

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 23 日現在

機関番号：35303

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2013

課題番号：24659140

研究課題名(和文) 緊急被ばく医療への応用を目指した組織再生に関する基礎的検討

研究課題名(英文) Basic Research on Tissue Regeneration for Radiation Emergency Medicine

研究代表者

犬伏 正幸 (INUBUSHI, Masayuki)

川崎医科大学・医学部・准教授

研究者番号：70399830

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

研究成果の概要(和文)：研究代表者が自ら開発したナトリウム/ヨウ素共輸送タンパク(NIS)遺伝子を全身で恒常発現するトランスジェニックマウス(NIS-Tgマウス)から様々な幹細胞を単離した。NIS-Tgマウスでは骨髄間葉系幹細胞よりも脂肪由来幹細胞の方が<sup>99m</sup>Tc取り込み効率が高いことを明らかにした。X線を半身照射したマウスにこのNIS-Tg由来の脂肪肝細胞100000個を移植し、48時間後に<sup>99m</sup>Tcを静注してSPECT撮像したところ、移植部位に明瞭なシグナルを検出することができた。さらに、同じ個体で移植細胞を1ヶ月以上経時的に追跡し、その再生医学的な意義を検討した。

研究成果の概要(英文)：We extracted stem cells from various organs of a transgenic mouse systemically and constitutively expressing the sodium/iodide symporter (NIS) gene (NIS-Tg mouse), which was originally developed by this principle investigator. We found adipose-derived stem cells showed higher <sup>99m</sup>Tc uptake than bone marrow stem cells in NIS-Tg mice. We transplanted 100000 adipose-derived stem cells of NIS-Tg mice into mice after irradiation to one side of the body, and 48 hours later we succeeded in detecting apparent signals at the transplanted region with <sup>99m</sup>Tc SPECT imaging. The transplanted cells could be tracked for more than 1 month in the same living mice, and we discussed the significance from the viewpoint of regenerative medicine.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・医化学一般

キーワード：再生医学 分子イメージング

### 1. 研究開始当初の背景

放射線医学総合研究所(放医研)は、東日本唯一の三次被ばく医療施設であり、今年3月に起きた福島第一原発事故においても全職員が総力を挙げて対応に当たった。本研究代表者の犬伏は、医師として事故以前から放医研の緊急被ばく医療支援チーム (Radiation Emergency Medical Assistance Team; REMAT) に所属し緊急時に備えてきたが、現実に事故が起きて、緊急被ばく医療を高度化する研究の必要性を実感した。すなわち、急性被ばく死は骨髄死、腸死、中枢神経死の3段階に分けられるが、現在の緊急被ばく医療のレベルでは、骨髄死の約半数を救命するのが限界である。しかし、中枢神経死は救い難いとしても、骨髄死や腸死を救命できるようにしたいというのが緊急被ばく医療にとっての究極の目標と考える。一方、本研究分担者の道川らは、1999年東海村JCO臨界事故の際、重篤な血球減少症を呈した高線量被ばく患者2名に試みられた造血幹細胞移植が体内で根付かず、救命できなかった経験を持つ。その後、被ばく患者に移植した幹細胞にゲノム不安定性が認められ、一般的な再生医療とは異なる被ばく医療に特化した組織再生技術が必要であることは分かったが、不成功の理由は明らかにできていない。

### 2. 研究の目的

本研究課題では、犬伏本来の専門分野である分子イメージング技術と、道川の緊急被ばく医療における経験やノウハウを持ち寄り、被ばく再生医療技術の確立に向けた挑戦的萌芽研究を協働して行う。具体的には、移植幹細胞の *in vivo* 追跡イメージング (cell tracking) 法を確立する。すなわち、研究代表者が自ら開発したナトリウム/ヨウ素共輸送タンパク (NIS) 遺伝子を全身で恒常発現するトランスジェニックマウス (NIS-Tg マウス) から幹細胞を採取し、X線照射したマウスに移植して、移植した幹細胞の動態を非侵襲的に可視化する技術を確立する。

### 3. 研究の方法

まず、NIS-Tg マウスから様々な幹細胞を単離した。 *in vitro* 培養細胞における <sup>99m</sup>Tc 取り込み実験を行ったところ、NIS-Tg マウスでは骨髄間葉系幹細胞よりも脂肪由来幹細胞の方が <sup>99m</sup>Tc 取り込み効率が高いことが明らかになった。そこで、脂肪由来幹細胞の培養条件を最適化し、低酸素3次元培養を採用した。

### 4. 研究成果

X線を半身照射したマウスの後頭部中央皮下にこのNIS-Tg由来の脂肪肝細胞  $1 \times 10^5$  を移植し、48時間後に <sup>99m</sup>Tc を静注してSPECT撮像したところ、移植部位に明瞭なシグナルを検出することができた。同じ個体を経時的に観察した結果、16日目まで集積最大値の

増加を認めたが、35日目には減少し近傍領域への分散が見られた。幹細胞移植を行わなかった照射マウスでは、4週間目頃から被ばく領域に明瞭な白毛化が出現した。脂肪幹細胞移植マウスでは有意な白毛化抑制効果が得られており、上記動態との関連性が推測された。

### 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6件)

Miwa K, Inubushi M, Wagatsuma K, Nagao M, Murata T, Koyama M, Koizumi M, Sasaki M: FDG uptake heterogeneity evaluated by fractal analysis improves the differential diagnosis of pulmonary nodules. *Eur J Radiol.* 2014; 83(4): 715-719. 査読有り  
DOI: 10.1016/j.ejrad.2013.12.020.

Takahara N, Saga T, Inubushi M, Kusahara H, Seki C, Ito S, Oyama N, Yokoyama O, Sugiyama Y, Fujibayashi Y: Drugs interacting with organic anion transporter-1 affect uptake of Tc-99m-mercaptoacetyl-triglycine (MAG3) in the human kidney: therapeutic drug interaction in Tc-99m-MAG3 diagnosis of renal function and possible application of Tc-99m-MAG3 for drug development. *Nucl Med Biol.* 2013; 40(5): 643-650. 査読有り  
DOI: 10.1016/j.nucmedbio.2013.03.006.

Inubushi M, Jin YN, Murai C, Hata H, Kitagawa Y, Saga T: Single-photon emission computed tomography of spontaneous liver metastasis from orthotopically implanted human colon cancer cell line stably expressing human sodium/iodide symporter reporter gene. *EJNMMI Res.* 2012; 2(1): 46. 査読有り  
DOI: 10.1186/2191-219X-2-46.

Inubushi M, Saga T, Koizumi M, Takagi R, Hasegawa A, Koto M, Wakatuki M, Morikawa T, Yoshikawa K, Tanimoto K, Fukumura T, Yamada S, Kamada T: Predictive value of 3'-deoxy-3'-[<sup>18</sup>F]fluorothymidine positron emission tomography/computed tomography for outcome of carbon ion radiotherapy in patients with head and neck mucosal malignant melanoma. *Ann Nucl Med.* 2013; 27(1): 1-10. 査読有り  
DOI: 10.1007/s12149-012-0652-x.

Sogawa C, Tsuji AB, Yoshida C, Inubushi M, Furukawa T, Koizumi M, Akahori Y, Ukai Y, Kurosawa G, Kurosawa Y, Saga T: Novel human monoclonal antibody against epidermal growth factor receptor as an imaging probe for hepatocellular carcinoma. *Nucl Med Commun.* 2012; 33(7):

719-725. 査読有り

DOI: 10.1097/MNM.0b013e3283531d68.

Jin YN, Inubushi M, Masamoto K, Odaka K, Aoki I, Tsuji AB, Sagara M, Koizumi M, Saga T: Long-term effects of hepatocyte growth factor gene therapy in rat myocardial infarct model. Gene Ther. 2012; 19(8): 836-843. 査読有り  
DOI: 10.1038/gt.2011.128.

〔学会発表〕(計 23 件)

Sasaki M, Koizumi M, Murata T, Wagatsuma K, Saga T, Inubushi M, Tachibana H, Miwa K. Comparison of Intratumoral 18FDG and 18FAZA Distribution in Non-small Cell Lung Cancer Using Deformable Image Registration. The 99th Scientific Assembly and Annual Meeting of the Radiological Society of North America, McCormick Place, Chicago, IL, 2013.12.1-6.

Sasaki M, Koizumi M, Umeda T, Okawa A, Umeda T, Wagatsuma K, Inubushi M, Miwa K. FDG Uptake Heterogeneity Evaluated by Fractal Analysis Improves the Differential Diagnosis of Pulmonary Nodules. The 99th Scientific Assembly and Annual Meeting of the Radiological Society of North America, McCormick Place, Chicago, IL, 2013.12.1-6.

Otani K, Zeniya T, Kawashima H, Fukuda H, Hashikawa Y, Moriguchi T, Inubushi M, Iida H, Yamahara K. Noninvasive spatial and temporal tracking of multilayered cell sheet on infarcted heart using reporter gene imaging. American Heart Association Scientific Sessions 2013. Dallas Convention Center, Dallas, TX, 2013.11.16-20.

Takeuchi Y, Inubushi M, Xu H, Hata H, Kitagawa Y, Saga T. The imaging of tumor hypoxia with 18F-FMISO and 18F-FAZA in comparison to the imaging of hypoxic response with radioiodine using sodium/iodine symporter (NIS) reporter gene in human xenograft tumors. Society of Nuclear Medicine and Molecular Imaging 2013 Annual Meeting. Vancouver Convention Centre, Vancouver, Canada, 2013.6.8-12.

Miwa K, Tachibana H, Inubushi M, Wagatsuma K, Murata T, Takiguchi T, Koizumi M, Saga T, Sasaki M. Comparison of intratumoral distribution of 18FDG and 18FAZA using deformable image registration procedure in non-small cell lung cancer patients. The 69th Annual Scientific Congress of the Japanese Society of Radiological Technology. Pacifico Yokohama, Yokohama, 2013.4.11-14.

Inubushi M, Saga T, Koizumi M, Takagi R, Hasegawa A, Koto M, Wakatuki M, Morikawa T, Yoshikawa K, Tanimoto K, Fukumura T, Yamada S, Kamada T. Predictive value of 3'-deoxy-3'-[18F]fluorothymidine positron emission tomography/computed tomography for outcome of carbon ion radiotherapy in patients with head and neck mucosal malignant melanoma. Annual Congress of the European Association of Nuclear Medicine 2012. Milano Congressi (MiCo), Milan, Italy, 2012.10.27-31.

Zeniya T, Kawashima H, Otani K, Fukuda H, Hashikawa Y, Koshino K, Hori Y, Moriguchi T, Enmi J, Iguchi S, Yamamoto A, Miyake Y, Inubushi M, Iida H. Tracking of transplanted stem cells in myocardial infarction model rat: validation of simultaneous dual-isotope SPECT imaging with Tc-99m and Tl-201. 2012 World Molecular Imaging Congress, Dublin, Ireland, 2012.9.5-8.

Miwa K, Wagatsuma K, Sasaki M, Nagao M, Koyama M, Inubushi M, Koizumi M. Clinical differentiation between malignant and benign pulmonary nodules using heterogeneity of 18F-FDG uptake distribution. 2012 Society of Nuclear Medicine Annual Meeting, Miami Beach, FL, 2012.6.9-13.

Takeuchi Y, Inubushi M, Xu H, Mio K, Hata H, Kitagawa Y, Saga T. Molecular genetic imaging of hypoxia response using sodium/iodide symporter (NIS) reporter gene. 2012 Society of Nuclear Medicine Annual Meeting, Miami Beach, FL, 2012.6.9-13.

道川祐市、福崎智子、後藤希、徐華、犬伏正幸、松崎有美、田嶋克史：マウス間葉系幹細胞の皮下移植による放射線誘発白毛化の抑制。第13回日本再生医療学会総会，国立京都国際会館，京都，2014.3.4-6。

犬伏正幸、竹内康人、村井知佳、秦浩信、北川善政、佐賀恒夫：マウス自然発生肝転移モデルのSPECTイメージング。第52回日本核医学会学術総会，さっぽろ芸術文化の館／ロイトン札幌，札幌，2012.10.11-13。

〔図書〕(計 1 件)

犬伏 正幸 他、山代印刷、核医学技術総論 改訂版、京都、2014、印刷中

〔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

<http://kweb-res.kawasaki-m.ac.jp/kwmhp/KgApp?kyoinId=Kgyysggk>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

犬伏 正幸 (INUBUSHI, Masayuki)  
川崎医科大学・医学部・准教授  
研究者番号：70399830

### (2) 研究分担者

道川 祐市 (MICHIKAWA, Yuichi)  
独立行政法人放射線医学総合研究所・緊急  
被ばく医療研究センター・主任研究員  
研究者番号：20360688

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：