

令和元年6月17日現在

機関番号：13401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K10345

研究課題名(和文) PET/MRによるエストロゲン依存性腫瘍の受容体発現と酸化ストレスの関連性解明

研究課題名(英文) PET/MR evaluation of the relationship between estrogen receptor expression and oxidative stress in estrogen-dependent tumors

研究代表者

辻川 哲也 (Tsujikawa, Tetsuya)

福井大学・高エネルギー医学研究センター・准教授

研究者番号：30380033

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：酸化ストレスを反映するCu-64 ATSMの安定的製造法を確立し、安全性を確認した。正常ボランティアの全身撮影を行い、薬剤の全身分布を評価した。Cu-64 ATSMはエストロゲン製剤のF-18 FESと同様に肝臓に強い集積を認める一方、投与約1時間後の撮影では腸管排泄はF-18 FESよりも遅く、尿排泄はF-18 FESよりも少ない結果であった。卵巣癌の多発転移症例において、原発巣と比較し転移巣により高いCu-64 ATSM集積を認めた。このことから転移巣がより高い酸化ストレスを有する可能性が考えられ、今後の病態評価に有用である可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

比較的長半減期(12.7時間)のCu-64で標識したATSMを用いることにより、1回のPET検査で全身の酸化ストレスの評価が可能である。複数の転移を有する腫瘍患者においても、病変全体の酸化ストレスに関する情報を得ることができ、今後はその集積程度や分布に応じた治療法の選択や新規治療法の開発に役立つ可能性がある。

研究成果の概要(英文)：We established the stable production method of Cu-64 ATSM which reflects oxidative stress, and confirmed the safety in acute toxicity tests using ddY mice. Whole-body PET/MRI with Cu-64 ATSM provided the distribution of the compound in healthy subjects. Intense Cu-64 ATSM uptake in liver was similar to that of F-18 FES (F-18 labeled compound of estradiol), and excretion to the intestine and urine was less than that of F-18 FES 60 min after the tracer injection. In a patient with ovarian cancer and multiple metastases, metastatic sites showed significantly higher Cu-64 ATSM uptake than the primary site which might reflect greater oxidative stress in metastatic sites than in the primary tumor.

研究分野：放射線医学

キーワード：PET/MRI 酸化ストレス エストロゲン 乳癌 婦人科腫瘍

## 1. 研究開始当初の背景

(1) がん細胞は正常細胞と比較しミトコンドリア呼吸鎖の機能低下や組織内で低酸素環境にある場合が多い。がん細胞内ミトコンドリアでは余剰電子により活性酸素 (ROS) が過剰に合成され、これによる酸化ストレスが腫瘍の発育・進展・治療抵抗性等と関連することが知られている。(図 1) とくにエストロゲン依存性腫瘍の乳癌においては、細胞・組織レベルでエストロゲンおよびエストロゲン受容体サブタイプ  $\alpha$  (ER $\alpha$ ) が ROS の産生に関わり、腫瘍の発育やホルモン治療抵抗性と関連することが報告されている。近年、欧米では抗腫瘍効果を期待したがんの酸化ストレスを調整する各種薬剤が開発・認可されているが、その有効性はいまだ未確定であり、生体における腫瘍内酸化ストレスの病態解明が今後の大きな課題である。

(2)  $16\alpha$ -[ $^{18}\text{F}$ ]fluoro-17 $\beta$ -estradiol (FES ; 図 2) は、エストロゲンの中で最も生理活性の高い estradiol への  $^{18}\text{F}$  標識化合物である。FES を用いた PET 検査 (FES-PET) は欧米で乳癌におけるホルモン療法の治療選択や効果判定に用いられている。我々はこれまでに同じくエストロゲン依存性の発育を示す子宮腫瘍性疾患に FES-PET を応用し ER の発現と FDG-PET による糖代謝情報を組み合わせることにより腫瘍の良悪性鑑別や侵襲性の判定に有用であることを報告し、2 種類の受容体サブタイプ (ER $\alpha$  と  $\beta$ ) のうち FES が ER $\alpha$  発現を反映することを、乳癌と同様に子宮内膜腫瘍・間葉系腫瘍でも証明した。

(3) Copper(II) diacetyl-bis(N4-methylthiosemicarbazone) (Cu-ATSM ; 図 2) は、細胞内、特にミトコンドリア内の余剰電子によって還元され集積する PET 薬剤である。我々は Cu-ATSM PET による臨床研究にて神経変性疾患患者 (パーキンソン病・筋萎縮性側索硬化症) における脳内の酸化ストレス (ミトコンドリア機能不全による ROS の過剰産生) の画像化に成功した。

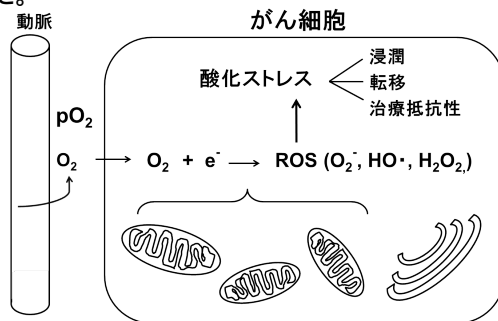


図 1 がんと酸化ストレス

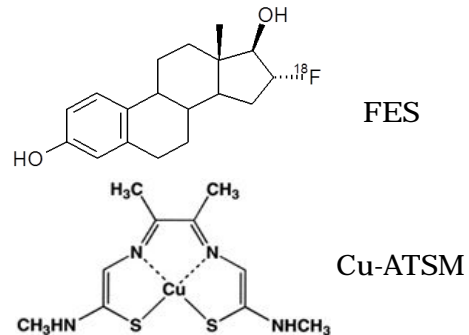


図 2 PET 薬剤

## 2. 研究の目的

(1) 本研究では統合型 PET/MR 装置を用いて FES による ER $\alpha$  発現と Cu-ATSM による酸化ストレスを in-vivo で画像化し、PET の集積程度に MR の各種信号情報を加えてエストロゲン依存性腫瘍における ER $\alpha$  と酸化ストレスの関連性を調べることを当初の目的としていた。しかし、これまで他施設から合成キットを提供されていた Cu-62 標識 ATSM に代わり、Cu-64 標識の ATSM を用いることになったため、その合成試験や安全性評価および健常者での撮像等が必要となった。

## 3. 研究の方法

(1) 安定同位体である Ni-64 を院内小型サイクロトロン (EclipseRDS HP/RD, 11 MeV, Siemens) にてプロトン照射し Cu-64 の製造を行った。その後、得られた Ni-64/Cu-64 混合物を 6 M 塩酸中 100 で溶解させ、陰イオン交換樹脂 AG 1-X8 (100-200 mesh, chloride form, Bio-Rad) と塩酸を用いて Ni-64 および Cu-64 の分離精製を行った。Cu-64 は 0.1 M 塩酸で回収後、蒸発乾固し、生理食塩水に再溶解させた。次いで、基質となる ATSM/DMSO 溶液を加え標識反応を行い、滅菌フィルターに通じて無菌バイアルに回収して Cu-64 ATSM 製剤とした。

(2) Cu-64 ATSM 合成法の確立や安全性試験等が必要となったほか、PET/MRI 検査室の 1 日の Cu-64 許容使用量の問題で FES-PET/MRI との 2 薬剤での直接比較が困難となったため、まず婦人科腫瘍と乳癌患者で FES-PET/MRI を行い、通常の FDG-PET/CT または FDG-PET/MRI と比較検討した。最終年度に卵巣癌の多発転移症例に Cu-64 ATSM PET/MRI を施行した。

(3) 統合型 PET/MRI で同時に得られる MRI 機能画像の有用性を検討するため、FDG-PET/MRI を施行した子宮内膜癌 31 例を ESMO-ESGO-ESTRO 合同会議で新たに提唱されたリスク分類 (リンパ脈管侵襲の有無が加えられた) を参考に高リスク群と低リスク群に分け、PET から SUV、拡散強調画像 DWI から ADC を測定し、内膜癌のリスク別能を SUV、

ADC、SUV/ADC 比の 3 つで比較した。

#### 4 . 研究成果

(1) Cu-64 ATSM 製剤について、3 ロット試験を行い、院内品質基準を満たしていることを確認した。さらに、製剤の毒性を検討するため、マウスを用いた急性毒性試験を行った。雌雄 ddY マウス (6 週齢、各 n=4) に体重換算でヒト常用量の 100 倍を投与して 14 日間にわたり観察した。また、コントロールとして別のマウス群 (雌雄各 n=4) に生理食塩水を投与し同様に観察を行った。その結果、全ての動物において死亡例およびけいれん等の中毒症状は認められず、体重増加についても異常はなかった。観察後、全ての動物について剖検を行い、主要臓器について肉眼的観察および重量測定をしたところ、いずれの動物においても異常は認められなかった。

(2) 2016~2018 年度において、乳癌 25 例と婦人科腫瘍 86 例に FES-PET/MRI を施行した。ER 陽性の乳癌患者では、FDG-PET にてリンパ節転移なしと診断された 2 例で同側腋窩リンパ節転移を同定し、レベル 1 のリンパ節転移と診断された 1 例でレベル 2 のリンパ節転移を同定し、FES-PET が乳癌患者の術式決定に大きく貢献した。さらに ER 陽性乳癌の多発転移症例においては、FDG-PET にて指摘困難だった複数の頭蓋骨や脊椎転移を明瞭に描出した。婦人科腫瘍においては、FES-PET と FDG-PET を組み合わせることにより、子宮内膜癌の表現型 (Type I と Type II) を明瞭に鑑別した。また、FES の集積程度を評価することにより子宮筋腫 (ER+) と肉腫 (ER-) の鑑別にも役立った。Cu-64 ATSM を用いた酸化ストレス PET については、卵巣癌の多発転移症例において原発巣と比較し転移巣により高い Cu-64 ATSM 集積を認めた。このことから転移巣がより高い酸化ストレスを有する可能性が考えられ、今後の病態評価や治療選択および新規治療法の開発に有用である可能性が示唆された。

(3) FDG-PET/MRI を施行した子宮内膜癌 31 例の内訳は、type I 23 例 ; うち G1 類内膜癌 17 例、G2 類内膜癌 6 例、type II 8 例 ; うち G3 類内膜癌 3 例、癌肉腫 2 例、漿液性癌 3 例であった。腫瘍の SUV は高リスク群と低リスク群の間で有意差を認めなかった。一方、ADC は高リスク群で有意に低く ( $756 \times 10^{-6}$  vs  $937 \times 10^{-6}$ ,  $p < 0.05$ )、SUV/ADC 比は有意に大きかった ( $21.7 \times 10^9$  vs  $13.1 \times 10^9$ ,  $p < 0.005$ )。ROC 解析では SUV/ADC 比が最も高い診断精度 (AUC=0.83) を示した。このように、PET 画像と同時に得られる MRI 機能画像の情報を加えることにより形態画像で評価困難なリンパ脈管侵襲の有無を含めたリスク評価に有用であることが示唆された。

#### 5 . 主な発表論文等

[雑誌論文](計 4 件)

(1) Tsujikawa T, Tsuyoshi H, Kanno M, Yamada S, Kobayashi M, Narita N, Kimura H, Fujieda S, Yoshida Y, Okazawa H. Selected PET radiomic features remain the same. *Oncotarget*. 2018;9:20734-20746. doi: 10.18632/oncotarget.25070. (査読あり)

(2) Tsujikawa T, Yamamoto M, Shono K, Yamada S, Tsuyoshi H, Kiyono Y, Kimura H, Okazawa H, Yoshida Y. Assessment of intratumor heterogeneity in mesenchymal uterine tumor by an  $^{18}\text{F}$ -FDG PET/CT texture analysis. *Ann Nucl Med*. 2017;31:752-757. doi: 10.1007/s12149-017-1208-x. (査読あり)

(3) Tsujikawa T, Rahman T, Yamamoto M, Yamada S, Tsuyoshi H, Kiyono Y, Kimura H, Yoshida Y, Okazawa H.  $^{18}\text{F}$ -FDG PET radiomics approaches: comparing and clustering features in cervical cancer. *Ann Nucl Med*. 2017;31:678-685. doi: 10.1007/s12149-017-1199-7. (査読あり)

(4) Tsujikawa T, Asahi S, Oh M, Sato Y, Narita N, Makino A, Mori T, Kiyono Y, Tsuchida T, Kimura H, Fujieda S, Okazawa H. Assessment of the Tumor Redox Status in Head and Neck Cancer by  $^{62}\text{Cu}$ -ATSM PET. *PLoS One*. 2016;11:e0155635. doi: 10.1371/journal.pone.0155635. (査読あり)

[学会発表](計 8 件)

(1) 辻川哲也. Radiomics 解析の臨床: Texture analysis (PET)、JSAWI2018 2018/8/31-9/1、淡路夢舞台国際会議場 (淡路市)

(2) Tsujikawa T, Tsuyoshi H, Yamada S, Shinagawa A, Chino Y, Kurokawa T, Yoshida Y, Okazawa H. Integrated FDG-PET/MRI enhances the diagnostic ability for distinguishing between type I and II endometrial cancers. SNMMI 2018 Annual Meeting 2018/6/23-26、

Pennsylvania Convention Center ( Philadelphia )

(3) Tsujikawa T, Tsuyoshi H, Kannno M, Yamada S, Kobayashi M, Narita N, Kimura H, Fujieda S, Yoshida Y, Okazawa H. Selected PET radiomic features remain the same: -Clinical validation with PET/CT & PET/MRI-、第 77 回日本医学放射線学会総会 2018/4/12-15、パシフィコ横浜 ( 横浜市 )

(4) Tsujikawa T, Kobayashi M, Tsuyoshi H, Yamada S, Oikawa H, Yoshida Y, Okazawa H. Impact of scanner and scan protocol on textural features in <sup>18</sup>F-FDG PET/MR、第 57 回日本核医学会学術総会 2017/10/5-7、パシフィコ横浜 ( 横浜市 )

(5) Tsujikawa T, Tsuyoshi H, Yamada S, Shinagawa A, Chino Y, Mori T, Kurokawa T, Kiyono Y, Yoshida Y, Okazawa H. <sup>18</sup>F-FES and <sup>18</sup>F-FDG PET/MR imaging of gynecologic tumors: Initial experiences、SNMMI 2017 Annual Meeting 2017/6/10-17、Colorado Convention Center ( Denver )

(6) Tsujikawa T, Yamamoto M, Shono K, Yamada S, Kimura H, Okazawa H, Yoshida Y. Assessment of intratumor heterogeneity in mesenchymal uterine tumor by FDG-PET/CT texture analysis、第 76 回日本医学放射線学会総会 2017/4/13-16、パシフィコ横浜 ( 横浜市 )

(7) 辻川哲也、山本真、知野陽子、品川明子、森哲也、牧野顕、黒川哲司、清野泰、吉田好雄、岡沢秀彦。PET 機能画像は子宮肉腫患者の予後を予測する-エストロゲン受容体と FDG PET-、第 56 回日本核医学会学術総会 2016/11/3-5、名古屋国際会議場 ( 名古屋市 )

(8) 辻川哲也、Rahman Tasmiah、山本真、知野陽子、品川明子、黒川哲司、土田龍郎、木村浩彦、吉田好雄、岡沢秀彦。子宮頸癌の組織型による FDG PET 予後予測因子の違い、第 75 回日本医学放射線学会総会 2016/4/14-17、パシフィコ横浜 ( 横浜市 )

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年：  
国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

## 6 . 研究組織

### (1)研究分担者

研究分担者氏名：前田 浩幸

ローマ字氏名：Maeda Hiroyuki

所属研究機関名：福井大学

部局名：学術研究院医学系部門

職名：准教授  
研究者番号（8桁）：20301202

研究分担者氏名：森 哲也  
ローマ字氏名：Mori Tetsuya  
所属研究機関名：福井大学  
部局名：高エネルギー医学研究センター  
職名：助教  
研究者番号（8桁）：40397287

研究分担者氏名：吉田 好雄  
ローマ字氏名：Yoshida Yoshio  
所属研究機関名：福井大学  
部局名：学術研究院医学系部門  
職名：教授  
研究者番号（8桁）：60220688

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。