



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	脳腫瘍における血流・血管透過性および糖代謝データを用いた低酸素領域の評価と予測
Author(s)	清水, 幸衣
Description	配架番号 : 2535
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第14070号
Issue Date	2020-03-25
DOI	https://doi.org/10.14943/doctoral.k14070
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/79362
Type	doctoral thesis
File Information	Yukie_Shimizu.pdf



学 位 論 文

脳腫瘍における血流・血管透過性および糖代謝データを用いた
低酸素領域の評価と予測

(Evaluation and Prediction of Hypoxia in Brain Tumors Using Data of
Blood Flow, Vascular Permeability, and Glycometabolism)

2 0 2 0 年 3 月

北 海 道 大 学

清 水 幸 衣

学 位 論 文

脳腫瘍における血流・血管透過性および糖代謝データを用いた
低酸素領域の評価と予測

(Evaluation and Prediction of Hypoxia in Brain Tumors Using Data of
Blood Flow, Vascular Permeability, and Glycometabolism)

2 0 2 0 年 3 月

北 海 道 大 学

清 水 幸 衣

目 次

発表論文目録および学会発表目録	1 頁
要旨	2 頁
略語表	5 頁
緒言	6 頁
第一章	
緒言	8 頁
方法	9 頁
結果	13 頁
考察	14 頁
第二章	
緒言	15 頁
方法	16 頁
結果	19 頁
考察	24 頁
総括及び結論	26 頁
謝辞	28 頁
利益相反	29 頁
引用文献	30 頁

発表論文目録および学会発表目録

本研究の一部は以下の論文に発表した。

Prediction of Hypoxia in Brain Tumors Using Multivariate Model Built from MR Imaging and ^{18}F -Fluorodeoxyglucose Accumulation Data.

Yukie Shimizu, Kohsuke Kudo, Hiroyuki Kameda, Taisuke Harada, Noriyuki Fujima, Takuya Toyonaga, Khin Khin Tha, Hiroki Shirato.

Magnetic Resonance in Medical Sciences. 2019 Oct 15. doi: 10.2463/mrms.mp.2019-0049.

本研究の一部は以下の学会に発表した。

Multivariate Prediction Model of Hypoxic Area of Brain Tumors using MRI parameters and FDG accumulation.

Yukie Shimizu, Kohsuke Kudo, Takuya Toyonaga, Khin Khin Tha, Hiroki Shirato.

The 7th International Congress on Magnetic Resonance Imaging. Grand Walkerhill Seoul, Korea, March 28-30th, 2019.

要旨

【背景と目的】腫瘍における低酸素状態は、腫瘍細胞の増殖や生存と関連性があると報告され、組織学的悪性度や治療抵抗性に関与し予後不良因子となる。低酸素状態に置かれた腫瘍細胞では、低酸素状態に適応し生存するため血管や糖代謝に関する遺伝子の転写が促進される。

現在のところ腫瘍の低酸素を評価する画像検査として最も信頼性があるのは ^{18}F -fluoromisonidazole (FMISO)-PET と考えられており、これまでに神経膠腫のみならず様々な腫瘍の評価に用いられてきた。しかし、FMISO-PET を施行可能な施設は限定されており、薬剤投与後に数時間の待機時間が必要であるため、検査に長時間を要するというデメリットがある。これに対し、MRI は多くの施設で施行可能で、被曝がなく検査に要する時間が PET と比べ短い。更に、近年の MRI 機器や撮像技術の発達により、形態のみならず血流や血管透過性といった情報を得ることが可能となった。

膠芽腫における FMISO 集積や血流・血管透過性に関して過去にいくつかの報告があるが、低酸素と血管透過性の直接の関連性については調べられていない。本研究では、低酸素と血流・血管透過性のパラメーターの関連について解析し、脳腫瘍における FMISO 陽性率をこれらのパラメーターおよび糖代謝データを用いて予測する多変量モデルを作成することを目的とした。

【対象と方法】2015 年 5 月から 2016 年 6 月の期間で、当院にて脳腫瘍の精査のため FMISO-PET、FDG-PET、MRI を全て撮像された患者が対象者として登録された。MRI 撮像は、北海道大学病院に設置されている 3T-MR 撮像装置 (Trillium Oval, Hitachi, Ltd., Tokyo, Japan) を用いて行い、コイルは 15-channel head coil を使用した。MRI は全例で dynamic contrast enhancement (DCE) MRI、arterial spin labeling (ASL)、fluid attenuated inversion recovery (FLAIR)、造影後 T1 強調画像を撮像した。全症例において ^{18}F -fluorodeoxyglucose FDG-PET、FMISO-PET、MRI の全検査は 10 日以内に行われた。DCE により得た画像データは、Olea Sphere version 2.3 (Olea Medical, La Ciotat, France) を用いて血管透過性の解析を行い、 $K_{\text{trans}} \cdot V_p$ マップを得た。SPM12 ソフトウェアを用いて、FLAIR、ASL、 K_{trans} 、 V_p 、FDG-PET、FMISO-PET 画像の位置合わせを行った。位置合わせ後の FLAIR 像、ASL、FDG-PET、FMISO-PET の画像データを PET research Assistance (PRA) ソフトウェアに取り込み、各々の基準値を算出した。

第 1 章では、未治療の高悪性度神経膠腫 7 例を対象とし、腫瘍を FMISO/FDG の陽性・陰性により 4 領域に分類し、各々の領域について V_p 、 K_{trans} 、ASL の平均値を算出し比較した。第 2 章では第 1 章の対象症例を含む 15 例を対象とし、FDG/ASL/ K_{trans}/V_p のボックス値を用いて、JMP ソフトウェア (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) による多変量ロジスティック回帰分析を行い、FMISO 陽性を予測するモデル式を作成した。同様の方法で、MRI パラメーター ($\text{ASL}/K_{\text{trans}}/V_p$) のみ用いた多変量ロジスティック回帰分析モデル式も作成した。15 例の全ボックスデータを用いた ROC 解析および FMISO

陽性を示した 11 例で交差検証を行い、FDG/ASL/ K_{trans} / V_p による単変量解析と多変量モデルの比較を行った。

【結果】第 1 章では、FMISO/FDG 両方の集積が陽性である領域は、 V_p 、 K_{trans} 、ASL の平均値はいずれも他の領域と比べ高い傾向を示し、(FMISO+/FDG+)領域対(FMISO-/FDG+)領域、(FMISO+/FDG+)領域対(FMISO-/FDG-)領域の比較において前者が有意に高値であった。

第 2 章では、15 例の全ボクセルを用いた解析では、ROC-AUC 平均値は FDG を含む多変量予測モデルで最も高かった(0.892)。FMISO 集積陽性領域を認めた 11 例における交差検証でも、ROC-AUC 平均値は FDG を含む多変量予測モデルで最も高く(0.857 ± 0.081)、ASL による単変量モデル(0.738 ± 0.200 , $p = 0.0189$)および V_p による単変量モデル(0.703 ± 0.268 , $p = 0.037$)と比べ有意に高値であった。FDG を含まない多変量モデルは FDG を含む多変量予測モデルに次いで高値を示したが、単変量解析との間に有意差は見られなかった。ASL、 K_{trans} 、 V_p による単変量モデルでは外れ値が見られたが、2 つの多変量予測モデルおよび FDG による単変量モデルでは外れ値は見られなかった。

【考察】第 1 章で、FMISO/FDG 両方が陽性を示す領域は、腫瘍内の低酸素かつ糖代謝が亢進している領域で、悪性度や活動性の高い腫瘍細胞が存在すると推測される。血管新生が促進され、血管体積や血流が増加していると考えられ、 V_p および ASL 高値に反映されていると考えられた。更に、腫瘍による血液脳関門の破綻や腫瘍血管の異常な構築により、血管透過性が亢進しているために K_{trans} が上昇したと推測された。3 つのパラメーターはいずれも、(FMISO+/FDG+)領域対(FMISO-/FDG+)領域の比較において前者が有意に高値を示した。この結果から、MRI で評価可能な V_p / K_{trans} /ASL の高値は FMISO 集積陽性と関連しており、これらのパラメーターを用いて FMISO 陽性を予測可能であるという仮説を立てた。

第 2 章で、MRI データと FDG データを用いた多変量予測モデルは、一部の単変量モデルと比較して有意に ROC-AUC 平均値が高く、FMISO 陽性を予測することが可能と考えられた。また、多変量予測モデルでは、単変量モデルで認められた外れ値が見られなかったことから、多様な性質の脳腫瘍に適用可能と考えられた。多変量予測モデル式を用いて作成した FMISO 陽性予測マップでは、視覚的に FMISO-PET と概ね一致しており、低酸素領域の分布評価が可能であった。

【結論】脳腫瘍における FMISO の集積と血流・血管透過性パラメーターの関連が示された。MRI データから得られた血流・血管透過性パラメーター、および FDG-PET から得られた糖代謝データを用いて、脳腫瘍における FMISO 集積陽性を予測する多変量ロジスティック回帰分析モデルを作成した。FMISO 陽性領域の有無だけではなく、予測マップを作成することにより、腫瘍内の FMISO 陽性領域の分布を予測することも可

能であった。本研究の結果により、将来的には MRI データのみ用いて脳腫瘍の低酸素状態を評価できる可能性があり、臨床的に有用と考えられる。

略語表

本文中および図中で使用した略語は以下の通りである。

ADC	apparent diffusion coefficient
AI	artificial intelligence
AUC	area under the curve
ASL	arterial spin labeling
CBF	cerebral blood flow
CBV	cerebral blood volume
DCE	dynamic contrast enhancement
DSC	dynamic susceptibility contrast
FA	flip angle
FDG	¹⁸ F-fluorodeoxyglucose
FLAIR	fluid attenuated inversion recovery
FMISO	¹⁸ F-fluoromisonidazole
FOV	field of view
HIF-1 α	hypoxia-inducible factor-1 alpha
K _{trans}	volume transfer constant
MRI	magnetic resonance imaging
PET	positron emission tomography
ROI	region of interest
ROC	receiver-operating characteristic
TE	echo time
TI	inversion time
TR	repetition time
VEGF	vascular endothelial growth factor
V _p	blood plasma volume
WHO	World Health Organization

緒言

(1)背景

腫瘍における低酸素状態は、腫瘍細胞の増殖や生存、組織学的悪性度や治療抵抗性に関与し、予後不良因子とされている(Lee et al.,2014; Dewhirst et al.,2008; Quon et al.,2012)。そのため、酸素代謝は脳腫瘍のみならず様々な腫瘍の性質を評価するに当たり重要な要素の一つである。増殖能の高い腫瘍においては酸素に対する需要が高まるため、需要と供給のバランスが崩れ低酸素状態に陥ると推測される。低酸素状態におかれた腫瘍細胞では hypoxia-inducible factor-1 alpha(HIF-1 α)が誘導され、低酸素状態に適応し生存するために複数の遺伝子の転写因子として機能する(Lee CT et al.,2014; Dewhirst MW et al.; Kobayashi H et al.,2013)。例えば、血管網を発達させるために血管内皮細胞増殖因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)の転写を促進したり、解糖系に関与する蛋白やグルコーストランスポーターの転写を促進して腫瘍細胞による糖代謝や糖の取り込みを促進したりする。

現在のところ腫瘍の低酸素を評価する画像検査として最も信頼性があるのは ^{18}F -fluoromisonidazole (FMISO)- PET と考えられている。FMISO は組織酸素分圧に反比例して細胞構成成分と結合し、化合物を生成して低酸素細胞内に集積する。FMISO-PET は低酸素分圧状態において生存している腫瘍細胞に集積した FMISO を可視化し、その分布や集積の程度を評価することができる。FMISO-PET は、これまでに神経膠腫のみならず様々な腫瘍の評価に用いられてきた(Hirata et al.,2012; Spence et al.,2008; Toyonaga et al.,2017)。ただし、FMISO-PET を施行可能な施設は限定されており、薬剤投与後に数時間の待機時間が必要であるため、撮像まで長時間を要するというデメリットがある。

これに対し、糖代謝亢進を評価する ^{18}F -fluorodeoxyglucose(FDG)-PET や MRI は多くの施設で施行可能である。特に近年の MRI 装置や撮像技術の発達により、MRI では形態診断のみならず血流や血管透過性といった情報を得ることが可能となった。MRI は被曝がなく、検査に要する時間は PET と比較すると短い。また、造影 MRI は脳腫瘍の精査において必須の検査であるため、通常の撮像に続けて血流や血管透過性を評価する撮像を行うことにより、検査回数や造影剤投与回数を増やすことなく追加情報を得ることができる。

腫瘍内の酸素化は、血流・血管の密度・血管体積・微小血管構築の変化によって規定されと考えられている。これらの要素は、DSC(dynamic susceptibility contrast)や DCE(dynamic contrast-enhanced) MRI によって評価することが可能である。DSC は CBF(cerebral blood flow)や CBV(cerebral blood volume)を算出することで、それぞれ腫瘍の血流や血管の密度・体積を評価することができる。CBF は ASL(arterial spin labeling)によって造影剤を使用せずに評価することも可能である。DCE では V_p (単位組織体積における血漿の体積比)、 K_{trans} (血漿から血管外細胞外スペースへの移行定数)を測定することができる。

(2) 膠芽腫における MRI, FMISO-PET, FDG-PET 所見の関連について

膠芽腫における FMISO-PET と MRI の所見の関連に関する過去の研究では、FMISO の集積と血流の間に正の相関が示されており、腫瘍の低酸素状態と多血性に相関性があることが示された (Ponte et al., 2017)。また、造影剤による造影効果を示す領域は血液脳関門が破綻しているが、膠芽腫においては造影される領域でより高頻度に低酸素状態や多血性が見られることが示唆されており、血液脳関門の破綻により異常な血管透過性が惹起されると推測されている (Gerstner et al., 2016)。ある研究では、高度の FMISO 集積と高い K_{trans} 値がそれぞれ予後不良因子であることが示唆されているが、FMISO 集積の程度と血管透過性を示すパラメーターの間の関連性については調べられていない (Gerstner et al., 2016)。

多血性や血管透過性に加え、糖代謝も増殖能の高い腫瘍を示唆するマーカーとして広く認知されており、糖代謝は FDG-PET における FDG 集積の程度によって評価される。一般に FDG 陽性を示す領域は FMISO 陽性を示す領域とオーバーラップすることが多いが、FDG 陽性領域は FMISO 陽性領域よりも範囲が広いことが多い。しかし、必ずしも FMISO 陽性領域が FDG 陽性領域に含まれるわけではなく (Rajendran et al., 2004)、同一腫瘍内に不均一性 (heterogeneity) が存在する。この腫瘍内の不均一性は近年注目されているものの一つである。

(3) 本研究によって何を明らかにしようとしているか

第 1 章では脳腫瘍内の不均一性について検討するため、高悪性度神経膠腫における FMISO 集積陽性と FDG 陽性領域に着目し、血流や血管透過性の観点から FMISO 陽性領域の性質を評価した。第 1 章の結果を受けて、第 2 章では MRI によって評価可能な血流や血管透過性に関するパラメーターと FDG-PET によって測定される FDG 集積を用いて FMISO 集積陽性が予測可能であるという仮説を立て、脳腫瘍における FMISO 陽性率を予測する多変量モデルの作成を目的とした。

(4) 本研究によって何が明らかになったか

第 1 章では、未治療の高悪性度神経膠腫を対象とし、腫瘍内を FMISO・FDG がそれぞれ陽性であるかどうかによって 4 領域に分類し、血流や血管透過性のパラメーターを領域間で比較した。これにより、FMISO の集積とこれらのパラメーターが関連していることが示唆された。

第 2 章では、MRI による血流・血管透過性パラメーターおよび FDG-PET による FDG 集積を用いて、FMISO 集積陽性確率を予測する多変量モデルを作成した。この多変量モデルと単変量モデルの比較を行い、多変量モデルが有用である可能性を示した。また、多変量モデル式から FMISO 陽性予測マップを作成し、真の FMISO-PET と視覚的に概ね合致していることを示した。

第 1 章

脳腫瘍における不均一性の検討

低酸素領域における血流および血管透過性パラメーターの評価

1. 緒言

神経膠腫では、通常の MRI 検査における信号評価においても、一般的に高悪性度腫瘍は低悪性度腫瘍と比べて内部の不均一性が高度である。同一腫瘍内における FMISO や FDG の集積も不均一である場合が多く、腫瘍内の不均一性を反映していると考えられる。全体の緒言に記述したように、FMISO-PET は低酸素分圧状態において生存している腫瘍細胞を FMISO 集積領域として可視化する。神経膠腫のうち最も悪性度の高い膠芽腫においては、低酸素領域の容積が大きいほど予後不良であると報告されている (Kawai et al., 2014)。ただし、FMISO は増殖性の高い腫瘍細胞のみならず、死滅する過程にある腫瘍細胞にも集積し得る。一方、FDG は活動性の高い腫瘍細胞に集積する。このため、FMISO および FDG の双方が集積する領域は、低酸素状態にありなおかつ活動性が高いと考えられ、悪性度の高い腫瘍細胞の存在が示唆される。しかし、FMISO 陽性領域は必ずしも FDG 陽性領域に含まれないため、内部に FMISO 陽性領域と FDG 陽性領域をもつ腫瘍では、同一腫瘍内に FMISO/FDG の双方が集積する領域、一方のみ集積する領域、どちらも集積しない領域が存在し、腫瘍の不均一性を示す。

全体の緒言に記述したように、低酸素状態に置かれた腫瘍においては VEGF の転写促進により血管網が発達し、血流上昇や血液脳関門の破綻による血管透過性の亢進があることが予想される。すなわち、FMISO 集積と血流パラメーターおよび血管透過性パラメーターの間には関連があると推測されるが、過去の報告では、FMISO 集積と血管透過性パラメーターの間の関連性は示されていない。

本章では、FMISO 集積陽性領域では血流パラメーターや血管透過性パラメーターが上昇しているという仮説を立て、さらに上述のように FDG 集積領域には活動性の高い腫瘍細胞が存在すると考えられるため、FMISO/FDG 集積の有無により腫瘍を 4 つの領域に分類して血流パラメーターや血管透過性パラメーターの値を比較し、低酸素と血流・血管透過性の関連性を示すことを目的とした。

本章の結果として、FMISO/FDG 両方が集積陽性を示す領域では、血流・血管透過性パラメーターが上昇していることが示され、MRI で評価可能な V_p 、 K_{trans} 、ASL の高値は FMISO 集積陽性と関連していることが明らかとなった。

2. 方法

本研究は当院における倫理審査を受け承認され（臨床研究番号：自 014-0139）、「人を対象とした 医学系研究に関する倫理指針」に従って実施された。

2-1 対象者

2015 年 6 月～2016 年 3 月の期間で、当院にて脳腫瘍の精査を行われた患者が対象者として登録された。選択基準は以下の通りである。

(1) 対象者

北海道大学病院で FMISO-PET を撮像する脳腫瘍患者。

(2) 選択基準

- ① 同意取得時において年齢が 20 歳以上の患者。
- ② 造影 MRI で最大径 1cm 以上の脳腫瘍を疑う病変を認める。
- ③ 本研究への参加にあたり十分な説明を受けた後、十分な理解の上、患者本人の自由意思による文書同意が得られている。

(3) 除外基準

- ① MRI の禁忌状態（心臓ペースメーカーを装着している、人工内耳を埋め込んでいる、体内に MRI 非対応性の金属が埋められている、など）
- ② ガドリニウム造影剤に対し過敏症の既往歴がある患者。
- ③ 腎障害のある患者（eGFR：30ml/min./1.73m²未満）。
- ③ 仰臥位安静が困難な患者、閉所恐怖症が高度な患者。
- ④ 妊婦あるいは授乳中の患者。
- ⑤ 未成年。

研究担当者は対象者に対し、審査委員会で承認の得られた同意説明文書を被験者に渡し、文書および口頭による十分な説明を行い、被験者の自由意思による同意を文書で取得した。

上記選択基準を満たし登録された患者のうち、FMISO-PET および MRI 検査の施行から 10 日以内に FDG-PET が施行された、未治療の高悪性度神経膠腫 7 名の患者を対象として本検討を行った（表 1）。患者群は女性 3 例、男性 4 例（年齢は 27-71 歳）で、6 例が膠芽腫(WHO grade 4)、1 例が星形細胞腫(WHO grade 3)であった。なお、星形細胞腫は 2016 年改訂の WHO 分類で削除された組織型であるが、これは本検討で対象となった症例が WHO 分類の改訂前に病理組織学的診断がなされたためである。

全 7 例において、DCE・ASL・FLAIR を含む脳 MRI、FMISO-PET、FDG-PET が施行され、各検査は全症例において 10 日間以内に行われた（平均 4.3 日）。

表 1：症例群。症例番号は第 2 章 表 3 と対応している。M: Male, F: Female

Case	Age, years	Sex	Histology (WHO grade)
2	70	M	Glioblastoma (G4)
3	56	M	Glioblastoma (G4)
4	57	M	Glioblastoma (G4)
5	71	F	Glioblastoma (G4)
6	27	F	Glioblastoma (G4)
7	57	F	Anaplastic oligoastrocytoma (G3)
9	38	M	Glioblastoma (G4)

2-2 撮像プロトコール

(1) MRI

全ての MRI 撮像は、北海道大学病院に設置されている 3T-MR 撮像装置(Trillium Oval, Hitachi,Ltd., Tokyo, Japan)を用いて行い、コイルは 15-channel head coil を使用した。DCE 灌流画像は、3D gradient echo 法を用いた。ASL 撮像は、pulsed continuous ASL を用いた。各々のシーケンスの撮像パラメーターを以下に示す。

(a) DCE 灌流画像

FA:10°、TE:3.0 ms、TR:5.4 ms、band width:150 Hz/pixel、field of view (FOV):240mm、matrix size:256×128、スライス厚:5mm、スラブ厚:150mm、撮像時間:3 分 50 秒
ベースラインのデータ取得のため 5 相撮像を行い、5 相撮像終了と同時にガドリニウム造影剤静注を開始した (0.1 mmol/kg, 3 mL/s)。

(b) ASL

FA:90°、TE:15 ms、TR:4500 ms、FOV:240 mm、スライス厚:6 mm、スラブ厚:156 mm、matrix size:64×50、post-labeling delay (PLD):1500 ms

(c) FLAIR

FA:90°、TE:162 ms、TR:12000 ms、TI:2770 ms、FOV:240 mm、スライス厚:5 mm、matrix size:320×336

(2) PET

PET 撮像は、北海道大学病院に設置されている Biograph 64 PET-CT 装置 (Asahi-Siemens Medical Technologies Ltd., Tokyo, Japan) 、ECAT EXACT HR+ PET 装置 (Asahi-Siemens Medical Technologies Ltd.)、Gemini TF 64 TOF-PET/CT 装置のいずれかを用いて行った。いずれの撮像装置においても、3D モード収集が用いられた。

(a) ^{18}F -FMISO PET

検査前の絶食は行わなかった。 5MBq/kg の FMISO を静注後、4 時間後に撮像を開始した。吸収補正のための CT 撮像後、10 分間の PET 撮像を行った。吸収補正後の PET 画像は、filtered back projection 法 (ECAT EXACT HR+および Biograph 64 で撮像された場合) あるいは ordered subset expectation maximization 法 (Gemini TF 64 で撮像された場合) を用いて再構成された。

(b) ^{18}F -FDG PET

検査前に 6 時間以上の絶食を行った。 4.5MBq/kg の FDG を静注後、1 時間後に撮像を開始した。PET 撮像時間および吸収補正画像の再構成方法は FMISO-PET と同様であった。

2-3 画像処理および解析

DCE により得た画像データは、Olea Sphere version 2.3(Olea Medical, La Ciotat, France) を用いて血管透過性の解析を行った。内頸動脈・中大脳動脈・前大脳動脈のいずれかに ROI を設定し、動脈入力関数を抽出した。Extended Tofts model を用いて、 K_{trans} および V_p のマップを作成した。

(1) 画像処理

SPM12 ソフトウェアを用いて、FLAIR、ASL、 K_{trans} 、 V_p 、FDG-PET、FMISO-PET 画像の位置合わせを行った。位置合わせ後の FLAIR 像、FDG-PET、FMISO-PET の画像データを PET research Assistance(PRA)ソフトウェアに取り込み、PRA を用いて ROI の設定を行った。

腫瘍の領域として、造影後 T1 強調像で認められる増強像の周囲で、FLAIR 像で高信号を示す部位を多角形の ROI として選択した (図 1a)。高信号域の判断は視覚的に行い、ROI は用手的に描画した。このため、腫瘍辺縁の評価は厳密ではないが、探索的に行った検討であるため簡便性を優先した。腫瘍が存在すると推測される領域全体に図 1a のような多角形の ROI を設定し (スライス数 4-10 枚、平均 7.6 枚)、ROI 全体から全てのボクセルを抽出した。

FDG-PET 画像上で、病変と対側の大脳脳表に沿って直径 10mm の円形の ROI を設定し、FDG 集積の基準値とした (図 1b)。また、ASL においても FDG-PET と同様の ROI を置き、その平均値を ASL 基準値とした (図 1c)。ASL は基準値で除した値を解析で用いた。FMISO-PET 画像上で、両側小脳半球に直径 10mm の円形の ROI を選択し、FMISO 集積の基準値とした (図 1d)。

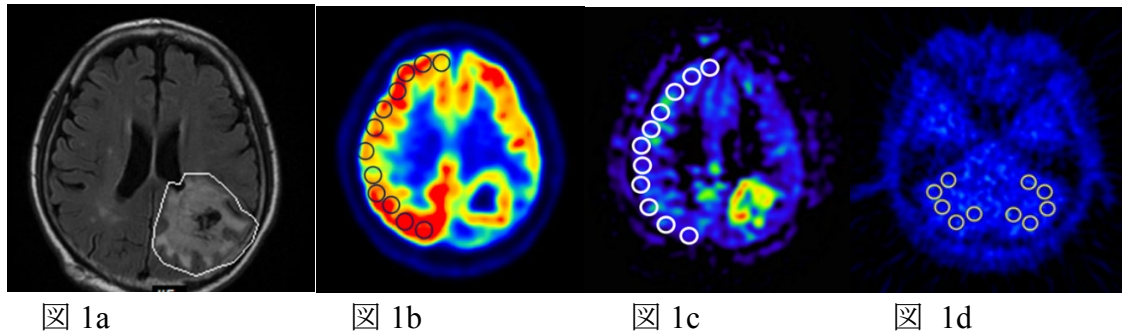


図 1: ROI 設定方法 図 1a: FLAIR 像における腫瘍の範囲を示す ROI 設定 図 1b: FDG-PET における FDG 集積基準値算出のための ROI 設定 図 1c: ASL における基準値算出のための ROI 設定 図 1d: FMISO-PET における FMIS 集積基準値算出のための ROI 設定

FMISO 集積は lesion to normal ratio > 1.3 を陽性、FDG 集積は lesion to normal ratio > 0.8 を陽性と定義した。

FLAIR 高信号領域を FMISO・FDG 集積の陽性・陰性により 4 群の領域に分類し (図 2)、各領域において 7 症例の V_p 、 K_{trans} 、ASL の平均値を算出した。

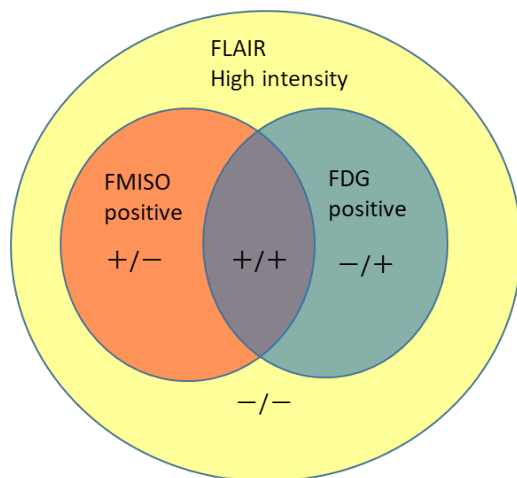


図 2: 腫瘍内の領域分類を示した模式図。FLAIR 像で高信号を占める領域を腫瘍の領域と定義し、腫瘍内を FMISO/FDG の陽性・陰性により 4 領域に分類した。

(2) 統計解析

4 群間で V_p 、 K_{trans} 、ASL の平均値を one-way ANOVA test (post-hoc test : Turkey test) を用いて比較した。 $P < 0.05$ を統計学的に有意とした。

3. 結果

7 症例の全ボクセル数および 4 領域のボクセル数を表 2 に示す。また、全ボクセル数に占める各領域のボクセル数の比(%)を体積比として示す。

4 領域における 7 症例の V_p 、 K_{trans} 、ASL の平均値と標準偏差を表 3 に、箱ひげ図を図 3 に示す。

いずれのパラメーターも、平均値は(FMISO+/FDG+)領域で最も高く、(FMISO+/FDG-)領域、(FMISO-/FDG+)領域、(FMISO-/FDG-)領域の順に低くなる傾向が見られた。

V_p では、(FMISO+/FDG+)領域対(FMISO-/FDG+)領域、(FMISO+/FDG-)領域対(FMISO-/FDG-)領域、(FMISO+/FDG+)領域対(FMISO+/FDG-)領域、(FMISO+/FDG+)領域対(FMISO-/FDG-)領域において、いずれも前者が有意に高値であった。 K_{trans} では、(FMISO+/FDG+)領域対(FMISO-/FDG+)領域、(FMISO+/FDG+)領域対(FMISO-/FDG-)領域において、いずれも前者が有意に高値であった。ASL では、(FMISO+/FDG+)領域対(FMISO-/FDG+)領域、(FMISO+/FDG+)領域対(FMISO+/FDG-)領域、(FMISO+/FDG+)領域対(FMISO-/FDG-)領域において、いずれも前者が有意に高値であった。

表 2：各症例における 4 領域のボクセル数および体積比

FMISO/FDG	Case 1	Case2	Case 3	Case 4	Case 5	Case 6	Case 7
+ / +	7514	31094	5767	399	6292	551	1447
+ / -	23431	26223	9307	608	2696	1299	1315
- / +	4452	8072	4286	1887	2491	1200	21667
- / -	77081	76930	42859	110005	62301	22775	104004
Total voxel number	112478	142319	62219	112899	73780	25825	128433
	体積比 (%)						
+ / +	6.68	21.85	9.27	0.35	8.53	2.13	1.13
+ / -	20.83	18.43	14.96	0.54	3.65	5.03	1.02
- / +	3.96	5.67	6.89	1.67	3.38	4.65	16.87
- / -	68.53	54.05	68.88	97.44	84.44	88.19	80.98

表 3：腫瘍内の 4 領域における V_p 、 K_{trans} 、ASL の平均値と標準偏差(SD)

FMISO/FDG	V_p , mean $\pm$ SD	K_{trans} , mean $\pm$ SD	ASL, mean $\pm$ SD
+/+	94.48 $\pm$ 42.36	337.20 $\pm$ 286.80	2.50 $\pm$ 1.78
+/-	64.12 $\pm$ 4.55	169.40 $\pm$ 86.69	1.42 $\pm$ 1.22
-/+	58.25 $\pm$ 18.27	76.40 $\pm$ 56.58	1.27 $\pm$ 0.65
-/-	38.12 $\pm$ 10.57	53.37 $\pm$ 45.69	0.76 $\pm$ 0.42

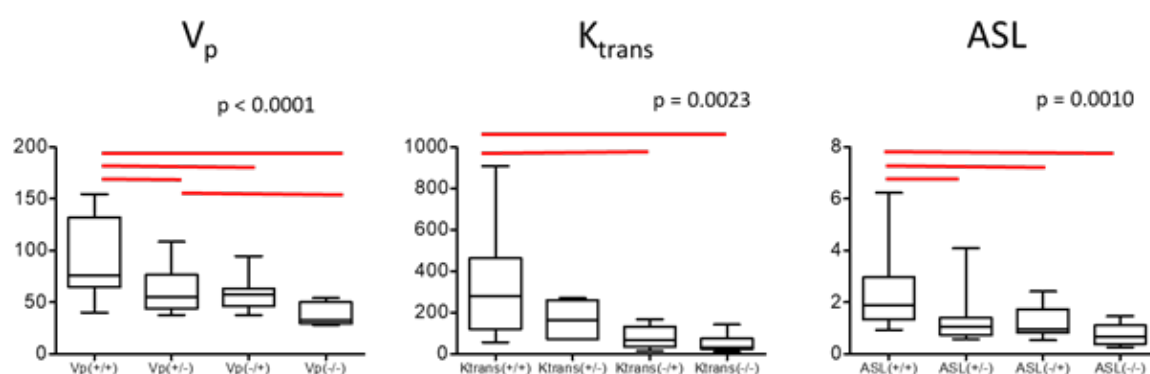


図 3：腫瘍内の 4 領域における V_p 、 K_{trans} 、ASL の比較。有意差が見られた群間を —— で示す。

4. 考察

FMISO/FDG 両方が陽性を示す領域は腫瘍内の低酸素かつ糖代謝亢進領域で、悪性度や活動性の高い腫瘍細胞が存在すると推測される。酸素や栄養の需要が亢進しているため、血管新生が促進され、血管体積や血流が増加していると考えられ、それぞれ V_p および ASL 高値に反映されていると考える。更に、腫瘍による血液脳関門の破綻や腫瘍血管の異常な構築により、血管透過性が亢進しているために K_{trans} が上昇していると推測される。

3 つのパラメーターのうち V_p は、FDG 集積は共通で FMISO 集積のみ異なる領域間の比較である、(FMISO+/FDG+)領域対 (FMISO-/FDG+)領域、(FMISO+/FDG-)領域対 (FMISO-/FDG-)領域の両方で FMISO 陽性領域が有意に高値を示した。 K_{trans} および ASL は、(FMISO+/FDG+)領域対(FMISO-/FDG+)領域において前者が有意に高値を示した。この結果から、MRI で評価可能な V_p 、 K_{trans} 、ASL の高値は FMISO 集積陽性と関連していると考えられた。

第2章

MRIによる血流・血管透過性パラメーターおよび ^{18}F -Fluorodeoxyglucose

PETによる糖代謝データを用いた脳腫瘍における低酸素領域の予測

1. 緒言

腫瘍における低酸素領域の検出は、治療方針や生検部位の決定、治療効果判定、予後の予測において臨床的に重要であると考えられる。現在、腫瘍の低酸素評価はFMISO-PETが主体であるが、全体の緒言に述べたようにFMISO-PETを施行可能な施設は限定されている。これに対し、MRIやFDG-PETは、より多くの施設で施行可能である。

第1章では、MRIで評価可能な V_p 、 K_{trans} 、ASLの高値がFMISO集積陽性と関連していることが明らかになった。1回のMRI撮像で得られるデータのみを用いてFMISO集積の有無を予測することが可能であれば、臨床的に非常に有用と考えられる。また、体幹部の悪性腫瘍の有無や、悪性リンパ腫とその他の腫瘍の鑑別を目的として脳腫瘍症例に対しFDG-PETが撮像される頻度も高く、FDG集積データを得ることも比較的容易と考えられる。全体の緒言に述べたように、低酸素状態の腫瘍細胞では解糖系の活性化やグルコーストランスポーターの発現促進が起こるとされ、糖代謝は血管に関するパラメーターとは別個に低酸素状態と関連していると推測される。

よって第2章では、MRIで評価可能な血流・血管に関するパラメーターとFDG-PETによって測定されるFDG集積を用いて、FMISO集積の陽性を予測可能であるという仮説を立てた。本章では、MRIパラメーターとFDG集積データを用いて脳腫瘍におけるFMISO陽性率を予測する多変量モデルを作成すること、そして作成された多変量モデルの検証を行うことを目的とした。

本章の結果により、作成した多変量モデルがFMISO陽性率を予測可能であること、モデル式から作成したFMISO陽性予測マップが臨床的に有用である可能性が示唆された。

2. 方法

本研究は当院における倫理審査を受け承認され、「人を対象とした 医学系研究に関する倫理指針」に従って実施された。

2-1 対象者

2015 年 5 月から 2016 年 6 月の期間で、当院にて脳腫瘍の精査を行われた患者が対象者として登録された。対象者の選択基準は第 1 章と同様である。第 2 章では、術後症例や低悪性度神経膠腫、神経膠腫以外の腫瘍も含み、また第 1 章の検討後に登録された症例を追加した。最終的に 15 名の患者を対象として本検討を行った（表 4）。患者群は女性 7 例、男性 8 例（年齢は 27-74 歳）で、13 例が神経膠腫、1 例がリンパ腫、1 例が胚細胞腫瘍であった。13 例の神経膠腫のうち、3 例は術後状態であり残存腫瘍を認めた（乏突起細胞腫[WHO grade 2]が 1 例、乏突起星細胞腫[WHO grade 2]が 1 例、膠芽腫[WHO grade 4]が 1 例）。その他の 10 例は全例が未治療の高悪性度神経膠腫であった（膠芽腫[WHO grade 4]が 7 例、退形成性星細胞腫[WHO grade 3]が 2 例、退形成性乏突起星細胞腫[WHO grade 3]が 1 例）。なお、上述のように 2 例の病理組織診断名が 2016 年改訂の WHO 分類で削除された乏突起星細胞腫となっているが、2 例とも WHO 分類の改訂前に病理組織学的診断がなされたためである。

全 15 例において、DCE・ASL・FLAIR を含む脳 MRI、FMISO-PET、FDG-PET が施行され、各検査は 10 日間以内に行われた（平均 4.2 日）。

表 4：症例群

Case	Age, years	Sex	Diagnosis (WHO grade)
1	47	M	Glioblastoma (G4)
2	70	M	Glioblastoma (G4)
3	56	M	Glioblastoma (G4)
4	57	M	Glioblastoma (G4)
5	71	F	Glioblastoma (G4)
6	27	F	Glioblastoma (G4)
7	57	F	Anaplastic oligoastrocytoma (G3)
8	29	F	Germinoma (G4)
9	38	M	Glioblastoma (G4)
10	73	F	Anaplastic astrocytoma (G3)
11	67	F	Anaplastic astrocytoma (G3)
12	33	M	Residual oligodendroglioma (G2)
13	74	M	Residual glioblastoma (G4)
14	74	M	Lymphoma
15	39	F	Residual oligoastrocytoma (G2)

2-2 撮像プロトコール

MRI、PET とともに第 1 章と同じプロトコールで撮像を行った。

2-3 画像処理および解析

(1) 画像処理

第 1 章と同様の方法で、DCE より得られたデータから K_{trans} 、 V_p マップを作成した。

第 1 章と同様の方法で、FLAIR、ASL、 K_{trans} 、 V_p 、FDG-PET、FMISO-PET 画像の位置合わせを行った。

第 1 章と同様の方法で、FDG および FMISO の集積の基準値を算出した。

本章においても、FLAIR 像で高信号を示す領域を腫瘍の範囲としたが、第 1 章では視覚的に範囲を決めたため再現性に問題があると考えられたため、第 2 章では定義を明確にして再現性を高めるため、以下のように自動抽出を行った。図 4 のように、直径 10mm

の円形 ROI を病変と対側の正常な大脳白質に置き、その平均値を FLAIR 正常値とした。造影後 T1 強調像で認められる増強像の周囲で、FLAIR の値が正常値の 1.2 倍より高値を示す領域を腫瘍の範囲とした。

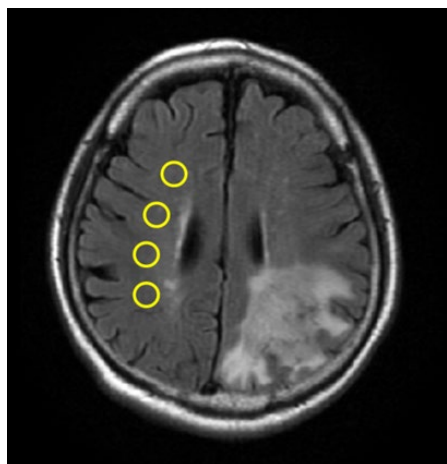


図 4： FLAIR 像における白質正常値算出のための ROI 設定方法。

(2) 多変量ロジスティック回帰分析モデルの作成

上記の定義に基づいた腫瘍領域内の全ボクセルの値を用いて解析を行った。JMP ソフトウェア (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) を用いて、多変量ロジスティック回帰分析により、FDG/ASL/ K_{trans} / V_p のボクセル値を用いて FMISO 陽性を予測するモデル式を作成した。同様の方法で、FDG のボクセル値を用いず MRI パラメーター (ASL, K_{trans} , V_p) のみ用いた多変量ロジスティック回帰分析モデル式も作成した。

15 例の症例群のうち、11 例は FMISO 陽性を示す領域が認められた。15 例全例のボクセルデータを用いて FMISO 予測モデル式を作成し、FMISO 陽性を示した 11 例において交差検証を行った。

算出された FMISO 予測モデル式により、Perfusion Mismatch Analyzer ソフトウェア (version 5.2.0.0) を用いて FMISO 陽性予測マップを作成した。

(3) 統計解析

FMISO 陽性を示した 11 症例において、FMISO 陽性予測モデルの正確性を評価するため、ROC 解析を行った。ROC 解析は、MRI パラメーターおよび FDG データを用いた多変量ロジスティック回帰モデル、MRI パラメーターのみ用いた多変量ロジスティック回帰モデル、FDG・ASL・ K_{trans} ・ V_p を用いた単変量モデルの 6 モデルを対象として行った。FMISO 陽性を示した 11 例について、leave-one-out 交差検証を行った。

各モデルにつき 11 症例の ROC-AUC を算出し、多変量モデル式と単変量モデル式の平均値を Student-Newman-Keuls 法を用いて比較した。P<0.05 を統計学的に有意とした。

3. 結果

15 症例の FMISO 陽性/陰性および腫瘍内の全ボクセル数を以下の表 5 に示す。

表 5：症例群における FMISO 集積陽性領域の有無および腫瘍内ボクセル数。

Case	Diagnosis (WHO grade)	Accumulation of FMISO	Total voxel number
1	Glioblastoma (G4)	Positive	6947
2	Glioblastoma (G4)	Positive	13794
3	Glioblastoma (G4)	Positive	20503
4	Glioblastoma (G4)	Positive	6266
5	Glioblastoma (G4)	Positive	18793
6	Glioblastoma (G4)	Positive	13771
7	Anaplastic oligoastrocytoma (G3)	Positive	4123
8	Germinoma (G4)	Positive	2484
9	Glioblastoma (G4)	Positive	24319
10	Anaplastic astrocytoma (G3)	Positive	5811
11	Anaplastic astrocytoma (G3)	Positive	2573
12	Residual oligodendroglioma (G2)	Negative	2996
13	Residual glioblastoma (G4)	Negative	8893
14	Lymphoma	Negative	19453
15	Residual oligoastrocytoma (G2)	Negative	57403

以下の表 6 に、ロジスティック回帰モデルの ROC-AUC 値、交差検証を行った平均値および標準偏差を示す。図 5 にも交差検証の結果を示す。

全 15 症例のボクセルデータを用いた場合の ROC-AUC (All 15 patients) は、FDG を含む多変量予測モデルで最も高く (0.892)、FDG を含まない多変量予測モデルおよび $K_{trans} \cdot \text{FDG}$ による単変量モデルがこれに次いだ (0.844)。

交差検証では、ROC-AUC 平均値は FDG を含む多変量予測モデルで最も高く (0.857 ± 0.081)、ASL による単変量モデル (0.738 ± 0.200 , $p = 0.0189$) および V_p による単変量モデル (0.703 ± 0.268 , $p = 0.037$) と比べ有意に高値であった。FDG を含む多変量モデルと K_{trans} による単変量モデル (0.809 ± 0.210 , $p = 0.366$)、FDG による単変量モデル (0.802 ± 0.119 , $p = 0.064$) の間には有意差は見られなかった。ROC-AUC 平均値は、FDG を含まない多変量予測モデルが 2 番目に高かったが (0.834 ± 0.072)、いずれの単変量モデル

ルとの間にも有意差は見られなかった。

ASL、 K_{trans} 、 V_p による単変量モデルでは外れ値が見られたが、2 つの多変量予測モデルおよび FDG による単変量モデルでは外れ値が無かった。

表 6 : ROC 解析結果。全 15 症例のボクセルデータを用いた場合の ROC-AUC(All 15 patients)は、FDG を含む多変量予測モデルで最も高く (0.892)、FDG を含まない多変量予測モデルおよび K_{trans} ・FDG による単変量モデルがこれに次いだ (0.844)。

Case	Multivariate prediction model		Univariate analysis			
	With FDG	Without FDG	FDG	ASL	K_{trans}	V_p
All 15 patients	0.892	0.844	0.844	0.830	0.844	0.727
Cross-validation						
1	0.975	0.957	0.966	0.944	0.968	0.980
2	0.900	0.886	0.807	0.875	0.924	0.869
3	0.777	0.737	0.835	0.725	0.852	0.775
4	0.820	0.776	0.782	0.792	0.728	0.661
5	0.961	0.899	0.972	0.845	0.953	0.919
6	0.970	0.884	0.952	0.880	0.821	0.694
7	0.719	0.731	0.702	0.710	0.759	0.722
8	0.824	0.773	0.666	0.804	0.195	0.161
9	0.843	0.815	0.830	0.790	0.869	0.813
10	0.853	0.905	0.702	0.182	0.986	0.188
11	0.787	0.810	0.612	0.567	0.847	0.955
Mean	0.857	0.834	0.802	0.738	0.809	0.703
SD	0.081	0.072	0.119	0.200	0.210	0.268

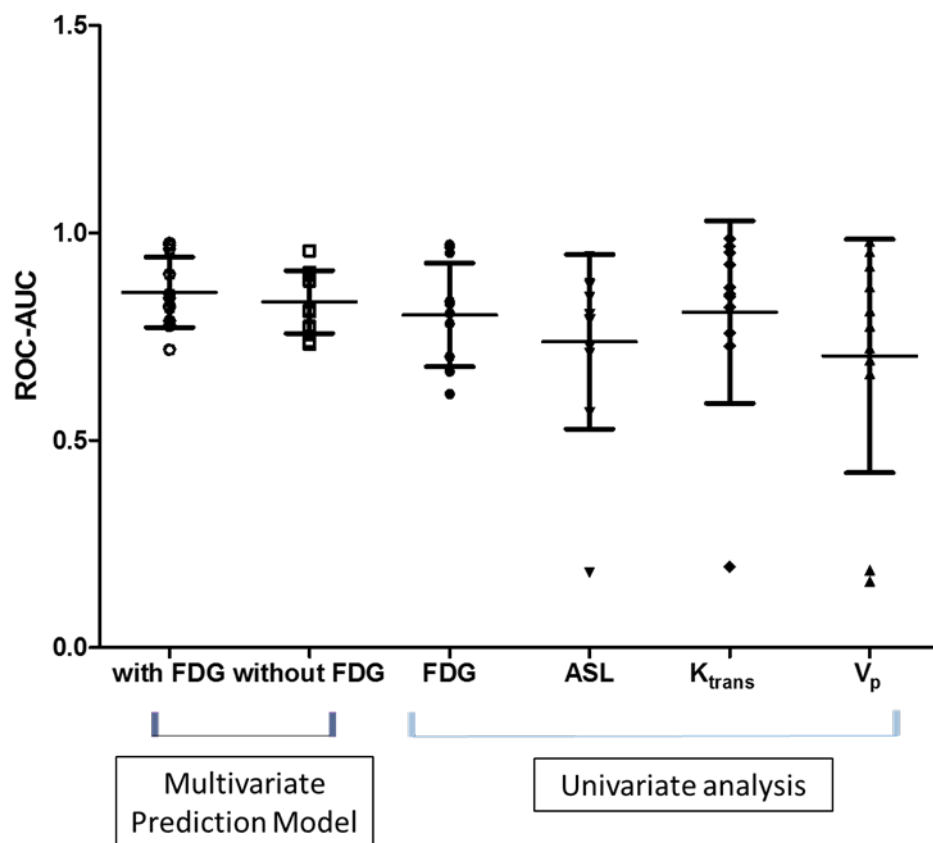
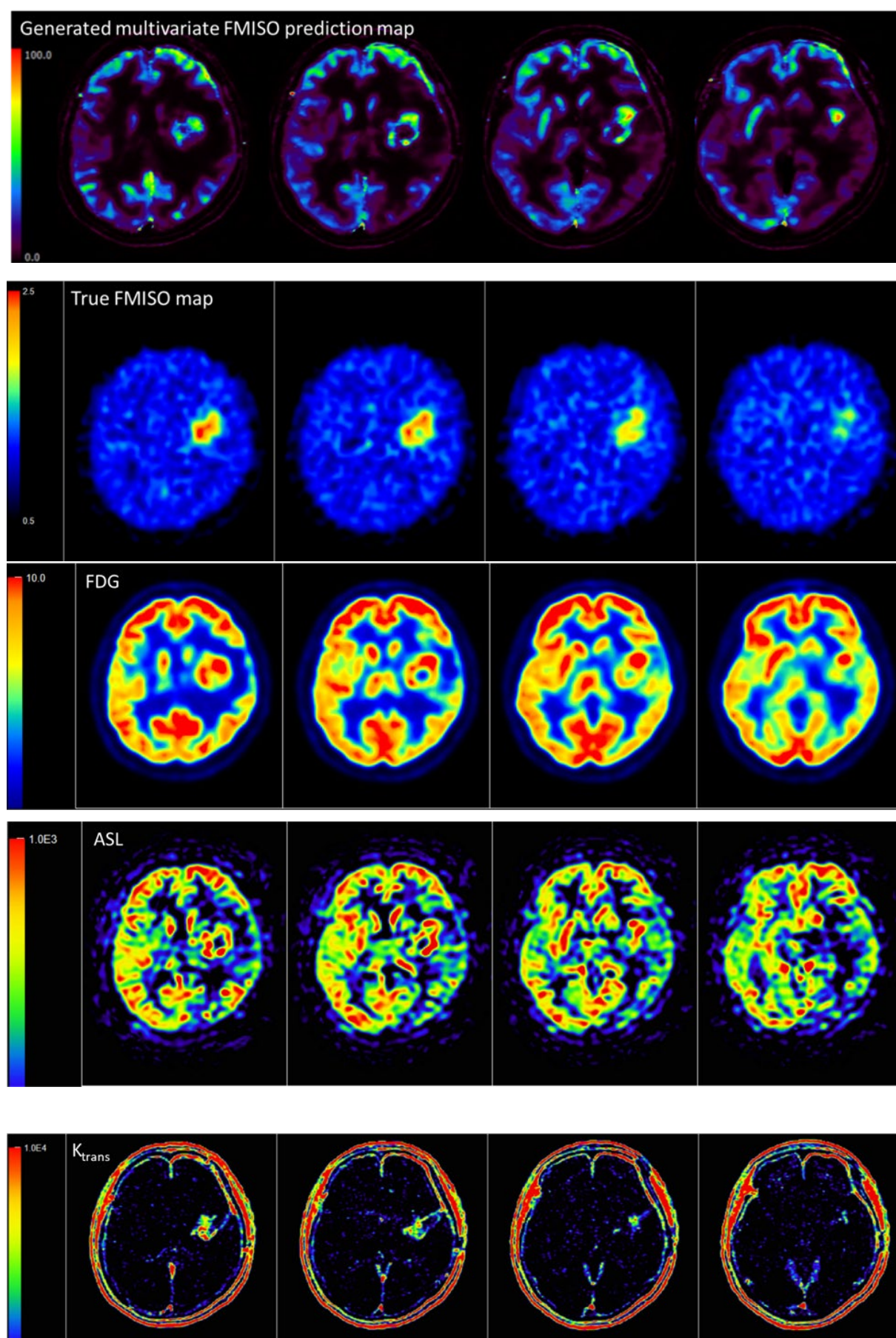


図 5:ROC 解析結果。交差検証では、ROC-AUC 平均値は FDG を含む多変量予測モデルで最も高く (0.857)、FDG を含まない多変量予測モデルがこれに次いだ (0.834)。ASL、K_{trans}、V_p による単変量モデルでは外れ値が見られるが、2 つの多変量予測モデルおよび FDG による単変量モデルでは外れ値が無かった。

ロジスティック回帰分析により、FMISO 陽性を示す確率は下記の式で表された。

$$FMISO(P) = \frac{1}{1 + e^{-(3.288 \times FDG + 1.245 \times ASL + 0.018 \times K_{trans} - 0.032 \times V_p - 5.571)}}$$

例として、上記の式より作成した症例 6 の FMISO 陽性予測マップおよび当該症例の FMISO-PET、FDG-PET、ASL、K_{trans} マップ、V_p マップ、造影後 T1 強調像、FLAIR 像の画像を図 6 に示す。



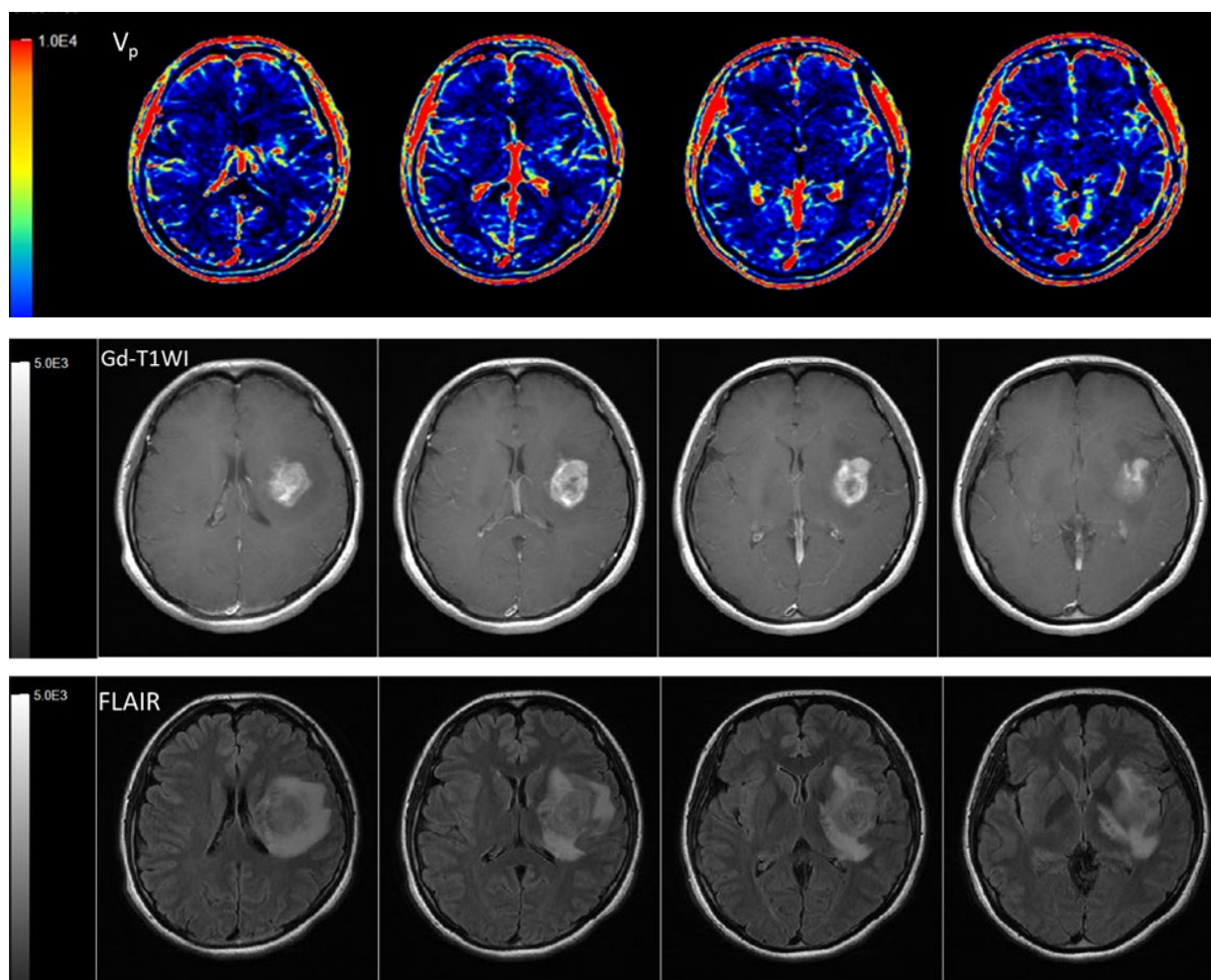


図 6: 症例 6 において作成された FMISO 陽性予測マップおよび FMISO-PET、FDG-PET、ASL、 K_{trans} マップ、 V_p マップ、造影後 T1 強調像、FLAIR 像。予測マップと真の FMISO-PET は概ね合致している。

予測マップと真の FMISO-PET 画像を比較すると、腫瘍の辺縁部優位に高値を示し中心部が低値を示す点は良く合致している。一方、予測マップでは腫瘍内部の FMISO 集積が表現されていないが、真の FMISO-PET 画像を参照すると実際には同部にも FMISO 集積が認められる。また、予測マップでは前頭葉優位の大脳皮質、基底核も FMISO 集積陽性となっているが、これらの部位は FDG 集積や ASL の生理的な高値による影響と推測される。予測マップでは健側である右基底核が目立つが、病側基底核が腫瘍による浮腫のため FDG 集積が低下しており、健側が相対的に高値となっているためと考えられる。

4. 考察

(1) 本研究で得られた新知見

今回の検討では、MRI によって評価可能な血流・血管透過性パラメーターと FDG-PET によって測定される FDG 集積を用いて、FMSIO 集積陽性を予測する多変量ロジスティック回帰モデルを作成することが可能であった。多変量予測モデルは、FDG 集積データを用いたモデル・MRI パラメーターのみ用いたモデル両方が、FDG/ASL/ K_{trans} / V_p をそれぞれ用いた単変量解析と比較し、より高い予測成績を示した。FMISO-PET を施行可能な施設が限定されている現状では、MRI から得られるデータを用いて FMISO 陽性を予測可能であれば、多くの施設において有用と考えられる。今回、FMISO 陽性領域の有無だけではなく、予測マップを作成することにより、腫瘍内の FMISO 陽性領域の分布を予測することも可能であった。FMISO 集積陽性領域は腫瘍内で悪性度が高く、放射線治療抵抗性であると報告されていることから、予測マップは生検部位や治療方針の決定において有用と考えられる (Herholz, 2017)。

FMISO-PET は、治療による腫瘍内の酸素化の変化を検出することにより、治療効果判定にも有用と考えられている。高悪性度神経膠腫に対するテモゾロミドを用いた放射線化学療法においても、FMISO-PET 所見の変化が予後予測に有用と報告されている (Yamaguchi et al., 2016)。

予測マップでは、大脳皮質や基底核も検出されているが、これらの正常構造は形態から容易に識別可能であり、FLAIR 像を参照し腫瘍の領域を確認することにより除外することができる。

FDG を含む多変量予測モデルは、ASL・ V_p による単変量モデルと比べ有意に高い予測能を示した。一方で、FDG を含まない多変量予測モデルは、FDG を含む多変量予測モデルに近い予測能を示したものの、単変量モデルと比べ有意差は認められなかった。よって、可能であれば多変量予測モデルに FDG-PET データを含めることが望ましいと考えられる。ただし今回の結果から、FDG-PET を施行できない状況では、MRI データのみ用いた多変量予測モデルによっても、FDG を含む多変量予測モデルに近い精度で予測可能と考えられた。

FDG を含む多変量予測モデルでより高い予測能を示す理由について、以下のような機序が考えられる。全体の緒言に述べたように、悪性腫瘍は多くの場合、酸素の需要に対し供給が不足する不均衡により低酸素状態に陥る。低酸素状態に適応するために腫瘍細胞の代謝に変化が起こり、糖代謝に関しては解糖系に参与する蛋白やグルコーストランスポーターの転写が促進され、腫瘍細胞によるグルコースの取り込みが亢進する (Ellingsen et al., 2014)。よって、腫瘍によるグルコースの取り込み亢進は低酸素に伴う様々な変化の一部を表していることになり、FDG 集積に関するデータを追加することにより、より詳細に低酸素状態を表すことが可能になると推測する。

低酸素と血管透過性パラメーターの関連については、以下のように考察する。腫瘍の増殖が速く血管の発達を超えると、腫瘍内部では血管からの拡散による酸素が到達しなくなり、酸素需要を満たすため血管新生が促進される。このため、低酸素状態に

においては血管床や血流の増加が起こり、これらは本検討では V_p および ASL のデータに反映されている。腫瘍による血液脳関門の破綻や腫瘍血管の異常な構築は、血管透過性の亢進として捉えられ、本検討では K_{trans} に反映されている。

(2) 過去の報告

全体の緒言に述べたように、膠芽腫における FMISO-PET と MRI の所見の関連に関する過去の研究では、FMISO の集積と血流の間に正の相関が示されており、腫瘍の低酸素状態と多血性に相関性があることが示された (Ponte et al., 2017)。また、造影剤による造影効果を示す領域は血液脳関門が破綻しているが、膠芽腫においては造影される領域でより高頻度に低酸素状態や多血性が見られることが示唆されており、血液脳関門の破綻により異常な血管透過性が惹起されると推測される (Gerstner et al., 2016)。また、過去の研究では、治療開始前のベースラインにおける高度の FMISO 集積および血管に関するパラメーター (K_{trans} 、血流、血液量) の高値は予後不良因子であると報告されている。過去の報告から、膠芽腫の異常な血管構築は、腫瘍内の有効な灌流を低下させ、血管透過性亢進をきたし、腫瘍の低酸素状態および悪性度に寄与していると考えられる。ただし、過去の研究では低酸素に関するパラメーター (FMISO SUV 値あるいは低酸素を示す腫瘍の容積) と血管透過性に関するパラメーターの直接の関連性については調べられていない。

(3) 本研究で得られた新知見の意義

今回の検討では、対象症例の多くは神経膠腫であったが、症例 10 に見られるように神経膠腫であっても $ASL \cdot V_p$ による単変量解析では AUC が各々 0.182 (ASL)、0.188 (V_p) と外れ値が認められた (表 5、図 5 参照)。これに対し、多変量解析では AUC が 0.853 (FDG データを含む)、0.905 (FDG データを含まない) と良好な予測能を示した。この結果からは、組織診断名は同じ神経膠腫であっても多様な性質を示し得ることが推測される。症例 8 は胚細胞腫瘍であり、神経膠腫とは組織学的な性質が異なる。症例 8 においては、 $K_{trans} \cdot V_p$ による単変量解析では AUC が各々 0.195、0.161 と外れ値を呈した。これに対し、多変量解析では胚細胞腫瘍においても AUC は 0.824 (FDG データを含む)、0.773 (FDG データを含まない) で、神経膠腫と異なる腫瘍においてもある程度の予測能を示した。これらの結果から、今回作成した多変量予測モデルは、多様な性質の腫瘍に対して用いることが可能と考えられる。

総括および結論

1. 結論

MRI データから得られた血流・血管透過性パラメーター、および FDG-PET から得られた糖代謝データを用いて、脳腫瘍における FMISO 集積陽性を予測する多変量ロジスティック回帰分析モデルを作成することが可能であった。FMISO 陽性領域の有無だけではなく予測マップを作成することにより、腫瘍内の FMISO 陽性領域の分布を予測することも可能であった。

2. 本研究から得られた新知見

第 1 章

- ・ 膠芽腫を FMISO/FDG 集積の陽性/陰性により 4 領域に分類し、MRI で評価可能な血管透過性や血流のパラメーターを比較することにより、腫瘍の低酸素領域と血流・血管透過性パラメーターの関連について明らかとなった。
- ・ 本章の結果より、MRI で評価可能な V_p 、 K_{trans} 、ASL の高値は FMISO 集積陽性と関連していると考えられた。

第 2 章

- ・ MRI によって評価可能な血管パラメーターと FDG-PET によって測定される FDG 集積を用いて、FMISO 集積陽性を予測する多変量ロジスティック回帰モデルを作成することが可能であった。多変量モデルは、単変量モデルと比較して FMISO 集積陽性予測能が高いと考えられた。
- ・ 多変量予測モデル式から予測マップを作成することが可能であり、腫瘍内の FMISO 陽性領域の分布予測に有効であった。

2. 新知見の意義

膠芽腫における FMISO 集積や血流・血管透過性に関して、過去にいくつかの報告があるが、FMISO-PET から得られる低酸素に関するパラメーターと血管透過性に関するパラメーターの直接の関連性については調べられていなかった。本研究では、FMISO の集積と血流・血管透過性パラメーターの関連を示しただけでなく、これらのパラメーターを用いて FMISO 陽性予測が可能であることを示した。この結果により、FMISO-PET を撮像することができない多くの医療施設において、将来的には MRI データのみ用いて脳腫瘍の低酸素状態を評価できる可能性がある。

3. 本研究で得られた新知見から今後どのような研究が展開されうるか

本研究の結果により、FMISO 集積陽性が MRI データから得られた血流・血管透過性パラメーター、および FDG-PET から得られた糖代謝データを用いて予測可能であることが示唆された。今後の展開としては、同様のボクセルデータに機械学習やディープラーニングを含めた AI(artificial intelligence)解析を適用し、多変量ロジスティック回

帰分析よりも精度の高い予測モデルを構築するような研究が想定される。また、本研究では FDG データを含むモデルでより高い予測能が見られたが、上記のような AI による精度向上が達成できれば、MRI データのみから精度の高い FMISO 陽性予測モデル作成を作成できる可能性がある。MRI は FDG-PET よりも多くの施設で撮像可能であり、一度の検査で多種のデータを収集することができるため、拡散強調像や磁化率強調像などのデータも追加することも可能で、さらに精度向上を目指すこともできる。

4. 今後の課題

第一に、より多くの症例および脳腫瘍の組織型において多変量モデルを検証することが挙げられる。作成した多変量モデルでは、多様な性質の腫瘍に対応し得る可能性を示したが、本研究では対象症例の多くを神経膠腫（特に膠芽腫）が占めており、その他の組織型の症例数が少なかった。本検討で作成した予測モデルをより多くの組織型の腫瘍で検証する必要がある。

第二に、本検討では血流を評価するために非造影灌流画像である ASL を用いたが、現状では一般的に血流の評価は造影剤を使用する DSC を用いることが多い。また、DSC では血流のみならず血液量も同時に評価することができる。しかし、上記に述べたように過去の研究では FMISO 集積度と血管透過性の関連性が示唆されながらも、これらの直接的な関連性について調べられていなかったため、本検討では予測モデルに血管透過性パラメーターを用いることを優先した。このため、造影剤は血管透過性パラメーターを得るための DCE に用いられた。1 回の造影剤投与で DCE・DSC の 2 つの灌流画像を撮像することは可能ではあるが、各々に用いる造影剤が半量となるために信号雑音比や画像コントラストが低下することが予測される。このため、本検討では血流評価に造影剤を使用しない ASL を用い、血液量は DCE のデータから算出される V_p を用いて評価したが、血流を DSC で測定した場合との比較も必要と考えられる。

第三に、本検討の対象症例は全てテント上の腫瘍であったが、実際には小脳腫瘍も評価対象となりうる。今回は、FMISO 集積の基準値として一般的に用いられている方法として両側小脳半球に ROI を設定したが、小脳腫瘍が対象となる場合は他の部位に ROI を設定する必要がある。この場合は、頭頸部腫瘍の FMISO-PET 評価で行われるように、頸部の骨格筋に基準を置く方法が適応可能と考えられる。また、脳腫瘍以外の腫瘍性病変への応用も今後の課題である。

第四に、本検討では MRI データとして血流や血管透過性に関連するパラメーターのみ使用した。増殖速度の高い腫瘍では、血管の変化のみではなく細胞密度が変化すると考えられ、一般的に悪性度の高い領域では細胞密度は上昇する。細胞密度は ADC(apparent diffusion coefficient)値を測定することにより評価可能である。ADC 値は血流や血管透過性とは異なる情報であり、これを予測モデルのパラメーターとして加えることにより、予測精度の向上につながる可能性がある。

謝辞

本研究を結ぶにあたり、終始懇切なる指導を頂きました、指導教員の工藤與亮教授、白土博樹教授に深い感謝の意を表します。

そして、画像解析に関して御尽力いただきました核医学分野 豊永拓哉先生、研究への患者さんの登録に多大なる御協力をいただきました脳神経外科の先生方に心より感謝申し上げます。

北海道大学病院診療支援部の石坂欣也技師、以下技師の皆様には、MRI 撮像のスケジュール調整および実際の撮像にご協力いただきました。また、夜遅くまで MRI 撮像プロトコール調整にご協力いただいた客員研究員の白猪亨様、被験者として快く御協力いただいた多くの患者さんに心より感謝申し上げます。

最後に、本論文は当該分野内外の先生方、その他の多くの方々のご指導とご協力に支えられ完成したものであり、この場をお借りして全ての方々への心からの感謝の意を表します。

利益相反

この研究は、バイエル薬品株式会社から研究助成を受け行われた。

引用文献

Dewhirst, M. W., Cao, Y., Moeller, B. (2008). Cycling hypoxia and free radicals regulate angiogenesis and radiotherapy response. *Nat. Rev. Cancer.* 8, 425-437.

Ellingsen, C., Hompland, T., Galappathi, K., Mathiesen, B., Rofstad, E. K. (2014). DCEMRI of the hypoxic fraction, radio-responsiveness, and metastatic propensity of cervical carcinoma xenografts. *Radiother. Oncol.* 110, 335-341.

Gerstner, E. R., Zhang, Z., Fink, J. R., Muzi, M., Hanna, L., Greco, E., Prah, M., Schmainda, K. M., Mintz, A., Kostakoglu, L., et al. (2016). ACRIN 6684: Assessment of tumor hypoxia in newly diagnosed glioblastoma using ^{18}F -FMISO PET and MRI. *Clin. Cancer Res.* 22, 5079-5086.

Herholz, K. (2017). Brain tumors: an update on clinical PET research in gliomas. *Semin. Nucl. Med.* 47, 5-17.

Hirata, K., Terasaka, S., Shiga, T., Hattori, N., Magota, K., Kobayashi, H., Yamaguchi, S., Houkin, K., Tanaka, S., Kuge, Y., et al. (2012). ^{18}F -Fluoromisonidazole positron emission tomography may differentiate glioblastoma multiforme from less malignant gliomas. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging.* 39, 60-770.

Kobayashi, H., Hirata, K., Yamaguchi, S., Terasaka, S., Shiga, T., Houkin, K. (2013). Usefulness of FMISO-PET for glioma analysis. *Neurol. Med. Chir.* 53, 773-8.

Lee, C. T., Boss, M. K., Dewhirst, M. W. (2014). Imaging tumor hypoxia to advance radiation oncology. *Antioxid. Redox Signal.* 21, 313-327.

Ponte, K. F., Berro, D. H., Collet, S., Constans, J. M., Emery, E., Valable, S., Guillamo, J. S. (2017). In vivo relationship between hypoxia and angiogenesis in human glioblastoma: a multimodal imaging study. *J. Nucl. Med.* 58, 1574-1579.

Quon, H., Brizel, D. M. (2012). Predictive and prognostic role of functional imaging of head and neck squamous cell carcinomas. *Semin. Radiat. Oncol.* 22(3), 220-32.

Rajendran, J. G., Mankoff, D. A., O'Sullivan, F., Peterson, L. M., Schwartz, D. L., Conrad, E. U., Spence, A. M., Muzi, M., Farwell, D. G., Krohn, K. A. (2004). Hypoxia and glucose metabolism in malignant tumors: evaluation by ^{18}F -fluoromisonidazole and ^{18}F -fluorodeoxyglucose positron emission tomography imaging. *Clin. Cancer Res.* 10, 2245-2252.

Spence, A. M., Muzi, M., Swanson, K. R., O'Sullivan, F., Rockhill, J. K., Rajendran, J. G., Adamsen, T. C., Link, J. M., Swanson, P. E., Yagle, K. J., et al. (2008). Regional hypoxia in glioblastoma multiforme quantified with [^{18}F]fluoromisonidazole positron emission tomography before radiotherapy: correlation with time to progression and survival. *Clin. Cancer. Res.* 14, 2623-2630.

Toyonaga, T., Yamaguchi, S., Hirata, K., Kobayashi, K., Manabe, O., Watanabe, S., Terasaka, S., Kobayashi, H., Hattori, N., Shiga, T., et al. (2017). Hypoxic glucose metabolism in glioblastoma as a potential prognostic factor. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging.* 44, 611-619.

Yamaguchi, S., Hirata, K., Toyonaga, T., Kobayashi, K., Ishi, Y., Motegi, H., Kobayashi, H., Shiga, T., Tamaki, N., Terasaka, S., et al. (2016). Change in ^{18}F -fluoromisonidazole PET in an early predictor of the prognosis in the patients with recurrent high-grade glioma receiving bevacizumab treatment. *PLoS One.* 11(12), e0167917.