

平成 30 年 6 月 12 日現在

機関番号：82502

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K09976

研究課題名(和文)放射線照射後早期のPETトレーサーの一過性の腫瘍集積亢進の分子メカニズムの解明

研究課題名(英文) Investigation of the molecular mechanism of transiently elevated tumor uptake of PET tracers at early time points after X-ray radiation

研究代表者

辻 厚至 (TSUJI, Atsushi)

国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構・放射線医学総合研究所 分子イメージング診断治療研究部・チームリーダー(定常)

研究者番号：60303559

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：肺がん由来細胞株でのPETトレーサー取込み寄与度は、細胞株間で大きな違いが見られ、これまで報告されていない現象があることが明らかとなった。放射線照射後の取込みの評価から新たなPETトレーサーの解析も合わせて必要と考えられた。既報のシステイン誘導体より安定な構造を有すると予想される誘導体のPETトレーサー開発を行った。X線照射後に一過性にPETトレーサーの取込みが亢進に関連している経路の探索のために、メタボローム解析を行った。AIB投与照射群では、他群に比べ解糖系の代謝物の一部で上昇が見られた。今後、トランスクリプトーム解析などの網羅的解析も加えて、統合的な解析を進めることが必要である。

研究成果の概要(英文)：Contribution of amino acid transporters for PET tracer uptake was markedly different among tumor cells, suggesting the possibility of a new uptake mechanism. Our findings in evaluation for tumor uptake after radiation, there was a need to develop a new PET tracer. Therefore, we developed and evaluated cysteine-based tracers in vitro and in vivo. To explore pathways associated with the mechanism of transiently elevated uptake, metabolome analysis was conducted. Tumors treated with AIB and X-rays showed increased metabolites on the glycolysis. Our findings warrant further studies to investigate the mechanism of transiently elevated uptake after X-ray radiation.

研究分野：核医学

キーワード：PET 放射線

1. 研究開始当初の背景

放射線治療は、がん治療に広く利用されている治療法のひとつである。個々のがんによってその治療効果が異なるが、それを治療後早期に予測することは残念ながら現時点では非常に困難である。もし治療後早期に治療効果を予測することができれば、早期に治療法の変更が可能となり、予後の改善が期待できるため、患者のメリットは大きい。もし PET イメージングで実現できれば、腫瘍全体を非侵襲的に評価できるため、有用性は非常に高い。

2. 研究の目的

放射線治療効果予測を可能とする PET イメージング法が確立されれば、多くの患者にメリットがもたらされる。本研究課題では、放射線照射後の PET プローブの一過性の腫瘍集積亢進が放射線治療反応性と関連している可能性を検証し、臨床研究立案の根拠となるデータを得ることを第一の目的とした。次に、その背景を理解するために、放射線照射後の網羅的な代謝物解析などから、その分子メカニズムの解明を目指すことを第二の目的とした。

3. 研究の方法

PET トレーサーの合成は、サイクロンで RI を製造し、ホットセル内で行った。精製は HPLC で行った。腫瘍モデルとして、ヒト肺がん由来細胞およびそれらをヌードマウスの皮下に移植した。PET トレーサーの細胞取り込みはガンマカウンターで測定した。マウスでの体内分布は、PET イメージングと解剖法で行った。画像解析は、PET 装置の付属ソフトウェアを使用した。メタボローム解析は、凍結保存した腫瘍を計量後に処理し、キャピラリー電気泳動質量分析装置で解析した。

4. 研究成果

8 種の肺がん由来細胞株での非天然アミノ酸 PET トレーサーである AIB 及び MeAIB の取り込みの評価を *in vitro* 及び *in vivo* で行った。この細胞株でのアミノ酸トランスポーターシステム L, ASC, A を構成する 5 種のトランスポーターの RT-PCR 及びウエスタンブロットも行った。AIB は、アミノ酸トランスポーターシステム A 以外にアミノ酸トランスポーターシステム L とアミノ酸トランスポーターシステム ASC でも取り込まれることを元に、アミノ酸トランスポーターシステムの阻害剤による競合阻害実験の結果から、それぞれの細胞株における寄与度も評価した。細胞株間で、かなり寄与度に違いがあり、従来考えられていた AIB が主にアミノ酸トランスポーターシステムで取り込まれるということは、必ずしもすべてのがん細胞で認められる現象ではないことが明らかとなった。AIB と MeAIB の取り込みとアミノ酸トランスポーターの発現あるいはアミノ酸トランスポーターシステムの寄与度との相関解析を行った。また放射線照射後の経時的な AIB の取り込みの評価も *in vitro* 及び *in vivo* で行った。どちらも一過性の取り込み上昇が認められたが、そのタイムポイントは大きく異なっていた。*in vitro* と *in vivo* での実験でそれぞれ適したタイムポイントでの実験が必要ということが明らかとなった。アミノ酸トランスポーターシステム A の PET トレーサーだけでは、本研究の目的は達成できないと判断し、他のアミノ酸トランスポーターシステムで取り込まれる PET トレーサーの解析も合わせて必要と考えられた。アミノ酸トランスポーターシステム L で輸送されることが報告されているシステイン誘導体が候補としてあげられるが、本研究には生体内での代謝安定性が必要なことから、より安定な構造を有すると予想される誘導体の PET トレーサー開発を行った。放射性合成法を確立し、PET イメージングを行ったと

ころ，腫瘍集積は同程度だが，正常臓器への取り込みが，元の誘導体と大きく異なることが明らかとなった。代謝分析の結果，元の誘導体よりも代謝安定であることが示された。しかし，体内動態の違いは，代謝安定性だけでは説明できないと考えられた。体内動態の違いを説明するためには，それぞれの責任トランスポーターの探索が必要であることが明らかとなった。X線照射後に一過性にPETトレーサーの取り込みが亢進に関与している分子あるいは経路の探索のために，担がんマウスにAIBを投与し，X線を腫瘍部分に照射し，メタボローム解析を行った。対照群として，saline投与群と未照射群を設定した。メタボローム解析では，陰イオン性代謝物237種類，陽イオン性代謝物270種類，投与したAIBの解析を行った。AIB投与群では，照射群および未照射群ともに20倍以上に濃度が上昇していた。AIB投与照射群では，saline投与群，AIB投与未照射群，saline投与照射群に比べ，解糖系の代謝物の一部で上昇が見られた。FDGの取り込みも一過性に亢進することから，解糖系が関与している可能性はあるが，AIBなどの取り込み亢進にどのように関与しているかは現時点では不明である。今後，トランスクリプトーム解析やプロテオーム解析などの網羅的解析も加えて，統合的な解析を進めることが必要ということが明らかとなった。

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19件)

1. Ohshima Y, Sudo H, Watanabe S, Nagatsu K, Tsuji AB, Sakashita T, Ito YM, Yoshinaga K, Higashi T, Ishioka NS. Antitumor effects of radionuclide treatment using α -emitting meta-²¹¹At-astato-benzylguanidine in a PC12 pheochromocytoma model. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2018 doi: 10.1007/s00259-017-3919-6.
2. Yoshii Y, Matsumoto H, Yoshimoto M, Zhang MR, Oe Y, Kurihara H, Narita Y, Jin ZH, Tsuji AB, Yoshinaga K, Fujibayashi Y, Higashi T. Multiple Administrations of ⁶⁴Cu-ATSM as a Novel Therapeutic Option for Glioblastoma: a Translational Study Using Mice with Xenografts. *Transl Oncol*. 2018 Feb;11(1):24-30.
3. Aung W, Tsuji AB, Sudo H, Sugyo A, Ukai Y, Kouda K, Kurosawa Y, Furukawa T, Saga T, Higashi T. Combined treatment of pancreatic cancer xenograft with ⁹⁰Y-ITGA6B4-mediated radioimmunotherapy and PI3K/mTOR inhibitor. *World J Gastroenterol*. 2017 Nov 14;23(42):7551-62.
4. Yoshii Y, Yoshimoto M, Matsumoto H, Furukawa T, Zhang MR, Inubushi M, Tsuji AB, Fujibayashi Y, Higashi T, Saga T. ⁶⁴Cu-ATSM internal radiotherapy to treat tumors with bevacizumab-induced vascular decrease and hypoxia in human colon carcinoma xenografts. *Oncotarget*. 2017 Sep 28;8(51):88815-26.
5. Takashima H, Tsuji AB, Saga T, Yasunaga M, Koga Y, Kuroda JI, Yano S, Kuratsu JI, Matsumura Y. Molecular imaging using an anti-human tissue factor monoclonal antibody in an orthotopic glioma xenograft model. *Sci Rep*. 2017 Sep 26;7(1):12341.

6. Tateishi H, Tsuji AB, Kato K, Sudo H, Sugyo A, Hanakawa T, Zhang MR, Saga T, Arano Y, Higashi T. Synthesis and evaluation of ¹¹C-labeled coumarin analog as an imaging probe for detecting monocarboxylate transporters expression. *Bioorg Med Chem Lett*. 2017 Sep 18;27(21):4893-7.
7. Yasunaga M, Manabe S, Tsuji A, Furuta M, Ogata K, Koga Y, Saga T, Matsumura Y. Development of antibody-drug conjugates using DDS and molecular imaging. *Bioengineering (Basel)*. 2017 Sep 17;4(3). pii: E78.
8. Jin ZH, Furukawa T, Ohya T, Degardin M, Sugyo A, Tsuji AB, Fujibayashi Y, Zhang MR, Higashi T, Boturn D, Dumy P, Saga T. ⁶⁷Cu-Radiolabeling of a multimeric RGD peptide for α V β 3 integrin-targeted radionuclide therapy: stability, therapeutic efficacy, and safety studies in mice. *Nucl Med Commun*. 2017 Apr;38(4):347-55.
9. Sugyo A, Tsuji AB, Sudo H, Nomura F, Satoh H, Koizumi M, Kurosawa G, Kurosawa Y, Saga T. Uptake of ¹¹¹In-labeled fully human monoclonal antibody TSP-A18 reflects transferrin receptor expression in normal organs and tissues of mice. *Oncol Rep*. 2017 Mar;37(3):1529-36.
10. Jin ZH, Furukawa T, Degardin M, Sugyo A, Tsuji AB, Yamasaki T, Kawamura K, Fujibayashi Y, Zhang MR, Boturn D, Dumy P, Saga T. α v β ₃ Integrin-Targeted Radionuclide Therapy with ⁶⁴Cu-cyclam-RAFT-c-(RGDfK)₄. *Mol Cancer Ther*. 2016 Sep;15(9):2076-85.
11. Hatayama N, Inubushi M, Naito M, Hirai S, Jin YN, Tsuji AB, Seki K, Itoh M, Saga T, Li XK. Functional evaluation of rat hearts transplanted after preservation in a high-pressure gaseous mixture of carbon monoxide and oxygen. *Sci Rep*. 2016 Aug 26;6:32120.
12. Aung W, Tsuji AB, Sudo H, Sugyo A, Ukai Y, Kouda K, Kurosawa Y, Furukawa T, Saga T. Radioimmunotherapy of pancreatic cancer xenografts in nude mice using ⁹⁰Y-labeled anti- α 6 β 4 integrin antibody. *Oncotarget*. 2016 Jun 21;7(25):38835-44.
13. Aung W, Tsuji AB, Sudo H, Sugyo A, Furukawa T, Ukai Y, Kurosawa Y, Saga T. Immunotargeting of Integrin α 6 β 4 for Single-Photon Emission Computed Tomography and Near-Infrared Fluorescence Imaging in a Pancreatic Cancer Model. *Mol Imaging* 2016; 15:1536012115624917.
14. Sudo H, Tsuji AB, Sugyo A, Takuwa H, Masamoto K, Tomita Y, Suzuki N, Imamura T, Koizumi M, Saga T. Establishment and evaluation of a new highly metastatic tumor cell line 5a-D-Luc-ZsGreen expressing both luciferase and green fluorescent protein. *Int J Oncol*. 2016 Feb;48(2):525-32.
15. Adachi N, Yoshii Y, Furukawa T, Yoshimoto M, Takeuchi Y, Inubushi M, Wakizaka H, Zhang MR, Tsuji AB, Takahashi M, Fujibayashi Y, Saga T. *In Vivo* Simultaneous Imaging of

- Vascular Pool and Hypoxia with a HT-29 Tumor Model: the Application of Dual-Isotope SPECT/PET/CT. International Journal of Sciences: Basic and Applied Research 2016; 25:26–39
16. Miura Y, Tsuji AB, Sugyo A, Sudo H, Aoki I, Inubushi M, Yashiro M, Hirakawa K, Cabral H, Nishiyama N, Saga T, Kataoka K. Polymeric Micelle Platform for Multimodal Tomographic Imaging to Detect Scirrhus Gastric Cancer. ACS Biomater. Sci. Eng., 2015, 1 (11):1067–76
17. Okada M, Kikuchi T, Okamura T, Ikoma Y, Tsuji AB, Wakizaka H, Kamakura T, Aoki I, Zhang MR, Kato K. In-vivo imaging of blood-brain barrier permeability using positron emission tomography with 2-amino-[3-¹¹C]isobutyric acid. Nucl Med Commun. 2015 Dec;36(12):1239-48.
18. Suzuki C, Tsuji AB, Kato K, Sudo H, Zhang MR, Saga T. Preclinical evaluation of 2-amino-2-[¹¹C]methyl-butanoic acid as a potential tumor-imaging agent in a mouse model. Nucl Med Commun. 2015 Nov;36(11):1107-12.
19. Yuan Q, Furukawa T, Tashiro T, Okita K, Jin ZH, Aung W, Sugyo A, Nagatsu K, Endo H, Tsuji AB, Zhang MR, Masuko T, Inoue M, Fujibayashi Y, Saga T. Immuno-PET Imaging of HER3 in a Model in which HER3 Signaling Plays a Critical Role. PLoS One. 2015 Nov 16;10(11):e0143076.

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.nirs.qst.go.jp/rd/mit/index.html>

<http://www.nirs.qst.go.jp/ENG/core/mit/index.html>

6 . 研究組織

(1)研究代表者

辻 厚至 (TSUJI Atsushi)

国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構・放射線医学総合研究所分子イメージング診断治療研究部・チームリーダー

研究者番号： 60303559

(2)研究分担者

加藤 孝一 (KATO Koichi)

国立研究開発法人国立精神・神経医療研究センター・脳病態統合イメージングセンター・室長

研究者番号： 50382198

田畑 祥 (TABATA Sho)

慶應義塾大学・政策・メディア研究科(藤沢)・特任助教

研究者番号： 30708342

(3)研究協力者

須藤 仁美 (SUDO Hitomi)

国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構・放射線医学総合研究所分子イメージング診断治療研究部・研究員

研究者番号： 10415416

須堯 綾 (SUGYO Aya)

国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構・放射線医学総合研究所分子イメージング診断治療研究部・技術員

研究者番号： 00415415