

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 25 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(A)

研究期間：2011～2014

課題番号：23240077

研究課題名(和文)超高分解能PETによる抗腫瘍効果診断に基づく腫瘍血流遮断型の革新的粒子線治療技術

研究課題名(英文)Novel ion-beam therapy technology combined with a vascular disrupting agent based on assessment of treatment effects using a high-resolution PET

研究代表者

寺川 貴樹(Terakawa, Atsuki)

東北大学・工学(系)研究科(研究院)・准教授

研究者番号：10250854

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 38,500,000円

研究成果の概要(和文)：陽子線治療と腫瘍血流遮断剤を併用する新規治療法の開発を目的とし、マウス固形腫瘍による治療実験を実施した。本研究の高精度照射のために、マイクロパターンガス検出器による新規ビームモニターの開発に成功し治療実験に用いた。治療効果を $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ と $[^{18}\text{F}]\text{FMISO}$ を用いた超高分解能PETと、腫瘍増殖遅延測定から評価した。その結果、単回併用治療において、腫瘍増殖遅延に相加的效果があるだけでなく、腫瘍中心部の広範囲に細胞死が誘発されたが、腫瘍の辺縁部に低酸素状態を含む腫瘍細胞の生存領域が認められた。よって、単回治療後の2回目の併用治療が腫瘍細胞を完全に死滅されるために必要であることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：We performed therapeutic experiments using a murine solid tumor to develop a novel cancer treatment technique for proton therapy combined with a vascular disrupting agent AVE8062. In order to precisely irradiate the tumor with a proton beam, a novel beam monitor based on a micro-pattern gaseous detector was successfully developed and used in the experiments. Treatment effects on tumor growth were evaluated from high spatial resolution PET using $[^{18}\text{F}]\text{Fluoro-Deoxy-Glucose}$ and $[^{18}\text{F}]\text{Fluoromisonidazole}$, and from the tumor-growth-delay measurements. The results show that the single combined-treatment caused extensive necrosis in the inner region of the tumor as well as an additive effect on tumor growth delay. However, tumor cells including hypoxic cells in the tumor periphery survived the single treatment. Therefore, it is suggested that the second proton irradiation combined with AVE8062 is needed to completely kill the tumor cells in the peripheral region of the tumor.

研究分野：放射線医工学

キーワード：粒子線治療 腫瘍血管遮断薬 高分解能PET

1. 研究開始当初の背景

陽子線や炭素線などの荷電粒子ビームは、ブラッグピークと呼ばれる飛程付近で物質への線量付与が最大となる物理的特性があり、放射線治療における理想的な深部線量分布を形成する。ところが、陽子線は炭素線に比べて線エネルギー付与が小さいため生物学的効果が低く、低酸素状態にある腫瘍細胞は、X線と同様に陽子線に対しても放射線抵抗性を示す。一般に腫瘍は、無秩序な細胞増殖と血管新生のため腫瘍の隅々まで血流が届かず低酸素状態となり、抗がん剤や放射線治療が効きにくい異常な内部環境となっている。そのため、陽子線治療を含めて、一般の放射線治療では低酸素細胞を全て殺傷するために分割照射による線量の増加が必要であり、重篤な副作用の問題が障害となる。それに対して、線エネルギー付与が大きい炭素線は細胞致死効果が高く、細胞の低酸素状態の影響を受けないが、加速器や照射システムの大型化・高コスト化が避けられない。また、高い生物学的効果は、がんと同時に照射を受けた正常組織にも与えられるため、長期的な放射線影響も含め副作用の慎重な考慮も必要である。したがって、今後益々普及が期待される粒子線治療において、陽子線治療と他のがん治療法を効果的に組み合わせることにより、相乗的治療効果の誘導を目指す研究は、正常組織の副作用を最小限に留めつつ炭素線に迫る治療効果を狙う治療戦略として重要な位置付けにある。

一方、腫瘍が成長するためには、細胞増殖に必要な栄養素や酸素を供給する腫瘍血管系の形成・拡大が不可欠である。腫瘍血管の機能や構造には、正常血管の場合と比べて異常な特徴が数多く知られており、がん治療における明確な標的となり得る。これらの違いを足がかりとして、腫瘍細胞を直接攻撃するのではなく腫瘍血管を標的とする治療戦略が新たながん治療法として注目されており、様々な腫瘍血管標的薬剤が開発されている。

2. 研究の目的

本研究では、腫瘍への線量集中性に優れ、高い細胞致死効果を持つ粒子線治療と、副作用が少なく腫瘍血管を選択的に遮断する新規腫瘍血管遮断剤(欧米にて第3相臨床試験中、薬剤コード名 AVE8062)を機能的に併用し、粒子線照射で正常組織への影響を最小限に留めつつ腫瘍内の放射線高感受性の有酸素腫瘍細胞領域を局所的に殺傷して、照射後の AVE8062 投与により、残存する放射線抵抗性の低酸素腫瘍細胞を壊死に導く革新的治療戦略に挑戦する。さらに 1 mm 以下の超高分解能の小動物用半導体 PET(Positron Emission Tomography : 陽電子断層撮影法) を用いた治療効果の詳細な分析に基づいて、難治がんに対して従来よりも低線量・低副作用の治療法の開発を目指す。

3. 研究の方法

本研究は、東北大学サイクロトロン・ラジオアイソトープセンター(CYRIC)において、で実施する。本研究で行う腫瘍辺縁部局所照射に必要な回転ガントリー多門照射装置、新規ビームモニターを開発し、照射システムのビームテストを実施する。その後、開発装置を用いて腫瘍を移植したマウスを対象に治療実験を実施し、超高分解能 PET 画像を基に本研究の治療法の有効性を検証し総括する。研究方法に詳細について以下に述べる。

(1) 粒子線照射装置及び新規粒子線モニターの開発

本研究では、過去に研究代表者らが物理学実験用に開発した CYRIC のビームスウィンガーシステムを粒子線治療用の回転ガントリーとして活用し、任意の角度からの多門照射を実現する。ビームスウィンガーシステムのビーム大気取り出し個所に、本研究に必要な治療用粒子線形成のための照射システム(拡大ビーム形成用ハイブリッド散乱体、深部線量分布形成用のエネルギーフィルター、ボラス・コリメータ、およびこれらの遠隔制御装置、標的位置調整用の回転・3軸駆動対応の治療用ベッド)を開発し、多門照射を実現する。一方、高精度な陽子線照射を確実に実施するためには、優れた実時間粒子線モニター装置が必要である。本研究では、マイクロパターンガス電子増幅器(Micro pattern gas detector : MPGD)を用いた 2 次元ビームモニターを開発し照射システムに組み込んで使用する。本研究では MPGD として GlassGEM (gas electron multiplier)を用いた新規粒子線モニターを開発する。

(2) 担がんマウスによる治療実験

治療実験の方法・使用物質等の概要を下記にまとめる：

□難治癌の治療を想定し、放射線、抗癌剤に抵抗性を示すマウス NFSa 線維肉腫細胞の腫瘍モデルを用いる。NFSa 細胞 $1 \times 10^6/50 \mu\text{l}$ を、C3H/He マウス 8 週齢のオスの両後脚に移植する。

□比較対照の無治療コントロール群、陽子線単独治療群、AVE8062 単独治療群、陽子線と AVE8062 の併用治療群に分ける。

□直径約 10 mm の腫瘍形成後に実験を開始する。有意な腫瘍増殖遅延効果がある陽子線単回照射 (15 または 30 Gy) または AVE8062 の腹腔内単回投与 (40 mg/kg) を行う。

治療効果の評価として、増殖のために腫瘍へブドウ糖が異常集積する性質を利用し、陽電子放出核 ^{18}F で標識化された糖代謝トレーサー ^{18}F 標識化 Fluoro-Deoxy-Glucose (^{18}F FDG) を投与し、腫瘍組織内の高分解能糖代謝分布を得て治療効果を判定する。さらに、腫瘍組織内の低酸素状態の領域を、低酸素細胞イメージング剤 ^{18}F 標識化ミソナダゾール (^{18}F MISO) により可視化し、本治療法

における低酸素細胞殺傷効果の詳細な情報を得る。

4. 研究成果

図1に新規開発のMPGD粒子線モニターの構造とビーム照射テストの結果を示す。スポットビームとワブラー照射時のリング状のビームプロファイルデータが照射中に取得できることが示され、高精度な粒子線照射時のビーム透過型プロファイルモニターとして使用可能であることが実証された。

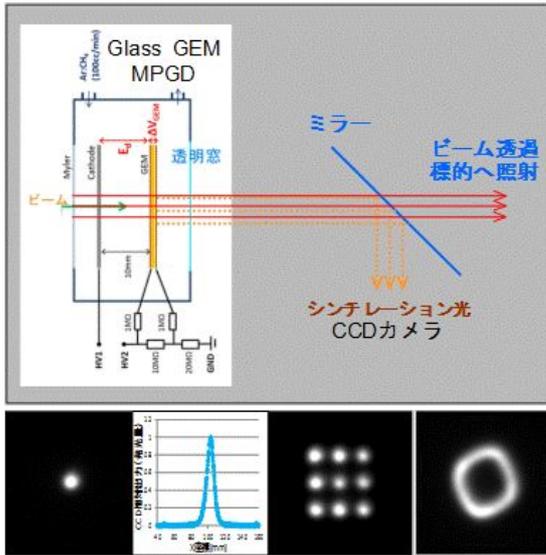


図1 GlassGEMを用いた新規MPGD粒子線モニターによる2次元ビームプロファイル(照射野)の取得。

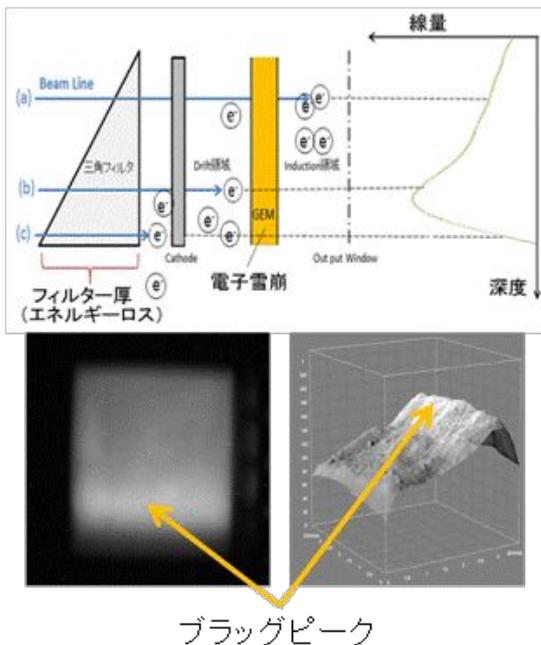


図2 GlassGEMを用いた新規MPGD粒子線モニターによる2次元深部線量分布画像の取得。

本ビームモニターを利用して陽子線の2次元深部線量分布を取得した結果を図2に示す。通常は、指頭型のピンポイント線量計を

用いて数ミリ間隔で多数点の測定を行う必要があるが、本モニターを用いれば2次元線量分布情報を一度の測定で取得でき、治療用粒子線のパラメータ調整を効率的に行うことができる。

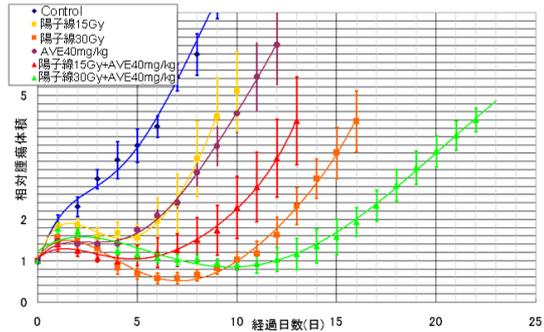


図3 陽子線照射とAVE8062の単独または併用単回治療条件での腫瘍体積変化。単回治療は0日に実施した。

各種治療群の腫瘍体積変化を図3に示す。腫瘍体積 V は腫瘍の直交する3直径から楕円近似で求め、腫瘍数 n に対する平均値と平均誤差で評価した。治療効果としては、治療時の体積の4倍になる日数について、無治療のコントロールとの日数差を増殖遅延の指標として評価した。陽子線15Gy単独治療とAVE806240mg/kgの単独治療は同等の効果である一方、両者を併用した場合は陽子線30Gyの大線量照射に近い効果が認められた。いずれも単回治療約4日後で腫瘍は再増殖したが、両治療法を併用した場合には治療4日後以降も腫瘍は縮小し、陽子線30Gy単独治療に迫る腫瘍増殖遅延効果が得られた。さらに、陽子線30Gy治療とAVE806240mg/kgの併用治療ではさらに増殖遅延効果を引き出すことが認められた。これらの治療効果は、陽子線の細胞致死効果とAVE8062の作用順序から相加的であることが予想され、実験結果もそれを実証している。

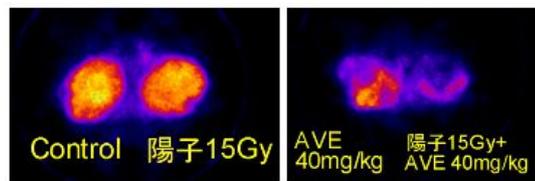


図4 陽子線照射とAVE8062の単独または併用単回治療条件での高分解能[18F]FDG-PETによる腫瘍の糖代謝画像。単回治療後4日目にPET診断を実施した。

図4に単回治療4日後に撮影された腫瘍中心付近断面の高分解能[18F]FDG-PETによる腫瘍の糖代謝画像を示す。陽子線単独照射では無治療の腫瘍と同様に組織全体で糖代謝が活発であることが認められ、再増殖が予想される結果となっている。また、AVE8062の単独治療条件では、腫瘍の辺縁部などに糖

代謝が活発な領域が残され、やはり再増殖が予想される結果である。一方、両者の併用治療条件では、糖代謝が活発な領域は非常に少なく効果的に腫瘍細胞が殺傷されていると考えられる。しかしながら、腫瘍辺縁部に一部、糖代謝が認められる領域が残っており、本治療条件での単回治療での完治は困難であると思われる。

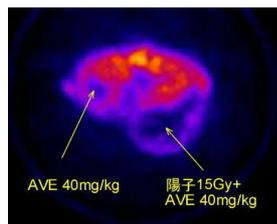


図5 陽子線照射と AVE8062 の単独または併用単回治療条件での高分解能 $[^{18}\text{F}]\text{FISO-PET}$ による腫瘍の低酸素細胞領域の画像。単回治療後4日目にPET診断を実施した。

図5に $[^{18}\text{F}]\text{FISO-PET}$ による腫瘍の低酸素細胞領域の画像を示す。PET診断に用いたマウスは図4のものとは異なるため、正確な比較はできないが、AVE8062 単独治療と陽子線と AVE8062 の併用治療条件では、どちらの条件でも低酸素細胞が腫瘍辺縁部に残存していることが認められる。しかしながら、併用治療条件の方が、 $[^{18}\text{F}]\text{FISO}$ の集積が少なく低酸素細胞がより効果的に殺傷されている可能性が示唆される。よって、本研究の治療法は、実施した条件が単回治療であったため、全ての腫瘍細胞を完全に殺傷することは困難であり腫瘍の再増殖がみとめられたが、通常の治療のように複数回の分割治療を実施することにより完治が可能であると期待される。

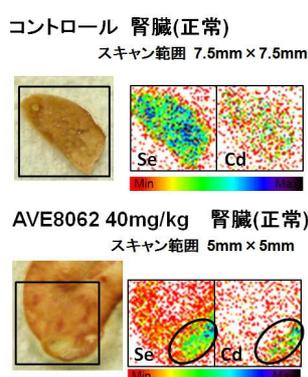


図6 無治療のマウスと AVE8062 を投与したマウスの腎臓組織における量子ドットと PIXE 法を用いた血流の元素イメージング

本実験で用いた腫瘍血流遮断薬 AVE8062 は、薬剤の作用機序として腫瘍血管と正常血管で選択性はない。よって、正常血管にも影響を与える可能性(副作用)も考えられるため、

投与したマウスの腎臓を血流イメージング用の量子ドットとサブミリ PIXE 分析法により、腎臓組織への影響も評価した。量子ドットには Cd と Se が高濃度に含まれるため、これらの元素が高濃度に検出されれば血流が到達していることを意味する。投与 24 時間後に摘出された腎臓組織の PIXE 分析結果を図6に示す。無治療の腎臓組織では、Se と Cd が組織に一様に分布しているが、AVE8062 を投与したマウスの腎臓では局所的な集積が認められ正常血管へ影響が認められた。しかしながら、この影響は一時的で正常血管の健全性により回復可能と思われる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 5件)

1. A. TERAKAWA, K. ISHII, S. MATSUYAMA, Y. KIKUCHI, et al., CONCENTRATION OF CISPLATIN-INCORPORATED POLYMERIC MICELLES IN A MURICE SOLID TUMOR EVALUATED USING PIXE ANALYSIS, 査読有、International Journal of PIXE, Vol. 24 (2015) 掲載決定。

2. S. Matsuyama, M. Fujisawa, T. Nagaya, K. Ishii, A. Terakawa et al., Improvement of energy stability of the Tohoku Dynamitron accelerator for microbeam and nanobeam application, 査読有, International Journal of PIXE, Vol. 23 Nos. 1&2, (2013), 69-75. DOI: 10.1142/S0129083513400081.

3. H. SUGAI, K. FUJIKI, K. ISHII, S. MATSUYAMA, A. TERAKAWA, Y. KIKUCHI, M. FUJIWARA, Y. HATORI, N. HAMADA, Y. ITOH, S. HIRAIISHI, Y. MIURA, A. FUKAYA, H. YAMAZAKI, T. TADA, E. SAKURAI, IMPROVEMENT OF THE DETECTION EFFICIENCY OF THE IN-AIR SUBMILLI-PIXE CAMERA FOR BIOLOGICAL APPLICATIONS, 査読有, International Journal of PIXE, Vol. 22 Nos. 1&2, (2012), 37-43. DOI: 10.1142/S0129083512400050

4. A. Terakawa, K. Ishii, H. Yamazaki, S. Matsuyama, Y. Kikuchi, Y. Ito, A. Tagawa, S. Yasunaga, T. Kawamura, Y. Takahashi, Y. Hatori, N. Hamada, K. Fujiki, N. Ito, S. Wada, Y. Funaki and K. Sera, PIXE analysis of a murine solid tumor treated with proton therapy combined with cisplatin, X-RAY Spectrometry, 査読有, 40, 2011, 198-201.

5. A. TERAKAWA, K. ISHII, S. MATSUYAMA, Y. KIKUCHI, S. YASUNAGA, Y. ITO, A. TAGAWA, T. KAWAMURA, Y. TAKAHASHI, Y. HATORI, N. HAMADA, K. FUJIKI, Y.

MIURA, H. YAMAZAKI, Y. FUNAKI, S. FURUMOTO, N. ITO, S. WADA, and K. SERA, PIXE ANALYSIS OF A MURINE FIBROSARCOMA TUMOR TREATED WITH A VASCULAR DISRUPTING AGENT AVE8062, 査読有, International Journal of PIXE, Vol. 21 Nos. 3&4, (2011), 125-131.

〔学会発表〕(計 8件)

1. 佐藤剛、寺川貴樹、石井慶造、松山成男、他、マイクロパターンガス検出器の粒子線治療モニターへの応用、2015年3月20~22日、日本原子力学会、茨城大学、茨城県

2. T. Matsuyama, A. Terakawa, K. Ishii, S. Matsuyama, et al., Three dimensional image acquisition method by using PIXE analysis, 2014年9月14~19日、8th international symposium on BioPIXE (BioPIXE8), ブレッド市、スロベニア

3. 寺川貴樹、粒子線治療、日本機械学会、招待講演、2014年9月7~10日、東京電機大学、東京都

4. 松山哲生、石井慶造、寺川貴樹、松山成男、他、PIXE分析法を用いた生体試料中の3次元元素分布画像取得法の開発、第29回PIXEシンポジウム、2013年11月13~15日、若狭湾エネルギー研究センター、福井県

5. 松山哲生、石井慶造、寺川貴樹、松山成男、他、PIXE分析用トレーサーへの量子ドットの応用に関する研究、日本原子力学会、2013年9月3~5日、八戸工業大学、青森県

6. PIXE分析法を用いたマウス固形腫瘍内のシスプラチン含有高分子ミセルの集積評価、寺川貴樹、石井慶造、松山成男、他、第18回NMCC共同利用成果発表会、2012年5月11~12日、岩手医科大学、岩手県

7. A. Terakawa, K. Ishii, H. Yamazaki, S. Matsuyama, Y. Kikuchi, S. Furumoto, et al., Elemental analysis of a murine solid tumor treated with a vascular disrupting agent AVE8062 International conference on particle-induced X-ray emission (PIXE 2013), 2013年03月03日~03月08日、グラマド市、ブラジル

8. T. Kawamura, Y. Ito, A. Terakawa, K. Ishii, S. Matsuyama, Y. Kikuchi, et al., Submilli-PIXE analysis of a murine fibrosarcoma tumor treated with proton therapy combined with cisplatin. 7th International Symposium on Bio-PIXE, 2011年11月1日、東北大学、宮城県

〔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：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

寺川 貴樹 (TERAKAWA, ATSUKI)
東北大学・大学院工学研究科・准教授
研究者番号：10250854

(2)研究分担者

石井 慶造 (ISHII, KEIZO)
東北大学・大学院工学研究科・教授
研究者番号：00134065

古本 祥三 (FURUMOTO, SHOZO)
東北大学・サイクロトロン・ラジオアイソトープセンター・教授
研究者番号：00375198

菊池 洋平 (KIKUCHI, YOHEI)
東北大学・大学院工学研究科・准教授
研究者番号：50359535

松山 成男 (SHIGEO, MATSUYAMA)
東北大学・大学院工学研究科・准教授
研究者番号：70219525

酒見 泰寛 (SAKEMI, YASUHIRO)
東北大学・サイクロトロン・ラジオアイソトープセンター・教授
研究者番号：90251602

(3)連携研究者

()

研究者番号：