

令和 3 年 6 月 21 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2017～2020

課題番号：17K11820

研究課題名（和文）効率的な抗がん剤治療を目指したPET低酸素分子イメージングと腫瘍血管の対比検討

研究課題名（英文）Comparative study of PET hypoxia molecular imaging and tumor vasculature for efficient anticancer drug therapy

研究代表者

大賀 則孝（Ohga, Noritaka）

北海道大学・歯学研究院・助教

研究者番号：40548202

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）：低酸素腫瘍では、管腔構造を呈していない血管構造が未熟なものが多く、抗がん剤が効果的に到達していない可能性が示唆された。仮に同容量の抗がん剤を投与しても、到達効率が異なる可能性が示唆された。EPR効果によってがん組織の腫瘍間質に到達させた後に、効率よく抗がん剤を到達させることが、EPR効果を基にした抗がん剤のがんターゲティングには重要である。

固型がんも正常臓器と同様の血管透過性を有すると考えられてきたが、実際は、口腔癌組織において筋肉や皮膚などの正常臓器よりも血管透過性が高い症例があり、効率的に抗がん剤が到達できない可能性があることを口腔外科医、放射線科医は共通認識として持つ必要がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究において、FMISO-PET所見から腫瘍血管を「見える化」の一端を実現できたと考えている。個人個人の体内での腫瘍血管の状態を把握することが必要であると考えます。

さらに、将来的には低酸素の状態と腫瘍血管の構造状態について実際の臨床に応用できるクライテリアを薬剤到達の観点から検討したい。今後は、北海道大学の口腔外科・口腔内科の口腔癌症例でretrospectiveに検証し、データを蓄積して、抗癌剤使用の有無、stage別での治療反応性、予後（NC、PR、CR）を検討したい。将来的なクライテリアを構築できるように基礎的データを蓄積し、実際の臨床に応用したいと考えている。

研究成果の概要（英文）：Hypoxia is a common feature of cancer and thus is prognostic factor for many type of cancer. In this retrospective study, immunohistochemistry were performed for CD31 and HIF-1 on 40 OSCCspecimens. Each patient was evaluated by both FMISO-PET before surgery, and the tumor-muscle ratio (TMR) of FMISO-PET were measured. The association between CD31 and HIF1-expression and 18F-FMISO uptake(TMR ratio) in the tumor was analyzed statistically. 18F-FMISO uptake in the primary site of OSCC indicates a hypoxic environment with HIF-1 expression. CD31-positive vessel area was increased in the hypoxic tumor compared with that in a non-hypoxic tumor. The tumor vessel in the hypoxic tumor was morphologically more irregular and tortuous than that in the non-hypoxic tumor. We demonstrated a significant relationship between 18F-FMISO TMR and CD31 and HIF1-expression in OSCC. In the future, we will perform detailed research on the relationship between tumor angiogenesis and 18F-FMISO uptake.

研究分野：口腔癌

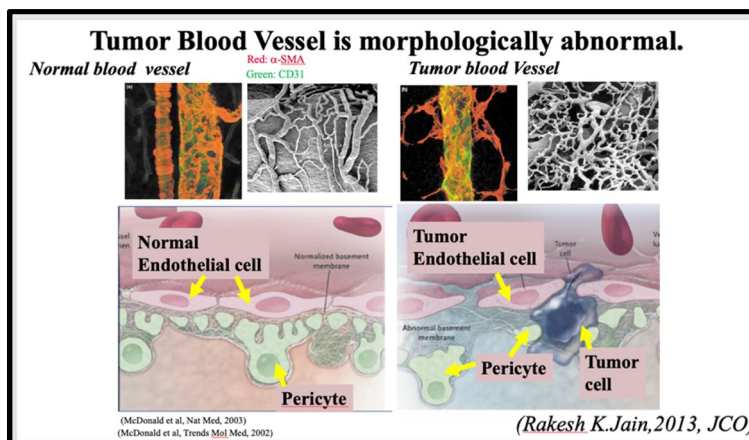
キーワード：腫瘍血管新生 低酸素 FMISO-PET 腫瘍血管密度 腫瘍血管の正常化

### 1. 研究開始当初の背景

がん細胞が原発巣から離れて遠隔臓器に転移・増殖可能になるためには、周囲の微小環境由来のシグナルや液性因子が重要である。多くの腫瘍内部は低酸素に陥っている。低酸素は腫瘍細胞の細胞死の回避、薬剤抵抗性や転移能の亢進などを誘導し、がんの悪性度と関連している。低酸素状態に曝された腫瘍細胞において低酸素誘導因子 (HIF-1) の蓄積がおき、様々な遺伝子の転写が促進され低酸素状態に応答する。例えば、腫瘍細胞において HIF-1 の蓄積が血管内皮増殖因子 VEGF などの転写を亢進し、血管新生を促進することが明らかになってきている。しかし、腫瘍間質を構成する腫瘍血管内皮における低酸素に対する応答機構についての報告はほとんど見られなかった。

一方、以前から低酸素状態は固形癌の重要な予後因子のひとつと考えられている。癌は低酸素状態では放射線感受性の低下と化学療法抵抗性を示す。つまり腫瘍の血液灌流はいわゆる「只漏れ状態」で、腫瘍血管の圧迫に起因して周囲の正常組織より、際立って血液灌流低くなっている可能性がある。有効な血液循環が得られないため酸素供給が減少し、低酸素微環境をもたらす。低酸素が腫瘍進行と免疫抑制を促進して、そしてがん細胞の転移性する可能性が高めることが知られている。

本研究グループでは腫瘍血管の特異性と腫瘍微小環境における低酸素状態の研究を継続して行ってきた。さらに腫瘍間質の灌流(循環)低下が、全体的に与えられた抗がん剤のドラッグデリバリーを下げるのがわかってきている。これは抗がん剤の分子量が高分子か低分子かにもよるのであるが、組織の灌流(循環)を改善するためのひとつの治療の戦略として、腫瘍間質内の物理的ストレスを緩和することによって、腫瘍血管の減圧し、血管透過性の減少することが考えられる。この戦略は「腫瘍血管の正常化」と呼ばれている。現在、臨床で用いられている血管新生阻害剤(VEGF の中和抗体)アバスタチンは腫瘍血管を正常化する効果があり、肺がん、乳がん、大腸癌で広く用いられている。



癌組織内の低酸素状態の評価は重要であるが、ヒト固形癌組織内の酸素分圧を測定するには端子を直接腫瘍内に挿入する必要があるため、臨床的応用は容易ではない。今や癌の診断に PET は欠かせない診断ツールとなっている。FMISO は放射線増感剤である 2-nitromidazole が低酸素細胞に取り込まれることから低酸素細胞を画像化するプローブとして開発された。近年、頭頸部癌の領域においても FMISO-PET による癌組織内の低酸素状態の評価が行われるようになった。

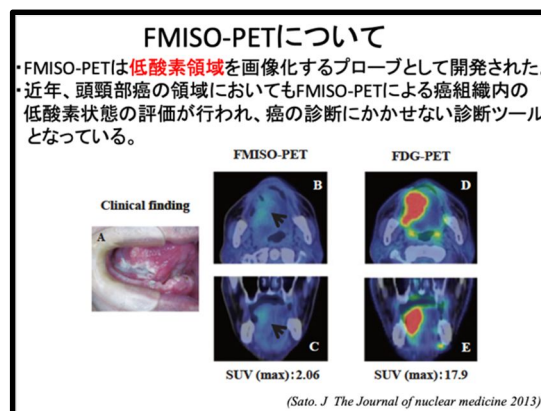
### 2. 研究の目的

口腔扁平上皮癌における抗がん剤をデリバリーする腫瘍血管の質と低酸素状態の関係を評価する報告はほとんどみられない。口腔癌における腫瘍血管新生(CD31 で染色:病理組織標本で評価)、低酸素状態(FMISO-PET で画像評価)、腫瘍血管の形態的評価(管腔構造を呈しているか)を通して抗癌剤の最適時期を予測できるような基盤的研究を行うことを目的とした。

### 3. 研究の方法

まず、当科で病理組織をストックしている口腔癌症例(医学研究科核医学教室と FMISO-PET を撮像)において低酸素を反映する SUV 値と

腫瘍血管密度、腫瘍血管構造の関係を検討した。低酸素に曝されている癌症例や HIF-1 が高い癌の症例において、腫瘍血管新生が亢進し、血管の質が未熟である「管腔構造を呈していない血



管」がどれくらい存在するかについて検討した。また低酸素腫瘍の定義としては、FMISO 1.25を低酸素腫瘍、FMISO<1.25を非低酸素腫瘍とした。具体的には腫瘍血管をCD31の免疫組織染色を行い、さらには血管の未熟性(管腔構造を呈しているか否か)を形態で評価した。さらに、低酸

・FMISO-PETと腫瘍微小環境との関連を病理学的に検討した研究はほとんどない。

### 【目的】

FMISO-PETで描出される口腔癌の低酸素領域の腫瘍血管の形態および性状を検討する。

- ・腫瘍血管新生の状態はどうなっているか?  
→血管内皮マーカーCD31で免疫染色し、微小血管密度(MVD: micro vascular density)を評価。
- ・腫瘍血管の形態は?  
→管腔状(機能的)、索状(非機能的)、棒状(非機能的)

### 対象および方法

#### 【患者】

・北海道大学病院歯科診療センターを口腔内科を受診。

・口腔癌(舌癌、歯肉癌、口底癌、頬粘膜癌)

と診断され、2009年～2013年に根治切除を行われた27症例

性別:男性:17例、女性10例。

Median age 65歳(42-86歳)

Patient no.	Age (y)	Sex	Classification		Primary site
			T	N	
1	65	M	4a	1	Upper gingiva
2	62	M	4a	0	Upper gingiva
3	62	M	2	2	Tongue
4	79	F	2	0	Lower gingiva
5	72	M	4a	0	Upper gingiva
6	56	F	4a	0	Upper gingiva
7	66	M	2	1	Lower gingiva
8	73	F	2	2	Lower gingiva
9	57	M	4a	0	Oral floor
10	59	M	4a	2	Oral floor
11	63	F	2	0	Lower gingiva
12	70	F	2	0	Lower gingiva
13	69	F	4a	1	Tongue
14	67	M	4a	0	Lower gingiva
15	64	M	4a	0	Lower gingiva
16	70	M	2	1	Tongue
17	59	F	2	0	Tongue
18	79	F	1	0	Upper gingiva
19	79	F	4a	2	Upper gingiva
20	74	M	2	0	Buccal mucosa
21	42	M	2	2	Tongue
22	71	M	4a	1	Lower gingiva
23	84	M	2	1	Lower gingiva
24	74	M	2	0	Buccal Mucosa
25	81	F	4a	0	Lower lip
26	64	M	2	0	Lower gingiva
27	73	M	2	0	Upper gingiva

素の状態と腫瘍血管の構造状態について実際の臨床に応用できるクライテリアの構築を目指した。

### 4. 研究成果

右図に代表的な非低酸素腫瘍と低酸素腫瘍の病理組織像を提示する。

低酸素腫瘍では、管腔構造を呈していない血管構造が未熟なものが多く、抗がん剤が効果的に到達していない可能性が示唆された。

仮に同容量の抗がん剤を投与しても、到達効率が異なる可能性が示唆された。

EPR 効果によって口腔癌組織の腫瘍間質に到達させた後に、効率よくがん細胞まで、抗がん剤を到達させることが、EPR 効果を基にした抗がん剤のがんターゲティングには重要である。

固型がんも正常臓器と同様の血管透過性を有すると考えられてきたが、実際は、口腔癌組織において、筋肉や皮膚などの正常臓器よりも血管透過性が高い症例があり、効率的に抗がん剤が到達できない可能性があることを口腔外科医、放射線科医は共通認識として持つ必要がある。

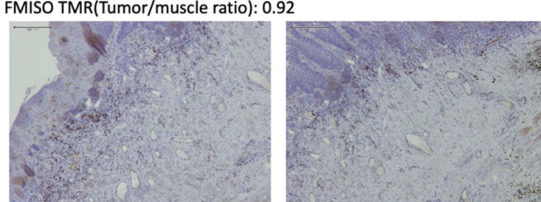
口腔癌の術後の補助療法としては、第一選択として、CDDP(シスプラチン)が用いられることが多い。シスプラチンは単純な構造の低分子白金錯体であるが、切れ味が鋭く、最も有効性の高い抗がん剤の一つであるが、未熟な血管が多い腫瘍組織において、低分子錯体であるシスプラチン唯漏れして、効果的にがん細胞に取り込まれない可能性があることが示唆された。

同じ抗がん剤の投与でも、どの組織の癌に投与するか、組織型、stageなどを統合的に判断すると適切な投与時期などは、各個人によって違う。本研究において、FMISO-PET所見から腫瘍血管を「見える化」の一端を実現できたと考えており、今後の実臨床では、個人個人の体内での腫瘍血管の状態を把握することが必要であると考えられる。

さらに、将来的には低酸素の状態と腫瘍血管の構造状態について実際の臨床に応用できるクライテリアを薬剤到達の観点から検討したい。今後は、北海道大学の口腔外科・口腔内科の口腔癌症例でretrospectiveに検証し、データを蓄積して、抗癌剤使用の有無、stage別での治療反応性、予後NC、PR、CR)を検討したい。将来的なクライテリアを構築できるように基礎的データを蓄積し、

**非低酸素腫瘍 (FMISO TMR<1.25) 症例1**

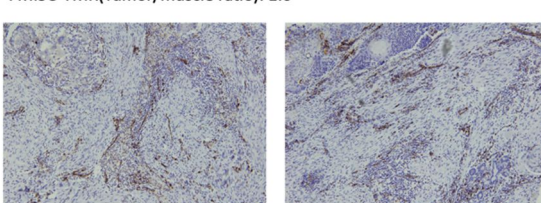
上顎歯肉癌 T1N0  
FMISO TMR(Tumor/muscle ratio): 0.92



腫瘍血管密度 (MVD): 1.08 (%) × 100

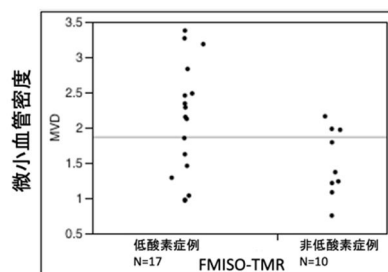
**低酸素腫瘍 (FMISO TMR≥1.25) 症例3**

舌癌 T3N0  
FMISO TMR(Tumor/muscle ratio): 1.6



腫瘍血管密度 (MVD): 2.34(%) × 100

### 口腔癌症例におけるFMISO-TMRと微小血管密度の関係



低酸素症例は、非低酸素症例に比べ、微小血管密度(MVD)が高いことが示唆された。(p<0.01:t検定)

実際の臨床に応用したいと考えている。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Kitagawa Y, Ohga N, Asaka T, Sato J, Hata H, Helman J, Tsuboi K, Amizuka N, Kuge Y, Shiga T	4. 巻 55(1)
2. 論文標題 Imaging modalities for drug-related osteonecrosis of the jaw (3), Positron emission tomography imaging for the diagnosis of medication-related osteonecrosis of the jaw.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Jpn Dent Sci Rev	6. 最初と最後の頁 65-70
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jdsr.2018.12.001.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Ohga N, Sato J, Asaka T, Morimoto M, Yamazaki Y, Kitagawa Y.	4. 巻 60(1)
2. 論文標題 Successful conservative treatment of jaw osteonecrosis caused by denosumab in patients with multiple bone metastasis.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Oral Sci.	6. 最初と最後の頁 159-162
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2334/josnusd.17-0027.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Kamaguchi M, Iwata H, Miyauchi T, Ujiie H, Ujiie I, Nomura T, Ohga N, Shimizu H, Kitagawa Y.	4. 巻 48(1)
2. 論文標題 The identification of autoantigens in mucous membrane pemphigoid using immortalized oral mucosal keratinocytes.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Oral Pathol Med.	6. 最初と最後の頁 1032-1035
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jop.12780. Epub 2018 Oct 24.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Sato J, Kitagawa Y, Watanabe S, Asaka T, Ohga N, Hirata K, Shiga T, Satoh A, Tamaki N.	4. 巻 47(5)
2. 論文標題 Hypoxic volume evaluated by 18F-fluoromisonidazole positron emission tomography (FMISO-PET) may be a prognostic factor in patients with oral squamous cell carcinoma: preliminary analyses.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Int J Oral Maxillofac Surg	6. 最初と最後の頁 553-560
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ijom.2017.09.007	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Sato J, Kitagawa Y, Watanabe S, Asaka T, Ohga N, Hirata K, Okamoto S, Shiga T, Shindoh M, Kuge Y, Tamaki N.	4. 巻 124(3)
2. 論文標題 18F-Fluoromisonidazole positron emission tomography (FMISO-PET) may reflect hypoxia and cell proliferation activity in oral squamous cell carcinoma.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol	6. 最初と最後の頁 261-270
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.oooo.2017.05.506.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件(うち招待講演 0件/うち国際学会 1件)

1. 発表者名 Noritaka Ohga, Jun Sato, Takuya Asaka, Masanobu Shindoh, Yoshimasa Kitagawa
2. 発表標題 Relationship among hypoxia, FMISO-PET uptake, and tumor angiogenesis in oral squamous cell carcinoma (OSCC)
3. 学会等名 American Academy of Oral Medicine (AAOM) Annual meeting 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Noritaka Ohga, Jun Sato, Takuya Asaka, Yoshimasa Kitagawa
2. 発表標題 Relationship among hypoxia, 18F-fluoromisonidazole PET uptake, and tumor angiogenesis in oral squamous cell carcinoma
3. 学会等名 日本口腔科学会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	北川 善政  (Kitagawa Yoshimasa)  (00224957)	北海道大学・歯学研究院・教授    (10101)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	佐藤 淳  (Sato Jun)  (60319069)	北海道大学・歯学研究院・講師    (10101)	
研究分担者	山崎 裕  (Yamazaki Yutaka)  (90250464)	北海道大学・歯学研究院・教授    (10101)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関