

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 5 日現在

機関番号：37104

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23591806

研究課題名(和文) 進行期卵巣癌における核医学トレーサーとバイオマーカーによる化学療法感受性の予測

研究課題名(英文) ^{99m}Tc -MIBI SPECT and multidrug resistance-related protein in patients with ovarian cancer

研究代表者

倉田 精二 (Kurata, Seiji)

久留米大学・医学部・講師

研究者番号：80268888

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円、(間接経費) 1,170,000円

研究成果の概要(和文)：卵巣癌における ^{99m}Tc -MIBI SPECTと多剤耐性関連蛋白の発現の関係を検討した。卵巣癌疑いの13例の患者に、 ^{99m}Tc -MIBI 740MBqを投与して早期と後期にSPECT撮影を行い、腫瘍軟部組織比(早期、後期)及び洗い出し率を算出した。摘出標本を用いて免疫組織化学染色を行い、 ^{99m}Tc -MIBIと多剤耐性関連蛋白の発現の関連を検討した。術後病理診断で6例が卵巣癌と診断された。 ^{99m}Tc -MIBI SPECTで5例に集積を認め、多剤耐性関連蛋白の発現を認めた。 ^{99m}Tc -MIBIの洗い出し率はYB-1と強い正の相関を認めた。また、早期の腫瘍軟部比はBaxと強い正の相関を認めた。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study was to evaluate the usefulness of ^{99m}Tc -MIBI SPECT for functional imaging of MDR-related protein. Thirteen women with a clinical suspicion of ovarian cancer were prospectively studied. After intravenous injection of 740MBq ^{99m}Tc -MIBI, SPECT imaging at 10 minutes and 2 hours was performed. On the SPECT images, tumor uptake ratio of both early and delayed images, and washout rate of ^{99m}Tc -MIBI were calculated. The expression of MDR protein was assessed in surgically excised tumors. The immunohistochemical staining was performed. Six primary ovarian cancers were proven by histopathological examination. Five of the six ovarian cancers were positive on both early and delayed images with ^{99m}Tc -MIBI SPECT. The expression of MDR-related protein was found in all tumors. The washout rate of ^{99m}Tc -MIBI showed a significant positive correlation with YB-1 expression. Early tumor uptake ratio showed a significant positive correlation with Bax expression.

研究分野：医歯薬系

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・放射線医学

キーワード：卵巣癌 核医学 薬剤耐性

1. 研究開始当初の背景

婦人科癌のうちでも本邦の卵巢癌罹患数は毎年約 8000 人で、2005 年には 4467 人が卵巢癌(悪性卵巢腫瘍)で死亡し、さらに近年死亡数が増加傾向にある。卵巢は腹腔内臓器であるために腫瘍が発生しても自覚症状に乏しく、また適切な検診法がないことから、卵巢癌の約半数の症例が III、IV 期の進行癌で発見される。治療法に関しては、卵巢癌が発見された時点で進行している場合が多いため、手術後に化学療法が必要となる場合が多い。卵巢癌は婦人悪性腫瘍の中でも標準的的化学療法が確立されている。しかし、腫瘍に特異的である薬剤耐性に関しては、まだ十分検討されておらず治療前に薬剤耐性の有無を知ることは非常に重要と思われる。

卵巢癌の画像診断では形態診断を行う CT 検査、MRI 検査が主体であるが、近年では放射性同位元素であるポジトロン製剤を使用した PET 検査も保険適応となり、核医学検査ならではの機能診断も可能となり治療前の病期診断や再発巣の検出に役立っている。一方で心筋血流のトレーサーとして使用されている ^{99m}Tc -MIBI シンチグラフィが肺癌、甲状腺癌、乳癌にも有用と 1994 年頃から報告され、腫瘍シンチグラフィとしての有用性が注目されてきている。 ^{99m}Tc -MIBI は、良悪性の質的診断のみならず遠隔転移の検出にも有用とされ、新たな腫瘍シンチグラフィとして期待されてきた。 ^{99m}Tc -MIBI のもう一つの利点は化学療法に対する薬剤耐性の有無の診断にも有用であることである。近年の報告では薬剤耐性の有無を確認することにより患者に不必要な治療を回避することができること、医療費の削減につながるようになるとの報告がある。このように、卵巢癌の治療には欠かせない化学療法であるが、悪性腫瘍の薬剤耐性の有無を事前に把握しておくことは、患者はもとより臨床医が治療戦略をたてるうえで重要な情報となることが考えら

れる。婦人科癌における ^{99m}Tc -MIBI の報告はかぎられており、Stelmachow L らの報告のみであり、詳細な画像評価はこれまで報告が見られない。このように婦人科癌において薬剤耐性に対する ^{99m}Tc -MIBI の有用性はいまだに十分に検討されていない。

薬剤耐性に関連があるバイオマーカーとして Y-ボックス結合タンパク(YB-1)や腫瘍の多剤耐性タンパク(multidrug resistance; MDR タンパク)が知られている。YB-1 はヒト癌細胞の核内と細胞質に局在し薬剤耐性に関与する DNA/RNA 結合タンパクであり、YB-1 は細胞増殖にも関わっており卵巢癌をはじめとする様々な癌において YB-1 の核内局在が予後と関連することが知られている。MDR タンパクは、P 糖タンパク(P-g1p) 多剤耐性タンパク、グルタチオン S 変換酵素などが知られている。YB-1 と MDR タンパクとの関連は YB-1 が MDR タンパクを制御するとの報告されており、薬剤耐性のメカニズムは腫瘍内の MDR タンパクの存在により薬剤の排泄が促進されるため薬剤の耐性が生じると考えられている。

肺癌や乳癌などでは ^{99m}Tc -MIBI と P 糖タンパク、多剤耐性タンパクとの関連は証明されている。MDR タンパクの検出に関して ^{99m}Tc -MIBI は非侵襲的検査法として有用とされ、諸家の報告では ^{99m}Tc -MIBI の画像は MDR タンパクと関連し、様々な悪性腫瘍に対する抗がん剤の反応の指標となることが報告されている。

2. 研究の目的

卵巢癌を対象として核医学トレーサーである ^{99m}Tc -MIBI の悪性腫瘍への集積状況を観察し、多剤耐性関連タンパクのバイオマーカーとして位置づけられている YB-1、MDR タンパクなどの発現を免疫組織化学的に判定して、トレーサーの卵巢癌への有用性を検討する。

3. 研究の方法

対象症例は、久留米大学病院で卵巣癌が疑われ、治療前に久留米大学病院核医学検査室で^{99m}Tc-MIBI シンチグラフィを行い、手術が施行された患者とする。

- (1) 産婦人科腫瘍専門医により、卵巣癌が疑われた患者の抽出と登録を行う。
- (2) 抽出された患者に対して、放射性薬剤である^{99m}Tc-MIBI を経静脈的に投与する。薬剤を投与して10分後と2時間後に2検出器対向回転型のSPECT装置で撮影を行う(使用装置; Philips, E.CAM, Bright View X)。
- (3) ^{99m}Tc-MIBI SPECT 診断は収集された画像にて、指摘されている骨盤内の腫瘍に一致した異常集積を認めるかを判定する。異常集積であれば陽性と所見をとり、腫瘍部位と正常軟部に関心領域を設定して、コンピュータ解析により半定量的評価を行う。画像診断、半定量解析は核医学専門医が判定する。
- (4) 病理組織診断にて卵巣癌と診断された患者を抽出する。また、同症例については免疫組織化学染色を施行して、多剤耐性蛋白の発現の有無の確認を行う。病理組織診断や免疫組織化学染色の評価は、病理専門医が担う。
- (5) 症例数は20例程度とした。症例の蓄積と画像解析および半定量的解析、免疫組織化学染色を使った統計学的解析を行う。可能な限り画像所見と病理所見との比較および正診率の算出を行い、症例の追跡調査を行う。

卵巣癌が疑われた13例の患者(53歳~76歳、平均63歳)を対象に前向き研究を行った。^{99m}Tc-MIBI 検査は、^{99m}Tc-MIBI 740MBq を経静脈的に投与して、10分後(早期相;E)、2時間後(後期相;D)の二回にわたり

single-photon emission computed tomography (SPECT)を撮影し、データ収集を行った。データ解析は半定量的評価として、腫瘍と軟部組織に関心領域を設定して、早期と後期の腫瘍軟部組織比[Tumor/Soft tissue (T/S) ratio]を算出した。また、洗い出し率(Washout rate)として、(E T/S ratio- D T/S ratio)/ E T/S ratio も算出した。

免疫組織化学を施行するために、4 μm のパラフィン切片とコーティングガラスを使用し、プレパラートを作成した。免疫組織化学染色はすべて自動免疫染色装置ベンチマークウルトラ(Ventana Automated Systems, Inc., Tucson, AZ, USA)とボンドマックス(Leica Microsystems, Newcastle, UK)を使用した。一次抗体は以下の合計9種類を使用した: Multidrug resistance1 (MDR1), multidrug resistance-associated protein1 (MRP1), MRP3, lung resistance protein (LRP), breast cancer resistance protein (BCRP), Y-box-binding protein-1 (YB-1), Bax, Glutathione S-transferase および Bcl2, LRP と Bcl2 の染色にはベンチマークウルトラを使用し、MDR1, MRP1, MRP3, BCRP, YB1, Bax, Glutathione S-transferase の染色にはボンドマックスを使用した。ベンチマークウルトラは Ventana 's CC1 を用いて抗原賦活化を30分間行い、その後一次抗体を30分間反応させた。一次抗体反応終了後、UltraVIEW DAB detection kit にて二次反応を行い、ジアミノベンジジン (DAB) を用いて可視化させた。ボンドマックスでも同様に、抗原賦活化を20分間、一次抗体30分間反応させた後、Refine polymer detection system にて二次反応を行い、ジアミノベンジジン (DAB) を用いて可視化させた。

^{99m}Tc-MIBI SPECT の半定量的評価と多剤耐性関連蛋白などの発現の関連を検討した。

4. 研究成果

全例に開腹手術が行われ、病理組織診断では卵巣癌6例(stage I; 1例、stage II; 2例、stage III; 1例、stage IV; 2例)、卵巣境界悪性腫瘍2例、腹膜癌1例、卵管癌1例、子宮体癌の卵巣転移1例、卵巣甲状腺腫1例であった。1例は腹水より細胞診にて悪性細胞を認め、他の画像診断から卵巣癌と診断されていたが、術前に化学療法が行われており、術後病理標本では腫瘍は完全消失の状態であった。

卵巣癌における^{99m}Tc-MIBI SPECTの結果は、卵巣癌6例中5例に早期相、後期相ともに腫瘍に対して集積を認めた。また、腫瘍に集積を認めた5例において、多剤耐性関連蛋白の発現を認めた。

^{99m}Tc-MIBIの半定量的評価と多剤耐性蛋白との関連を調べたところ^{99m}Tc-MIBIの洗い出し率はYB-1と強い正の相関関係($r = 0.98, P < 0.01$)を認めた。また、早期の腫瘍軟部比はBaxと強い正の相関関係($r = 0.88, P < 0.05$)を認めた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計3件)

Assessment of atherosclerosis in oncologic patients using (18)F-fluoride PET/CT. Kurata S, Tateishi U, Shizukuishi K, Yoneyama T, Hino A, Kaida H, Fujimoto K, Ishibashi M, Inoue T. Ann Nucl Med. 2013;27:481-6. 査読有

Zaizen Y, Azuma K, Kurata S, Sadashima E, Hattori S, Sasada T, Imamura Y, Kaida H, Kawahara A, Kinoshita T, Ishibashi M and Hoshino T. Prognostic Significance of Total Lesion Glycolysis in Patients with Advanced Non-Small Cell Lung Cancer Receiving Chemotherapy. Eur J Radiol. 2012;81:4179-84. 査読有

Kobayashi M, Kaida H, Kawahara A, Hattori S, Kurata S, Hayakawa M, Hirose Y, Uchida M, Kage M, Fujita H, Hayabuchi N, Ishibashi M. The relationship between GLUT-1 and vascular endothelial growth factor expression and 18F-FDG uptake in esophageal squamous cell cancer patients. Clin Nucl Med. 2012;37:447-52. 査読有

〔学会発表〕(計3件)

Kurata S, et al. Age-related regional changes of skeletal metabolism in women using 18F-fluoride PET. Society of Nuclear Medicine Annual Meeting, 2013.6.7-13, Vancouver, Canada

甲斐田勇人、他: 発生臓器の異なる癌 FDG 集積と GLUT-1, Ki-67 の関連の相違、第 52 回日本核医学会学術総会、2012.10.11-13、ロイトン札幌

廣瀬靖光、他: 食道扁平上皮癌における 18F-FDG 集積と biological parameter 関連性の検討、第 71 回日本医学放射線学会総会、2012.4.12-15、パシフィコ横浜

〔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：

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

倉田精二 (KURATA, Seiji)

久留米大学・医学部・講師

研究者番号：80268888

(2)研究分担者

甲斐田勇人 (KAIDA, Hayato)

久留米大学・医学部・助教

研究者番号：40299425

石橋正敏 (ISHIBASHI, Masatoshi)

久留米大学・医学部・教授

研究者番号：20168256

牛嶋公生 (Ushijima, Kimio)

久留米大学・医学部・准教授

研究者番号：20185002

嘉村敏治 (Kamura, Toshiharu)

久留米大学・医学部・教授

研究者番号：30152870

早淵尚文 (HAYABUCHI, Naofumi)

久留米大学・医学部・教授

研究者番号：20108731