

## 肝細胞癌の術前画像解析による形態特徴量抽出の基礎的検討

中山壽之<sup>1)</sup>, 高山忠利<sup>1)</sup>, 大久保貴生<sup>1)</sup>, 檜垣時夫<sup>1)</sup>, 伊藤彰義<sup>2)</sup>

## Basic study of the morphological feature survey using preoperative imaging of hepatocellular carcinoma

Hisashi NAKAYAMA<sup>1)</sup>, Tadatoshi TAKAYAMA<sup>1)</sup>, Takao OKUBO<sup>1)</sup>,  
Tokio HIGAKI<sup>1)</sup>, Akiyoshi ITOH<sup>2)</sup>

## 要旨

術前画像から肝癌形態を客観的に解析するシステムを検討した。腹部超音波検査, CT, MRIの各腫瘍径と切除標本腫瘍径における spearman 順位相関係数は超音波検査が最も高かった ( $r=0.920$ ;  $P<0.0001$ )。腫瘍CT像をマニュアルトレースし腫瘍全周長, 腫瘍面積について異なる3人の検者の結果を測定し, Spearmanの相関係数 $r$ は0.70~0.85に収束 ( $P<0.001$ ), 検者間で有意差を認めなかった。腫瘍内部と腫瘍外部区別するプログラムを作成し腫瘍凹部の大きさ, 周囲長, 形状度を表す特徴量を決定できた。これら特徴量が増加すると病理学的脈管侵襲陽性率が増加していた。今回のシステムにより術前に患者予後予測できる可能性が示唆された。

## はじめに

肝臓は人体で最も大きな実質臓器の一つであり, その役割りはエネルギーの産生貯蔵と解毒作用において重要な役割を果たしている。肝臓に発生する悪性新生物の中で最も高頻度にみられるものは肝細胞癌であり, B型肝炎やC型肝炎を基礎疾患とすることが多い<sup>1)</sup>。本邦では肝細胞癌の約8割がC型肝炎由来と報告されている<sup>2)</sup>。また肝細胞癌は経門脈的に進展し高頻度に肝内転移を来すことが知られている<sup>3)</sup>。わが国では年間に3万人以上の死亡者があり, これまで世界をリードする様々な戦略が報告されてきた。診断の面からは多血性腫瘍である肝細胞癌の特徴を利用して造影CTが採用され<sup>4)</sup>, 治療の面からは肝機能を温存しつつ癌の根治的治療を求めた系統的亜区域切除が考案され<sup>5)</sup>, 病理診断の面からは癌細胞の脈管親和性を考慮し脈管侵襲や肝内転移の評価法が報告されてきた<sup>6)</sup>。一方, 肝癌の肉眼分類は癌の特徴を区別するだけでなく治療後の患者予後に関与することが示唆され, 国内外から様々な分類方法が登場してきた。最も古典的なのは1901

年発表の大型肝癌に対するEggle分類で100年以上汎用されてきた<sup>7)</sup>。病理解剖で得られた肝癌をその断面の形態から結節型, 塊状型, びまん型に3分類し特徴を報告した。しかし, 早期診断が発達した今日の肝癌診療においてはEggleが見たような巨大肝癌はごく限られた症例であり小型肝癌に接する機会が増加している。1987年にKanaiらは手術や病理解剖で得られた3cm以下肝細胞癌を断面の肉眼形態からearly hepatocellular carcinoma, single nodular type, single nodular type with extranodular growth, contiguous multinodular type, poorly demarcated nodular typeの5分類を提唱し広く受け入れられた<sup>8)</sup>。さらにこれらの分類に基づいて日本肝癌研究会では「臨床・病理 原発性肝癌取扱い規約」として全国統一の肉眼分類を提唱し, 小結節境界不明瞭型, 単純結節型, 単純結節周囲増殖型, 多結節癒合型, 浸潤型の5型を設定した<sup>9)</sup>。しかし, これらの分類はマクロ病理診断の一端として癌腫の最大径で断面を入れた状態で観察された肉眼形態である。一方, 近年の画像診断技術の向上により治療前の肝細

1) 日本大学医学部

2) 日本大学理工学部

中山壽之: nakayama.hisashi@nihon-u.ac.jp

胞癌形態を分類する試みが出現した。ソナゾイド造影超音波検査を用いて形態により悪性度が異なるとする分類<sup>10)</sup>、CTで描出された肝細胞癌の腫瘍辺縁の切れ込みとその角度に基づいた分類<sup>11)</sup>などが報告されたが、いずれの分類も主観的な観察結果に基づくものであり公平性、普遍性にかけてという欠点が存在した。また、Kanai分類ではtypeによって肝切除後の生存率や病理学的脈管侵襲陽性率が異なることが報告され<sup>8)</sup>、Huiらは癌形態と病理学的門脈侵襲に関連例があることを示唆している<sup>12)</sup>。すなわち、肝癌の形態を的確に術前判定することができれば、治療方針決定、患者予後の改善、医療費削減などに貢献できる可能性がある。現在、肝癌の形態を術前画像から客観的に抽出し解析する方法は存在せず、われわれはそのシステム開発を行うことを目的に基礎的研究を開始した。

## 対象と方法

### 1. 検査法別の腫瘍最大径に関する検討

2008年から2010年の3年間に肝切除術を施行された肝細胞癌348例（CTまたはMRIで古典的肝細胞癌と同定できたもの。ただし良性腫瘍と鑑別が困難な症例やボーダーライン症例は除外した）を対象とし、腹部超音波検査、CT、MRIの各実施率、未施行の場合の原因を調査し、それぞれにおいて描出された肝癌の最大径を評価した。さらに画像診断による腫瘍径と切除標本を測定した腫瘍径を比較した。切除標本の計測は可能な限りCTと同様の水平面で腫瘍最大断面を含むように切り出され、扁平な腫瘍では腫瘍長軸に沿って測定が行われた。

### 2. 腫瘍輪郭の抽出に関する基礎的検討

2008年から2009年に肝切除を施行された肝細胞癌から比較的肝内脈管から距離が保たれて存在する症例を中心に100例を選択し腫瘍輪郭の抽出方法を検討した。撮影条件は非イオン性造影剤（イオメロン300，エーザイ，東京，日本，またはオムニパーク300，第一三共，東京，日本）600mgI/kgを経静脈的に自動注入器（デュアルショット，根本杏林堂，東京，日本）を用いて最大45g/30秒で注入，320列CTまたは16列CT（Aquilion，東芝，東京，日本）によりマルチスライス撮影した。動脈相の撮影タイミングはボラストラッキング法で大動脈のCT値が100HU上昇した時点で撮影開始し20秒，60秒，

120秒でスキャンを行った。スライス厚は全て1mmに統一した。撮影結果のDICOMデータから腫瘍内部，辺縁，非腫瘍部のCT値に基づくコントラスト比を測定し自動判別が可能か評価した。さらに腫瘍輪郭のマニュアル抽出についてペンタレット（Intuos4；PTK440，ワコム社，埼玉，東京）を用いて3人の検者がCT画像のトレースを行った。腫瘍全周長，腫瘍面積に関し3者の値を比較検討した。

### 3. 腫瘍輪郭における形態定量化の検討

上記2.で得られた腫瘍輪郭像を数値定量化するに際し測定可能な項目を検証した。CT値に基づくコントラスト比，画像ピクセルから構成した線分などを測定し腫瘍全周長，腫瘍面積以外に腫瘍の特徴を最も描出する項目の独立性を検討した。腫瘍形態を客観的かつ効率的に評価するため複数の評価項目が存在する場合は主成分分析<sup>13)</sup>を用いて項目の統合化を行った。

### 4. 腫瘍輪郭の特徴度と脈管侵襲の関連性

上記3.で得られた腫瘍形態特徴量から分離度の良いものを選択し，第一主成分得点を算出する。さらに得点分布と脈管侵襲との関連性について比較する。

### 5. 3D構築による腫瘍定量化

肝細胞癌CT画像における水平面と実際の腫瘍最大径との関連性を検討する準備段階として全て自動化により3D画像構築が可能か検討する。上記1.と同様の撮影条件で得られたDICOMデータからMicrosoft Windows（マイクロソフト，ワシントン州，米国）をOSとして搭載した汎用パソコンを用いて3D肝癌画像を描出するソフトを開発する。さらに構築された3D画像から腫瘍最大径とCT水平面との関連性を検討する。

## 結果

### 1. 検査法別の腫瘍最大径（表1）

対象の348例中，腹部超音波は全例に実施されたが36例で腫瘍描出できず，残り312例において腫瘍径の測定ができた（検出率89.7%）。特に肝segment 7やsegment 8の横隔膜直下に存在する腫瘍やsegment 1の深部を占居する小型肝癌は描出困難であった。また肝切除後の再発症例，経肝動脈化学塞栓療法後の症例は腫瘍境界を的確に把握できなかった。さらに腫瘍径15cm超の巨大肝癌症例では全体像の

描出が不可能であるなど測定に限界があった。造影CT検査が実施された346例(実施率99.4%)はすべて腫瘍径を測定できた。造影剤アレルギーの既往がある2例(0.6%)には造影CT検査を施行しなかった。当科ではMRI検査は選択的に施行されており実施率は276例(77.6%)にとどまった。CTと同様に死角のない全肝領域の検索がなされ、MRI施行例のすべてにおいて腫瘍径を測定できた。腫瘍径中央値は超音波、CT、MRIおよび切除標本で2.8、2.5、2.5および2.6cmと超音波検査の計測値が若干大きく、CT・MRI検査では小さく計測される傾向にあった。各々の測定結果と切除標本結果とのSpearman順位相関係数は超音波検査が最も高く( $r=0.920$ ;  $P<0.0001$ ), CT( $r=0.903$ ;  $P<0.0001$ ) およびMRI( $r=0.887$ ;  $P<0.0001$ )と続いていた<sup>14)</sup>。

と有意な相関を認めた。3者間で有意差を認めないことより以下の検討では便宜的に1人の検者の結果を採用して評価に用いた。

表1 画像診断と切除標本との腫瘍径比較

	検査実施 (%)	腫瘍測定 (%)	腫瘍最大径(cm)
肝切除標本	348 (100)	348 (100)	2.6 (0.9-20.5)
超音波検査	348 (100)	312 (89.7)	2.8 (0.9-20.0)
造影CT検査	346 (99.4)	346 (100)	2.5 (0.6-20.0)
造影MRI検査	270 (77.6)	270 (100)	2.5 (0.7-22.0)

腫瘍径は中央値(範囲)で表示。文献 14)より引用。

## 2. 肝細胞癌形態分類の基礎的検討

本項の検討では便宜的に腫瘍最大径としてCT水平面の最大径画像を用いて評価した。まず、腫瘍輪郭の自動抽出が可能か検討した。前述の方法によりCTから得られたDICOM画像をピクセル単位で検討し腫瘍部と非腫瘍部のコントラストから画像的に判別を試みた(図1)。しかし、腫瘍辺縁には輪郭として構成される部分にある程度の幅があり症例ごとに輝度が異なっていた。全症例に統一した閾値を設定することは困難であり、複数の閾値設定を考案したが再現性が得られず輪郭の自動抽出は断念した。

次に腫瘍最大径をマニュアルで指定する方法を検討した。DICOM画像をjpeg画像に変換しペンタブレット上で腫瘍輪郭をマニュアルトレースした。トレース時の線分のサイズが1ピクセルを超えた場合には複数のピクセルを選択することになるため線分サイズは1ピクセルを採用した。腫瘍全周長、腫瘍面積について異なる3人の検者の結果を測定し、Spearmanの相関係数 $r$ は0.70~0.85に収束し $P<0.001$

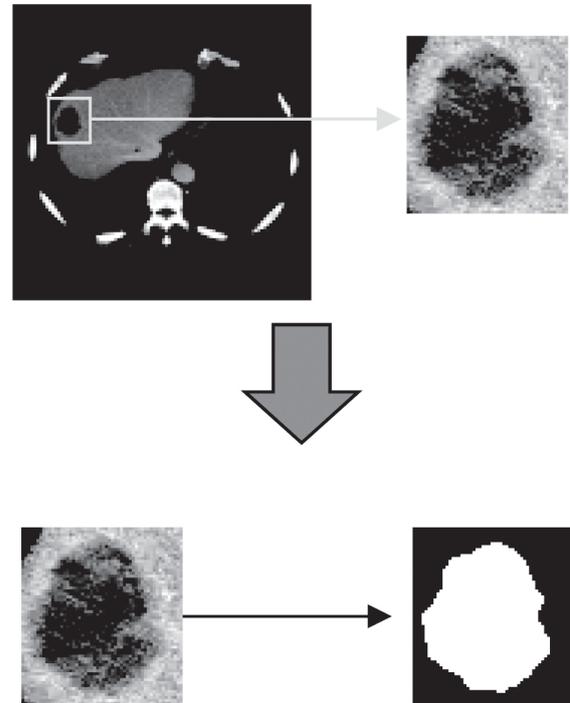


図1 CT画像より腫瘍像の自動抽出

腫瘍部と非腫瘍部とのコントラスト(閾値)により輪郭を抽出する。腫瘍輪郭にはある程度の幅が存在し輪郭幅内の閾値は一定ではない。病変部閾値を1、その他領域を0とし画像を2値化する。本例では輝度値0~60を1(白画素)、それ以外を0(黒画素)とした。

## 3. 腫瘍輪郭における形態定量化の検討

腫瘍内部と腫瘍外部区別するプログラムとして図形の凸凹判別性を利用した。任意の腫瘍内部と内部を結ぶ線分が輪郭線をまたがない場合は腫瘍内部、またぐ場合は腫瘍外部と判別し、腫瘍輪郭の凹部分をすべて埋めるプログラムを開発した(図2)。凹部分を埋めた図から元図を引き算し凹部分を取り出した。さらに凹部分の個数、形状度(底辺、深さ)、面積、周囲長を抽出し変数として採用した。変数の組み合わせから分離度を基準に凹部の大きさを表す特徴量を(凹部の画素数 $s$ /腫瘍部の画素数 $S$ )、凹部の周囲長を表す特徴量を(凹部の輪郭画素数 $l$ /腫瘍部の輪郭画素数 $L$ )、凹部の形状度を表す特徴量を(凹部の深さ $d$ /凹部の底辺 $t$ )とそれぞれ定義した。

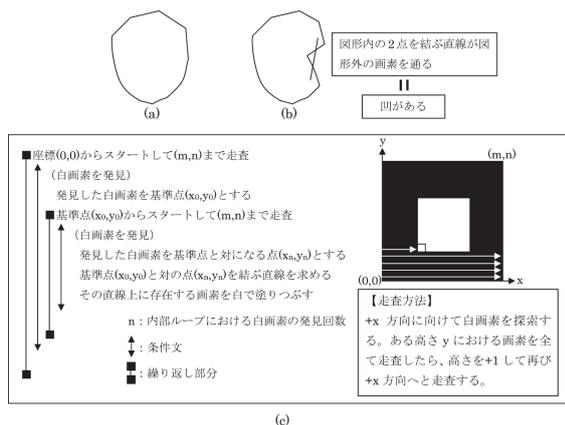


図2 腫瘍内外を認識し凹部を埋めるプログラム

4. 腫瘍輪郭の分類と脈管侵襲の関連性

上記3で得られた因子を3次元プロットし最も分離度の良い組み合わせとして  $\frac{1}{S} \sum s_n$  と  $\frac{1}{S} \sum s_n \frac{d_n}{t_n}$  を採用した (図3)。これらの値から主成分分析で第一主成分得点を算出し病理学的vpの発生頻度との関連性を検討した。分離度が良くvpが計測されていた71例を示すが得点が高くなるにしたがってvp陽性率は高くなる傾向にあった (図4)。

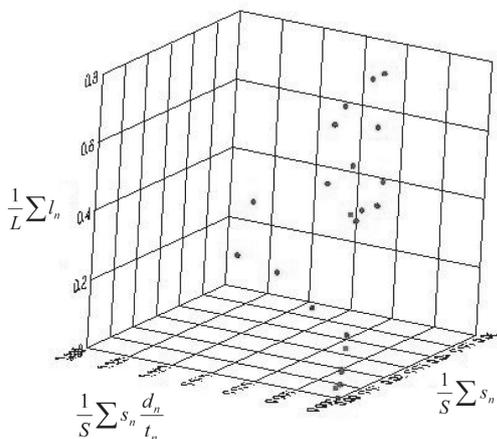


図3 腫瘍輪郭の形態的特徴を示す変数の3次元プロット  
凹部の大きさを表す特徴量を (凹部の画素数s / 腫瘍部の画素数S), 凹部の周囲長を表す特徴量を (凹部の輪郭画素数l / 腫瘍部の輪郭画素数L), 凹部の形状度を表す特徴量を (凹部の深さd / 凹部の底辺t) と定義した。

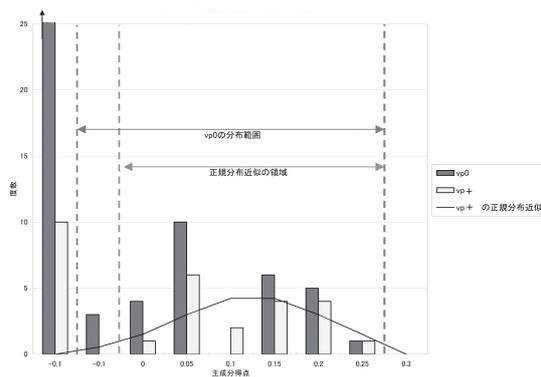


図4 形態特徴変数の第一主成分得点と病理学的脈管侵襲の頻度

横軸は主成分得点, 縦軸は脈管侵襲の頻度。vp0は組織学的脈管侵襲なし。vp+は組織学的脈管侵襲あり。

5. 3D構築による腫瘍定量化

肝癌の一外周をマニュアルで指定することにより, 腫瘍部位と非腫瘍部位とのコントラストを比較することにより腫瘍辺縁を自動追跡し3D画像構築するソフトの開発に成功した (図5)。画像処理に要する時間は約72時間であった。サンプルとして作成された3D画像 (n=5) から水平断面, 矢状断面, 前額断面を切り出し腫瘍最大径について観察したところ, 全例で水平面には存在せず何らかの傾きをもって腫瘍最大径が存在した。

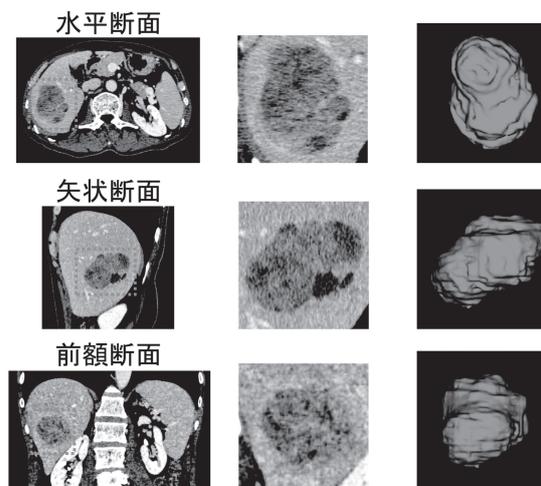


図5 3D構築された肝細胞癌画像  
腫瘍最大径はCT水平面と一致していないことが視認できる。文献14)より引用。

## 考察

本研究関する疑問点の一つとして、従来の病理学的肉眼分類が腫瘍内部構造に注目しているのに、なぜ腫瘍の輪郭を評価項目に取り上げたかが挙げられる。肝細胞癌の形態的特徴として腫瘍周囲に被膜を形成すること、内部に隔壁を形成すること、隔壁で区切られた区域ごとに癌の分化度が異なる場合があることである。従来の肉眼分類の多くは病理診断医によって提唱されており<sup>6), 8)</sup>、根本的に病理診断を支持する分類が考案されたと言える。すなわち、内部構造と癌細胞の分化度との関連性を検討した結果、Eggle分類やKanai分類が考え出されたともいえる。しかし、術前に画像診断する場合や外科切除の際の術中超音波検査による内部構造の把握は画像コントラストの違いを見分けることでしか対応できないのが現状である。肝細胞癌は腫瘍内部から外部へ膨張性発育するため、われわれは癌の悪性度によって腫瘍辺縁の発育形態が異なるのではないかと考えた。そこで、腫瘍の輪郭に注目し患者予後と関連付けて何らかの分類ができるのではないかと感じたのが研究開始の動機である。

次に腫瘍形態を評価するうえで立体的に発育した肝細胞癌をどのスライスで評価するかが問題となる。本邦における肝癌の大きさ測定に関する基準は『臨床・病理 原発性肝癌取扱い規約』<sup>9)</sup> (以下、『肝癌取扱い規約』) に沿って定められている。外科手術で切除された標本の取扱いについては「腫瘍の最大断面が出るように前額断を加える。」とある。附記として「目的によっては画像診断法による画像に一致する方向で、手術材料あるいは剖検肝に切割を加えてもよい。」とある。われわれはCT画像と比較しやすいように水平断の切割を原則的に行っており、今回の研究でも便宜的にCT水平面で腫瘍最大径を評価に利用した。この利点は作業内容が均一であること、撮影されたCT画像を加工せず利用するためコストパフォーマンスに優れていることである。しかし腫瘍の形態的特徴が最もあらわれているのが最大径の断面とは限らないし、そもそもCT水平面が腫瘍最大径を含む面や最大面積を含む面であるとは限らない。われわれはこの疑問を解明する目的で3D構築された画像と腫瘍最大径を含む面の観察を行い、CT水平面と腫瘍最大径面の不一致を明らかにした(図5)。この解析の課題として取り扱う

データ量が膨大であるため72時間という長時間を要することである。われわれのプロトコール通り1mmスライスで肝臓を撮影した場合、約200枚の水平画像が得られ、これを短時間で3次元化するには超高性能のコンピュータを使用するかデータを間引するなどの工夫が必要となる。実臨床でスーパーコンピュータを用いることは現実的ではなく汎用パーソナルコンピュータ上で作業できることが望ましいと考えられる。現在、すべての画像データから近似値を用いて高速に3D構築する方法を検討中である。

次に、腫瘍輪郭像を客観的に評価するためには、どのような要素を選定するかが問題となった。一般的に形態を数値化するのに用いられるは長さ、角度、面積、頻度、位置などである。今回の研究では凹部分を抽出できたので、各々の凹部分について全周長、面積、底辺、深さを測定し総和することで全てを網羅した。それぞれを組み合わせながら3次元プロットし分離度の評価から $\frac{1}{S}\sum s_n$ と $\frac{1}{S}\sum s_n \frac{d_n}{r_n}$ が選択された。このような手法を臨床画像に用いた報告は皆無であり本研究の新規性を示す部分であると考えられる。また、総和されたデータを効率的に集約するため主成分分析が用いられ、代表値として第一主成分得点が採用された。画像特徴量として多くの項目がある場合にそれぞれの特徴量を失うことなく一つの得点にまとめることで他の因子との関連性が容易に行えるようになった。今回の研究では病理学的脈管侵襲との関連性が検討されたが未だ明確な因果関係は不明であり、さらに症例数を追加して検討することが必要である。

今回の基礎的検討の結果を用いてどのような臨床展開が考えられるか。肝細胞癌の術前診断において人の目では判定できないような腫瘍最大径が含まれる断面を表示し、その面を中心に腫瘍特徴量を算定できる可能性がある。さらに手術成績と患者予後との関連性を求めることで治療方針の決定に応用できる可能性がある。現在、症例数を追加して3D画像作成の時間短縮や臨床データとの関連性について検討を行っている。

## 謝辞

本研究は、日本大学学術研究助成金総合研究(総11-019及び総12-011)による助成を受けて実施したものである。

文献

- 1) Kanwal F, Hoang T, Kramer JR, et al. Increasing prevalence of HCC and cirrhosis in patients with chronic hepatitis C virus infection. *Gastroenterology* 2011; 140: 1182-1188 e1181.
- 2) Hasegawa K, Kokudo N, Makuuchi M, et al. Comparison of resection and ablation for hepatocellular carcinoma: A cohort study based on a Japanese nationwide survey. *J Hepatol* 2013; 58:724-729.
- 3) Inoue Y, Hasegawa K, Ishizawa T, et al. Is there any difference in survival according to the portal tumor thrombectomy method in patients with hepatocellular carcinoma? *Surgery* 2009; 145: 9-19.
- 4) Takayasu K, Muramatsu Y, Mizuguchi Y, et al. CT Evaluation of the progression of hypoattenuating nodular lesions in virus-related chronic liver disease. *AJR Am J Roentgenol* 2006; 187: 454-463.
- 5) Makuuchi M, Hasegawa H, Yamazaki S. Ultrasonically guided subsegmentectomy. *Surg Gynecol Obstet* 1985; 161: 346-350.
- 6) Nakashima T, Okuda K, Kojiro M, et al. Pathology of hepatocellular carcinoma in Japan. 232 Consecutive cases autopsied in ten years. *Cancer* 1983; 51: 863-877.
- 7) Eggel H. Ueber das primare Carcinoma der Leber. *Beitr z Path Anat u z allgem Pathol* 1901; 30:506-604.
- 8) Kanai T, Hirohashi S, Upton MP, et al. Pathology of small hepatocellular carcinoma. A proposal for a new gross classification. *Cancer* 1987; 60: 810-819.
- 9) Japan LCSGo. General rules for the clinical and pathological study of primary liver cancer. *3rd English edition. Tokyo: Kanehara, 2010.*
- 10) Tanaka H, Iijima H, Higashiura A, et al. New malignant grading system for hepatocellular carcinoma using the Sonazoid contrast agent for ultrasonography. *J Gastroenterol* 2013.
- 11) Wakai T, Shirai Y, Nomura T, et al. Computed tomographic features of hepatocellular carcinoma predict long-term survival after hepatic resection. *Eur J Surg Oncol* 2002; 28: 235-242.
- 12) Hui AM, Takayama T, Sano K, et al. Predictive value of gross classification of hepatocellular carcinoma on recurrence and survival after hepatectomy. *J Hepatol* 2000; 33: 975-979.
- 13) Ringner M. What is principal component analysis? *Nat Biotechnol* 2008; 26: 303-304.
- 14) Hisashi Nakayama TT. 診療ガイドラインに沿った肝癌治療の要点と盲点. 東京, 日本: 文光堂, 2012.