

令和 3 年 6 月 19 日現在

機関番号：14501

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K15547

研究課題名(和文) FMISO-PETを用いた炭酸ガス療法による腫瘍の低酸素状態改善のイメージング

研究課題名(英文) Analysis of tumor reoxygenation by percutaneous CO₂ therapy using FMISO-PET

研究代表者

丸山 晃司 (Maruyama, Koji)

神戸大学・医学研究科・医学研究員

研究者番号：40815990

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：これまでの研究において、経皮的炭酸ガス療法による治療効果が高いことが判明しているマウス骨肉腫細胞株(LM8)を皮下に移植したヌードマウスを炭酸ガス療法群と対照群(空気投与)にわけ、¹⁸F-FMISO PETを用いて腫瘍内の低酸素状態を評価した。SUV最大画素値(SUV_{max})、腫瘍対肝臓比(TLR)、代謝腫瘍体積(MTV)、総腫瘍代謝量(TLG)を用いた定量的評価で、炭酸ガス療法群において対照群より有意に腫瘍内の低酸素状態が改善していることを生体画像にて確認できた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

炭酸ガス療法の抗腫瘍効果および化学療法、放射線治療の増感作用を立証されてきたが、低酸素改善については病理組織学的な検証がなされておらず、治療の臨床応用や本体解明において、画像診断などの生体検査による評価が必須と考えられた。本研究により、¹⁸F-FMISO PETを用いることで経皮的炭酸ガス療法による腫瘍内の低酸素状態改善を生体内で確認可能であることが証明され、炭酸ガス療法の臨床応用に寄与すると考える。

研究成果の概要(英文)：Carbon dioxide (CO₂) treatment is reported to have an antitumor effect owing to the improvement in intratumoral hypoxia. Previous studies were based on histological analysis alone. In this study, the improvement in intratumoral hypoxia by percutaneous CO₂ treatment was evaluated in vivo using ¹⁸F-fluoromisonidazole (FMISO) PET-CT images. ¹⁸F-FMISO tumor uptake was quantitatively evaluated between the CO₂-treated group and a control group (air administration). The tumor volume was not significantly different between the two groups. The maximum standardized uptake value (SUV_{max}), tumor-to-liver ratio (TLR), metabolic tumor volume (MTV), and total lesion glycolysis (TLG) were significantly lower in the CO₂-treated group than in the control group. To conclude, ¹⁸F-FMISO PET revealed that percutaneous CO₂ treatment improved intratumoral hypoxia in vivo. This technique enables assessment of the therapeutic effect in CO₂ treatment by imaging, and may contribute to its clinical application.

研究分野：放射線医学

キーワード：二酸化炭素 腫瘍内低酸素 生体内 LM8腫瘍 ¹⁸F-FMISO PET-CT

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 炭酸ガスは血管拡張作用と Bohr 効果により組織中酸素分圧を増加させることが知られている。この効果を応用し、褥瘡などの損傷組織に対して経皮的に炭酸ガスを吸収させ、組織再生を促進する炭酸ガス療法が臨床応用されつつある。一方、がん組織内は低酸素環境であり、これが転移や悪性化、治療抵抗性と密接に関係するとされている。これまでに我々は動物モデルにおいて炭酸ガスの経皮的あるいは経動脈的投与において抗腫瘍効果が得られることを立証した。また、そのみならず、化学療法や放射線照射など既存の治療法と炭酸ガス療法との併用により増感作用があることも証明してきた。

(2) 炭酸ガス療法は抗腫瘍効果および化学療法などの増感作用が得られることが明らかとなったが、低酸素改善については低酸素誘導因子(HIF-1 ; Hypoxia-inducible factor-1)の減少など、病理組織学的な検証しかなされておらず、実際に生体内で腫瘍の低酸素化が改善しているかどうかについては不明であった。炭酸ガス療法の今後の臨床応用や本体解明において、治療効果の予測や判定、化学療法や放射線治療などの併用療法の適切なタイミングを調査するために、画像診断などの生体検査による評価が必須と考えられた。

2. 研究の目的

(1) 炭酸ガス療法に対する画像的なアプローチはこれまでに報告はない。また生体において腫瘍内の低酸素状態を評価するためのイメージング法を確立することができれば、治療効果判定や効果予測、化学療法等との併用治療のタイミングなど、臨床応用を行う上で必要となる検討が可能となる。

(2) 生体において、炭酸ガス療法による腫瘍の低酸素状態の改善を可視化する方法は定まっていない。そのため、治療前後での腫瘍の低酸素状態の改善の程度や持続時間といった事柄が不明なままである。炭酸ガス療法の作用機序の解明はもとより、前者は治療効果の予測や判定、後者は化学療法などの併用療法のタイミングなどを考えるうえでも極めて重要である。そのため、炭酸ガス療法を臨床に応用する上で、画像的な低酸素状態のイメージングは極めて重要な役割を果たすと考えた。

(3) 今後の炭酸ガス療法の臨床応用に向けて、低酸素イメージングである 18F-fluoromisonidazole (FMISO) を用いた PET を撮影することで、経皮的炭酸ガス療法による腫瘍内の低酸素状態改善を、腫瘍への 18F-FMISO の取り込み低下として生体画像で評価できるかどうかを確認することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) これまでの研究において、経皮的炭酸ガス療法による治療効果が高いことが判明しているマウス骨肉腫細胞株 (LM8) を使用することとした。生後 5 週のヌードマウスの皮下に LM8 腫瘍を移植し、2 週間後に 6 匹ずつ炭酸ガス療法群と対照群 (空気投与) に分類した。それぞれの治療を行った後に、18F-FMISO PET を用いて腫瘍内の低酸素状態を評価することとした。

炭酸ガス療法群と対照群のマウスに、事前の経皮的投与は行わず、18F-FMISO (平均投与量、 19.38 ± 0.82 MBq) を尾静脈から投与した直後にポリエチレンバッグ内に炭酸ガス、空気をそれぞれ充満させ、10 分間経皮的投与を行った。

18F-FMISO 投与の 2 時間後に PET-CT を撮影した。

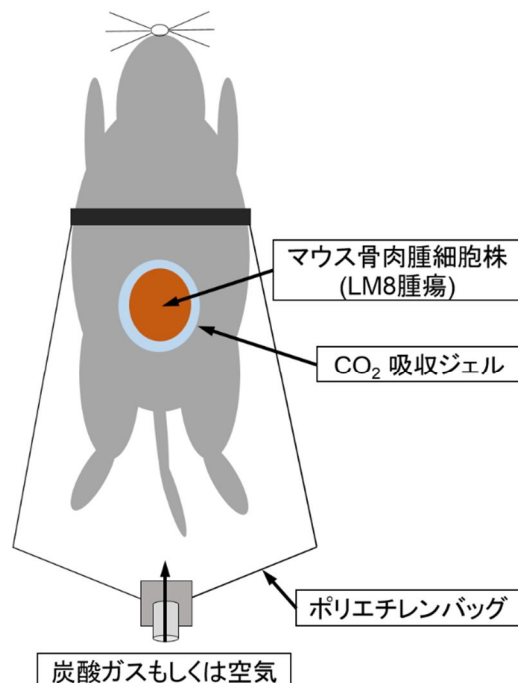


図1 炭酸ガスもしくは空気の経皮的投与方法

(2) 腫瘍内の低酸素状態(18F-FMISO の腫瘍内への取り込み)を SUV 最大画素値(SUVmax)、腫瘍対肝臓比(tumor-to-liver ratio: TLR)、腫瘍対筋肉比(tumor-to-muscle ratio: TMR)、代謝腫瘍体積(metabolic tumor volume: MTV)、総腫瘍代謝量(total lesion glycolysis: TLG)などの指標を用いて、定量的に評価し、2群間で比較した。上記指標はそれぞれ以下のように定義した【SUVmax; 腫瘍内の SUV の最も高い部分、TLR; SUVmax(腫瘍)/平均 SUV(肝臓)、TMR; SUVmax(腫瘍)/平均 SUV(殿筋)、MTV; FMISO を取り込んでいる腫瘍体積、TLG; 平均 SUV(腫瘍) × MTV】。MTV の閾値は過去の報告を参照にして、全腫瘍の平均 SUVmax (1.07 ± 0.28)の40%とし、SUV>0.4 の腫瘍体積を計測した。また腫瘍の体積を CT 画像から計測し、同様に2群間で比較した。

4. 研究成果

(1) 腫瘍体積は2群間で有意差は見られなかった(炭酸ガス療法群、 $1.178 \pm 0.450 \text{ cm}^3$; 対照群、 $1.368 \pm 0.295 \text{ cm}^3$; $P=0.485$)。低酸素状態の定量解析の結果、SUVmax、TLR、MTV(cm^3)、TLGにおいて、炭酸ガス療法群が対照群と比較して有意に低かった(0.880 ± 0.095 対 1.253 ± 0.071 , $P=0.015$; 1.063 ± 0.147 対 1.455 ± 0.078 , $P=0.041$; 0.353 ± 0.139 対 1.569 ± 0.438 , $P=0.015$; 0.182 ± 0.070 対 1.028 ± 0.338 , $P=0.015$)。TMRは対照群と比較して炭酸ガス療法群で低い傾向にあったが、2群間で有意差は見られなかった(4.520 ± 0.503 対 5.504 ± 0.310 , $P=0.240$)。TMRで有意差が見られなかった原因として炭酸ガス療法群において、筋肉内の酸素化が向上していた可能性が考えられる。

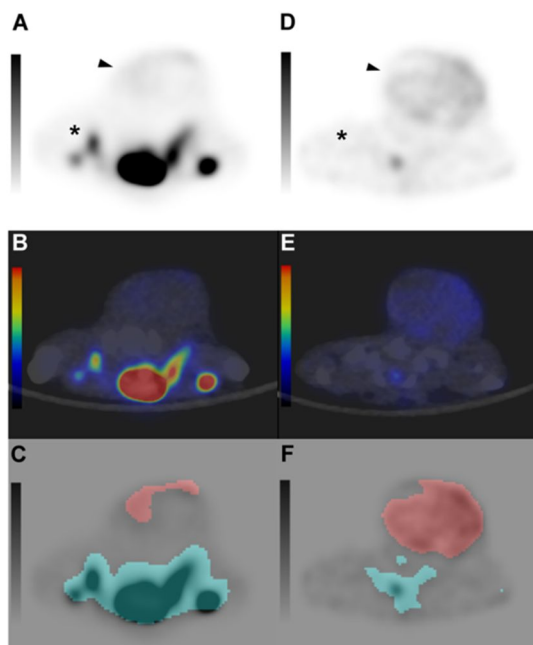


図2 横断像(18F-FMISO PET-CT)
 (A-C) 炭酸ガス療法群(SUVmax, 0.669; MTV, 0.56 cm^3)
 (D-F) 対照群(SUVmax, 1.532; MTV, 3.111 cm^3)
 (A・D)PET画像、(B・E)PET-CT fusion画像
 (C・F)MTV計測画像 ▶腫瘍 *殿筋
 MTV計測画像の赤は腫瘍内のSUV>0.4の範囲

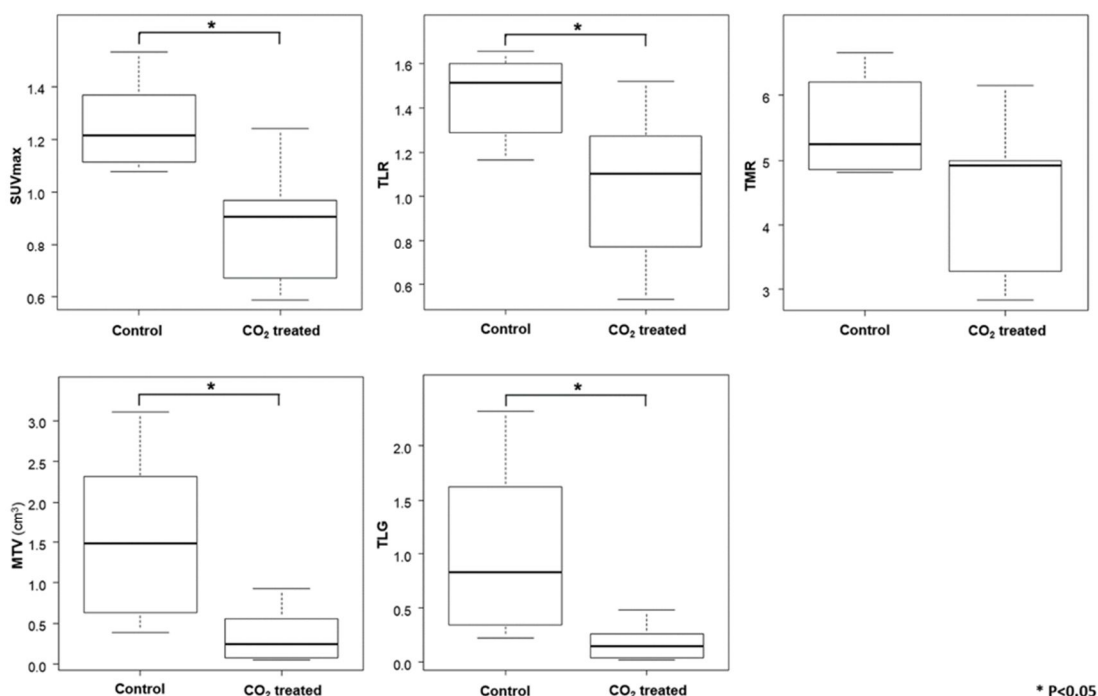


図3 箱ひげ図(SUVmax、TLR、TMR、MTV、TLG)

(2) 実験の結果、18F-FMISO PET を用いることで経皮的炭酸ガス療法による腫瘍内の低酸素状態改善を生体内で確認可能であった。この方法により炭酸ガス療法の治療効果を生体画像により評価することが可能となり、炭酸ガス療法の臨床応用に寄与すると考える。

(3) 今後、ラットを使用して経静脈的ルートから 18F-FMISO を用いた dynamic scan を行うことで、腫瘍内の低酸素状態改善の持続時間を詳細に評価したり、異なる腫瘍株（MFH、乳がん、扁平上皮癌、メラノーマ等）を移植したヌードマウスで今回と同様の実験を行っていくことで、炭酸ガス療法の臨床応用がより現実的なものになっていくと思われる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Maruyama Koji, Okada Takuya, Ueha Takeshi, Isohashi Kayako, Ikeda Hayato, Kanai Yasukazu, Sasaki Koji, Gentsu Tomoyuki, Ueshima Eisuke, Sofue Keitaro, Nogami Munenobu, Yamaguchi Masato, Sugimoto Koji, Sakai Yoshitada, Hatazawa Jun, Murakami Takamichi	4. 巻 21(3) : 207
2. 論文標題 In vivo evaluation of percutaneous carbon dioxide treatment for improving intratumoral hypoxia using 18F-fluoromisonidazole PET-CT	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Oncology Letters	6. 最初と最後の頁 1-7
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3892/ol.2021.12468	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1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 岡田卓也、丸山晃司、上羽岳志、磯橋佳也子、山口雅人、杉本幸司、村上卓道
2. 発表標題 炭酸ガス経皮吸収療法による腫瘍内低酸素状態改善の画像化の試み
3. 学会等名 炭酸ガス治療研究会
4. 発表年 2018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
研究協力者	岡田 卓也 (Okada Takuya)		
研究協力者	上羽 岳志 (Ueha Takeshi)		

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
研究協力者	磯橋 佳也子 (Isohashi Kayako)		
研究協力者	池田 隼人 (Ikeda Hayato)		
研究協力者	金井 泰和 (Kana i Yasukazu)		
研究協力者	佐々木 康二 (Sasaki Koji)		
研究協力者	元津 倫幸 (Gentsu Tomoyuki)		
研究協力者	上嶋 英介 (Ueshima Eisuke)		
研究協力者	祖父江 慶太郎 (Sofue Keitaro)		
研究協力者	野上 宗伸 (Nogami Munenobu)		

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
研究協力者	山口 雅人 (Yamaguchi Masato)		
研究協力者	杉本 幸司 (Sugimoto Koji)		
研究協力者	酒井 良忠 (Sakai Yoshitada)		
研究協力者	畑澤 順 (Hatazawa Jun)		
研究協力者	村上 卓道 (Murakami Takamichi)		

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