

研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2007～2009
 課題番号：19591468
 研究課題名（和文） 腫瘍における分子イメージングを用いた放射線治療個別化への応用
 研究課題名（英文） Individualized radiotherapy with molecular imaging of tumor
 研究代表者
 大野 達也（OHNO TATSUYA）
 群馬大学・重粒子線医学推進機構・准教授
 研究者番号：10344061

研究成果の概要（和文）：

本研究では、マウス腫瘍における放射線抵抗性と⁶²Cu-ATSMの集積の関連、臨床検体におけるMetAP2とメチオニンPETの相関および予後との相関、放射線治療患者におけるメチオニンPETおよび⁶²Cu-ATSM PET、⁶²Cu-ATSM PET-CTを用いた低酸素領域への炭素線治療のシミュレーション、マイクロアレイ解析による放射線治療関連バイオマーカーの同定、について検討を行った。腫瘍の放射線抵抗性と⁶²Cu-ATSMの集積に相関があることと、炭素線治療計画への応用が可能であることなどが明らかになった。放射線治療の個別化への実用化が今後の目標である。

研究成果の概要（英文）：

In the present study, we evaluated (1) the correlation between radiosensitivities of murine tumor and accumulation of ⁶²Cu-ATSM, (2) the correlation of MetAP2 overexpression and Metionine PET in uterine cervical cancer patients, (3) Simulation model of ⁶²Cu-ATSM PET based treatment planning for hypoxic tumors, (4) detection of biomarker by using microarray analysis in relation to prognosis of cervical cancer patients. The results indicated radiosensitivity correlated with the accumulation of ⁶²Cu-ATSM in the tumor, and molecular imaging is highly effective in the treatment with carbon ion radiotherapy.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2008年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2009年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	2,800,000	840,000	3,640,000

研究分野：放射線腫瘍学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・放射線科学

キーワード：分子イメージング、悪性腫瘍、放射線治療

1. 研究開始当初の背景
2. 研究の目的
3. 研究の方法および成果

①マウス腫瘍における放射線抵抗性と⁶²Cu-ATSMの集積の関連：

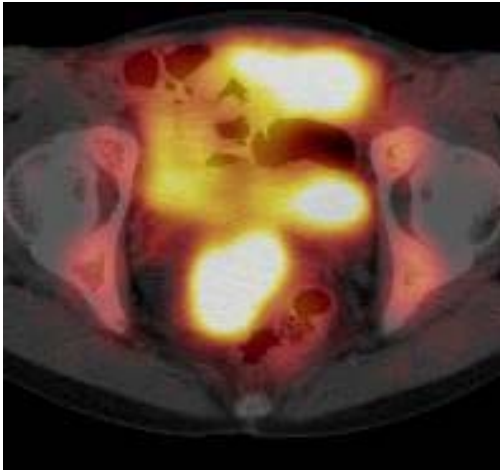
C3Hマウス腫瘍6種類(扁平上皮癌:NR-S1、SCCVII、線維肉腫:NFSa、8520、腺癌:MMCa、Mca4)を用いて、⁶²Cu-ATSMの腫瘍内分布を検討した。使用したマウス腫瘍に対する照射効果は図1に示した通りで、扁平上皮癌と線維肉腫ではNR-S1とNFSaが、それぞれSCCVIIと#8520より放射線抵抗性で、腺癌2種類、MMCaおよびMca4は、ほぼ同様の放射線感受性を示した。これら全ての腫瘍に対して、炭素線はγ線照射より高い抗腫瘍効果を示した。

これら6種類の腫瘍をC3Hマウスの下肢に移植し、径7.5mm大になった時点で、⁶²Cu-ATSMを投与し、その体内動態を計測した。扁平上皮癌2種類の比較では、⁶²Cu-ATSM集積の腫瘍/筋肉比はNR-S1: 4.39 ± 0.87 (mean \pm SD)、SCCVII: 3.34 ± 0.45 で、NR-S1への集積はSCCVIIへの集積より有意に高値であった ($t = -2.41$, $p = 0.04$)。また、線維肉腫2種類の比較では、NFSa: 4.44 ± 0.57 、#8520: 2.70 ± 0.41 で、NFSaへの集積は#8520への集積よりも有意に高値であった ($t = 5.53$, $p = 0.0006$)。扁平上皮癌と線維肉腫では、放射線抵抗性である腫瘍(NR-S1とNFSa)に有意に⁶²Cu-ATSMの高い集積と認められた。一方、腺癌2種類の比較では、MMCa: 3.42 ± 0.88 、Mca4: 3.46 ± 0.54 で、放射線感受性が同様であるこれら2種類の腫瘍では⁶²Cu-ATSMの集積にも有意な差は認めなかった ($t = -0.09$, $p = 0.93$)。今回の結果から、腫瘍の放射線抵抗性と⁶²Cu-ATSMの集積に相関があることが示唆された。

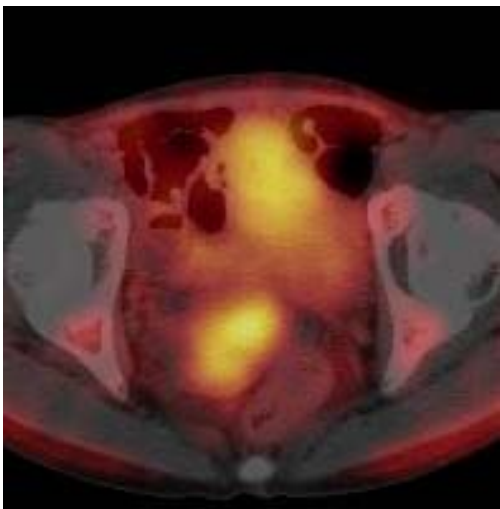
②放射線治療患者におけるメチオニンPETおよび⁶²Cu-ATSM PET：

⁶²Cu-ATSM (⁶²Cu-labeled Diacetyl-Bis (N⁴-Methylthiosemicarbozone)) は選択的に低酸素細胞へ集積するPETトレーサーとして知られている。今年度はこの薬剤を用いた臨床試験を婦人科腫瘍の患者で開始し、その初期解析を行った。臨床試験は施設の倫理審査委員会にて許可されている。対象は、放医研で2007年4月から2008年12月までに放射線治療を行った婦人科悪性腫瘍17名で、いずれも書面にて同意を得た。年齢の中央値は64歳(39-74歳)、疾患の内訳は、子宮頸癌16名(扁平上皮癌9名、腺癌7名)、膣悪性黒色腫1名である。治療前と治療後1ヶ月目の時点⁶²Cu-ATSM-PETおよび¹¹C-Methionine-PETを撮影し、腫瘍と大殿筋への集積の比(Tumor/Muscle ratio)を算出し、臨床的因子との関連を検討した。腫瘍の大きさとT/M ratioには明らかな相関は認められなかった。組織型別にみると、腺癌では扁平上皮癌に比べてT/M ratioが低い傾向がみられた。次に、⁶²Cu-ATSMの腫瘍内分布により、central type(中心部に分布)、diffuse type(びまん性に分布)、peripheral type(辺縁に分布)と分類し、腫瘍径や組織型との関連を調べた。腫瘍径と分布パターンには相関がなかった。一方、diffuse typeは扁平上皮癌に多く(4/5名)、peripheral typeは腺癌に多い(4/5名)傾向が認められた。

¹¹C-Methionine-PETとの分布は扁平上皮癌では類似しているものが多かった(7/7名)。以上から、組織型による腫瘍の個性が薬剤の集積に反映されている可能性が示唆された。経過観察期間が短いため、局所効果との関連は今後も検討する予定である。

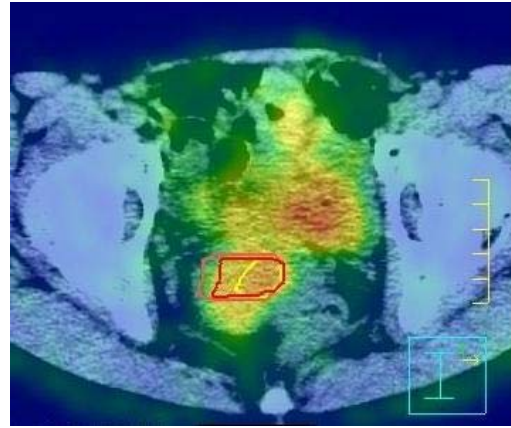


¹¹C-Methionine-PET-CT



⁶²Cu-ATSM-PET-CT central type

③⁶²Cu-ATSM PET-CTを用いた低酸素領域への炭素線治療のシミュレーション
 高LETである炭素線は低酸素腫瘍に対して常酸素腫瘍と同様の局所効果を得られることが先行研究で明らかとされている。また、⁶²Cu-ATSM PET-CTで描出される領域は腫瘍の低酸素を示すのみでなく、これを利用した治療計画への応用が可能と考えられた。放射線医学総合研究所の治療計画HIPLANを用いてシミュレーションを行い、臨床応用が十分に可能であることが確認された。



⁶²Cu-ATSM-PET-CTを用いた炭素線ブースト照射の治療計画

④臨床検体におけるMetAP2とメチオニンPETの相関および予後との相関

¹¹C-メチオニンPETを放射線治療前後に施行された子宮頸癌患者を対象に、その腫瘍検体を用いて、メチオニン代謝活性酵素の一つであるMethionine aminopeptidase 2(MetAP2)の免疫組織化学染色を行い、局所効果や遠隔転移の出現など、臨床情報との相関を比較検討し、その有用性を検討した。

対象は、2002年9月から2007年9月までに放医研で重粒子線治療を受けた婦人科腫瘍症例のうち、メチオニンPET撮影および治療前病理組織標本をメチオニンで染色した37例。そのうち、病理組織検体が不良であったものが3例(腫瘍組織を生検できていなかった)いたため、残りの34例について検討を行った。扁平上皮癌11例、腺癌14例、腺扁平上皮癌5例、子宮体癌3例、悪性黒色腫1例。重粒子線治療は57.6-74.4GyE(中央値71.2GyE)であった。メチオニン染色の程度を0から3までスコア化し、0-1の低スコア群と2-3の高スコア群に分けて局所制御との相関を調べた。5年局所制御率は、高スコア群では64%であったのに対して、低スコア群では42%と前者で良好となる傾向が認められた(有意差なし)。

⑤マイクロアレイ解析による放射線治療関連バイオマーカーの同定：

FGF2はHIF1などとともに腫瘍の血管新生に関わり腫瘍内低酸素細胞との関連が注目されている。子宮頸癌症 35 例の治療前、9 Gy 照射後のサンプルを用いて FGF2, laminin, and CD44 の免疫組織化学染色を行い、2 年時までの初期照射効果との関連を調べた。FGF2 発現と Laminin の不連続性は照射後に有意に増加していたが、CD44 には明らかな変化は認められなかった。FGF2 発現が強く認められた症例では初期治療効果は良好であった。FGF2 の発現は予後不良員であることが示唆された。

腺癌系腫瘍（腺癌、腺扁平上皮癌）は放射線治療に抵抗性であることが知られているが、その生物学的背景については十分に明らかとはされていない。我々は、87 例の子宮頸癌症例の腫瘍サンプルを用いて腺癌系腫瘍（n=31）と扁平上皮癌（n=56）のマイクロアレイ解析および定量的 PCR を行った。その結果、Villin-1 (VIL1) の発現が組織間で異なることを見出した。VIL1 の免疫組織化学染色を行い、予後との関連を調べたところ、VIL1 発現群は有意に無病生存率が不良であった。VIL1 マーカーと組織学的病理診断の対比はさらに 65 名の患者サンプルにおいて解析され、腺癌に対する感度は 52%、特異度は 100%であった。このことから、VIL1 陽性の子宮頸癌は謬り組織学的特徴を反映するだけでなく、放射線抵抗性腫瘍の指標としても有用であると考えられた。

4. 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 22 件）

1. Kato S, Tran DN, Ohno T, Nakano T, Kiyohara H, Ohkubo Y, Kamada T. CT-based 3Ddose-volume parameter of the rectum and late rectal complication in patients with cervical cancer treated with high-dose-rate intracavitary brachytherapy. J Radiat Res (Tokyo). 2010 Mar 25;51(2):215-21. 査読有
2. Nakano T, Ohno T, Ishikawa H, Suzuki Y, Takahashi T. Current advancement in radiation therapy for uterine cervical cancer. J Radiat Res (Tokyo). 2010;51(1):1-8. 査読有
3. Toita T, Ohno T, Kaneyasu Y, Uno T, Yoshimura R, Kodaira T, Furutani K, Kasuya G, Ishikura S, Kamura T, Hiraoka M. A Consensus-based Guideline Defining the Clinical Target Volume for Pelvic Lymph Nodes in External Beam Radiotherapy for Uterine Cervical Cancer. Jpn J Clin Oncol. 2010 in press. 査読有
4. Kato S, Ohno T, Thephamongkhon K, Chansilpa Y, Yuxing Y, Devi CR, Bustam AZ, Calaguas MJ, de Los Reyes RH, Cho CK, Dung TA, Supriana N, Mizuno H, Nakano T, Tsujii H. Multi-Institutional Phase II Clinical Study of Concurrent Chemoradiotherapy for Locally Advanced Cervical Cancer in East and Southeast Asia. Int J Radiat Oncol Biol Phys. 2009 in press. 査読有
5. Kobayashi M, Ohno T, Noguchi W, Matsuda A, Matsushima E, Kato S, Tsujii H. Psychological distress and quality of life in cervical cancer survivors after radiotherapy: do treatment modalities, disease stage, and self-esteem influence outcomes? Int J Gynecol Cancer. 2009 Oct;19(7):1264-8. 査読有
6. Toita T, Oguchi M, Ohno T, Kato S, Niibe Y, Kodaira T, Kazumoto T, Kataoka M, Shikama N, Kenjo M, Teshima T, Kagami Y. Quality assurance in the prospective multi-institutional trial on definitive radiotherapy using high-dose-rate intracavitary brachytherapy for uterine cervical cancer: the individual case review. Jpn J Clin Oncol. 2009 Dec;39(12):813-9. 査読有
7. Nakamura E, Iwakawa M, Furuta R, Ohno T, Satoh T, Nakawatari M,

- Ishikawa KI, Imadome K, Michikawa Y, Tamaki T, Kato S, Kitagawa T, Imai T. Villin1, a novel diagnostic marker for cervical adenocarcinoma. *Cancer Biol Ther.* 2009 Jun 17;8(12). 査読有
8. Tamaki T, Iwakawa M, Ohno T, Imadome K, Nakawatari M, Sakai M, Tsujii H, Nakano T, Imai T. Application of carbon-ion beams or gamma-rays on primary tumors does not change the expression profiles of metastatic tumors in an in vivo murine model. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2009 May 1;74(1):210-8. 査読有
 9. Suzuki Y, Oka K, Ohno T, Kato S, Tsujii H, Nakano T. Prognostic impact of mitotic index of proliferating cell populations in cervical cancer patients treated with carbon ion beam. *Cancer.* 2009 May 1;115(9):1875-82.
 10. Takayama Y, Ohno T, Kishimoto R, Kato S, Yoneyama R, Kandatsu S, Tsujii H, Obata T. Prediction of early response to radiotherapy of uterine carcinoma with dynamic contrast-enhanced MR imaging using pixel analysis of MR perfusion imaging. *Magn Reson Imaging.* 2009 Apr;27(3):370-6. 査読有
 11. Suzuki Y, Nakano T, Ohno T, Oka K. Comparison of the radiobiological effect of carbon ion beam therapy and conventional radiation therapy on cervical cancer. *J Radiat Res (Tokyo).* 2008 Sep;49(5):473-9. 査読有
 12. Sakata K, Sakurai H, Suzuki Y, Kato S, Ohno T, Toita T, Kataoka M, Tanaka E, Kaneyasu Y, Uno T, Harima Y, Nakano T; Japan Radiation Oncology Study Group. Results of concomitant chemoradiation for cervical cancer using high dose rate intracavitary brachytherapy: study of JROSG (Japan Radiation Oncology Study Group). *Acta Oncol.* 2008; 47(3):434-41. 査読有
 13. Wakatsuki M, Ohno T, Iwakawa M, Ishikawa H, Noda S, Ohta T, Kato S, Tsujii H, Imai T, Nakano T. p73 protein expression correlates with radiation-induced apoptosis in the lack of p53 response to radiation therapy for cervical cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2008 Mar 15;70(4):1189-94. 査読有
 14. Ohno T, Nakano T, Kato S, Koo CC, Chansilpa Y, Pattaranutaporn P, Calaguas MJ, de Los Reyes RH, Zhou B, Zhou J, Susworo R, Supriana N, Dung TA, Ismail F, Sato S, Suto H, Kutsutani-Nakamura Y, Tsujii H. Accelerated hyperfractionated radiotherapy for cervical cancer: multi-institutional prospective study of forum for nuclear cooperation in Asia among eight Asian countries. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2008 Apr 1;70(5):1522-9. 査読有
 15. Nakawatari M, Iwakawa M, Ohno T, Kato S, Tamaki T, Imadome K, Sakai M, Tsujii H, Imai T. Chemoradiation-induced expression of fibroblast growth factor-2 and laminin in patients with cervical cancer. *Cancer Biol Ther.* 2007 Nov;6(11):1780-6. 査読有
 16. Ohno T, Kato S, Sato S, Fukuhisa K, Nakano T, Tsujii H, Arai T. Long-term survival and risk of second cancers after radiotherapy for cervical cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2007 Nov 1;69(3):740-5. 査読有
 17. Iwakawa M, Ohno T, Imadome K, Nakawatari M, Ishikawa K, Sakai M, Kato S, Ishikawa H, Tsujii H, Imai T. The radiation-induced cell-death signaling pathway is activated by concurrent use of cisplatin in sequential biopsy specimens from patients with cervical cancer. *Cancer Biol Ther.* 2007 Jun;6(6):905-11. 査読有
 18. Nakano T, Kato S, Cao J, Zhou J, Susworo R, Supriana N, Sato S, Ohno T, Suto H, Nakamura Y, Cho CK, Ismail FB, Calaguas MJ, de Los Reyes RH, Chansilpa Y, Thephamongkol K, Duc NB, Dung TA, Tsujii H. A regional cooperative clinical study of radiotherapy for cervical cancer in east and south-east Asian countries. *Radiother Oncol.* 2007 Sep;84(3):314-9. 査読有
 19. Tsujii H, Mizoe J, Kamada T, Baba M, Tsuji H, Kato H, Kato S, Yamada S, Yasuda S, Ohno T, Yanagi T, Imai R, Kagei K, Kato H, Hara R, Hasegawa A, Nakajima M, Sugane N, Tamaki N, Takagi R, Kandatsu S, Yoshikawa K, Kishimoto R, Miyamoto T. Clinical Results of Carbon Ion Radiotherapy at NIRS. *J Radiat Res (Tokyo).* 2007;48 Suppl A:A1-A13. 査読有
 20. Noda SE, Ohno T, Kato S, Ishii T, Saito O, Wakatsuki M, Tamaki T, Watanabe K, Nakano T, Tsujii H. Late rectal complications evaluated by computed tomography-based dose calculations in patients with cervical carcinoma

- undergoing high-dose-rate brachytherapy. Int J Radiat Oncol Biol Phys. 2007 Sep 1;69(1):118-24. 査読有
21. Ohno T, Kato S, Sasaki E, Mizutani K, Tsujii H. Carbon ion radiotherapy for vaginal malignant melanoma: a case report. Int J Gynecol Cancer. 2007 Sep-Oct;17(5):1163-6. 査読有
 22. Wakatsuki M, Suzuki Y, Nakamoto S, Ohno T, Ishikawa H, Kiyohara H, Kiyozuka M, Shirai K, Nakayama Y, Nakano T. Clinical usefulness of CYFRA 21-1 for esophageal squamous cell carcinoma in radiation therapy. J Gastroenterol Hepatol. 2007 May;22(5):715-9. 査読有

[学会発表] (計 0 件)

[図書] (計 3 件)

1. 大野達也 粒子線治療の歩みと現状 p 8-9、ここまできた重粒子線治療のすべて p 18-21 群馬大学医学部同窓会 刀城クラブ編 上毛新聞社 群馬 2010
2. Nakano T, Suzuki Y, Kato S, Ohno T, Delaney TF. Gynecologic carcinoma. Delaney TF Koy HM (Eds.) Proton and Charged Particle Radiotherapy. 1st edition. Philadelphia. Lippincott Williams & Wilkins 2008
3. 大野達也、辻井博彦 放射線による皮膚障害。p 368-371 「熱傷治療マニュアル」木所昭夫 編著 中外医学社 東京 2007

[産業財産権]

○出願状況 (計 2 件)

1. 名称：放射線治療情報管理システム
発明者：鳥飼 幸太、加藤 弘之、大野 達也、山田 聡、山口 進一、福島 伸哉、中村 昌彦、三浦 幸雄、武井 由佳、簗原 伸一、福田 茂一
権利者：群馬大学、東芝、放射線医学総合研究所
種類：PCT 出願
番号：特願 2010-02727
出願年月日：2010/2/10
国内外の別：国内
2. 名称：子宮頸部腺癌の診断又は子宮頸癌の予後の診断のためのマーカー
発明者：今井高志、岩川真由美、加藤真吾、大野達也
権利者：独立行政法人放射線医学総合研究所
種類：PCT 出願
番号：PCT/JP2008/068920

出願年月日：2008/10/10

国内外の別：国内

[その他]

ホームページ等

群馬大学重粒子線医学研究センター

<http://heavy-ion.showa.gunma-u.ac.jp/index.html>

放射線医学総合研究所重粒子医科学センター病院

<http://www.nirs.go.jp/hospital/index.shtml>

放射線医学総合研究所ゲノム診断研究グループ

<http://133.63.22.22/radgenomics/index.php>

放射線医学総合研究所分子病態イメージング研究グループ

http://www.nirs.go.jp/research/division/mic/group/g_bunshi-byotai.html

5. 研究組織

(1) 研究代表者

大野 達也 (OHNO TATSUYA)

群馬大学・重粒子線医学推進機構・准教授
研究者番号：1 0 3 4 4 0 6 1

(2) 研究分担者

加藤 真吾 (KATO SHINGO)

放射線医学総合研究所・重粒子医科学センター・研究員
研究者番号：0 0 3 7 0 8 7 5

吉川 京燦 (YOSHIKAWA KYOSAN)

放射線医学総合研究所・重粒子医科学センター・研究員
研究者番号：0 0 2 0 4 7 9 3

岩川 真由美 (IWAKAWA MAYUMI)

放射線医学総合研究所・重粒子医科学センター・研究員
研究者番号：3 0 2 3 1 7 2 3