

令和 6 年 6 月 10 日現在

機関番号：31201

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2023

課題番号：20K08004

研究課題名（和文）膠芽腫におけるグリオーマ幹細胞の高分布領域の同定に関する研究

研究課題名（英文）Identification of highly densed areas of glioma-stem cells in glioblastoma.

研究代表者

別府 高明（Beppu, Takaaki）

岩手医科大学・医学部・教授

研究者番号：70275543

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：膠芽腫において、低酸素細胞トレーサー 18F-FRP170 (FRP170) とアミノ酸トレーサー 11C-methionine (Met) が positron emission tomography (PET) で重複して集積する部分にはグリオーマ幹細胞が高密度に存在していることを立証することを目的とし研究を実施した。結果として、両トレーサーがベン図の如く重複する部分を10例全例で認め、同部の組織は微小壊死と血管増生が近接して混在する組織であった。また、重複集積部の組織内ではグリオーマ幹細胞マーカーであるnestin, CD133, SOX2, musashi-1の陽性細胞が高率に存在していた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

膠芽腫において18F-FRP170と11C-methionineが重複して集積する箇所は、腫瘍幹細胞の至適箇所とされている低酸素組織と血管近傍組織が近接して混在する組織であり、グリオーマ幹細胞関連蛋白を発現する腫瘍細胞が高密度に存在したことから、同部はグリオーマ幹細胞様腫瘍細胞の高密度領域である可能性が示唆された。

腫瘍幹細胞は放射線治療や薬物治療に抵抗性を有するとされており、18F-FRP170と11C-methionineの2つのトレーサーによるPET画像によって、治療における究極的な標的部位を視覚化できることは今後の膠芽腫治療の一助となる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：The aim of the current study is to clarify whether glioma-stem cells densely exist within glioblastoma tissues showing high-uptakes of both tracers for hypoxic cells (18F-FRP170) and amino-acid metabolic cells (11C-methionine) on positron emission tomography (PET). As a result, lesions showing high-uptake of both tracers were depicted on PET in all of 10 patients. Those tissues microscopically included micro-necroses and proliferating micro-vessels. In addition, glioma stem-like cells stained with nestin, CD133, SOX2, musashi-1 were detected in those tissues.

研究分野：脳腫瘍

キーワード：膠芽腫 PET 腫瘍幹細胞

### 1. 研究開始当初の背景

腫瘍幹細胞は放射線治療や薬物治療に抵抗性を持つことから集学的治療における究極的な標的といえる。悪性脳腫瘍の中で最も予後の悪い膠芽腫においても腫瘍幹細胞 (glioma-stem cell, GSC) の制御は治療において重要である。膠芽腫において GSC が高密度で存在する腫瘍内局在部位を神経画像によって可視化できれば、臨床において有意義であると思われる。

腫瘍幹細胞の多く存在する腫瘍内の部位は、壊死組織近傍あるいは血管周囲組織とされ、GSC による高度の腫瘍細胞増殖を示す。壊死組織の近傍は低酸素状態であり、血管周囲組織は逆に比較的高酸素で腫瘍細胞増殖が盛んでアミノ酸代謝が高いと推測される。また、GSC は腫瘍創始・自己複製・自己再生のために激しいメチオニン代謝を呈している。そこで、positron emission tomography (PET) に用いる種々のトレーサーの中で、低酸素細胞トレーサーである  $^{18}\text{F}$ -FRP170 (FRP170) とアミノ酸代謝トレーサーである  $^{11}\text{C}$ -methionine (MET) が重複して高集積する箇所は、GSC が密に分布している可能性が高いという推測に至った。

### 2. 研究の目的

膠芽腫において、低酸素細胞トレーサー FRP170 とアミノ酸代謝トレーサー MET が重複して集積する箇所は、GSC が高密度に分布している、という仮説を明らかにすることを目的とした。

### 3. 研究の方法

未治療の膠芽腫 10 症例において、腫瘍摘出術の前に FRP170 と MET による PET 画像を撮像し、各症例の腫瘍摘出術の際に、FRP170 単独高集積部、MET 単独高集積部、両トレーサーが重複して高集積する部位の 3 箇所を手術ナビゲーションシステムを用いて 3 次元的に同定し、3 か所それぞれの腫瘍組織を採取した (図 1)。これらのサンプルを用いて、3 か所の腫瘍組織を HE 染色標本で観察し差異を検討した。さらに、GSC 関連マーカーである CD133, SOX2, musashi-1 のそれぞれを免疫染色し、各マーカーの発現程度を 3 か所の組織間で比較した。

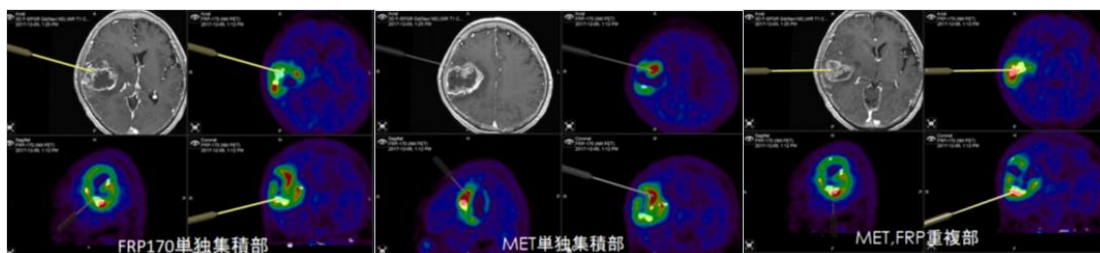


図 1 左図、FRP170 の高集積部は白色で表示。 中図、MET の高集積部は赤色で表示している。 右図、FRP170 と MET の両者を co-registration した画像。FRP170 と MET の高集積部が一部

で重複しているのがわかる。

#### 4. 研究成果

全症例において、両トレーサーが重複して高集積する部位を PET 画像上で確認できた。同部の組織は微小壊死と微小血管の増生が盛んな組織が混在する組織であった。一方、FRP170 が単独で集積する部位の組織は中等度の大きさの壊死組織が含まれることが多く、MET が単独で集積する部位の組織は腫瘍細胞が高密度の増殖する傾向が強かった（図 2）。重複集積部の組織内では CD133, SOX2, musashi-1 の陽性細胞が高率に存在しており、3 か所間で染色陽性率に有意差はなかったが、すべてのマーカーにおいて重複部が最も陽性率が高かった（図 3）。

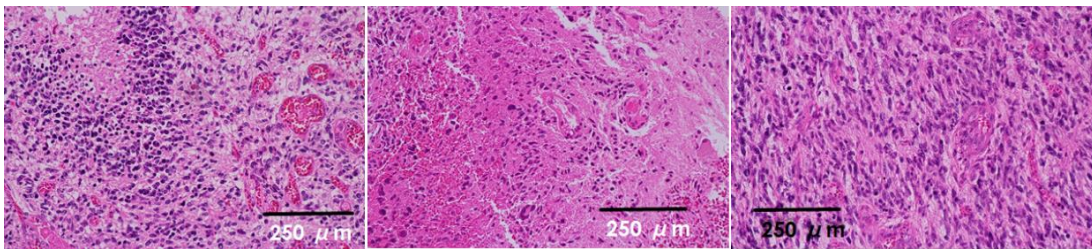


図 2 HE 染色組織の比較 左図、FRP170 と MET の重複集積部 中図、FRP170 単独集積部 右図、MET 単独集積部

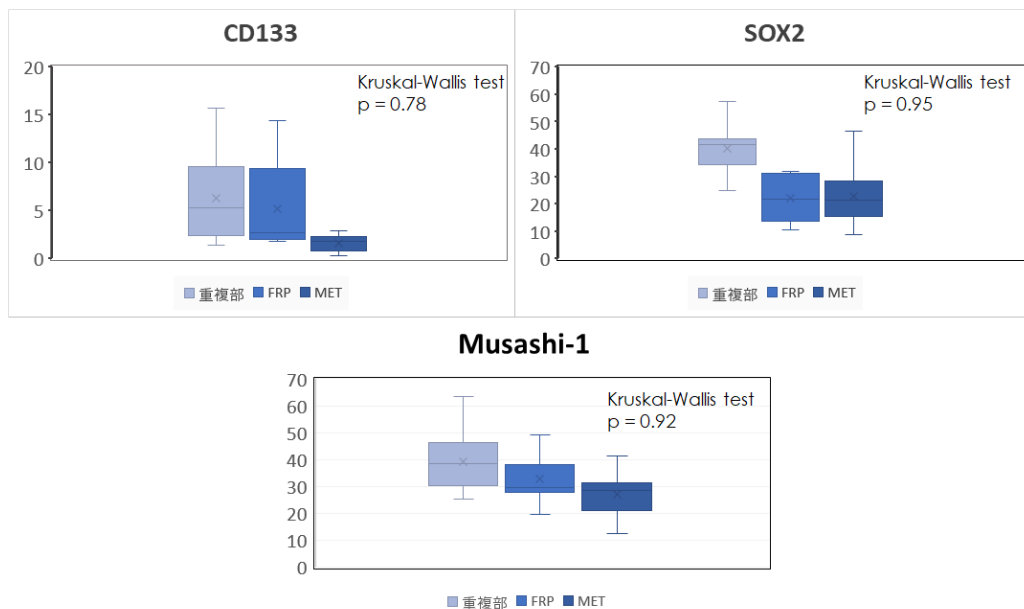


図 3 3 か所の組織間における各 GSC 関連マーカーの免疫染色陽性率の比較 すべてのマーカーにおいて重複集積部の組織が最も陽性率が高かった

以上により、膠芽腫において FRP170 と MET が重複して集積する箇所は、腫瘍幹細胞の至適箇所とされている低酸素組織と血管近傍組織が近接して混在する組織であり、GSC の関連蛋白を発現する腫瘍細胞が高率に存在したことから、同部は GSC の高密度な局在部位である可能性が示唆された。

放射線治療や薬物治療に抵抗性を有する究極的な治療標的である **GSC** が高密度に集積する部位を、**FRP170** と **MET** の2つのトレーサーによる **PET** 画像によって視覚化できる可能性は、今後の膠芽腫治療に大きな影響を与える可能性につながることを期待された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 7件）

|  |                        |
|--|------------------------|
| 1. 著者名<br>Beppu T, Iwaya T, Sato Y, Nomura J, Terasaki K, Sasaki T, Yamada N, Fujiwara S, Sugai T, Ogasawara K.  | 4. 巻<br>47             |
| 2. 論文標題<br>Positron emission tomography with 11C-methyl-L-methionine as a predictor of consequential outcomes at the time of discontinuing temozolomide-adjuvant chemotherapy in patients with residual IDH-mutant lower-grade glioma. | 5. 発行年<br>2022年        |
| 3. 雑誌名<br>Clin Nucl Med  | 6. 最初と最後の頁<br>569-574  |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>10.1097/RLU.0000000000004221. E2022   | 査読の有無<br>有             |
| オープンアクセス<br>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<br>-              |
| 1. 著者名<br>Kitakami K, Beppu T, Sato Y, Kurose A, Ogasawara K.  | 4. 巻<br>18             |
| 2. 論文標題<br>Utility of arterial spin labeling for objective assessment of intratumoral microvessels in diffuse hemispheric glioma, H3 G34R-mutant: a case report and literature review.   | 5. 発行年<br>2022年        |
| 3. 雑誌名<br>Radiology Case Reports   | 6. 最初と最後の頁<br>856-861  |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>10.1016/j.radcr.2022.11.074   | 査読の有無<br>有             |
| オープンアクセス<br>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<br>-              |
| 1. 著者名<br>Beppu T, Iwaya T, Sato Y, Nomura J, Terasaki K, Sasaki T, Yamada N, Fujiwara S, Sugai T, Ogasawara K   | 4. 巻<br>in press       |
| 2. 論文標題<br>Positron emission tomography with 11C-methyl-L-methionine as a predictor of consequential outcomes at the time of discontinuing temozolomide-adjuvant chemotherapy in patients with residual IDH-mutant lower-grade glioma  | 5. 発行年<br>2022年        |
| 3. 雑誌名<br>Clin Nucl Med  | 6. 最初と最後の頁<br>in press |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>10.1097/RLU.0000000000004221  | 査読の有無<br>有             |
| オープンアクセス<br>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<br>-              |
| 1. 著者名<br>Beppu T, Sato Y, Sasaki T, Terasaki K, Iwaya T, Ogasawara K  | 4. 巻<br>3              |
| 2. 論文標題<br>Prediction of outcome at the time of discontinuing TMZ-adjuvant therapy in IDH-mutant lower grade glioma using 11C-methinine PET  | 5. 発行年<br>2022年        |
| 3. 雑誌名<br>Neuro-Oncology Advances  | 6. 最初と最後の頁<br>vi20     |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>10.1093/nojnl/vdab159.075   | 査読の有無<br>無             |
| オープンアクセス<br>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<br>-              |

|  |                        |
|--|------------------------|
| 1. 著者名<br>Asano K, Yamashita Y, Ono T, Natsumeda M, Beppu T, Matsuda K, Ichikawa M, Kanamori M, Matsuzaka M, Kurose A, Fumoto T, Saito K, Sonoda Y, Ogasawara K, Fujii Y, Shimizu H, Ohkuma H, Kitanaka C, Kayama T, Tominaga T                  | 4. 巻<br>in press       |
| 2. 論文標題<br>Clinicopathological risk factors for a poor prognosis of primary central nervous system lymphoma in elderly patients in the Tohoku and Niigata area: a multicenter, retrospective, cohort study of the Tohoku Brain Tumor Study Group | 5. 発行年<br>2022年        |
| 3. 雑誌名<br>Brain Tumor Pathology  | 6. 最初と最後の頁<br>in press |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1007/s10014-022-00427-4   | 査読の有無<br>有             |
| オープンアクセス<br>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<br>-              |

|   |                     |
|---|---------------------|
| 1. 著者名<br>Asano K, Yamashita Y, Ono T, Natsumeda M, Beppu T, Matsuda K, Ichikawa M, Kanamori M, Matsuzaka M, Kurose A, Saito K, Sonoda Y, Ogasawara K, Fujii Y, Shimizu H, Ohkuma H, Kitanaka C, Kayama T, Tominaga T.              | 4. 巻<br>27          |
| 2. 論文標題<br>The Real-World status and risk factors for a poor prognosis in elderly patients with primary central nervous system malignant lymphomas: a multicenter, retrospective cohort study of the Tohoku Brain Tumor Study Group | 5. 発行年<br>2022年     |
| 3. 雑誌名<br>Int J Clin Oncol  | 6. 最初と最後の頁<br>77-94 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1007/s10147-021-02042-3  | 査読の有無<br>有          |
| オープンアクセス<br>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<br>-           |

|   |                         |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名<br>Narita Y, Muragaki Y, Kagawa N, Asai K, Nagane M, Matsuda M, Ueki K, Kuroda J, Date I, Kobayashi H, Kumabe T, Beppu T, Kanamori M, Kasai S, Nishimura Y, Xiong H, Ocampo C, Yamada M, Mishima K | 4. 巻<br>112             |
| 2. 論文標題<br>Safety and efficacy of depatuxizumab mafodotin in Japanese patients with malignant glioma: A nonrandomized, phase 1/2 trial  | 5. 発行年<br>2021年         |
| 3. 雑誌名<br>Cancer Sci  | 6. 最初と最後の頁<br>5020-5033 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1111/cas.15153   | 査読の有無<br>有              |
| オープンアクセス<br>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<br>-               |

|  |                         |
|--|-------------------------|
| 1. 著者名<br>Setta K, Beppu T, Sato Y, Saura H, Nomura JI, Sugai T, Ogasawara K   | 4. 巻<br>15              |
| 2. 論文標題<br>Primary cranial vault lymphoma extending between subcutaneous tissue and brain parenchyma without skull destruction after mild head trauma: A case report and literature review | 5. 発行年<br>2021年         |
| 3. 雑誌名<br>Case Rep Oncol   | 6. 最初と最後の頁<br>1118-1123 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1159/000516272. PMID: 34413742  | 査読の有無<br>有              |
| オープンアクセス<br>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<br>-               |

|   |                       |
|---|-----------------------|
| 1. 著者名<br>Yanagihara Wataru, Beppu Takaaki, Ogasawara Yasushi, Ito Shigeki, Sato Yuichi, Sugai Tamotsu, Ogasawara Kuniaki | 4. 巻<br>134           |
| 2. 論文標題<br>Primary Plasmacytoma in the Cerebellum: A Case Report and Literature Review                                    | 5. 発行年<br>2020年       |
| 3. 雑誌名<br>World Neurosurgery  | 6. 最初と最後の頁<br>10 ~ 13 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1016/j.wneu.2019.10.036  | 査読の有無<br>有            |
| オープンアクセス<br>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<br>-             |

〔学会発表〕 計9件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件)

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>Beppu T   |
| 2. 発表標題<br>Synergistic effect from combination of tumor-treating fields therapy (TTF) and temozolomide in a patient with secondary glioblastoma. |
| 3. 学会等名<br>Clinical Excellence in GBM meeting (招待講演) (国際学会)  |
| 4. 発表年<br>2022年  |

|                                      |
|--------------------------------------|
| 1. 発表者名<br>別府高明、佐藤雄一、野村順一、藤原俊朗、小笠原邦昭 |
| 2. 発表標題<br>膠芽腫に対する術前アバスチン投与の有用性      |
| 3. 学会等名<br>第81回日本脳神経外科学会総会           |
| 4. 発表年<br>2022年                      |

|                                      |
|--------------------------------------|
| 1. 発表者名<br>別府高明、佐藤雄一、野村順一、藤原俊朗、小笠原邦昭 |
| 2. 発表標題<br>膠芽腫に対する術前ペバシズマブ投与の臨床的意義   |
| 3. 学会等名<br>第40回日本脳腫瘍学会               |
| 4. 発表年<br>2022年                      |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>別府高明、佐藤雄一、佐々木敏秋、寺崎一典、藤原俊朗、小笠原邦昭        |
| 2. 発表標題<br>膠芽腫における低酸素細胞トレーサー-18F-FRP170集積部位の腫瘍内環境 |
| 3. 学会等名<br>第44回日本脳神経CI学会                          |
| 4. 発表年<br>2021年                                   |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>別府高明、佐藤雄一、佐々木敏秋、寺崎一典、岩谷岳、小笠原邦昭                      |
| 2. 発表標題<br>メチオニンPETはlower grade gliomaのテモゾロマイド維持療法中止時の予後予測に有用か |
| 3. 学会等名<br>第80回日本脳神経外科学会総会                                     |
| 4. 発表年<br>2021年  |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>別府高明、佐藤雄一、佐々木敏秋、寺崎一典、岩谷岳、小笠原邦昭           |
| 2. 発表標題<br>メチオニンPETによるIDH変異型低悪性神経膠腫の維持療法終了時における予後予測 |
| 3. 学会等名<br>第39回日本脳腫瘍学会                              |
| 4. 発表年<br>2021年                                     |



|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>別府高明、佐藤雄一、小笠原邦昭                                  |
| 2. 発表標題<br>11C-methionine PETはテモゾロマイド維持療法終了の判断とその後の予後予測に有用か |
| 3. 学会等名<br>第79回日本脳神経外科学会総会                                  |
| 4. 発表年<br>2020年   |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>別府高明、佐藤雄一、小笠原邦昭                     |
| 2. 発表標題<br>11C-methionine PETはテモゾロマイド維持療法終了の決定 |
| 3. 学会等名<br>第38回日本脳腫瘍学会                         |
| 4. 発表年<br>2020年                                |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>別府高明、佐藤雄一、佐々木敏秋、寺崎一典、藤原俊朗、小笠原邦昭       |
| 2. 発表標題<br>膠芽腫における低酸素細胞トレーサー18F-FRP170集積部位の腫瘍内環境 |
| 3. 学会等名<br>第44回日本脳神経CI学会                         |
| 4. 発表年<br>2021年                                  |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

|               | 氏名<br>(ローマ字氏名)<br>(研究者番号)                          | 所属研究機関・部局・職<br>(機関番号)                      | 備考 |
|---------------|--|--|----|
| 研究<br>分担<br>者 | 寺崎 一典<br><br>(Terasaki Kazunori)<br><br>(60285632) | 岩手医科大学・医歯薬総合研究所・准教授<br><br><br><br>(31201) |    |

6. 研究組織（つづき）

|                   | 氏名<br>(ローマ字氏名)<br>(研究者番号)                         | 所属研究機関・部局・職<br>(機関番号)                    | 備考 |
|-------------------|---|--|----|
| 研究<br>分<br>担<br>者 | 藤原 俊朗<br><br>(Fujiwara Shunrou)<br><br>(60405842) | 岩手医科大学・薬学部・講師<br><br><br><br><br>(31201) |    |

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 |
|---------|---------|
|         |         |