

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 25 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25293406

研究課題名(和文)低酸素遺伝子応答分子イメージングに基づく新しい口腔癌治療戦略

研究課題名(英文) New therapeutic strategy for oral cancer based on gene response to hypoxia by molecular imaging

研究代表者

北川 善政 (KITAGAWA, Yoshimasa)

北海道大学・歯学研究科(研究院)・教授

研究者番号：00224957

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,400,000円

研究成果の概要(和文)：18F-Fluoromisonidazole (FMISO) PETは癌の低酸素状態を非侵襲的に検出できる。本研ではOSCC患者におけるFMISO PETと術前化学療法の組織学的効果の関連を明らかにした。対象は術前化学療法後に根治的手術療法を受けたOSCC患者22例である。FMISOが集積する症例は集積しない症例と比較して治療効果例が有意に少なかった。OSCC患者の術前化学療法の組織学的効果が原発巣のFMISO PETのSUVに関連する可能性を初めて示した。基礎研究では、低酸素PETトレーサーの腫瘍集積量は低酸素遺伝子応答を反映する99mTc04-の腫瘍集積量と正の相関を示した。

研究成果の概要(英文)：The correlations of FMISO-PET and FDG-PET with histological response to preoperative chemotherapy were assessed in patients with OSCC. This study enrolled 22 patients with OSCC undergoing preoperative chemotherapy. Each patient was evaluated by both FMISO-PET and FDG-PET before surgery. Good response was significantly more prevalent in patients with negative than positive FMISO uptake and without the hypoxic area evaluated by FMISO-PET TMR. An advantage of FMISO-PET over FDG-PET for predicting histological response to preoperative chemotherapy in patients with OSCC was observed. The tumor uptake level of hypoxia-targeted PET tracers reflected the gene activation level by HRE, which eventually conferred the resistance to anti-cancer therapies on the tumor cells and tracer distribution of 18F-FMISO PET might be more suitable than that of 64Cu-ATSM PET for planning hypoxia-targeted radiotherapy.

研究分野：医歯薬学

キーワード：分子イメージング 遺伝子イメージング 低酸素 PET 頭頸部癌 化学療法 放射線治療 治療抵抗性

1. 研究開始当初の背景

- (1) 口腔癌を含む様々な悪性腫瘍では、その腫瘍の内部に低酸素状態に陥る部位が存在する。さらに、癌の低酸素部位は、患者の予後や癌組織の治療抵抗性と密接に関与することが報告されている。
- (2) 低酸素状態に陥った癌細胞では、低酸素誘導因子(Hypoxia inducible factor 1)が、転写因子として機能することによって、様々な癌の悪性形質(転移能・増殖能など)に関わる遺伝子発現が誘導されることが知られている。本研究ではこれまでに、HIF-1/HREによる低酸素遺伝子応答をin vivoでイメージングする担癌モデルマウスを樹立に成功した。
- (3) 従って、非侵襲的に癌の低酸素部位を評価することは診断・治療において重要である。臨床では、低酸素PETトレーサーを用いたPET検査により低酸素部位を評価している。本研究ではこれまでに、代表的な低酸素PETトレーサーである18F-Fluoromisonidazole (FMISO)を用いて、FMISOの腫瘍集積量(SUVmax)が口腔扁平上皮癌(OSCC)患者の組織学的頸部リンパ節転移に関わることを報告した。

2. 研究の目的

- (1) 既に樹立したHIF-1/HREによる低酸素遺伝子応答のin vivoイメージングを可能にする担癌モデルマウスを用いて、低酸素PETトレーサーの腫瘍内分布が、どの程度治療抵抗性を反映しているのか。低酸素PETトレーサーの腫瘍集積量が治療抵抗性を反映しているのか、の2点を明らかにする。
- (2) OSCC患者において、FMISO PETと術前化学療法の効果との関連は不明である。そこで本研究では、OSCC患者におけるFMISO PETと術前化学療法の組織学的効果との関連を明らかにする。

3. 研究の方法

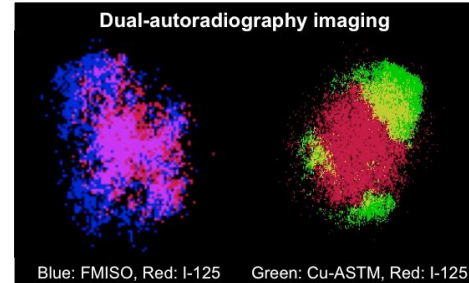
- (1) 低酸素PETトレーサーと低酸素遺伝子応答の腫瘍内分布の比較は、デュアルオートラジオグラフィーを用いた。低酸素PETトレーサーは18F-FMISOと64Cu-ATSMを使用し、低酸素遺伝子応答を反映するトレーサーは125Iを使用した。クラスター解析を用いて、腫瘍に占める割合を算出し、定量評価した。
- (2) 低酸素PETトレーサーと低酸素遺伝子応答の腫瘍集積量の比較は、低酸素PETトレーサーは18F-FMISOと64Cu-ATSMを使用し、低酸素遺伝子応答を反映するトレーサーは99mTcO4-を使用した。腫瘍集積量はSUVmaxで評価した。
- (3) 対象は術前化学療法後に根治的手術療法を受けたOSCC患者17例(男/女: 11/6、年齢42-83歳)。術前にFMISO PET検査を行いSUV(max)を求めた。化学療法の

組織学的治療法効果判定は頭頸部癌取り扱い規約の判定基準: G2以上を効果ありとした。

- (4) またOSCC患者におけるhypoxiaと治療抵抗性の関連を明らかにする目的で、FMISO-PETの集積と病理組織学的な術前化学療法の治療効果およびHIF-1 α の発現との関連を検討した。

4. 研究成果

- (1) 腫瘍内分布の比較の結果、18F-FMISOと125I-のオーバーラップ領域は、64Cu-ATSMと125I-のオーバーラップ領域よりも有意に大きかった(正常酸素下: 14.3 \pm 3.4% vs. 6.3 \pm 2.8%, p = 0.0007、低酸素下: 29.0 \pm 8.1% vs. 14.0 \pm 5.8%, p = 0.004)。また、低酸素PETトレーサー集積部位における125I-の集積領域の割合を調べたところ、64Cu-ATSMにおける125I-の集積領域よりも、18F-FMISOにおける125I-の集積領域の方が有意に大きかった(正常酸素下: 42.5 \pm 8.9% vs. 20.6 \pm 10.5%, p = 0.002、低酸素下: 71.6 \pm 12.6% vs. 40.5 \pm 16.3%, p = 0.004)。以上から、低酸素領域に対する選択的放射線治療では18F-FMISOの方が治療計画の立案に適していることが示唆された。



- (2) 腫瘍集積量の比較の結果、低酸素PETトレーサーのSUVmaxと99mTcO4-のSUVmaxは有意に相関していた(FMISO vs. Tc: r = 0.91, p = 0.0001、CuATSM vs. Tc: r = 0.74, p = 0.0005)。以上より、どちらのタイプの低酸素PETトレーサーのSUVmaxも、予後予測に有用な指標であることを明らかにした。
- (3) 原発巣のFMISOは12/17例(71%)に集積し、SUV(max)の中央値は1.83(0.8-2.7)であった。術前化学療法はS-1:15例、UFT:2例(平均14日間)であった。化学療法の組織学的効果は効果あり:5例、効果なし:12例であった。FMISOが集積した症例は効果あり:1/5例、効果なし:11/12例で、FMISOが集積する症例は集積しない症例と比較して治療効果例が有意(p < 0.005)に少なかった。
- (4) OSCC患者の術前化学療法の組織学的効果が原発巣のFMISO PETのSUV(max)に関連する可能性を初めて示した。
- (5) FMISO-PETの集積およびHIF-1 α の発現と術前化学療法の組織学的効果判定には有意な関連が認められた。

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 13 件)

Sato J, Kuroshima T, Wada M, Satoh A, Watanabe S, Okamoto S, Shiga T, Tamaki N, Kitagawa Y: Use of FDG-PET to detect a chronic odontogenic infection as a possible source of the brain abscess. *Odontology* 104(2): 239-43, 2016. (査読有)

Yamada S, Yanamoto S, Otani S, Hasegawa T, Miyakoshi M, Minamikawa T, Ohga N, Kamata T, Komori T, Kitagawa Y, Kurita H, Umeda M: Evaluation of the level of progression of extracapsular spread for cervical lymph node metastasis in oral squamous cell carcinoma. *Int J Oral Maxillofac Surg* 45(2):141-6, 2016. (査読有)

Saga T, Inubushi M, Koizumi M, Yoshikawa K, Zhang MR, Obata T, Tanimoto K, Harada R, Uno T, Fujibayashi Y. Prognostic value of PET/CT with (18)F-fluoroazomycin arabinoside for patients with head and neck squamous cell carcinomas receiving chemoradiotherapy. *Ann Nucl Med* 30(3):217-24, 2016. (査読有)

Fatema CN, Sato J, Yamazaki Y, Hata H, Hattori N, Shiga T, Tamaki N, Kitagawa Y: FDG-PET may predict the effectiveness of hyperbaric oxygen therapy in a patient with bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw: report of a case. *Odontology* 103(1):105-8, 2015. (査読有)

Saga T, Inubushi M, Koizumi M, Yoshikawa K, Zhang MR, Tanimoto K, Horiike A, Yanagitani N, Ohyanagi F, Nishio M. Prognostic value of 18 F-fluoroazomycin arabinoside PET/CT in patients with advanced non-small cell lung cancer. *Cancer Sci* 106(11):1554-60, 2015. (査読有)

Miwa K, Inubushi M, Takeuchi Y, Katafuchi T, Tsuji AB, Hasegawa T, Koizumi M, Saga T, Sasaki M. Performance characteristics of a novel clustered multi-pinhole technology for simultaneous high-resolution SPECT/PET. *Ann Nucl Med* 29(5):460-6, 2015. (査読有)

Takeuchi Y, Inubushi M, Jin YN, Murai C, Tsuji AB, Hata H, Kitagawa Y, Saga T: Detailed assessment of gene activation levels by multiple hypoxia-responsive elements under various hypoxic conditions. *Ann Nucl Med* 28(10):1011-9, 2014. (査読有)

Fatema CN, Zhao S, Zhao Y, Yu W, Nishijima K, Yasuda K, Kitagawa Y, Tamaki N, Kuge Y: Dual tracer evaluation of dynamic changes in intratumoral hypoxic

and proliferative states after radiotherapy of human head and neck cancer xenografts using radiolabeled FMISO and FLT. *BMC Cancer* 14(1):692, 2014. (査読有)

Sato J, Kitagawa Y, Yamazaki Y, Hata H, Asaka T, Miyakoshi M, Okamoto S, Shiga T, Shindoh M, Kuge Y, Tamaki N: Advantage of FMISO-PET over FDG-PET for predicting histological response to preoperative chemotherapy in patients with oral squamous cell carcinoma. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 41(11):2031-41, 2014. (査読有)

Imamachi K, Higashino F, Kitamura T, Kakuguchi W, Yanagawa-Matsuda A, Ishikawa M, Kitagawa Y, Totsuka Y, Shindoh M: pp32r1 controls the decay of the RNA-binding protein HuR. *Oncol Rep* 31(3):1103-1108, 2014. (査読有)

Sato J, Kitagawa Y, Yamazaki Y, Hata H, Okamoto S, Shiga T, Shindoh M, Kuge Y, Tamaki N: 18FMISO-PET uptake is correlated with HIF-1 α expression in oral squamous cell carcinoma. *J Nucl Med* 54(7):1060-1065, 2013. (査読有)

Fatema CN, Zhao S, Zhao Y, Murakami M, Yu W, Nishijima KI, Tamaki N, Kitagawa Y, Kuge Y: Monitoring tumor proliferative response to radiotherapy using (18)F-fluorothymidine in human head and neck cancer xenograft in comparison with Ki-67. *Ann Nucl Med* 27(4):355-362, 2013. (査読有)

北川善政、浅香卓哉、秦 浩信：顎骨疾患における核医学応用の可能性. *PET Journal* 22: 10-12, 2013. (査読有)

〔学会発表〕(計 31 件)

北川善政：MRONJ に対する高気圧酸素療法(HBO)の応用と FDG-PET による評価. 第 70 回日本口腔科学会総会, シンポジウム, 2016/4/17, 福岡国際会議場(福岡県・福岡市)

Sato J, Kitagawa Y, et al.: FMISO-PET REFLECTS NOT ONLY HYPOXIA BUT ALSO CELL PROLIFERATION IN ORAL SQUAMOUS CELL CARCINOMA. ICOMS 2015 (the International Conference on Oral and Maxillofacial Surgery 2015), 2015/10/27-30, Melbourne Convention and Exhibition Centre (Australia)

Sato J, Kitagawa Y, et al.: Hypoxic volume evaluated by FMISO-PET reflects the expression of HIF-1 α and Ki-67 in oral squamous cell carcinoma. 2015 Society of Nuclear Medicine Annual Meeting, 2015/6/6-10 Baltimore (USA)

Takeuchi Y, Inubushi M, et al.: Detailed assessment of gene activation levels by

multiple hypoxia-responsive elements under various hypoxic conditions.日本核医学会学術総会 2015/11/5-7,ハイアットリージェンシー東京(東京都・新宿区)

Saga T, Inubushi M, et al.: Clinical Value of FAZA-PET/CT in Head and Neck Cancer Patients. Annual Congress of the European Association of Nuclear Medicine 2015, Congress Center Hamburg, Hamburg, Germany. 2015.10.10-14.

Saga T, Inubushi M, et al.: Clinical value of FAZA-PET/CT in advanced lung cancer patients: comparison with FDG-PET/CT. World Molecular Imaging Congress 2015, Hawaii Convention Center, Honolulu, Hawaii, USA. 2015.9.2-5.

Miwa K, Inubushi M, et al.: Performance characteristics of a novel clustered multi-pinhole technology for simultaneous high-resolution SPECT/PET. The 62th Annual Meeting, Society of Nuclear Medicine and Molecular Imaging, Baltimore, USA, 2015.6.6-10.

Michikawa Y, Xu H, Fukuzaki T, Gotoh N, Tsukamoto S, Kito S, Shimomura T, Ohtake J, Takada M, Akiyama M, Suto Y, Matsuzaki Y, Inubushi M. Seamless quantitative assessments from whole body to cellular level for high dose radiation-induced mouse intestinal injury/rescue. The 15th International Congress of Radiation Research, Kyoto International Conference Center, Kyoto, Japan, 2015.5.25-29.

Sato J, Kitagawa Y, et al.: FMISO-PET reflects the ability of cell proliferation in oral squamous cell carcinoma. The 61st Annual Meeting, Society of Nuclear Medicine and Molecular Imaging, 2014/6/7-12, St. Louis, USA.

Takeuchi Y, Inubushi M, et al.: Simultaneous PET/SPECT imaging to compare uptake level of 18F-FMISO with 64Cu-ATSM on the basis of the genetic activation level responding to tumor hypoxia.The 61st Annual Meeting, Society of Nuclear Medicine and Molecular Imaging, 2014/6/7-12, St. Louis, USA.

Yu W, Zhao S, et al.: Mechanism of anti-tumor effects underlying sorafenib treatment: evaluation of tumor oxygen states using 18F-FMISO in a human lung cancer xenograft. The 61st Annual Meeting, Society of Nuclear Medicine and Molecular Imaging,

2014/6/7-12, St. Louis, USA.

Miyakoshi M, Murai C, et al.: Preoperative detection of neck lymph node metastasis using FDG-PET/CT. AAO 2014, 2014/4/9-12, Orlando (USA)

Sato J, Kitagawa Y, et al.: Advantage of FMISO-PET over FDG-PET for predicting histological response to preoperative chemotherapy in patients with oral squamous cell carcinoma. AAOMS 96th Annual Meeting, 2014/9/8-13, Hawaii (USA)

Sato J, Kitagawa Y, et al.: FMISO-PET reflects the ability of cell proliferation in oral squamous cell carcinoma. The 12th international symposium for future drug discovery and medical care, 2014/9/4-5, 北海道大学(北海道・札幌市)

竹内康人、犬伏正幸、他: さまざまな低酸素条件における低酸素応答領域による遺伝子発現の評価. 日本口腔科学会, 2014/5/8-9, 京王プラザホテル(東京)

竹内康人、犬伏正幸、他: 腫瘍内の低酸素遺伝子応答と低酸素 PET トレーサー集積の関係. 日本分子イメージング学会, 2014/5/22-23, 千里ライフサイエンスセンター(大阪)

浅香卓哉、秦浩信、他: FDG-PET を用いたビスフォスフォネート関連顎骨壊死に対する高圧酸素療法の有効性の評価, 第 59 回日本口腔外科学会総会, 2014/10/17-19, 幕張メッセ(千葉県・千葉市)

于聞文: Sorafenib の抗腫瘍効果の機序: 腎細胞癌モデルにおける 18F-fluoromisonidazole 低酸素イメージングによる腫瘍内酸素状態の評価, 平成 26 年度北海道歯学会秋季学術大会, 2014/11/28-29, 北海道大学(北海道・札幌市)

于聞文、趙松吉、他: マルチキナーゼ阻害剤 sorafenib の抗腫瘍効果の機序: 腎細胞癌モデルにおける 18F-FMISO による腫瘍内酸素状態の評価, 第 14 回放射線医薬品、画像診断薬研究会, 2014/9/13, 京都勧業館(京都府・京都市)

于聞文、趙松吉、他: 抗血管新生剤 (sorafenib) の抗腫瘍効果の機序: 腎細胞癌モデルにおける 18F-FMISO による腫瘍内酸素状態の評価, 第 54 回日本核医学学術総会, 2014/11/6-8, 大阪国際会議所(大阪府・大阪市)

21 Wenwen Yu, Zhao S, et al.: Changes tumor oxygen states after sorafenib therapy evaluated by using 18F-fluoromisonidazole hypoxia imaging in a renal cell carcinoma xenograft. 2014 World Molecular Imaging Congress, 2014/9/17-20, Seoul

- (South Korea)
- 22 Kitagawa Y, Asaka T, et al.: FDG-PET and 3-phase bone scintigraphy to differentiate diffuse sclerosing osteomyelitis from other refractory chronic osteomyelitis of jaws. 60th Annual Meeting Society of Nuclear Medicine and Molecular Imaging (SNMMI), 2013 /6/8-11, Vancouver(Canada)
- 23 Sato J, Kitagawa Y, et al.: FMISO-PET predicts the pre-operative chemotherapy response in patients with oral squamous cell carcinoma. 60th Annual Meeting Society of Nuclear Medicine and Molecular Imaging (SNMMI), 2013 /6/8-11, Vancouver(Canada)
- 24 Takeuchi Y, Inubushi M, et al.: Comparison of intratumoral distribution of 18F-FMISO and 64Cu-ATSM with regions genetically responding to hypoxia by quantitative cluster analyses. 60th Annual Meeting Society of Nuclear Medicine and Molecular Imaging (SNMMI), 2013 /6/8-11, Vancouver(Canada)
- 25 Fatema CN, Zhao S, et al.: Sequential evaluation of intratumoral proliferative activity after radiotherapy by FLT in human head and neck cancer xenograft. 60th Annual Meeting Society of Nuclear Medicine and Molecular Imaging (SNMMI), 2013 /6/8-11, Vancouver(Canada)
- 26 Asaka T, Kitagawa Y, et al.: FDG-PET to monitor hyperbaric oxygen therapy for bisphosphonate-related osteonecrosis of jaws (BRONJ). 60th Annual Meeting Society of Nuclear Medicine and Molecular Imaging (SNMMI), 2013 /6/8-11, Vancouver(Canada)
- 27 Asaka T, Kitagawa Y, et al.: Differential diagnosis of intraosseous malignancies of the mandible by FDG-PET/CT. 60th Annual Meeting Society of Nuclear Medicine and Molecular Imaging (SNMMI), 2013 /6/8-11, Vancouver(Canada)
- 28 Fatema CN, Zhao S, et al.: Sequential evaluation of tumor proliferative activity after radiotherapy using FLT in human head and neck cancer Xenograft comparison with Ki-67. The 67th Annual Meeting of the Japanese Stomatological Society, 2013/5/22-24, Utsunomiya(Tochigi)
- 29 howdhury NF, Zhao S, et al.: 18F-FLT can predict tumor proliferation response to radiotherapy in human head and neck cancer xenograft in

comparison with Ki-67. 日本薬学会第133回年会, 2013/3/27-30, パシフィコ横浜(横浜市)

- 30 竹内康人、犬伏正幸、他：腫瘍の治療抵抗性を評価する低酸素応答イメージング。第5回口腔先端応用医科学研究会(AAASOM)口腔先端応用医科学若手研究賞受賞, 2013/1/26, 日本大学会館大講堂(東京都)
- 31 阿部貴洋、秦浩信、他：口腔扁平上皮癌におけるMET-PETの有用性と限界～FDG-PETとの比較で分かったこと。日本口腔腫瘍学会総会, 2013/1/24-25, 秋葉原コンベンションホール(東京都)

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕
出願状況(計 0件)

取得状況(計 0件)

〔その他〕
ホームページ等
<http://www.den.hokudai.ac.jp/kouge1/oralsurg1.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

北川 善政 (KITAGAWA, Yoshimasa)
北海道大学・大学院歯学研究科・教授
研究者番号：00224957

(2) 研究分担者

山崎 裕 (YAMAZAKI, Yutaka)
北海道大学・大学院歯学研究科・教授
研究者番号：90250464

玉木 長良 (TAMAKI, Nagara)
北海道大学・大学院医学研究科・教授
研究者番号：30171888

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