

# L-methyl-<sup>11</sup>C-methionine PET を用いた再発膠芽腫に対するベバシズマブ治療 早期の生物学的効果の定量的評価

別府高明<sup>1</sup>、佐々木敏秋<sup>2</sup>、寺崎一典<sup>2</sup>、小笠原邦昭<sup>1</sup>、世良耕一郎<sup>2</sup>

<sup>1</sup> 岩手医科大学脳神経外科

020-8505 岩手県盛岡市内丸 19-1

<sup>2</sup> 岩手医科大学サイクロトンセンター

020-0603 岩手県滝沢市留が森 348-58

## 1 はじめに

膠芽腫は未だ予後不良な悪性脳腫瘍である。最近、新たな治療薬である抗血管新生薬 bevacizumab (BEV) が開発され膠芽腫の治療にも用いられている。BEVはヒト抗 vascular endothelial growth factor (VEGF) 抗体で、腫瘍に対して様々な生物学的効果をもたらす。BEVは腫瘍内血管床を正常化すると同時に破綻している血液脳関門 (blood-brain barriers; BBB) を再構築させることにより抗腫瘍剤の腫瘍内到達を改善するとされている<sup>1</sup>。このBBB再構築は血管透過性を正常化するため、本来の治療効果(殺細胞効果)の有無に関わらず、造影MRIでは腫瘍周囲白質の浮腫改善と造影効果低下という劇的な変化をもたらす。従来、治療効果の判定は造影MRIにおける造影病変の大きさで判定していた。しかし、BEVを使用した場合、上記の理由によりMRIが「みかけの奏効」(pseudo-response)をしめす可能性がある。最近、MRIの新たな評価法として the Response Assessment in Neuro-Oncology (RANO) criteria が提唱された<sup>2</sup>。これは従来の造影病変の大きさの評価に加えて、T2-weighted imaging (T2WI) か fluid-attenuated inversion recovery imaging (FLAIR) の評価、新病変の有無、ステロイドの使用、臨床症状を併せて評価する方法である<sup>2</sup>。しかしRANO criteria で評価したとしても、個々のMRI評価において少なからず pseudo-response が起こりうるとされている。このような背景から、脳腫瘍臨床医はBEV治療による殺細胞効果＝「真の奏効」をいかに評価するかという課題に直面している。

BEV治療の「真の奏効」を評価するために現在までに、diffusion-weighted MRI<sup>3</sup>、perfusion MRI<sup>4</sup>、そしてpositron emission tomography (PET) など様々な神経画像の応用が試みられている。PETによる評価に関する報告では、<sup>[18F]-fluorothymidine (FLT)</sup><sup>5-7</sup>、<sup>[18F]-fluoroethyl-L-tyrosine (FET)</sup><sup>8-10</sup>、<sup>[18F]-fluoro-L-phenylalanine (FDOPA)</sup><sup>11,12</sup>、<sup>[18F]-fluorodeoxyglucose (FDG)</sup><sup>13</sup> などのトレーサを使用

し、BEVを投与した悪性神経膠腫症例に対してPETが撮像され、全体としてこれらの報告は、PETが悪性神経膠腫における治療に対する奏効、加えて転帰あるいは予後さえもRANO基準で判定したMRIの結果に比べてより正確に予測できる、としている。L-methyl-<sup>11</sup>C-methionine (MET) は、アミノ酸代謝アナログとして最も汎用されているPETトレーサで、腫瘍内細胞密度・増殖能の安定した定量指標とされている<sup>14,15</sup>。我々が渉猟した限りでは、再発膠芽腫のみを対象としてBEV治療後のMRIとMET PETを比較した報告は未だない。本研究では、再発膠芽腫に対するBEV治療後の生物学的効果をMET PETで定量的に評価し、MRIの効果判定結果と比較することにより、RANO基準の信頼性を検討する。加えて、MRIおよびMET PETによってBEV治療後の転帰予測を行う上で最適な撮像時期を明らかにすることを目的とした。

## 2 対象と方法

### 対象

本研究はヘルシンキ宣言に準拠して行われ、岩手医科大学医学部倫理委員会の承認を得ている (No. H22-96)。対象症例は以下の条件の全てに合致したものとした。①再発膠芽腫、②Karnofsky performance scale 60%以上で岩手医大脳神経外科外来に通院し治療および経過観察が可能、③20歳以上、④腫瘍の主座が小脳あるいは脳幹原発以外の大脳白質に存在、⑤MRI および MET PET をプロトコルに従って施行、⑥文章で参加の同意を取得。対象症例は全14例 (男性8人、女性6人、平均年齢 58.7 ± 12.5) であった。

### 治療

全ての症例が過去に初期治療として手術による腫瘍摘出、その後に所謂 Supp's レジメン<sup>16</sup>として放射線治療併用化学療法 (temozolomide; TMZ) を施行され、その後に TMZ を用いた維持療法を受けている。6例は初回再発で本研究に参加しており、残り8例は2回目の再発で参加している。

本研究に参加となった14例は、BEVとTMZの併用療法を受けた。BEVは初日に10mg/kgを点滴静注し、以降2週ごとに同doseを投与した。TMZはBEV投与翌日から7日間連続で100mg/m<sup>2</sup>を内服とし、2週ごとに繰り返した。本治療はMRIでRANO基準<sup>2</sup>に従ってprogressive disease (PD)となるまで継続した。

### MRI

MRIは3.0 T装置 (Discovery MR750, GE Healthcare Japan) を用いて撮像したFLAIRではecho time (TE) 110 ms、repetition time (TR) 11,000 ms、matrix 288 × 224、造影T1-強調画像 (Gd-T1WI) では、TE 9-10 ms、TR 400ms、matrix 448 × 224、field of view (FOV) 220 mm<sup>2</sup>、厚さ 6 mmを撮像条件とした。MRIは各症例ともBEV治療前1週間以内 (pre-MRI)、治療開始4週後 (MRI-1)、治療開始8週後 (MRI-2) の3回撮像した。治療効果判定は、4週後、8週後のそれぞれのMRI所見を治療前のMRI所見と比較し、RANO基準で治療効果を判定した。4週目、8週目のMRI所見がcomplete response (CR)、partial response (PR)、stable disease (SD)であった場合を奏効、progressive disease (PD)であった場合を非奏効と定義した。その後も、治療の継続と平行してMRIを4週ごとにくり返し撮像していき、PDとなった時点で治療およびMRI撮像を打ち切った。BEV治療開始1日目からMRIでPDとなった日の間を無増悪期間 (progression-free survival; PFS) とした。

### MET-PET

METトレーサは、[<sup>11</sup>C]CH<sub>3</sub>Iを用いたsolid-phase<sup>11</sup>C-methylation法で合成された<sup>17</sup>。トレーサの純度は99%以上であることを確認した。325-398 MBq (mean, 6.8 MBq/kg)のトレーサを静注し30分後に、PET/computed tomography system (SET3000 GCT/M; Shimadzu, Kyoto, Japan)を用いてMET PETを撮像した。スキャンはFourier rebinning (FORE) + ordered subset expectation maximization (OSEM)を用いて、field of view, 256 mm<sup>2</sup>、matrix, 128 × 128、pixel size, 2.0 × 2.0 mm<sup>2</sup>、slice thickness, 2.6 mmで再構築した。

MET PETはMRIと同様に各症例において、治療前1週間以内 (pre-PET)、治療開始4週後 (PET-1)、治療開始8週後 (PET-2) の3回撮像した。撮像したPET画像上で手動的に腫瘍内高集積部に直径6mmの

関心領域 (regions of interest; ROI) を置き、standardized uptake values (SUV) を自動的に計測した。SUV は平均値、最大値、最小値の 3 つが計測可能であるが、本研究では平均 SUV を各症例の SUV 値とした。同様に、腫瘍発生側と反対側の大脳皮髄境界部 3 ヶ所に 6 mm の ROI を置き、3 箇所 の SUV 値の平均値を算出した。次に、腫瘍部位の SUV 値を反対側大脳 SUV 値で除した値を SUV 腫瘍 / 正常脳値 (SUV<sub>T/N</sub>) とした。

MET PET における BEV 治療効果判定を PET-1、PET-2 で行った。PET 画像の SUV<sub>T/N</sub> が 1.6 以下の場合は奏効、SUV<sub>T/N</sub> が 1.6 以上の時を非奏効と定義した。カットオフ 1.6 は、腫瘍と非腫瘍の鑑別におけるカットオフ値に関する過去の報告に基づいた<sup>18,19</sup>。

#### 解析

治療開始後 4 週目、8 週目の各ポイントで、MRI、PET の効果判定が両者とも奏効であった場合を true-response とした。また、MRI が奏効であるにも関わらず PET が非奏効であった場合を pseudo-response とした。4 週目、8 週目のそれぞれにおける、true-response、pseudo-response の頻度を算出した。

治療開始から 8 週後までの期間における各症例の SUV<sub>T/N</sub> 変化率を観察した。変化率は、 $-(\text{前 PET の SUV}_{T/N} - \text{後 PET の SUV}_{T/N}) / \text{前 PET の SUV}_{T/N}$  (%) で算出した。

転帰を推測する上で MRI と PET のどちらが有用であるか、撮像に適した時期はいつか、を確認するために、PFS を MRI-1、MRI-2、PET-1、PET-2 のそれぞれで奏効群と非奏効群の 2 群間で比較した。さらに、true-response 群と pseudo-response 群間の PFS を 4 週目、8 週目のそれぞれで比較した。比較はログランク試験で解析した。全解析は p 値が 0.05 以下で有意差ありとした。

### 3 結果

全 14 症例で、プロトコルの通り 8 コースの BEV+TMZ 治療が施行され、予定された MRI、PET 画像が撮像された (Fig. 1)。

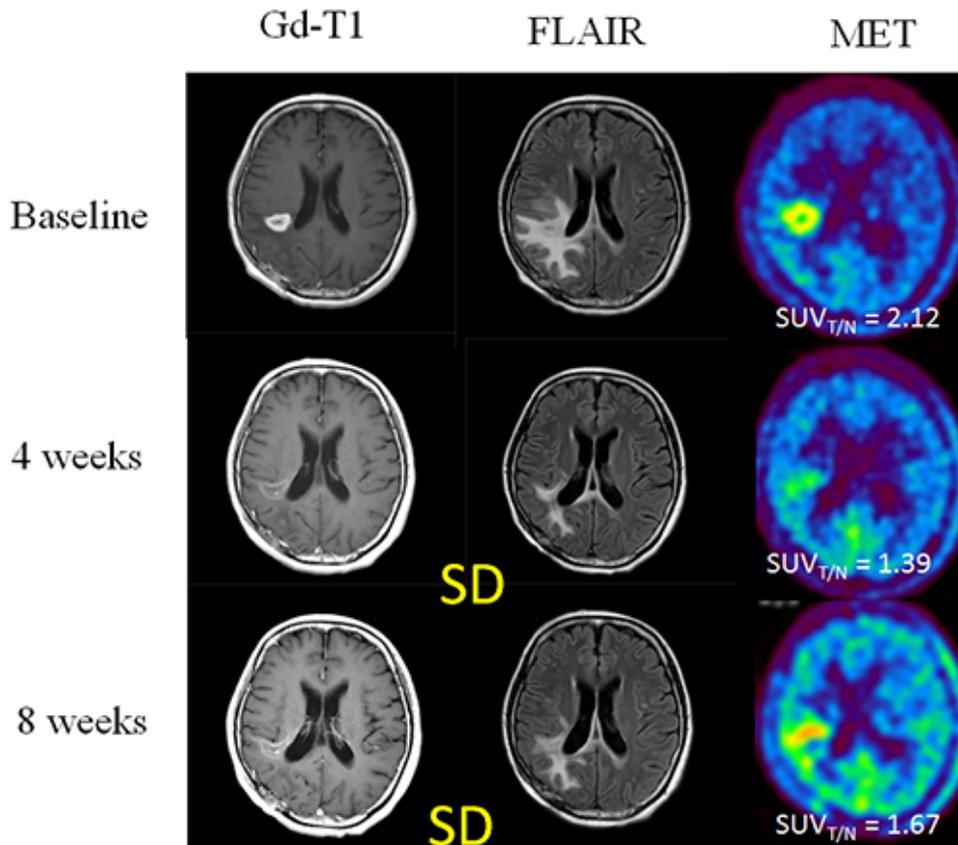


Fig. 1

MRI と PET の奏効、非奏効の一致、不一致は Fig.2 の通りである。奏効を示した症例は、治療開始後 4 週目の MRI (MRI-1)では 5 例(35.7%)、8 週後の MRI (MRI-2)では 4 例 (28.6%)であった。多くの症例が、MRI、PET とも非奏効であった。MET PET で  $SUV_{TN}$  1.6 以下を示した奏効例は、治療開始 4 週後 (PET-1)、治療開始後 8 週目(PET-2)で、それぞれ 6 例 (42.9%)、4 例 (28.6%) であった。両者との奏効を示した症例 (true-responder)は、4 週目、8 週目とも 2 例 (14.3%) であった。MRI で奏効を示したが PET で非奏効であった症例(pseudo-responder)は、4 週目で、8 週目で 3 例 (21.4%)、2 例 (14.3%)であった。MRI で非奏効でありながら、PET で奏効を示した症例も多く、4 週目で 28.6%、8 週目で 14.3%認めた。

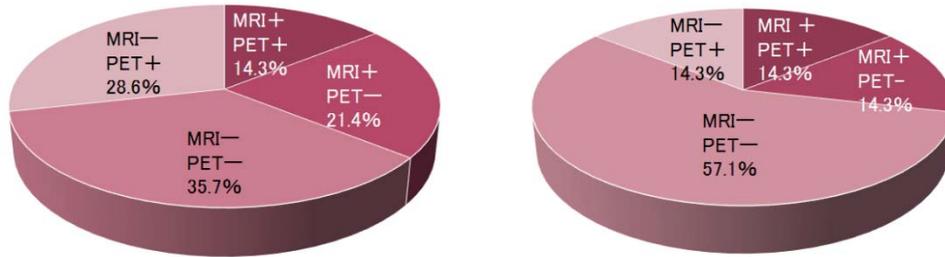


Fig. 2 左:4 週目、右:8 週目。+: 奏効、 -: 非奏効

$SUV_{TN}$  は pre-PET と PET-1 の間で、13 例の症例が低下しており、変化率の平均は  $-24.7 \pm 15.6\%$  であった。しかし、PET-1 と PET-2 の間では 10 例が増加に転じており、変化率平均は  $+14.0 \pm 22.0\%$  となっていた (Fig. 3)。

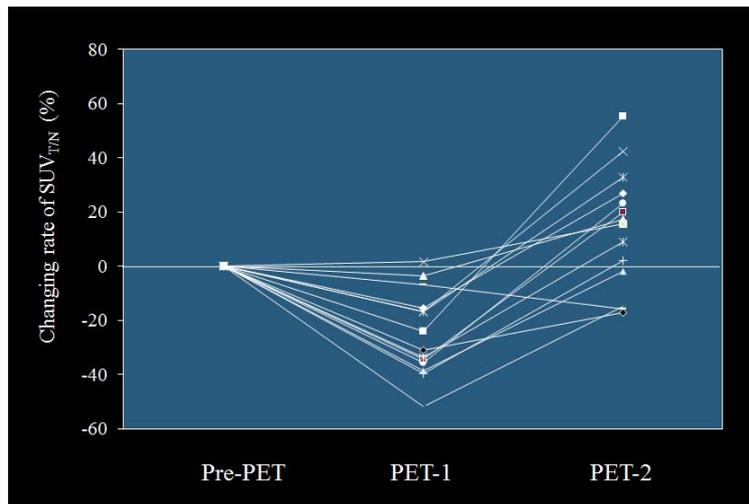


Fig. 3  $SUV_{TN}$  変化率 Pre-PET と PET-1 では、多くの症例が  $SUV_{TN}$  の低下を示したが、PET-1 と PET-2 間では、 $SUV_{TN}$  増加に転じている。

奏効症例と非奏効症例の2群間におけるPFSの差異をMRI-1、MRI-2のそれぞれで比較したところ、どちらにおいても奏効症例群が非奏効症例群より有意にPFSが延長していた (Fig. 4 上段)。MET PETでは、PET-2における奏効群は非奏効群より有意にPFSが延長していたが、PET-1では両群間で有意差は認めなかった (Fig. 4 下段)。次に、Fig.1で示したようにMRIとPETの効果判定の一致、不一致で組み合わせた4群でPFSを4週目、8週目で比較してみると、4週目では、MRIとPETの両者が奏効を示した true-responder のPFSは、MRI奏効かつPET非奏効の pseudo-responder のPFSと有意な差異はなかったが、8週目では true-responder のPFSは pseudo-responder より有意に延長していた (Fig. 5)。

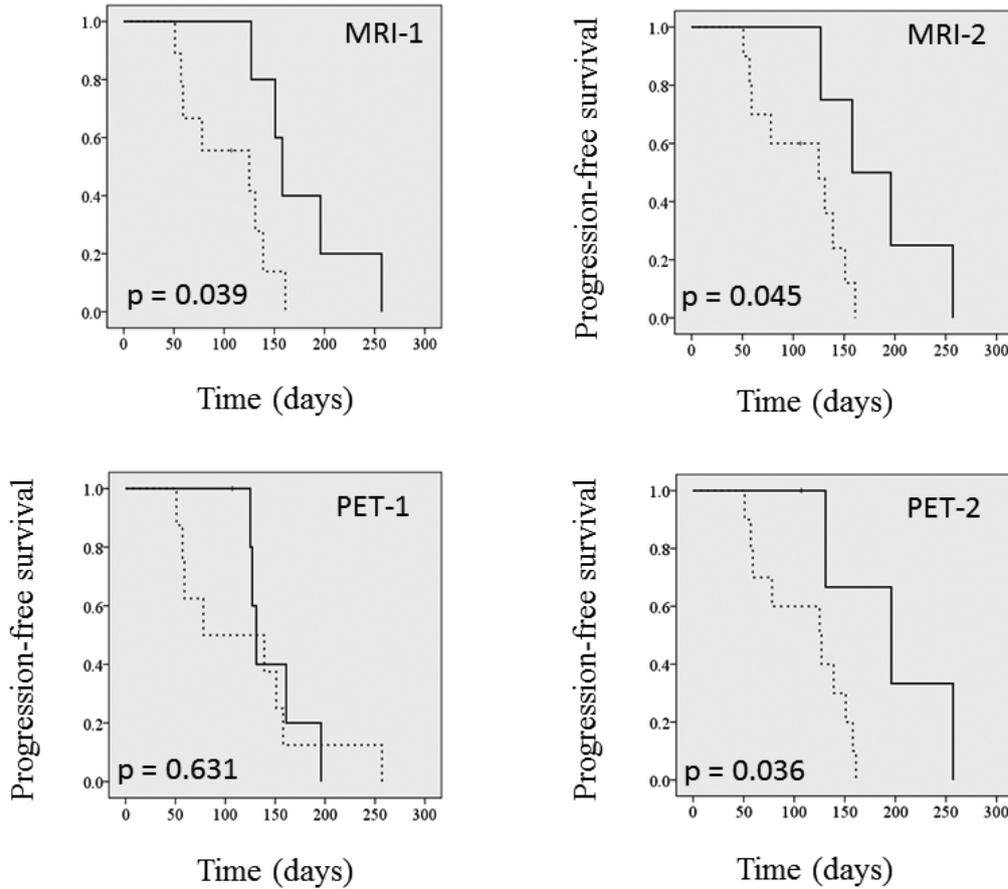


Fig. 4

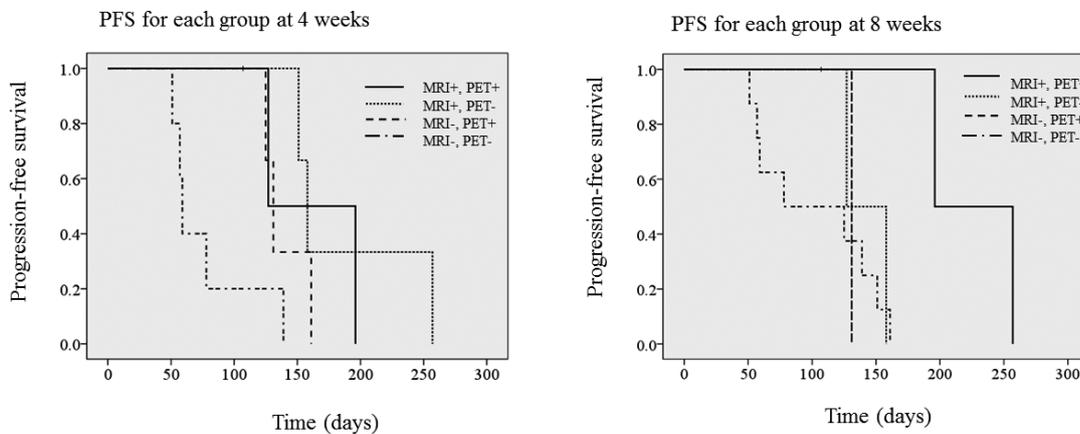


Fig. 5

## 4 考察

BEV の二次的効果による造影 MRI の非造影所見が、生物学的効果を伴わない見かけの治療奏効 (pseudo-response) を示している可能性が臨床的に問題となっていることは「はじめに」で述べた通りである。本研究では、pseudo-response の頻度は、治療 4 週目では 21%、8 週目では 14%であった。我々と同じく PET を生物学的定量指標として MRI 画像判定と比較し pseudo-response の頻度を示したいくつかの報告がある。Grade 3 glioma を含む high grade glioma (HGG) 11 例で MRI と FET-PET を BEV 投与 8-12 週後に比較した報告で 36%<sup>8</sup>、HGG 10 例で BEV 治療後 4.9 週で MRI と FET-PET を比較した報告で 30%、HGG 24 例で治療 6 週後に MRI と FDOPA-PET を比較した報告では 25%<sup>12</sup> とされている。MRI あるいは PET における奏効の定義や対象疾患の違いがあり、これらの報告と本研究の結果を単純に比較することはできないが、BEV 治療を受けた悪性グリオーマ症例のうち、概ね 15-30% が MRI で見かけの奏効を示している可能性があり、MRI による効果判定では注意が必要と考えられた。

Pseudo-response のリスクはあるものの、実際の臨床現場では MRI 単独での治療評価が余儀なくされる場合が多い。この研究では、治療 4 週後、8 週後の MRI 単独での評価で、PFS は奏効群と非奏効群の 2 群間で有意差を示した。これは、MRI 単独でも患者の転帰を予測できる可能性を示唆している。しかし、奏効群の中に MET PET でも奏効を示す true-response 群が含まれており、これらの症例の PFS が結果に影響している可能性は否定できない。また、本研究の結果から、RANO 基準は比較的厳密な評価法であることが伺える。Fig. 1 が示すように、ほとんど造影効果が消退し線状に造影効果を示すような場合、RANO では計測不能な造影病変として判定は SD となり、本研究では非奏効となった。結果、MRI で非奏効でも PET で奏効を示す症例も多く存在した。MRI による評価は、みかけの奏効をしめす可能性のほかに、真の奏効を見逃す可能性もあることがわかった。

PET においては、多くの症例で MET の腫瘍内集積 (SUV) は、BEV 投与後 4 週目において急激な減少を示した。MET を含むアミノ酸トレーサは、BBB の破綻に非依存性に腫瘍アミノ酸代謝を定量評価できるが、これはトレーサが L-type amino acid transporter-1 によって能動的に腫瘍細胞内に輸送されることによる。しかし、トレーサの一部は破綻した BBB を受動的に通過し細胞内に移動する。よって、isotope の総集積量は、当然 BBB 破綻に依存している。治療前と比較してほとんどの症例で SUV<sub>T/N</sub> が低下した理由は、BEV+TMZ の治療効果を純粹に表しているというよりは BEV による BBB の再構築がもたらした受動的輸送量の低下によるものと考えられる。事実、4 週後の MET PET (PET-1) における奏効群と非奏効群間の PFS は有意差が認めなかった。さらに、MRI と PET の両者が奏効を示した true-response 群はその他の群と PFS で有意差をまったく認めなかったことも、4 週後の MET-PET が治療による殺細胞効果を反映していないことを示している。以上の結果から、BEV 治療 4 週後の MET PET は実際の臨床における有用性は低いことが示唆された。一方、4 週後から 8 週目の間では、ほとんどの症例の SUV は急激な上昇に転じている。その理由を明確に説明することはできないが、BEV による BBB 再構築によって一旦低下した MET 集積量が安定化し、その後の腫瘍活動性に比例して集積量増加、SUV 上昇につながった可能性は否定できない。8 週後の MET PET において奏効を示した症例は、非奏効症例より有意に PFS が延長していた。さらに、MRI、PET の両者が奏効を示した true-responder は、MRI で奏効かつ PET で非奏効の pseudo-response 群を含めた他群に比較し有意に PFS が延長していたことは、8 週後の MET PET が転帰を予測する上で MRI 単独の評価より有用であることを示唆した。

## 文献

1. Jain RK. Normalizing tumor vasculature with anti-angiogenic therapy: a new paradigm for combination therapy. *Nat Med.* 2001;7:987-989.
2. Wen PY, Macdonald DR, Reardon DA, et al. Updated response assessment criteria for high-grade gliomas: response assessment in neuro-oncology working group. *J Clin Oncol.* 2010;28:1963-1972.

3. Nagane M, Kobayashi K, Tanaka M, et al. Predictive significance of mean apparent diffusion coefficient value for responsiveness of temozolomide-refractory malignant glioma to bevacizumab: preliminary report. *International journal of clinical oncology*. 2014;19:16-23.
4. Schmainda KM, Prah M, Connelly J, et al. Dynamic-susceptibility contrast agent MRI measures of relative cerebral blood volume predict response to bevacizumab in recurrent high-grade glioma. *Neuro-oncology*. 2014;16:880-888.
5. Chen W, Delaloye S, Silverman DH, et al. Predicting treatment response of malignant gliomas to bevacizumab and irinotecan by imaging proliferation with [18F] fluorothymidine positron emission tomography: a pilot study. *J Clin Oncol*. 2007;25:4714-4721.
6. Wardak M, Schiepers C, Dahlbom M, et al. Discriminant analysis of (1)(8)F-fluorothymidine kinetic parameters to predict survival in patients with recurrent high-grade glioma. *Clin Cancer Res*. 2011;17:6553-6562.
7. Schwarzenberg J, Czernin J, Cloughesy TF, et al. 3'-deoxy-3'-18F-fluorothymidine PET and MRI for early survival predictions in patients with recurrent malignant glioma treated with bevacizumab. *J Nucl Med*. 2012;53:29-36.
8. Hutterer M, Nowosielski M, Putzer D, et al. O-(2-18F-fluoroethyl)-L-tyrosine PET predicts failure of antiangiogenic treatment in patients with recurrent high-grade glioma. *J Nucl Med*. 2011;52:856-864.
9. Heinzl A, Muller D, Langen KJ, et al. The use of O-(2-18F-fluoroethyl)-L-tyrosine PET for treatment management of bevacizumab and irinotecan in patients with recurrent high-grade glioma: a cost-effectiveness analysis. *J Nucl Med*. 2013;54:1217-1222.
10. Galldiks N, Rapp M, Stoffels G, et al. Response assessment of bevacizumab in patients with recurrent malignant glioma using [18F]Fluoroethyl-L-tyrosine PET in comparison to MRI. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2013;40:22-33.
11. Harris RJ, Cloughesy TF, Pope WB, et al. 18F-FDOPA and 18F-FLT positron emission tomography parametric response maps predict response in recurrent malignant gliomas treated with bevacizumab. *Neuro-oncology*. 2012;14:1079-1089.
12. Schwarzenberg J, Czernin J, Cloughesy TF, et al. Treatment response evaluation using 18F-FDOPA PET in patients with recurrent malignant glioma on bevacizumab therapy. *Clin Cancer Res*. 2014;20:3550-3559.
13. Colavolpe C, Chinot O, Metellus P, et al. FDG-PET predicts survival in recurrent high-grade gliomas treated with bevacizumab and irinotecan. *Neuro-oncology*. 2012;14:649-657.
14. Hatakeyama T, Kawai N, Nishiyama Y, et al. 11C-methionine (MET) and 18F-fluorothymidine (FLT) PET in patients with newly diagnosed glioma. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2008;35:2009-2017.
15. Sato N, Suzuki M, Kuwata N, et al. Evaluation of the malignancy of glioma using 11C-methionine positron emission tomography and proliferating cell nuclear antigen staining. *Neurosurg Rev*. 1999;22:210-214.
16. Stupp R, Mason WP, van den Bent MJ, et al. Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma. *The New England journal of medicine*. 2005;352:987-996.
17. Pascali C BA, Iwata R, Decise D, Crippa F, Bombardieri E. High efficiency preparation of [11C]methionine by on-column [11C]methylation on C18 Sep-Pak. *J Labelled Comp Radiopharm*. 1999;42:715-724.

18. Herholz K, Holzer T, Bauer B, et al.  $^{11}\text{C}$ -methionine PET for differential diagnosis of low-grade gliomas. *Neurology*. 1998;50:1316-1322.
19. Terakawa Y, Tsuyuguchi N, Iwai Y, et al. Diagnostic accuracy of  $^{11}\text{C}$ -methionine PET for differentiation of recurrent brain tumors from radiation necrosis after radiotherapy. *J Nucl Med*. 2008;49:694-699.

## Quantitative assessment of chemotherapeutic response after bevacizumab treatment using L-methyl-<sup>11</sup>C-methionine PET

Takaaki Beppu<sup>1</sup>, Toshiaki Sasaki<sup>2</sup>, Kazunori Terasaki<sup>2</sup>,  
Kuniaki Ogasawra<sup>1</sup> and Koichiro Sera<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Neurosurgery, Iwate Medical University  
19-1 Uchimaru, Morioka, Iwate 020-8505, Japan

<sup>2</sup>Cyclotron Research Center, Iwate Medical University  
348-58 Tomegamori, Takizawa, Iwate 020-0603, Japan

### Abstract

Restoring disrupted blood-brain barriers within a glioma due to the effects of bevacizumab (BEV) occasionally leads to false favorable responses (pseudo-response) on magnetic resonance images (MRI) with contrast medium. To clarify the frequency of the pseudo-responses on MRI at the early stage of BEV treatment for glioblastomas, we compared therapeutic responses between MRI and positron emission tomography with <sup>11</sup>C-methionine (MET-PET). In addition, we determined when met-PET should be performed to predict prognosis.

MRI and MET-PET were performed before, and at 4 and 8 weeks after starting biweekly treatment with BEV plus temozolomide in 14 patients with recurrent glioblastoma. The response on MRI was identified as either complete or partial response according to the Response Assessment in Neuro-Oncology criteria. The MET-PET response was defined as the tumor-to-normal brain ratio of a standardized uptake value (SUV) of < 1.6. Therapeutic responses between MRI and MET-PET were compared at each 4 or 8 weeks. True- and pseudo-responses were identified as appearing responses on both MRI and PET images, and those on MRI but not on PET images, respectively. Progression-free survival (PFS) rate was then compared between patients with true- and pseudo-responses at each time point. Frequencies of patients whose MRI was response but met-PET was not response (pseudo-responders) were around 20%. The PFS was significantly prolonged among true responders at 8 weeks, but did not significantly differ between true and pseudo-responders at 4 weeks.