

マウスモデルを用いた、拡散時間に伴う ADC 変化と Ki-67 との関連の検討 [大会長賞記録]

染矢 祐子¹, 飯間 麻美^{1,2}, 今井 宏彦³, 吉澤 明彦⁴,
磯田 裕義¹, 片岡 正子¹, 中本 裕士¹

¹京都大学大学院医学部医学研究科放射線医学講座 (画像診断学・核医学)

²同医学部附属病院先端医療研究開発機構

³同大学院情報学研究科システム科学専攻

⁴同医学研究科附属総合解剖センター

背景・目的

臨床の現場で撮像される拡散強調画像から得られる、見かけの拡散係数 (Apparent Diffusion Coefficient: ADC) は、自由拡散 (ガウス拡散) を前提として算出される。しかしながら実際の生体組織内では細胞膜や線維成分などの障害物の存在によりプロトンの拡散運動は制限を受ける (非ガウス拡散) と想定され、拡散時間 (拡散運動の挙動を観察している時間) に依存したプロトンの挙動変化を示すことが予想される。複数の拡散時間を設定して各々の ADC 値を取得し、その変化を評価することで、拡散運動に影響を与えるような周囲組織の微細構造に関する情報が得られる可能性がある^{1)~3)}。特に、腫瘍増殖能の術前予測が可能であれば治療方法の選択や予後予測に有用であろうと考える。今回、我々は 4 つの拡散時間を用いて ADC 値の変化を算出し、Ki-67 標識率との関連を評価した。ヒト乳癌マウスモデルを用いて評価した。

方 法

ICR nu/nu マウスの後肢皮下に、ヒト乳癌細胞 10⁶ cells/匹を投与し、担癌マウスモデルを作成した。MCF-7 マウス 8 匹, MDA-MB-231 マウス 15 匹を、7T 動物用 MRI (Bruker

Biospec 社製, ¹H quadrature transmit/receive volume coil 使用) で撮像した。拡散強調画像は、single shot-echo planar imaging (SS-EPI) にて撮像し、各種パラメーターは、TR=2500 ms, TE=57 ms, 8 averages, 4 segments, matrix size=100×100, FOV=25×25 mm², slice thickness=1.5 mm のように設定した。4 つの拡散時間 (従来の pulsed gradient spin echo: PGSE にて 9 ms, 27.6 ms を、Oscillating gradient spin echo: OGSE⁴⁾ にて 2.5 ms, 5 ms) を設定した。ADC 値は 200 と 1500 mm²/s の 2 個の b 値を用い計算した。拡散時間による ADC の変化率 (%) は、 $(ADC_{short} - ADC_{long}) / ADC_{short} * 100 (\%)$ で計算した (ADC_{short} は 2.5 ms の, ADC_{long} は 27.6 ms の, 拡散時間を用いた ADC 値である)。

腫瘍検体に HE 染色, Ki-67 免疫染色を行い、病理標本をバーチャルスライド化した。Halo (Indica labs, Corrales NM, USA) の機械学習アルゴリズムを用いて、HE 染色標本から腫瘍全体における cellular area (%) を算出した。また定型的に Ki-67 labeling index (Ki-67 LI) を算出した。これら病理学的特徴を MRI パラメーターと比較した。

結 果

MCF-7 腫瘍 (Luminal type に相当) と比較

キーワード time-dependent diffusion, apparent diffusion coefficient, oscillating gradient spin echo, breast cancer xenograft model, Ki-67

Table 1. Histopathologic characteristics and diffusion parameters among two different xenografts.

		MCF-7 (n = 8)	MDA-MB-231 (n = 15)	P-value
Histology				
Cell size (μm)		15.2 ± 0.7	12.2 ± 0.3	0.004*
Cellular area (%)		71.8 ± 12.2	51.3 ± 22.7	0.021*
Ki-67 labeling index		58.8 ± 11.5	75.5 ± 3.3	0.003*
DWI parameters				
ADC ($\times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$)	2.5 ms	1.22 ± 0.33	0.99 ± 0.08	0.012*
	5 ms	0.93 ± 0.16	0.84 ± 0.06	0.157
	9 ms	0.68 ± 0.08	0.62 ± 0.10	0.098
	27.6 ms	0.48 ± 0.06	0.56 ± 0.11	0.238
ADC change (%)		58.9 ± 7.4	43.2 ± 13.6	0.004*

The data represent the mean $\pm$ SD.

* Values of $P < 0.05$ were considered statistically significant.

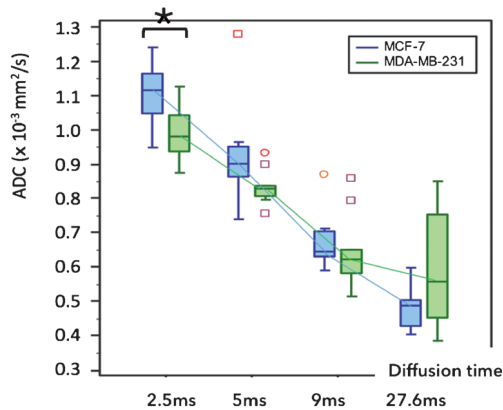


Fig. 1. (color online) Box-and-whisker plots of ADC values against the diffusion times in the xenograft models of breast cancer (MCF-7 and MDA-MB-231).

して、MDA-MB-231 腫瘍 (triple-negative type に相当) は病理学的に悪性度の高い腫瘍組織の特徴を示した (高い NC 比, 高い壊死率, 高い Ki67 LI)。異なる拡散時間における腫瘍間の ADC 値と、ADC 変化率を Table 1 に示した。ADC 値は拡散時間が長くなるにつれ有意に減少し (Fig. 1), ADC 変化率は MDA-MB-231 で有意に低かった (Fig. 2, $58.9 \pm 7.4\%$ vs. $43.2 \pm 13.6\%$, $P < 0.01$)。ADC 変化率と Ki67 LI に有意な相関は見られなかった

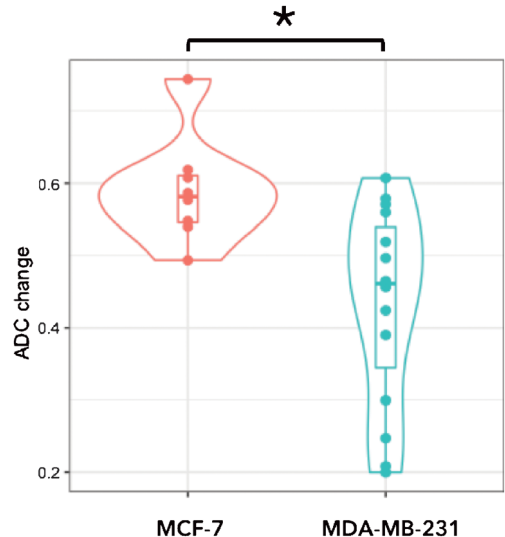


Fig. 2. (color online) Combined box and violin plots of ADC change in MCF-7 and MDA-MB-231 xenografts. *Values of $P < 0.05$ were considered statistically significant.

が、MCF-7 腫瘍においては ADC 変化率と Ki67 LI の間に、正の相関の傾向を示した (Fig. 3, $R = 0.71$, $P = 0.058$)。

考察・結論

MRI のハードウェアの進歩により、高い傾

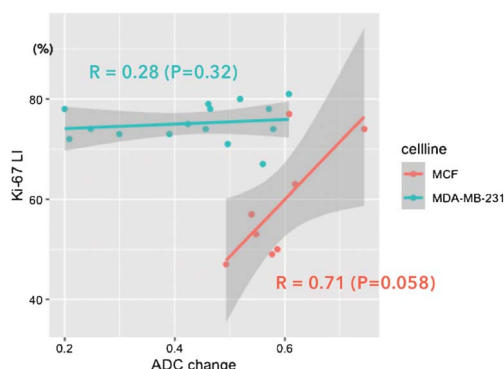


Fig. 3. (color online) Correlation between Ki-67 LI and ADC change.

斜磁場強度の MPG (motion probing gradient) を印加できるようになり、短い拡散時間での撮像が実現可能となった。ガウス分布ではプロトン分子の移動距離(変位距離)は拡散時間に比例するため、理論上、短い拡散時間を用いた DWI では細胞レベルでのミクロなサイズスケールでの拡散のふるまいが評価できると考える。従来の PGSE シークエンスよりもさらに短い拡散時間を実現しうる OGSE シークエンスも開発され、細胞サイズや細胞微細構造の違いといった、よりミクロな世界を反映しうると期待されている^{5),6)}。一方、拡散時間が意図せず短く設定されることで DWI 画像に反映される「拡散運動の挙動の違い」のコントラストが不良になり、例えば急性期脳梗塞の DWI での検出が不良になる⁷⁾、などの新たな問題も指摘されている。

今回、拡散時間を長くするに従い ADC 値の減少を認めた。まずは ADC 値を定量値として扱うことには注意を要するということが示唆される(他施設研究や異なる MRI 機種を用いた研究では異なる拡散時間が設定されうる)。ガウス拡散においては、拡散時間を変化させても ADC 値は変化しないため、今回認めた拡散時間に依存した ADC 値の変化は、腫瘍組織内では拡散を制限させる障害物が存在するという仮定に合致する結果である。各拡散時間で算出した各々の ADC 値を用いて、2 種の悪性腫瘍を区別することは困難であった(病理学的特徴は大きく異なるものの)。ADC 変化率を比較する

と、MDA-MB-231 の方が有意に変化率が小さいという結果が見られた。MCF-7 腫瘍と比較し、MDA-MB-231 腫瘍の ADC 値は 2.5 ms から 9 ms までにおいて低く、27.6 ms では高値を示した。さらに長い拡散時間での ADC 値を撮像していないため推測にとどまるが、拡散運動(プロトン分子の移動距離)が変化すると、細胞外スペースでの拡散挙動や細胞膜透過性など ADC 値に影響する要素が変化する可能性があり、興味深いデータと考える。

NC 比の高い腫瘍細胞が tight に発育する MDA-MB-231 腫瘍の方が障害物(細胞膜)が多いと考えられ、拡散時間依存性 ADC 変化が大きくなると予測していたが今回逆の結果となった。MDA-MB-231 では cellular area と ADC 変化率が有意の正の相関を示し(データ非掲載)、壊死領域では拡散時間依存性の ADC 変化が小さいと考えられる。今回、全腫瘍を囲んだ ROI を設定し ADC 変化率を算出したため、壊死領域も含めた組織全体における ADC 変化率が本結果に反映された可能性を考える。

高い Ki-67 標識率を示す腫瘍は、腫瘍細胞が密に増殖していると考えられるため、拡散が制限されやすい組織と仮定される⁸⁾。MCF-7 腫瘍では有意差はないものの、ADC 変化率と Ki-67 LI の正の相関が示唆され、この仮定に矛盾しない結果であった。MDA-MB-231 腫瘍では Fig. 3 に示すように全腫瘍において Ki-67 70~80% と異常発現が見られ(移植モデルのため、本来のヒト乳癌とは性質が異なると考えられる)、標準偏差も小さいため、Ki-67 での相関を検定するためには不向きであったが、腫瘍増殖能の高い悪性腫瘍の特徴を持ち、こういった腫瘍の microstructure を画像評価するモデルとしては有効と考える。

ADC など拡散 MRI から得られるパラメータの、拡散時間依存性の変化から、腫瘍の増殖能や微細構造などの新たな情報を得られる可能性が示唆され、さらなる検討が望まれる。

文 献

- 1) Reynaud O: Time-dependent diffusion MRI in cancer: Tissue modeling and applications. Front

- Phys 2017 ; 5 : 58
- 2) Iima M, Yamamoto A, Kataoka M, Yamada Y, Omori K, Feiweier T, Togashi K : Time-dependent diffusion MRI to distinguish malignant from benign head and neck tumors. J Magn Reson Imaging 2019 ; 50 : 88–95
 - 3) Iima M, Honda M, Sigmund EE, Ohno Kishimoto A, Kataoka M, Togashi K : Diffusion MRI of the breast: Current status and future directions. J Magn Reson Imaging 2020 ; 52 : 70–90
 - 4) Wu D, Martin LJ, Northington FJ, Zhang J : Oscillating gradient diffusion MRI reveals unique microstructural information in normal and hypoxia-ischemia injured mouse brains. Magn Reson Med 2014 ; 72 : 1366–1374
 - 5) Reynaud O, Winters KV, Hoang DM, Wadghiri YZ, Novikov DS, Kim SG : Surface-to-volume ratio mapping of tumor microstructure using oscillating gradient diffusion weighted imaging. Magn Reson Med 2016 ; 76 : 237–247
 - 6) Xu J, Does MD, Gore JC : Dependence of temporal diffusion spectra on microstructural properties of biological tissues. Magn Reson Imaging 2011 ; 29 : 380–390
 - 7) Boonrod A, Hagiwara A, Hori M, Fukunaga I, Andica C, Maekawa T, Aoki S : Reduced visualization of cerebral infarction on diffusion-weighted images with short diffusion times. Neuroradiology 2018 ; 60 : 979–982
 - 8) Surov A, Meyer HJ, Wienke A : Associations between apparent diffusion coefficient (ADC) and Ki 67 in different tumors: a meta-analysis. Part 1: ADC (mean). Oncotarget 2017 ; 8 : 75434–75444

Time-Dependent ADC Values in Association with Histological Biomarkers in Breast Cancer Xenograft Models [Presidential Award Proceedings]

Yuko SOMEYA¹, Mami IMA^{1,2}, Hirohiko IMAI³,
Akihiko YOSHIZAWA⁴, Hiroyoshi ISODA¹, Masako KATAOKA¹,
Yuji NAKAMOTO¹

¹*Department of Diagnostic Imaging and Nuclear Medicine, Graduate school of medicine, Kyoto University
54 Shogoin-kawaharacho, Sakyo-ku, Kyoto 606–8507*

²*Institute for Advancement of Clinical and Translational Science, Kyoto University Hospital*

³*Department of Systems science, Graduate School of Informatics, Kyoto University*

⁴*Department of Diagnostic Pathology, Graduate school of medicine, Kyoto University*

In this study, we evaluated the association between time-dependent apparent diffusion coefficient (ADC) at different diffusion times and histopathological features, such as the cellular area in a tumor and Ki-67 labeling index, in two breast cancer xenograft models. The ADC values decreased with diffusion time (from 2 ms to 27.6 ms). ADC change can be a more useful quantitative parameter than single ADC measures for estimating detailed pathological features, and it might also reflect tumor proliferation.