

主論文の要旨

***In vivo* ^{18}F -fluorodeoxyglucose-positron emission tomography/computed tomography imaging of pancreatic tumors in a transgenic rat model carrying the human *KRAS*^{G12V} oncogene**

〔 *KRAS*^{G12V}トランスジェニックラット膵腫瘍モデルにおける
 ^{18}F -FDG-PET/CTを用いた*in vivo*イメージング 〕

名古屋大学大学院医学系研究科 機能構築医学専攻
病態外科学講座 腫瘍外科学分野

(指導：椰野 正人 教授)

柴田 耕治

【背景・目的】

膵管癌は早期に発見されることが少ないために診断時に切除不能であることが多く、また化学放射線療法への反応も乏しいために予後の極めて不良な悪性疾患の1つである。本疾患に対するさらなる理解のためにはヒト膵管癌に類似した動物発癌モデルの利用が望ましいと考え、我々は多くのヒト膵管癌において **KRAS** 遺伝子に変異している点に着目し、**Cre-loxP** システム制御下に変異 **KRAS** 遺伝子を発現するトランスジェニックラットを確立した。そしてこのトランスジェニックラットの膵管内に **Cre** リコンビナーゼアデノウイルスベクターを経総胆管経路で投与することにより、投与後 2 週以内に組織学的にヒト膵管癌に極めて類似した腫瘍を膵臓に発生させることに成功した。

腫瘍は体表ではなく腹腔内に存在するため、通常その位置や大きさを確認するには開腹操作を必要とするが、本研究では我々の確立した **KRAS** トランスジェニックラット膵管癌発癌モデルにおいて膵腫瘍の進展を画像イメージで確認可能であるか否かを検証する目的で、小動物用画像診断装置を用いた画像の評価を行った。

【方法】

10 週齢のオス **KRAS** トランスジェニックラット計 6 匹を対象とした。6 匹を 2 群に分け、1 群 (n=3) には 4.0×10^9 unit/ml の濃度に調整した **Cre** リコンビナーゼアデノウイルスベクターを経総胆管経路で膵管内に 300-400 μ l 投与し、もう 1 群 (n=3) にはネガティブコントロールとして空ベクターを膵管内に投与した。ウイルスベクター投与から 2, 3, 4, 5, 8 週後に小動物用 PET 装置 (Inveon ; Siemens Healthcare) を用いた ^{18}F -FDG-PET/CT 検査を、5, 8 週後に小動物用 CT 装置 (R_mCT2 ; リガク) を用いた造影 CT 検査を施行し、各々の画像解析を行った。6 週後には 6 匹すべてのラットに対して開腹を行い、膵腫瘍の有無を肉眼的に確認した。8 週後の造影 CT 検査を施行した後にすべてのラットを安楽死させ、膵腫瘍を肉眼的および組織学的に検討した (Fig.1)。

【結果】

ウイルスベクター投与後 5 週までに施行した ^{18}F -FDG-PET/CT 検査、造影 CT 検査では、両群すべてのラットにおいて膵腫瘍の存在を示す画像所見は得られなかった (Fig.2)。ウイルスベクター投与から 6 週後に行った開腹所見では、**Cre** リコンビナーゼアデノウイルスベクターを投与したラット群 3 匹すべての膵臓に径 2mm 未満の小さな腫瘍の発生を複数個確認した。空ベクターを投与したラット群では膵臓に腫瘍は確認されなかった。**Cre** リコンビナーゼアデノウイルスベクター投与から 8 週後に施行した ^{18}F -FDG-PET/CT、造影 CT 検査では、3 匹中 2 匹のラットでいずれも腹腔内左側に腫瘍性病変と考えられる画像所見が確認できた。腫瘍性病変の最大径はそれぞれ 17mm, 20mm であった。PET 画像での腫瘍部における ^{18}F -FDG の集積を示す SUVmax は 3.0 であった。消化管に対する ^{18}F -FDG の生理的集積が高く、腫瘍との

識別が PET/CT では一部困難であり，また造影 CT でも同様に腸管と腫瘍との識別に困難を伴う部位を認めた．8 週後の造影 CT 検査後に摘出した Cre リコンビナーゼアデノウイルスベクターを投与したラットの膵臓の肉眼所見と画像所見とを比較すると，画像所見で膵臓に腫瘍性病変が確認された 2 匹のラットでは，脾臓側（腹腔内左側）の膵臓に画像所見と一致する大きな腫瘍を認めたが，十二指腸側（腹腔内右側）にも小結節性の腫瘍の集簇を認めており，これらは画像所見で識別することができていなかった（Fig.3-4）．画像所見で腫瘍性病変が確認できなかった残る 1 匹のラットにおいては，開腹所見で十二指腸側にのみ小結節性の腫瘍の集簇を認めていた（Fig.5）．

組織学的にはいずれの膵腫瘍も炎症性細胞の浸潤を中心とした豊富な間質成分を伴う膵管癌であることが確認された（Fig.6）．

【考察】

膵癌発癌動物モデルに対して FDG-PET/CT 装置を用いて行った画像評価に関する報告例は少なく，本研究では KRAS トランスジェニックラット膵管癌発癌モデルにおいて，PET/CT，造影 CT 検査のいずれにおいても Cre リコンビナーゼアデノウイルスベクター投与から 8 週間までに発生した膵腫瘍が画像により識別可能であることが示された．動物実験における 3R 原則の観点から考えても，画像診断は安楽死させることなく腫瘍の評価が可能である点で好ましいことであると考えられる．近年，我々の確立したトランスジェニックラットにおいて，従来のウイルスベクターの投与方法に多少の改良を加えることでウイルスベクターの投与量をより一定化できるようになり，それにより発生する膵腫瘍量もより一定化できるようになりつつある．

PET/CT 検査では，FDG の集積が膵腫瘍部で他の臓器より高い集積を示すことが予想されていたが，実際は消化管など他の臓器に対する FDG 集積と大差は認めなかった（Table 1）．また，ウイルスベクター投与から 6 週後に行った開腹では長径 2mm に満たない膵腫瘍の発生を肉眼的に確認できたのに対し，5 週時までに施行した PET/CT，造影 CT 検査ともに腫瘍の存在を示す画像所見を得ることはできなかった．さらに，消化管などへの強い FDG の生理的集積のために，膵腫瘍と隣接する臓器との識別が一部で困難となり，ウイルスベクター投与から 8 週後において腹腔内左側に存在する膵腫瘍に関しては画像での識別が可能であった一方，開腹時に認められた十二指腸側の小結節性の膵腫瘍の集簇については画像での検出には至らなかった．それらは PET/CT のみならず造影 CT においても同様の結果であり，本研究で用いた小動物用画像診断装置における潜在的限界と考える．

【結論】

本研究において，KRAS トランスジェニックラット膵管癌発癌モデルに対して行った ^{18}F -FDG-PET/CT および造影 CT 検査では，Cre リコンビナーゼアデノウイルスベクター投与から 8 週間までに発生した膵臓の腫瘍性病変を検出することが可能であることが示された．今後，本画像診断システムを用いて腫瘍サイズの経時的変化に関する

る検討を進めることにより，ヒト膵癌の発癌過程や抗腫瘍薬の研究への応用が期待できる．