

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 24 日現在

機関番号：10101

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2014～2015

課題番号：26893005

研究課題名(和文)低酸素遺伝子応答イメージングによる癌治療抵抗性の獲得メカニズムの解明

研究課題名(英文)Elucidation of the acquisition mechanism of therapeutic resistance using imaging of genetic response to tumor hypoxia

研究代表者

竹内 康人(TAKEUCHI, YASUTO)

北海道大学・遺伝子病制御研究所・博士研究員

研究者番号：10735187

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,100,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は、腫瘍集積量と腫瘍内分布の2点において、低酸素PETトレーサーと治療抵抗性を反映する低酸素遺伝子応答を比較することである。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 $^{99m}\text{TcO}_4^-$ の腫瘍集積量と正の相関を示した。また、腫瘍内分布に関しては、 $^{64}\text{Cu-ATSM}$ よりも $^{18}\text{F-FMISO}$ の方が低酸素に対する選択的な放射線治療の照射野の決定に適していることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study is to compare the tumor uptake level and tracer distribution of hypoxia-targeted PET tracers with those of gene activation levels by hypoxia-responsive elements (HRE). 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 $^{18}\text{F-FMISO}$ PET might be more suitable than that of $^{64}\text{Cu-ATSM}$ PET for planning hypoxia-targeted radiotherapy.

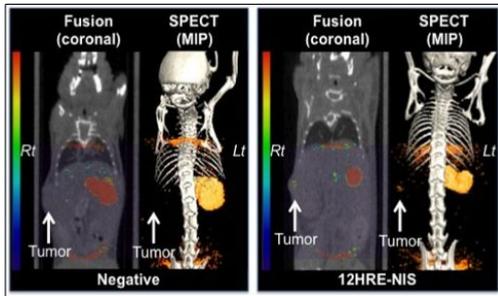
研究分野：医歯薬学

キーワード：低酸素 悪性腫瘍 レポーター遺伝子 治療抵抗性 SPECT PET 核医学 分子イメージング

1. 研究開始当初の背景

- (1) さまざまな悪性腫瘍では、その腫瘍の内部に低酸素状態に陥る部位の存在が確認されている。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（難治性）と密接に関与することが報告されている。しかしその関係を繋ぐ分子メカニズムは明らかになっていない。
- (2) 低酸素状態に陥った癌細胞では、その環境で生存するために、遺伝子発現を変化させる。低酸素に対する遺伝子レベルの反応（低酸素遺伝子応答）は、Hypoxia-inducible factors (HIFs) と呼ばれる転写因子群で制御されている。低酸素誘導因子（HIF-1: Hypoxia inducible factor 1）は、酸素濃度の低下に伴って核内に蓄積し、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（血管新生・浸潤転移能・代謝のリプログラミング・アポトーシス抵抗性など）に関わる遺伝子発現を誘導する。

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) 現在臨床で使用されている低酸素 PET トレーサーは、F 標識のニトロイミダゾール系（ $[^{18}\text{F}]\text{FAZA}$ 、 $[^{18}\text{F}]\text{FMISO}$ ）と、Cu 標識の非ニトロイミダゾール系（ $60/62\text{Cu-ATSM}$ ）の 2 つのタイプに分類される。どちらのタイプのトレーサーも細胞内への集積機序は同じである。しかしながら、どちらの低酸素 PET トレーサーも腫瘍集積量が予後と相関しているにも関わらず、低酸素 PET トレーサーの腫瘍内分布は互いに異なることが報告されている。また、低酸素 PET トレーサー集積量・集積分布と治療抵抗性との関係は明らかになっていない。

2. 研究の目的

本研究で樹立した 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悪性腫瘍の治療抵抗性を反映しているのか、の 2 点を明らかにする。

3. 研究の方法

本研究で樹立した HIF-1/HRE による低酸素遺伝子応答イメージングを可能とする担癌マウスモデルを用いて、低酸素 PET トレーサーと低酸素遺伝子応答を、腫瘍内分布と腫瘍集積量の 2 点に着目して比較した。

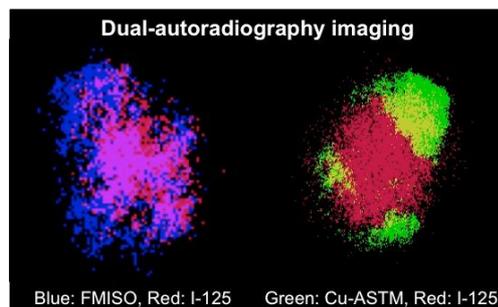
- (1) 腫瘍内分布の比較は、デュアルオートラジオグラフィ法を用いた。低酸素 PET トレーサーとして $^{18}\text{F-FMISO}$ と $^{64}\text{Cu-ATSM}$ を使用し、低酸素遺伝子応答を反映するトレーサーとして ^{125}I -を使用した。各トレーサーの腫瘍内分布はクラスター解析を用いて、腫瘍全体に占める割合（オーバーラップ領域）を算出し、定量評価した。
- (2) 腫瘍集積量の比較は、低酸素 PET トレーサーとして $^{18}\text{F-FMISO}$ と $^{64}\text{Cu-ATSM}$ を使用し、低酸素遺伝子応答を反映するトレーサーとして $^{99\text{mTcO}_4}$ -を使用した。PET/SPECT 同時収集による *in vivo* イメージングを行い、腫瘍集積量は SUVmax で評価した。また、3 次元的な腫瘍内分布も確認した。

4. 研究成果

- (1) 腫瘍内分布の比較の結果、 $^{18}\text{F-FMISO}$ と ^{125}I -のオーバーラップ領域は、 $^{64}\text{Cu-ATSM}$ と ^{125}I -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. $14.0 \pm 5.8\%$, $p = 0.004$ ）。

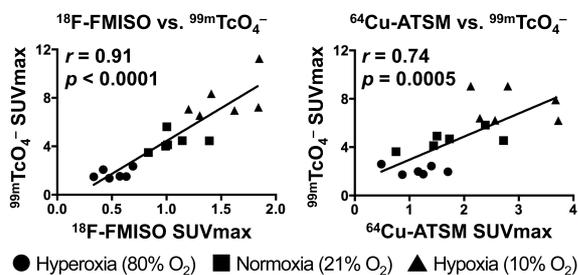
また、低酸素 PET トレーサー集積部位における ^{125}I -の集積領域の割合を調べたところ、 $^{64}\text{Cu-ATSM}$ における ^{125}I -の集積領域よりも、 $^{18}\text{F-FMISO}$ における ^{125}I -の集積領域の方が有意に大きかった（正常酸素下： $42.5 \pm 8.9\%$ vs. $20.6 \pm 10.5\%$, $p = 0.002$ 、低酸素下： $71.6 \pm 12.6\%$ vs. $40.5 \pm 16.3\%$, $p = 0.004$ ）。

以上の結果から、悪性腫瘍内の低酸素領域に選択的に強い線量の放射線を照射する IMRT（強度変調放射線治療）などの放射線治療において $^{64}\text{Cu-ATSM}$ よりも $^{18}\text{F-FMISO}$ の集積分布の方が治療計画の立案・照射野の決定に適していることが示唆され、臨床応用へ繋がる知見が得られた。



- (2) 腫瘍集積量の比較の結果、低酸素 PET トレーサーの腫瘍集積量 (SUVmax) と $^{99m}\text{TcO}_4^-$ の腫瘍集積量 (SUVmax) は、酸素濃度の低下に伴って、有意に関連していた (FMISO vs. Tc: $r = 0.91$, $p = 0.0001$, CuATSM vs. Tc: $r = 0.74$, $p = 0.0005$)

以上の結果より、どちらのタイプの低酸素 PET トレーサーの腫瘍集積量 (SUVmax) も、予後予測だけでなく、低酸素遺伝子応答の程度を反映していることを明らかにした。このことから、臨床で使用されている低酸素 PET トレーサーの腫瘍集積量 (SUVmax) は、悪性腫瘍の治療抵抗性を反映するマーカーとなりうる可能性が示唆された。



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, Takeuchi Y, Katafuchi T, Koizumi M, Saga T, Sasaki M.: Performance characteristics of a novel clustered multi-pinhole technology for simultaneous high-resolution SPECT/PET. *Annals of Nuclear Medicine*. 2015 Apr 19. doi: 10.1007/s12149-015-0966-6. 査読有

Yasuto Takeuchi, Masayuki Inubushi, Yong-Nan Jin, Chika Murai, Atsushi B Tsuji, Hironobu Hata, Yoshimasa Kitagawa, Tsuneo Saga. Detailed assessment of gene activation levels by multiple hypoxia responsive elements under various hypoxic conditions. *Annals of Nuclear Medicine*. 28 (10): 1011-9, 2014. doi: 10.1007/s12149-014-0901-2. 査読有

Yasuto Takeuchi, Masayuki Inubushi, Yong-Nan Jin, Kotaro Nagatsu, Chika

Murai, Atsushi Tsuji, Hironobu Hata, Yoshimasa Kitagawa, Tsuneo Saga. Simultaneous PET/SPECT imaging to compare tumor uptake level of ^{18}F -FMISO with ^{64}Cu -ATSM on the basis of the genetic activation level responding to tumor hypoxia. *The Journal of Nuclear Medicine*. 55(1), 336-337, 2014. http://jnm.snmjournals.org/content/55/supplement_1/33. 査読有

Yasuto Takeuchi, Masayuki Inubushi, Yong-Nan Jin, Chika Murai, Hua Xu, Keiko Mio, Hironobu Hata, Yoshimasa Kitagawa, Tsuneo Saga. Comparison of intratumoral distribution of ^{18}F -FMISO and ^{64}Cu -ATSM with regions genetically responding to hypoxia by quantitative cluster analyses. *The Journal of Nuclear Medicine*. 54 (1), 118-119, 2013. http://jnm.snmjournals.org/content/54/supplement_2/391. 査読有

Yasuto Takeuchi, Masayuki Inubushi, Hua Xu, Keiko Mio, Hironobu Hata, Yoshimasa Kitagawa, Tsuneo Saga. Molecular genetic imaging of hypoxia response using sodium/iodide symporter (NIS) reporter gene. *The Journal of Nuclear Medicine*. 53 (1), 216-217, 2012. http://jnm.snmjournals.org/content/53/supplement_1/1114.short. 査読有

Masayuki Inubushi, Yong-Nan Jin, Chika Murai, Hironobu Hata, Yasuto Takeuchi, Hua Xu, Atsushi B Tsuji, Mitsuru Koizumi, Yoshimasa Kitagawa, Tsuneo Saga. Mouse spontaneous liver metastasis model from orthotopic human colon cancer xenograft stably expressing human sodium-iodide symporter reporter gene. *Molecular Imaging and Biology*. 14 (1), 691, 2012. doi: 10.1186/2191-219X-2-46. 査読有

6 . 研究組織

(1)研究代表者

竹内 康人 (TAKEUCHI YASUTO)

北海道大学・遺伝子病制御研究所・

博士研究員

研究者番号 : 10735187