型（早期濃染～遅延濃染、早期に腫瘍周囲濃染を伴う）に分類し、組織学的所見と比較検討を行った。

#### 3 - 2 .通常型肝内胆管癌と細胆管細胞癌に

#### おける遅延濃染の検討：病理組織との対比

細胆管細胞癌 (BDC) と腫瘤形成性肝内胆管癌 (m-ICC) の造影効果の差を明らかにする目的で、以下の検討を行った。対象はCTダイナミックスタディが施行されているBDC 11例, m-ICC 11例。EPにおいて、背景肝と比較して濃染される腫瘍を homogeneous stain (spotty な非濃染域も含む) / ring stain / inhomogeneous stain, 背景肝と比較して濃染されない腫瘍を negative stain として分類した。また、最大造影時相を腫瘍最大ROIによるハンスフィールド値の測定により決定した。BDC 5例, m-ICC 5例においては病理組織標本との対比を行った。

#### 3 - 3 .通常型肝内胆管癌と細胆管癌における癌遺伝子解析の検討

外科切除された通常型肝内胆管癌 (n=4) と細胆管細胞癌 (n=4) について、遺伝子異常の検索（次世代シーケンサーを用いてパラフィン包埋された組織 (FFPET) から癌変異のホットスポットを用いて評価）を施行し、血流画像との対比を試みた。

#### 3 - 4 .末梢型腫瘤形成性胆管癌のFDG-PET所見：bile ductular carcinoma (BDC) と ductal carcinoma (DC) における比較検討

外科切除された原発性肝癌（腺癌, n=17）を対象とした。小型腺腔～コード状の細胆管様増生を示し、粘液産生の乏しい腫瘍をBDC群 (n=8, 背景肝は正常肝6例(含む非特異性反応性変化))、明瞭な腺腔を形成し、粘液産生が明らかな腫瘍をDC群 (n=9, 背景肝は正常肝4例, 慢性肝疾患5例, 腫瘍径  $51 \pm 26$ mm) とし、FDG-PETのSUV-max値を比較検討した。

### 4. 研究成果

#### 4 - 1 .混合型肝癌ステムセルサブタイプの動注CT所見の検討の結果

混合型肝癌ステムセルサブタイプの動注CT所見の内訳：BDC型は6例 (TS 2例, CS4例), CCC型1例 (IS), HCC型1例 (TS), s-HCC型2例 (TS 1例, IS 1例)であった。HCC型の1例を除き、全例で遅延濃染を認めた。以上より、混合型肝癌ステムセルサブ

タイプは様々な動注 CT 所見を呈するが、典型的 HCC、CCC 所見を呈することは少なく、多血であること、遅延濃染を呈することが多いと考えられる。

#### 4 - 2 . 通常型肝内胆管癌と細胆管細胞癌における遅延濃染の検討 : 病理組織との対比の結果

EP における造影効果 (homogeneous / ring / inhomogeneous / negative) は BDC で 5/4/2/0 で、m-ICC で 0/3/4/4 であった。BDC の最大造影時相は 1/11 で HAP, 10/11 で EP であった。m-ICC のうち positive stain だったのは 7/11 であり、そのうち最大造影時相は 1/7 で HAP, 6/7 で EP であった。Homogeneous stain group (BDC 5/11, m-ICC 0/11) のうち、組織学的検討ができた 2 例 (BDC) では ASMA (幅広い線維性間質) とその中の豊富な CD34 陽性細胞が特徴であった。Ring stain group (BDC 4/11, m-ICC 3/11) では組織学的検討は BDC 2 例でできており、辺縁部に ASMA (幅広い線維性間質 ~ 線状の線維性間質)、種々の程度の CD34 陽性細胞を認めた。中心部では線維性間質がより broad になる傾向を認めた。Inhomogeneous stain group (BDC 2/11, m-ICC 4/11) では豊富な ASMA/CD34 陽性細胞を認め、腫瘍内に無細胞野が散見された。Negative stain group は m-ICC でのみ見られ (4/11)、ASMA/CD34 陽性細胞は少なく、腫瘍細胞は壊死傾向が強かった。以上より BDC は漸増性濃染を特徴とした。これは BDC では壊死変性が乏しく、CD34 陽性細胞を有する線維性間質が豊富であることが、遅延濃染の成因と考えられた。しかしながら m-ICC とオーバーラップが見られ、今後の症例蓄積が必要と考えられた。

#### 4 - 3 . 通常型肝内胆管癌と細胆管癌における癌遺伝子解析の検討の結果

通常型肝内胆管癌は乏血性、細胆管細胞癌は多血性の腫瘍であった。gDNA の抽出において、十分な material は通常型肝内胆管癌、細胆

管細胞癌それぞれ 1 例ずつで得られた。両者で見られた体細胞変異として、APC, ATM, ERBB4, FGFR3, FLT3, KDR, PDGFA, TP35 があった。BDC では特に KIT, CDH1 などに変異を認めた。血流や線維性間質の多寡とがん遺伝子変異の相関については少数例の検討になったため、不明である。さらなる症例集積が必要である。

#### 4 - 4 . 末梢型腫瘍形成性胆管癌の FDG-PET 所見 : bile ductular carcinoma と ductal carcinoma における比較検討の結果

FDG-PET における SUV-max 値は BDC 群、DC 群それぞれ  $2.4 \pm 1.6$ ,  $8.2 \pm 4.1$  であった ( $p < 0.01$ )。5cm 以下で 2 群を比較した結果、BDC 群、DC 群それぞれ  $2.4 \pm 1.6$ ,  $6.1 \pm 4.2$  (n.s) であった。BDC 群では再発例が 1 例であり、その SUV-max は 3.8 と BDC 群中最大値を示した。DC 群では再発例が 4 例あり、3 例では SUV-max 高値 ( $11.7, 11.7, 5.3$ ) であったが、1 例では FDG-PET で検出されなかった。以上より、末梢型腫瘍形成性胆管癌のうち、BDC 群は DC 群に比べて有意に FDG 集積が低く、良好な無再発期間との関連が示唆されたが、DC 群で FDG-PET で検出されない再発性胆管癌がみられた。

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 22 件)
1. Kozaka K. 総員 6 名 6 番目. Hepatitis C Related Chronic Liver Cirrhosis: Feasibility of Texture Analysis of MR Images for Classification of Fibrosis Stage and Necroinflammatory Activity Grade. PLoS one 2015;10. DOI:10.1371/journal.pone.0118297 (査読あり)
  2. Kozaka K. 総員 10 名 4 番目. Hepatocellular Carcinoma with  $\beta$ -Catenin Mutation: Imaging and Pathologic Characteristics. Radiology 2015;6: 708-717. (査読あり)
  3. Kozaka K. 総員 10 名 9 番目. Clinical and radiological feature of lymphoepithelial cyst of the pancreas. World journal of gastroenterology: WJG 2014;20:17247. (査

読あり)

4. Kozaka K. 総員 7 名 5 番目. Forcible Intraarterial Injection of a Nonadhesive Liquid Embolic Agent under Microballoon Occlusion: Experimental Study in Swine Liver. *Journal of Vascular and Interventional Radiology* 2014;25:579-585. e572. (査読あり)
5. Kozaka K. 総員 4 名 3 番目. Small needle puncture of a central venous occlusion in a hemodialysis patient that could not be traversed by a conventional technique. *Cardiovascular intervention and therapeutics* 2014;29:261-265. (査読あり)
6. Kozaka K. 総員 10 名 2 番目. Hemodynamics and progression of a hypervascular focus in a borderline lesion of hepatocellular carcinoma: analysis by angiography-assisted CT and histopathology. *Japanese journal of radiology* 2014;32:69-79. (査読あり)
7. Kozaka K. 総員 10 名 9 番目. Hepatic pseudolymphoma: imaging-pathologic correlation with special reference to hemodynamic analysis. *Abdom Imaging* 2013;38:1277-1285. (査読あり)
8. Kozaka K. 総員 10 名 5 番目. Hypervascular hepatocellular carcinomas showing hyperintensity on hepatobiliary phase of gadoxetic acid-enhanced magnetic resonance imaging: a possible subtype with mature hepatocyte nature. *Japanese journal of radiology* 2013;1-11. (査読あり)
9. Kozaka K. 総員 10 名 4 番目. Usefulness of Gd-EOB-DTPA-enhanced MR imaging in the evaluation of simple steatosis and nonalcoholic steatohepatitis. *Journal of magnetic resonance imaging : JMRI* 2013;37:1137-1143. (査読あり)
10. Kozaka K. 総員 5 名 3 番目. Spread of hilar cholangiocarcinomas via peribiliary gland network: a hither-to-unrecognized route of periductal infiltration. *International journal of clinical and experimental pathology* 2013;6:318. (査読あり)
11. Kozaka K. 総員 8 名 8 番目. *Vascular diseases of the liver.* *Abdominal Imaging: Springer,* 2013:1135-1168. (査読あり)
12. Kozaka K. 総員 9 名 6 番目. Intrahepatic periportal high intensity on hepatobiliary phase images of Gd-EOB-DTPA-enhanced MRI: imaging findings and prevalence in various hepatobiliary diseases. *Japanese journal of radiology* 2013;31:9-15. (査読あり)
13. Kozaka K. 総員 10 名 3 番目. Prediction of macroscopic findings of hepatocellular carcinoma on hepatobiliary phase of

- gadolinium ethoxybenzyl diethylenetriamine pentaacetic acid enhanced magnetic resonance imaging: Correlation with pathology. *Hepatology Research* 2013;43:488-494. (査読あり)
14. 小坂 一斗 総員 12 名 1 番目. 【粘液産生性胆道系腫瘍の再発-エビデンスとしての画像と病理】 IPNB の画像診断と粘液産生(解説/特集) 胆と膵(0388-9408)34 巻 5 号 Page381-387(2013) (査読なし)
  15. 小坂 一斗 総員 10 名 1 番目. 肝内胆道系悪性腫瘍の画像診断 充実性腫瘍 臨床放射線(0009-9252)58 巻 2 号 Page263-272(2013) (査読なし)
  16. Kozaka K. 総員 9 名 4 番目. Beta-catenin-activated hepatocellular adenoma showing hyperintensity on hepatobiliary-phase gadoxetic-enhanced magnetic resonance imaging and overexpression of OATP8. *Japanese journal of radiology* 2012;30:777-782. (査読あり)
  17. Kozaka K. 総員 11 名 5 番目. Hepatocyte transporter expression in FNH and FNH-like nodule: correlation with signal intensity on gadoxetic acid enhanced magnetic resonance images. *Japanese journal of radiology* 2012;30:499-508. (査読あり)
  18. Kozaka K. 総員 11 名 6 番目. Intrahepatic cholangiocarcinomas in cirrhosis are hypervascular in comparison with those in normal livers. *Liver international : official journal of the International Association for the Study of the Liver* 2012. (査読あり)
  19. Kozaka K. 総員 10 名 4 番目. Usefulness of Gd-EOB-DTPA-enhanced MR imaging in the evaluation of simple steatosis and nonalcoholic steatohepatitis. *Journal of magnetic resonance imaging : JMRI* 2012. (査読あり)
  20. Kozaka K. 総員 8 名 7 番目. 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. *European journal of radiology* 2012;81:3002-3009. (査読あり)
  21. Kozaka K. 総員 8 名 7 番目. 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. *European*

journal of radiology 2012;81:3839-3845.  
(査読あり)

22. Kozaka K. 総員 12 名 4 番目 .  
Hypervascular hepatocellular carcinoma:  
correlation between biologic features and  
signal intensity on gadoxetic  
acid-enhanced MR images. Radiology  
2012;265:780-789. (査読あり)

〔学会発表〕(計 9 件)

1. Radiology society of North America  
(RSNA) Nov 30- Dec 5, 2014  
McCormick Place Chicago, Illinois, USA  
Peritumoral enhancement of hepatic tumors  
and tumorous lesions -Analysis based on  
the hemodynamics evaluated by  
angiography-assisted CT and  
histopathology-  
Kazuto Kozaka, Osamu Matsui, Satoshi  
Kobayashi, Junichiro Sanada, Wataru Koda,  
Tetsuya Minami, Azusa Kitao, Dai Inoue,  
Norihide Yoneda, Kotaro Yoshida, Kazuhiko  
Ueda, Toshifumi Gabata
2. 胆道学会 シングルトピックカンファレンス  
「IPNB とは何か」2014.8.2 (土) エ  
ーザイ本館 5 階会議室, 東京都. IPNB の  
CT/MRI 画像所見と鑑別疾患 小坂一斗・角  
谷嘉亮・松原崇史・米田憲秀・中村功一・小  
林聡・蒲田敏文・松井 修
3. 2014. 2. 21 第 33 回日本画像医学会 教  
育講演 東京ステーションコンファランス  
東京都. 肝細胞癌と鑑別を要する疾患 小  
坂一斗
4. 72<sup>st</sup> Japanese radiology society 4.14,  
2013 PACIFICO YOKOHAMA 横浜市 教育講演  
31 Imaging findings of cystic biliary  
disease Kazuto Kozaka
5. 72<sup>st</sup> Japanese radiology society 4.13,  
2013 PACIFICO YOKOHAMA 横浜市 Combined  
hepatocellular cholangiocarcinoma,  
subtype with stem-cell feature: Imaging  
analysis of angiography assisted CT  
Kazuto Kozaka, Toshifumi Gabata, Osamu

Matsui, Takashi Matsubara, Masanori  
Kayahashi, Kotaro Yoshida, Azusa Kitao,  
Wataru Koda, Satoshi Kobayashi, Hiroko  
Ikeda, Yasuni Nakanuma

6. 第 48 回日本医学放射線学会 秋季臨床大  
会 教育講演 平成 24 年 9 月 29 日 長崎ブ  
リックホール 長崎市. びまん性肝疾患  
肝内胆道疾患 小坂一斗、蒲田敏文、小林 聡、  
松井 修
7. 第 40 回日本磁気共鳴医学会 平成 24 年 9  
月 6 日~8 日 国立京都国際会館 京都府.  
教育講演 6 「腹部 2」膵管・胆管の粘液産  
生性乳頭状腫瘍と粘液性嚢胞性腫瘍の MR 診  
断 小坂一斗、蒲田敏文、松原崇史、吉田耕  
太郎、井上大、香田渉、小林聡、松井修、中  
沼安二
8. 第 25 回日本腹部放射線研究会  
2012 .6.22-23 ホテルエルセラーン大阪 大  
阪市. 胆管付属腺に沿って発育した肝内胆  
管癌の一例 小坂一斗、松原崇史、小林聡、  
蒲田敏文、松井修、瀧圭一、林泰寛、高村博  
之、谷卓、太田哲生、北村星子、佐藤保則、  
佐々木素子、中沼安二
9. Radiology society of North America  
(RSNA) Nov 30- Dec 5, 2012 McCormick  
Place Chicago, Illinois, USA Early  
peritumoral enhancement of bile ductular  
carcinoma: radiologic-pathologic  
correlation Kazuto Kozaka, Osamu Matsui,  
Toshifumi Gabata, Fumiaki Ueda, Satoshi  
Kobayashi, Wataru Koda, Tetsuya Minami,  
Yasuji Ryu, Azusa Kitao

〔図書〕(計 1 件)

1. 腹部画像解剖 徹頭徹尾 画像解剖を極  
め診断能を向上させる 編集 桑鶴良平,  
蒲田敏文  
胆道・膵臓 p34-67 小坂一斗・蒲田敏文  
(分担執筆) 2014.10.1 発行
- 6 . 研究組織

(1)研究代表者

小坂 一斗 (KOZAKA, Kazuto)

金沢大学・医学系・助教

研究者番号：80547175