

令和 4 年 6 月 28 日現在

機関番号：12301

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2021

課題番号：18K17023

研究課題名（和文）口腔癌代謝リプログラミングを反映した新規PETバイオマーカーの探索

研究課題名（英文）Novel new PET biomarkers reflecting oral cancer metabolic reprogramming

研究代表者

金 舞 (Kim, Mai)

群馬大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：90625584

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）：口腔悪性腫瘍における、アミノ酸トランスポーターの発現とフルオロデオキシグルコースおよびアミノ酸PET画像における関連性を主軸として、炎症細胞や腫瘍微小環境がPET画像に及ぼす影響について、腫瘍代謝や腫瘍微小環境と治療抵抗性、新たなPETバイオマーカーとの関連が明らかになった。口腔癌における予後不良因子として、アミノ酸トランスポーター1の高発現群と関連して高い集積を有する群は、予後不良因子となる可能性が示された。さらに、腫瘍全体を評価した総腫瘍代謝Metabolic tumor volumeや総腫瘍代謝total lesion glycolysisの口腔癌における有用性についても研究報告した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

従来より、口腔癌治療前には画像検査による病変の原発巣や転移巣の評価が行われている。本研究で、非侵襲的な腫瘍代謝を考慮したPET画像検査を詳細に評価することで、腫瘍関心領域における治療前の腫瘍の治療抵抗性や予後不良因子を踏まえた病変の進展評価の可能性について報告することができた。研究開始年度は、手術・化学療法・放射線治療を組み合わせ、集学的治療が口腔癌における標準治療であったが、終了年度にはがん免疫サイクルを考慮した新たな治療も導入されている。引き続き、PETにおける腫瘍代謝を詳細に評価することで、腫瘍の不均一性やがんの微小循環環境の形成を評価する手段として応用する研究を継続していく。

研究成果の概要（英文）：The influence of inflammatory cells and tumor microenvironment on PET imaging, with a focus on the association between amino acid transporter expression and fluorodeoxyglucose and amino acid PET imaging in oral malignancies, and the association between tumor metabolism, tumor microenvironment and resistance to therapy, and new PET biomarkers. The results of the study revealed the following. A high amino acid transporter 1 expression group and a group with high accumulation in association with a high amino acid transporter 1 expression group were shown to be possible poor prognostic factors in oral cancer. In addition, the study reported on the usefulness of total tumor metabolism Metabolic tumor volume and total lesion glycolysis, which evaluated the entire tumor, in oral cancer.

研究分野：口腔癌におけるPET画像診断

キーワード：口腔癌 PET 腫瘍代謝画像 がんの微小循環環境

## 1. 研究開始当初の背景

口腔癌治療では外科的治療が第一選択とされ、正常組織を含めた安全領域を設定し、切除が行われる。しかし、口腔は狭小で複雑な解剖と機能を有する特殊な領域のため、術後の形態や機能面を考慮し、可及的に正常組織を温存する必要がある。癌組織発生・進展過程において特殊な微小環境を構成することで、低栄養・低酸素下で生存および増殖する癌代謝リプログラミングが注目されている。この癌代謝リプログラミング機構を新規 PET バイオマーカーにより画像情報化することは、口腔癌治療への応用に期待が寄せられている。

これら口腔癌における、癌代謝リプログラミングを PET バイオマーカーへ応用することを念頭に、申請者がこれまで研究してきた PET 画像を用いた口腔癌の顎骨浸潤診断能や腫瘍活動性と PET 集積との相関、口腔癌周囲における炎症細胞が PET 画像に与える影響など口腔癌に特化した PET 画像研究を応用し、研究を続けた。

## 2. 研究の目的

口腔癌における、低酸素環境下におけるアミノ酸代謝リプログラミング機構と、PET バイオマーカーを用いた画像情報との関連性を明らかにすることを目的としている。PET における臨床的に有用なイメージングバイオマーカーを明らかにすることで、腫瘍特性に合わせた治療法の組み合わせを可能とし、将来的には治療のダイアグラムの選択肢の多様性を提案できることが期待される。口腔癌治療前の画像評価に、PET 画像情報を用いた metabolism や molecular に焦点を当てた病態との関連性を解明することで、術後放射線治療における線量強度の調節や、新たな分子標的薬のモニタリング画像としても応用できることが期待される。

## 3. 研究の方法

In vitro 研究において、低酸素、低栄養状態が PET 集積へ与える影響について研究後、口腔癌細胞株におけるアミノ酸トランスポーター発現や、アミノ酸 PET トレーサー、低酸素トレーサーおよび従来の fluorodeoxyglucose との関連について調査した。

実際の口腔癌患者における PET イメージにおける代謝画像の有用性と予後予測について検討をした。従来は、腫瘍関心領域の最も高い活動性の集積 1pixel のみで評価 (Standardized uptake value maximum:SUVmax.) を用いていた。新たな代謝画像評価の項目として、口腔癌における原発巣病変全体の評価 (腫瘍代謝体積:metabolic tumor volume、腫瘍総糖代謝:total lesion glycolysis や total lesion retention) における、予後不良因子について臨床研究による検証を行なった。

## 4. 研究成果

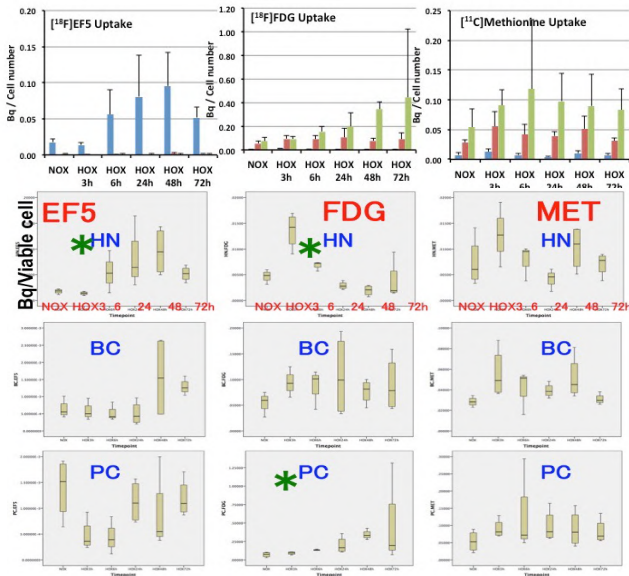
口腔癌代謝リプログラミングを反映した新規 PET バイオマーカーの探索し、口腔癌細胞の低酸素環境下におけるアミノ酸代謝リプログラミング機構と、PET バイオマーカーを用いた画像情報との関連性を明らかにすることができた。口腔悪性腫瘍病変全体の評価 (体積や代謝状態) の概念と PET 画像から得られる画像診断学的情報を組み合わせ、病理組織学的な進行度や転移、予後などの臨床情報と照らし合わせることで、これらの PET 画像バイオマーカーの新たな有用性を探索できたが特色である。

### **【図1】 In vitro 癌細胞株における低酸素環境下が PET 集積へ与える影響についての調査**

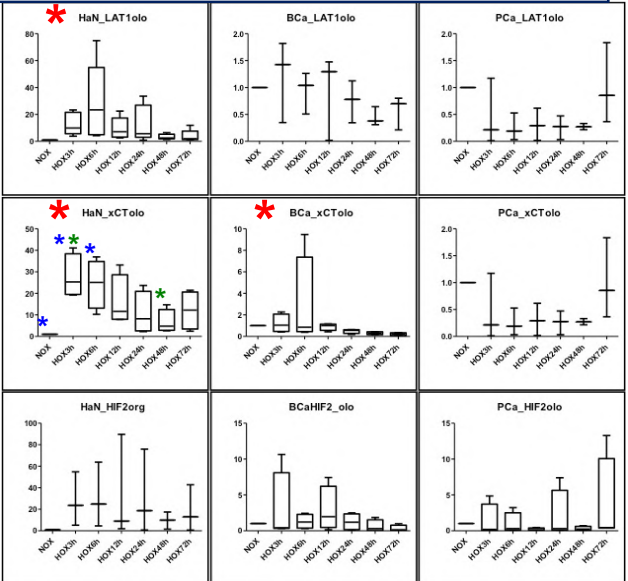
本研究では、口腔扁平上皮癌細胞株を用いて、異なる二酸化炭素濃度の低酸素環境下においた癌細胞に対して、PET イメージングトレーサーを添加した培地内で培養を行う。細胞に取り込まれた PET トレーサーをシンチレーションカウンターで計測し、二酸化炭素濃度と放射能の相関について検討を行なった。同様に異なる二酸化濃度の低酸素環境下においた頭頸部癌細胞株に対して、アミノ酸 PET トレーサーを添加した培地内で細胞培養を行う。低酸素環境下におかれた時間ごと (3・6・12・24・48・72 時間) にアミノ酸の細胞への取り込みについて検討を行う。また、頭頸部癌細胞株以外の乳癌および前立腺癌も比較対象として設定し、異なる癌腫間での違いについても検討した。検討の結果、低酸素イメージングである EF5 トレーサーと頭頸部癌の取り込みにおいて統計学的な有意差を認めた。また、ウェスタンブロッティング解析の結果、頭頸部癌におけるアミノ酸トランスポーター Large neutral amino acid transporter (LAT1) や Cystine/Glutamic acid transporter (xCT) トランスポーターについて高発現を有していることが、癌細胞株の in vitro 実験で明らかになった。

# Result

## In vitro uptake with PET tracer



## Western blot analysis for Amino acid transporter



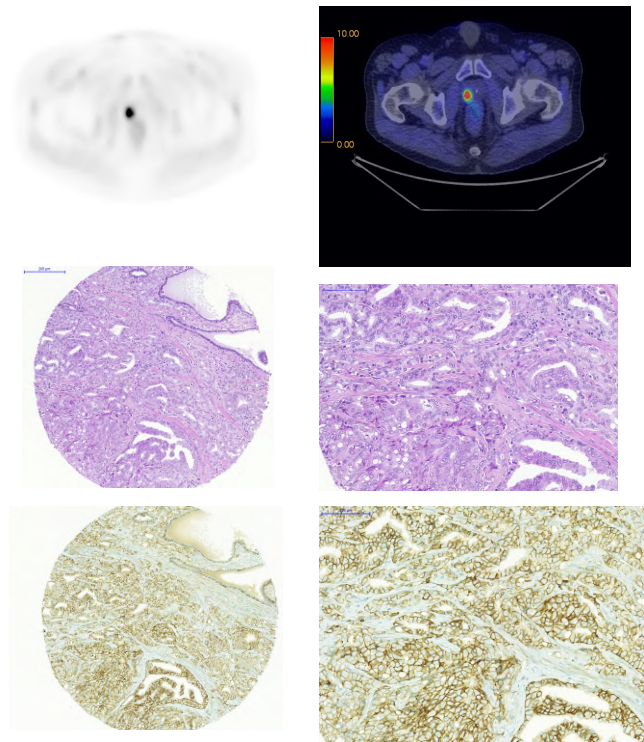
	NOX HOX3 6 12 24 48 72h	HeadandNeck UT-SCC74A	BCa MDA-MB231	PCa PC-3
HaN		non-para n.s	parametric n.s	non-para n.s
BCa		P=0.773	P=0.788	P=0.157
PCa		P<0.05	P=0.542	P=0.104
		P=0.005		P=0.153
HaN		non-para n.s	non-para n.s	non-para n.s
BCa		P=0.82	P=0.404	P=0.597
PCa		parametric P<0.05	non-para P=0.012	non-para n.s
		P=0.005		P=0.153
HaN		non-para n.s	non-para n.s	non-para n.s
BCa		P=0.296	P=0.461	P=0.972
PCa		non-para n.s	non-para n.s	non-para n.s
		P=0.440	P=0.325	P=0.220
parametric		1way-ANOVA Result: HaN xCT% multiple comparison_Tukey's honestly significant difference test NOX and HOX3h, 6h		
		multiple comparison Turkey's honestly significant difference test		
non-parametric		Kruskal-Wallistest		

## 【図2】アミノ酸代謝イメージング<sup>18</sup>F-FACBC集積とPET, 免疫組織学的検討 (ASCT2, LAT1)

細胞株による検討をもとに、前立腺がんにおけるアミノ酸トレーサーであるFACBC製剤における集積と病理組織学的検討項目について検討を行った。

前立腺がんの主な治療法は、監視療法、手術（外科治療）、放射線治療、内分泌療法（ホルモン療法）、化学療法が選択される。

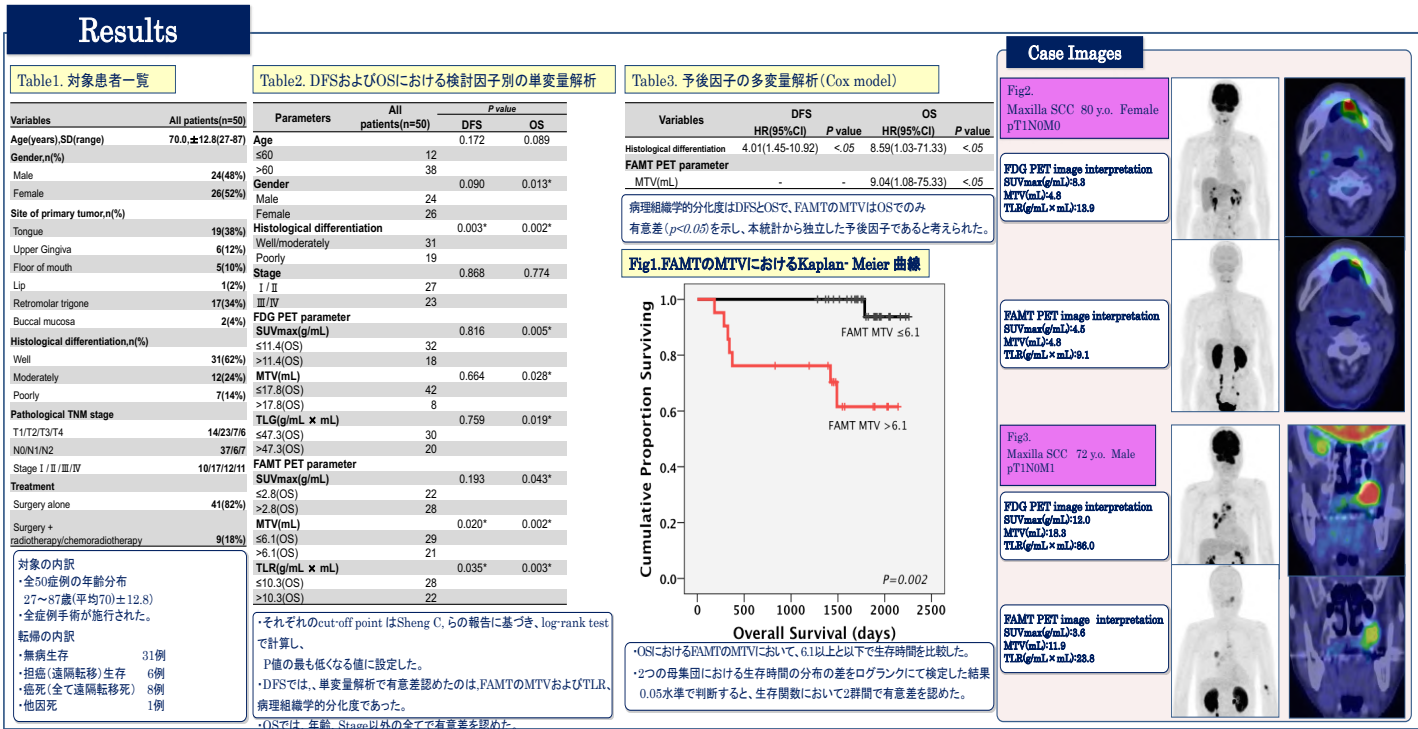
前立腺右葉に結節性病変を認め、同部位にFACBCのSUVmax. =9.5の高集積を認めた。Gleason scoreは4+5で高悪性を呈しており、ヘマトキシリンエオジン染色で腫瘍細胞を認める領域のアミノ酸トランスポーターは、ASCT2/LAT1でも濃染を認めた。



**【図3】悪性腫瘍の活性化を評価、治療効果予測できる biomarker としての**

**予後予測因子の検討**

申請者施設における口腔癌標準治療を行なった患者を対象に、PET のパラメーターにおける腫瘍代謝評価と予後予測について、FDG PET トレーサーとアミノ酸トレーサーにおける腫瘍代謝について比較検討を行なった。本報告では 1pixel のみの評価となる SUVmax のデメリットが反映し、悪性腫瘍の volume を考慮した PET parameter や、悪性腫瘍に特異的に発現する LAT1 を介して集積するアミノ酸トレーサーを用いた代謝画像による評価を追加することで、より良好な予後予測因子の指標となる可能性が示唆された。



ここ数年の分子生物学、工学技術の著しい発展に伴い、PET 撮像条件や解析状況も腫瘍組織への集積の程度にとどまらず、ボリューム解析や、代謝解析、腫瘍不均一性などについても評価が可能となってきた。同時に、これまではトランスポーター発現は、切除標本からの免疫化学染色に頼るところが大きかったが、パラフィン包埋切片からの腫瘍ゲノム解析が可能となってきている。口腔癌の臨床治療における治療抵抗性症例においても現在は保険収載され、遺伝子パネル検査が実施されている。

本研究成果を基に、治療抵抗性を認めた症例と、標準治療にて制御できている症例についてのPET 画像の集積状態や、代謝、コントラストやエントロピーなど腫瘍不均一性やがん微小循環環境の画像評価について治療抵抗性口腔癌の新たな画像バイオマーカーとなるような texture 解析と、新たな知見へと研究成果を進展し、継続して研究に挑戦している。最終的な腫瘍免疫応答による画像評価の鑑別という目標達成については、腫瘍の遺伝子型、表現型も考慮した Omics 解析との関連性の確認が必要であり、本研究成果を今後口腔癌の Omics 解析を基軸とした PET 画像におけるプレジジョンメディシンの構築に貢献したいと考えている。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計11件（うち査読付論文 9件 / うち国際共著 3件 / うちオープンアクセス 8件）

1. 著者名 Kim Mai, Dam Trang Thuy, Ogawa Masaru, Shimizu Takahiro, Yamaguchi Takahiro, Suzuki Keisuke, Asami Takuya, Kurihara Jun, Yokoo Satoshi	4. 巻 29
2. 論文標題 Predictive factors for dental inflammation with exacerbation during cancer therapy with FDG-PET/CT imaging	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Supportive Care in Cancer	6. 最初と最後の頁 4277 ~ 4284
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00520-020-05909-9	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 KURIYAMA KENGO, SOHDA MAKOTO, WATANABE TAKAYOSHI, SAITO HIDEYUKI, YOSHIDA TOMONORI, HARA KEIGO, SAKAI MAKOTO, KIM MAI, ASAMI TAKUYA, YOKOO SATOSHI, KUWANO HIROYUKI, SHIRABE KEN, SAEKI HIROSHI	4. 巻 41
2. 論文標題 Resistance to Preoperative Oral Care Is Associated With Postoperative Pneumonia After Oesophageal Cancer Surgery	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Anticancer Research	6. 最初と最後の頁 1507 ~ 1514
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21873/anticancer.14909	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 Kim Mai, Gu Wenchao, Nakajima Takahito, Higuchi Tetsuya, Ogawa Masaru, Shimizu Takahiro, Yamaguchi Takahiro, Takahashi Ayako, Tsushima Yoshito, Yokoo Satoshi	4. 巻 inpress
2. 論文標題 Texture analysis of [18F]-fluorodeoxyglucose-positron emission tomography/computed tomography for predicting the treatment response of postoperative recurrent or metastatic oral squamous cell carcinoma treated with cetuximab	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Annals of Nuclear Medicine	6. 最初と最後の頁 inpress
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12149-021-01623-6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Shimizu Takahiro, Kim Mai, Dam Trang Thuy, Kurihara Jun, Ogawa Masaru, Makiguchi Takaya, Yokoo Satoshi	4. 巻 inpress
2. 論文標題 Predictive factors for refractory stage I and II anti-resorptive agent-related osteonecrosis of the jaw	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Oral Radiology	6. 最初と最後の頁 inpress
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11282-021-00547-1	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 Suzuki Keisuke, Kurihara Jun, Kim Mai, Yanagisawa Sakura, Ogawa Masaru, Makiguchi Takaya, Yokoo Satoshi	4. 巻 37
2. 論文標題 Image screening for maxillo-mandibular actinomycosis with CT, 18F-FDG-PET/CT, and 18F- -methyl tyrosine PET/CT	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Oral Radiology	6. 最初と最後の頁 46 ~ 54
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11282-020-00421-6	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 Yamaguchi T., Makiguchi T., Nakamura H., Yamatsu Y., Hirai Y., Shoda K., Suzuki K., Kim M., Kurozumi S., Motegi S.I., Shirabe K., Yokoo S.	4. 巻 in press
2. 論文標題 Impact of muscle volume loss on acute oral mucositis in patients undergoing concurrent chemoradiotherapy after oral cancer resection	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ijom.2020.12.005	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 Suzuki K, Kurihara J, Kim M, Yanagisawa S, Ogawa M, Makiguchi T, Yokoo S.	4. 巻 1
2. 論文標題 Image screening for maxillo-mandibular actinomycosis with CT, 18F-FDG-PET/CT, and 18F- -methyl tyrosine PET/CT.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Oral Radiology	6. 最初と最後の頁 15
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 Saarinen Irena, Jambor Ivan, Kim Mai, Kuisma Anna, Kempainen Jukka, Merisaari Harri, Eskola Olli, Koskenniemi Anna-Riina, Perez Ileana Montoya, Bostr?m Peter, Taimen Pekka, Minn Heikki	4. 巻 9
2. 論文標題 Correlation between 18F-1-amino-3-fluorocyclobutane-1-carboxylic acid (18F-fluciclovine) uptake and expression of alanine-serine-cysteine-transporter 2 (ASCT2) and L-type amino acid transporter 1 (LAT1) in primary prostate cancer	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 EJNMMI Research	6. 最初と最後の頁 50
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13550-019-0518-5	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 Mai Kim, Tamiko Ishizu, Sarita Forsback, Olli Eskola, Eveliina Arponen, Johanna Tuomela, Heikki Minn, Tove J Gonroos	4. 巻 1
2. 論文標題 Impact of hypoxia on the expression of amino acid transporters and the uptake of [11C]methionine in cancer cell lines: head and neck, breast and prostate.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Oral science in JAPAN	6. 最初と最後の頁 12-16
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Mai Kim, Tamiko Ishizu, Sarita Forsback, Olli Eskola, Eveliina Arponen, Johanna Tuomela, Heikki Minn, Tove J Gronroos	4. 巻 1
2. 論文標題 Impact of hypoxia on the expression of amino acid transporters and uptake of [11C] methionine in head and neck, breast, and prostate cancer cell lines	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Oral science in JAPAN	6. 最初と最後の頁 15-17
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Kim Mai, Higuchi Tetsuya, Nakajima Takahito, Andriana Putri, Hirasawa Hiromi, Tokue Azusa, Kurihara Jun, Yokoo Satoshi, Tsushima Yoshito	4. 巻 1
2. 論文標題 18F-FDG and 18F-FAMT PET-derived metabolic parameters predict outcome of oral squamous cell carcinoma	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Oral Radiology	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) 10.1007/s11282-019-00377-2	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6件(うち招待講演 2件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 金 舞, 小川 将, 清水崇寛, 樋口徹也, 対馬義人, 横尾 聡
2. 発表標題 Cetuximabu投与患者におけるPET biomarkerを用いた治療効果予測
3. 学会等名 第38回口腔腫瘍学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 金舞
2. 発表標題 口腔扁平上皮癌におけるFAMT-PET/CTを用いた骨髄浸潤と腫瘍進展範囲の評価；FDG-PET/CTおよびMRIとの比較
3. 学会等名 第60回日本歯科放射線学会学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 金舞
2. 発表標題 口腔癌再発・転移症例のCetuximab投与患者における18F-FDG-PET imaging biomarkerを用いた治療 効果に関する検討
3. 学会等名 日本口腔外科学会総会・学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 金舞
2. 発表標題 口腔癌の集学的治療に対する代謝PETイメージングの検討
3. 学会等名 第13回口腔顎顔面核医学フォーラムミニレクチャー（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 金舞
2. 発表標題 術前FDG-PET/CTを用いた周術期口腔機能管理患者における口腔有害事象発症リスクに関する検討：パイロットスタディー
3. 学会等名 臨床画像大会
4. 発表年 2018年



1. 発表者名 金舞
2. 発表標題 口腔癌の集学的治療に対する代謝PETイメージングの検討
3. 学会等名 口腔顎顔面核医学フォーラム（招待講演）
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 金舞 徳江梓 樋口徹也 横尾聡 対馬義人	4. 発行年 2018年
2. 出版社 メジカルビュー社	5. 総ページ数 131
3. 書名 臨床画像診断	

〔産業財産権〕

〔その他〕

群馬大学大学院医学系研究科 口腔顎顔面外科学講座・形成外科学講座 <a href="http://oamfs.med.gunma-u.ac.jp">http://oamfs.med.gunma-u.ac.jp</a>
---

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

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
---------	---------