

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 5月31日現在

機関番号：34417

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2010～2012

課題番号：22591357

研究課題名（和文）標識アネキシンVを用いた放射線誘導アポトーシスとFDG腫瘍糖代謝能の基礎的検討

研究課題名（英文）Early detection of radiation induced apoptosis by <sup>99m</sup>Tc-Annexin V and FDG in a lung cancer cell line.

研究代表者

河 相吉 (KAWA SOUKICHI)

関西医科大学・医学部・准教授

研究者番号：30152896

研究成果の概要（和文）：

Tc-99m アネキシン V の集積は 9Gy, 12Gy 照射群では 48 時間後に, コントロール, 3-6 Gy 照射群よりも強く認められた。in vivo マウスの腫瘍移植部で Tc-99m アネキシン V の増加が高線量 9Gy 照射側で反対側の照射なしコントロール部位よりも強く認められた。Tc-99m アネキシン V は、ヒト肺癌に対する放射線治療のアポトーシス発現による治療効果の早期判定に有効な放射性薬品であることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：

<sup>99m</sup>Tc-HYNIC-coupled Annexin V accumulation with 9 Gy and 12 Gy, doses was found to be higher than in the control and 3-6 Gy irradiated groups at 48 hours post irradiation. Annexin V may prove to be an effective radiotracer for early assessment of radiation therapy efficacy, via apoptosis, in human lung cancers.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2011 年度	800,000	240,000	1,040,000
2012 年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：核医学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・放射線科学

キーワード：アネキシンV・放射線誘発・TUNEL法・アポトーシス

## 1. 研究開始当初の背景

生体内では、癌化した細胞のほとんどは、アポトーシスによって取り除かれており、これにより、ほとんどの腫瘍の成長は未然に防がれていることが知られている。アポトーシスが十分に起こらないと、細胞の異常増加を原因とする癌疾患が起こると考えられる。アポトーシスの初期段階にはフォスファチジル

セリン (PS) の細胞表面への露出が観察される。PS はアネキシン V (AV) と特異的に、かつ高親和性に (Kd = 7 nM) 結合するため、AV の反応性を指標に細胞死を判定することができる。

## 2. 研究の目的

PS と AV の性質を利用しアポトーシス誘導後の初評価である細胞膜の変化を捉え、病態の把握、治療効果の判定などの臨床的有用性を見出すことを主目的とする。また、放射線照射による腫瘍細胞の糖利用能の変化を検討する目的で  $^{18}\text{F}$ -fluorodeoxyglucose (FDG) を用いて、その集積変化を観察し RI 標識した AV の集積との関連性、相違性についても検討する。

上記目的の一環として、*in vitro* における評価系を構築する。すなわち腫瘍細胞株を用いて放射線照射で誘導されるアポトーシスを評価するために RI 標識した AV が検出手段として有用性があるかを検討する。

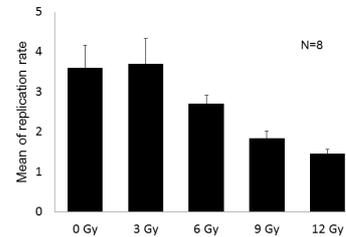
## 3. 研究の方法

*in vitro* におけるアポトーシスの発現評価に用いる細胞株を継体培養にて増殖し、その生物学的安定性を検証し、実験系として問題点の有無を確認する。アネキシン V と  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  の標識についてその放射性純度の測定、科学的安定性を検討し実験系に用いる上で問題のないことを確認する。使用した細胞は非小細胞性肺癌細胞 H1299 の wtp53 gene (H1299/wtp53) である。放射線として 0 Gy, 3 Gy, 6 Gy, 9 Gy, 12 Gy, 5 段階のガンマ線を照射し, 24, 48 時間後の細胞内集積を測定した。対比評価法として  $^{201}\text{TlCl}$  (以下、タリウム 201) の細胞集積も測定した。実験細胞における反応早期の細胞内動態を評価する目的で 90 分間の細胞取り込みと洗い出しを測定した。実験系細胞株におけるアポトーシス細胞の評価には TUNEL 法を用いた。放射線照射の細胞分裂機能への影響を評価する目的で細胞増殖率も同時に評価した。腫瘍モデルとして同じ細胞系をマウス左大腿部に移植し, *in vivo* におけるタリウム 201 と Tc-99m アネキシン V の体内分布を測定した。

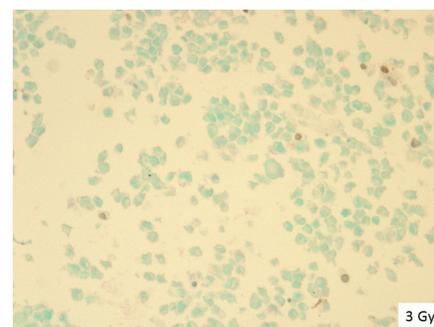
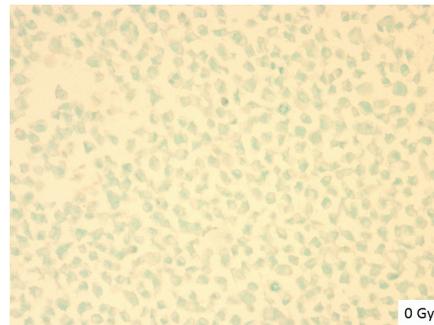
## 4. 研究成果

照射線量の増加と対応した細胞増殖率の低下が照射 48 時間後に認められた(図 1)。TUNEL 法で評価したアポトーシス陽性細胞数は 9Gy, 12Gy 照射群で増加を認めた。タリウム 201 の集積は高線量(9Gy, 12Gy)照射群において低線量照射群よりも強く認められた(図 2)。タリウム 201 の急速な流出が 9Gy, 12Gy 照射細胞群で認められた。9 Gy, 12 Gy 照射 48 時間後に, Tc-99m アネキシン V の集積はコントロール, 3-6 Gy 照射群よりも強く認められた(図 3)。*in vivo* マウスの腫瘍移植部で Tc-99m アネキシン V の増加が高線量 9Gy 照射側で反対側の照射なしコントロール

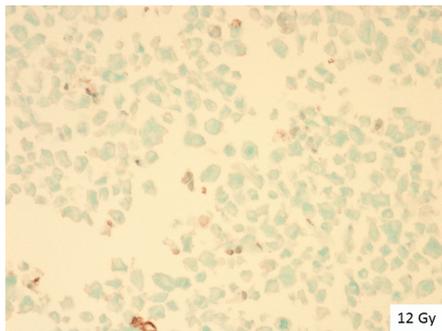
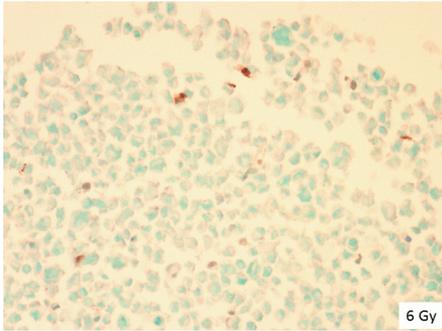
部位よりも強く認められた(図 4)。



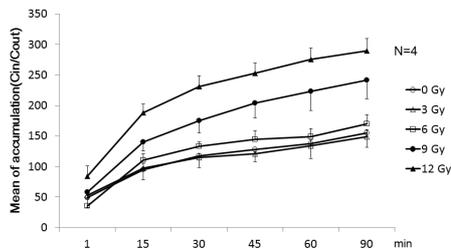
(図 1)



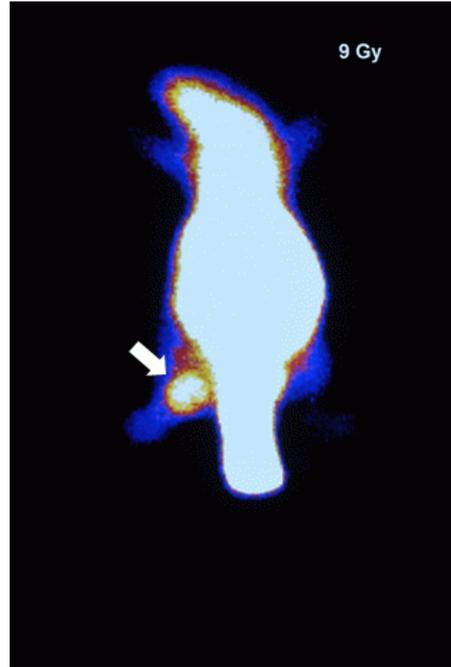
(図 2 a, b)



(図 2 c, d)



(図 3)



(図 4)

結論: Tc-99m アネキシン V はヒト肺癌に対する放射線治療のアポトーシス発現による治療効果の早期判定に有効な放射性薬品であることが示唆された。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕 (計 1 件)

Khoda Me, Utsunomiya K, Ha-Kawa S, Kanno S, Kono Y, Sawada S.

An investigation of the early detection of radiation induced apoptosis by <sup>99m</sup>Tc-Annexin V and <sup>201</sup>Thallium-Chloride in a lung cancer cell line.

J Radiat Res、査読有、53、2012、361-367  
DOI:10.1269/jrr.11177

〔学会発表〕 (計 3 件)

①河野由美子、宇都宮啓太、菅野渉平、上埜泰寛、河相吉、澤田敏、放射線照射による MDR 抑制効果と細胞増殖能における経時的変化の検討、第 71 回日本医学放射線学会総会、2012 年 04 月 12 日～2012 年 04 月 15 日、横浜市

②河野由美子、宇都宮啓太、菅野渉平、上埜泰寛、河相吉、谷川昇、放射線の肺癌細胞に

おける MDR と細胞増殖能への影響について、  
第 52 回日本核医学会学術総会、2012 年 10 月  
11 日～2012 年 10 月 11 日、札幌市

③Y. Kono, K. Utsunomiya, S. Kanno, Y. Ueno,  
S. Ha-Kawa, N. Tanigawa、Time dependent  
longitudinal effects of radiation-induced  
suppression of multidrug resistance and  
cell proliferation potency in a non-small  
lung cancer cell line. European  
Association of Nuclear Medicine、2012 年  
10 月 27 日～2012 年 10 月 31 日、Milan, Italy

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

河 相吉 (KAWA SOUKICHI)

関西医科大学・医学部・准教授

研究者番号：30152896

### (2) 研究分担者

上埜 泰寛 (UENO YASUHIRO)

関西医科大学・医学部・助教

研究者番号：10425069