

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 5 月 28 日現在

機関番号：13701

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15H04908

研究課題名(和文) 臨床応用を目的とした放射線治療における再酸素化とエネルギー代謝の解明

研究課題名(英文) Elucidation of reoxygenation and energy metabolism in radiotherapy for clinical application

研究代表者

松尾 政之 (Matsuo, Masayuki)

岐阜大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：40377669

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,800,000円

研究成果の概要(和文)：腫瘍内の酸素分圧と乳酸/ピルビン酸比を新しいイメージング技術を用いて比較し、HT29においては照射の影響を検討した結果、乳酸/ピルビン酸比は照射後に低酸素域で亢進した。5Gy照射1日後の低酸素領域は放射線照射後に拡大する傾向があり、理由は、腫瘍酸素分圧の低下、灌流の減少などによって説明された。この新しいイメージングの組み合わせは、放射線治療における腫瘍の酸素分圧と解糖系代謝の理解に新しいアプローチを示した。

研究成果の概要(英文)：To examine the relationship between local oxygen partial pressure and energy metabolism in the tumor, electron paramagnetic resonance imaging (EPRI) and magnetic resonance imaging (MRI) with hyperpolarized [1-13C] pyruvate were performed. SCCVII and HT29 solid tumors were imaged by EPRI and 13C-MRI using hyperpolarized [1-13C] pyruvate. The effect of a single dose of 5 Gy irradiation on the pO<sub>2</sub> and metabolism was also investigated by sequential imaging of EPRI and 13C-MRI in HT29 tumors. In vivo studies revealed SCCVII tumor had a significantly larger hypoxic fraction compared to HT29 tumor. The flux of pyruvate-to-lactate conversion was also higher in SCCVII than HT29. The lactate-to-pyruvate ratio in hypoxic regions 24 hours after 5-Gy irradiation was significantly higher than those without irradiation in HT29 tumor. The in vitro study showed an increase in extracellular acidification rate after irradiation.

研究分野：放射線生物学

キーワード：放射線治療 再酸素化 解糖系代謝

1. 研究開始当初の背景

分割放射線照射は、「再酸素化」現象に基づく放射線治療の臨床において最も基本的で重要な照射方法である。「再酸素化」現象とは、酸素に富んだ細胞は、放射線感受性が高いため、照射によって先ず死滅し腫瘍径が縮小する。それとともに初めは血管からの距離が遠く、酸素分圧が低くて放射線抵抗性であった細胞は、分割照射の期間中に腫瘍径が縮小して血管に近づき、再び酸素化され放射線感受性が高くなる。「再酸素化」現象は腫瘍に特徴的な現象であり、分割放射線照射は正常組織と腫瘍組織での「再酸素化」現象の差を利用した照射法である。「再酸素化」現象を生体イメージングで捉える試みはなされてきたが、通常のCT, MRI およびPETでの酸素イメージングでは空間分解能や時間分解能ともに限界があり、感度および精度は決して高いものではなく、詳細な「再酸素化」現象を撮影することは困難であった。

近年、酸素分圧測定可能な高解像度画像手法が出現し、電子スピン共鳴画像 (Electron Paramagnetic Resonance Imaging) を用いて世界で初めて絶対的酸素分圧の画像化に成功し、マウスにおける腫瘍内酸素分圧イメージングに応用した。我々は、この電子スピン共鳴画像を用いて、担癌マウスの放射線治療前および直後の絶対的酸素分圧画像を取得し、放射線治療における「再酸素化」現象の画像化に成功した。現在、その詳細な解析を開始している。

また、がん組織ではグルコースから乳酸が作られ、好氣的呼吸と嫌氣的呼吸 (解糖) の両方が使われている。さらに好氣的条件下でも解糖系に抑制がかからないという Warburg 効果は、正常細胞とは大きく異なる性質の1つとされてきた。解糖系の最終産物であるピルビン酸は、好氣的条件下ではアセチル CoA として TCA 回路に入り、嫌氣的条件下では乳酸になる。ピルビン酸がどの物質に代謝されているかという流れを flux といい、1 位のピルビン酸 12C を 13C で標識した 1-13C ピルビン酸を生体内に注入し、1-13C ピルビン酸がどの物質に移行しているかを調べることによって、flux を測ることができる。

Metabolite Map には、PET, SPECT および MRI によるものがあるが、さまざまな放射性核種を投与して Tracer Imaging を行う RI 検査に対して、MRI ではプロトンやリンといった内因性の代謝物質を画像化して評価することができ、さらに、Carbon-13 (13C) を用いた Tracer Imaging も可能である。中でも MR Spectroscopy (MRS) の応用範囲は RI 検査の一部を包括しており、従来の MRI を凌駕する潜在能力を有している。

近年、新たに超偏極 (Hyperpolarization) 手法である DNP (Dynamic Nuclear Polarization) 法が開発された。DNP 法では、固体状態の 1-13C ピルビン酸に高磁場下でレーザーを照射し、不対電子を増加させるこ

とで MR 感度を 5000 ~ 10000 倍程度に向上させ、MRS を撮像することで解糖系代謝を評価できるようになった。

2. 研究の目的

この研究目的は画像および分子生物学的解析を用いて、放射線治療における「再酸素化」現象を解明し、放射線治療前後の酸素分圧変化が解糖系代謝に及ぼす影響を明らかにするものである。

3. 研究の方法

電子スピン共鳴画像および DNP-MRI による in vivo 実験解析。

<放射線治療における再酸素化の画像化>

電子スピン共鳴画像を用いて、放射線照射前、放射線照射直後、24 時間後の 3 つの時間帯における酸素画像の解析。

<放射線治療前後の chronic hypoxia と cycling hypoxia の変化>

照射前および照射 24 時間後に酸素分圧の変化の評価。

<放射線治療前後の解糖系代謝の変化>

照射 1 日後の平均酸素分圧の解析および、照射 1 日後の乳酸/ピルビン酸比 (解糖系代謝) の解析。

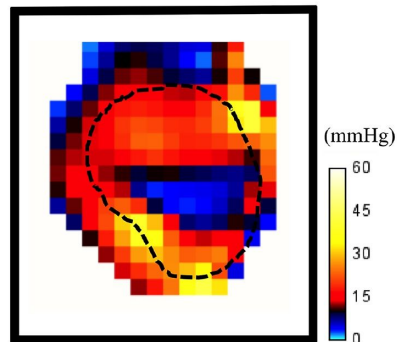
<新しい解糖系画像が biomarker の可能性の検討>

細胞実験での、放射線治療前および放射線治療後の細胞外酸化速度 (乳酸生成) を評価することにより、照射が解糖系に与える影響について検討。

4. 研究成果

<放射線治療における再酸素化の画像化>

図 2. 酸素分圧と乳酸/ピルビン酸比 (Matsuo M, et al. Co-imaging of the Tumor Oxygenation and Metabolism Using Electron Paramagnetic Resonance Imaging and 13-C Hyperpolarized Magnetic Resonance Imaging Before and After Irradiation. Oncotarget 2018 (in press) )



pO<sub>2</sub> mapping

放射線治療前後における酸素分圧の画像化は可能であり、再酸素化の画像化に成功した。

<放射線治療前後の chronic hypoxia と

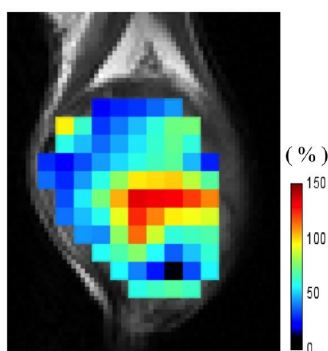
cycling hypoxia の変化>

chronic hypoxia と cycling hypoxia の変化の解析も可能であり、照射前および照射 24 時間後に酸素分圧の変化の評価も行った。

<放射線治療前後の解糖系代謝の変化>

図 2 . 酸素分圧と乳酸/ピルビン酸比

(Matsuo M, et al. Co-imaging of the Tumor Oxygenation and Metabolism Using Electron Paramagnetic Resonance Imaging and 13-C Hyperpolarized Magnetic Resonance Imaging Before and After Irradiation. Oncotarget 2018 (in press) )



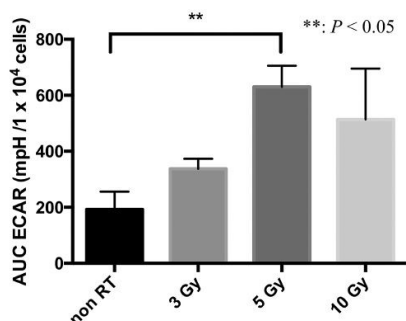
Lac/Pyr ratio

乳酸/ピルビン酸比 (解糖系代謝) の解析が画像上可能であった。

<新しい解糖系画像が biomarker の可能性の検討>

図 5 . 放射線治療前および放射線治療後の細胞外酸化速度

(Matsuo M, et al. Co-imaging of the Tumor Oxygenation and Metabolism Using Electron Paramagnetic Resonance Imaging and 13-C Hyperpolarized Magnetic Resonance Imaging Before and After Irradiation. Oncotarget 2018 (in press) )



細胞外酸化速度 (乳酸生成) は、5 Gy 照射が時が最も高い結果だった。

## 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 10 件)

Scroggins B, Matsuo M, White A, Saito K, Munasinghe JP, Sourbier C, Yamamoto K, Diaz V, Ichikawa K, Mitchell JB, Cherukuri MK, Citrin DE. Hyperpolarized [1-(13)C]-pyruvate magnetic resonance spectroscopic imaging of prostate cancer in vivo predicts efficacy of targeting the Warburg effect. Clin Cancer Res. 2018 Mar 29. 査読あり

Tanaka H, Yamaguchi T, Hachiya K, Kamei S, Ishihara S, Hayashi M, Ogawa S, Nishibori H, Goshima S, Matsuo M. Treatment outcomes and late toxicities of intensity-modulated radiation therapy for 1091 Japanese patients with localized prostate cancer. Rep Pract Oncol Radiother. 2018 Jan-Feb;23(1):28-33. 査読あり

Tanaka O, Komeda H, Hirose S, Taniguchi T, Ono K, Matsuo M. Visibility of an iron-containing fiducial marker in magnetic resonance imaging for high-precision external beam prostate radiotherapy. Asia Pac J Clin Oncol. 2017 Nov 29. 査読あり

Tanaka O, Yokoi R, Mukai T, Yamada M, Kato T, Taniguchi T, Ono K, Matsuo M. Radiotherapy for Gastric Bleeding from Tumor Invasion of Recurrent Colon Cancer with Liver Metastasis After Resection. J Gastrointest Cancer. 2017 Nov 13. 査読あり

Tanaka O, Komeda H, Hattori M, Hirose S, Yama E, Matsuo M. Comparison of MRI sequences in ideal fiducial marker-based radiotherapy for prostate cancer. Rep Pract Oncol Radiother. 2017 Nov-Dec;22(6):502-506. 査読あり

Tanaka O, Komeda H, Tamaki M, Seike K, Fujimoto S, Yama E, Hirose S, Matsuo M. Comparison of MRI visualization between linearly placed iron-containing and non-iron-containing fiducial markers for prostate radiotherapy. Br J Radiol. 2018 Feb;91(1082):20170612. 査読あり

Tanaka H, Ito M, Yamaguchi T, Hachiya K, Yajima T, Kitahara M, Matsuyama K, Goshima S, Futamura M, Matsuo M. High Tangent Radiation Therapy With Field-in-Field Technique for Breast Cancer. *Breast Cancer (Auckl)*. 2017 Sep 20;11:1178223417731297. 査読あり

Tanaka H, Yamaguchi T, Hachiya K, Hayashi M, Ogawa S, Nishibori H, Kamei S, Ishihara S, Matsuo M. Does intensity-modulated radiation therapy (IMRT) alter prostate size? Magnetic resonance imaging evaluation of patients undergoing IMRT alone. *Rep Pract Oncol Radiother*. 2017 Nov-Dec;22(6):477-481. 査読あり

Tanaka O, Matsuura K, Sugiyama A, Kato T, Tomita E, Matsuo M. Hemostatic Radiotherapy Used Twice for Inoperable Progressive Gastric Cancer with Bleeding. *J Gastrointest Cancer*. 2017 Aug 15. 査読あり

Takaoka T, Shibamoto Y, Matsuo M, Sugie C, Murai T, Ogawa Y, Miyakawa A, Manabe Y, Kondo T, Nakajima K, Okazaki D, Tsuchiya T. Biological effects of hydrogen peroxide administered intratumorally with or without irradiation in murine tumors. *Cancer Sci*. 2017 Sep;108(9):1787-1792. 査読あり

[学会発表](計 12 件)

M.Matsuo, S.Matsumoto, K.Saito, Y.Takakusagi, H.Tanaka, Y.Takahiro, F.Hyodo, M.James, K.Murali. がん治療における酸素分圧と糖代謝変化の画像解析. 第 77 回日本医学放射線学会総会, 2017-2018

兵藤文紀, Murali Krishna, James B Mitchell, 松尾政之. 放射線治療効果の早期診断のための磁気共鳴レドックス代謝イメージング法の開発. 日本放射線腫瘍学会第 30 回学術大会, 2017

Fuminori Hyodo, Murali Krishna, James B Mitchell, Masayuki Matsuo. The relationship between tissue oxygenation and redox status using magnetic resonance imaging. 2017 Annual Meeting- American Society for Radiation Oncology (ASTRO 2017) (国際学会), 2017

兵藤文紀, 棚橋裕吉, Krishna MC,

Mitchell JB, 田中秀和, 山口尊弘, 三好利治, 庄田真一, 松尾政之. 磁気共鳴分子イメージング法による腫瘍内レドックス代謝の可視化と応用. 日本医学放射線学会 第 162 回中部地方会, 2017

松尾政之, 田中秀和, 山口尊弘, 蜂谷可絵, 三好利治, 兵藤文紀, 岩下拓司, 清水雅仁, 岩崎遼太, 高須正規, 森 崇. KORTUC 基礎的検討: 過酸化水素水の瘳実質への影響について. 日本放射線腫瘍学会第 30 回学術大会, 2017

M.Matsuo, H.Tanaka, T.Yamaguchi, T.Mori, R.Iwasaki, M.Tasasu, T.Iwashita, M.Shimizu. Endoscopic ultrasound-guided fine needle injection of hydrogen peroxide in the pancreas: Feasibility and safety study in a survival porcine model. 2017 Annual Meeting- American Society for Radiation Oncology (ASTRO 2017) (国際学会), 2017

M.Matsuo, F.Hyodo, J.B.Mitchell, M.Krishna. Bio Marker for Radiation Therapy: The relationship between tissue oxygenation and redox status. 2017 Annual Meeting- American Society for Radiation Oncology (ASTRO 2017) (国際学会), 2017

M.Matsuo, M.Krishna, H.Tanaka, T.Yamaguchi, J.B.Mitchell. Reoxygenation-Based Radiation Therapy improve the tumor control. 2017 Annual Meeting- American Society for Radiation Oncology (ASTRO 2017) (国際学会), 2017

松尾政之, 田中秀和, 山口尊弘, 三好利治, 庄田真一, 兵藤文紀, 岩下拓司, 清水雅仁, 岩崎遼太, 高須正規, 森 崇. KORTUC の基礎的検討 : 瘳実質の急性期障害について. 日本医学放射線学会 第 162 回中部地方会, 2017

松尾政之, 田中秀和, 山口尊弘, 蜂谷可絵, 三好利治, 兵藤文紀, 岩下拓司, 清水雅仁, 岩崎遼太, 高須正規, 森 崇. KORTUC 基礎的検討: 過酸化水素水の瘳実質への影響について. 日本放射線腫瘍学会第 55 回生物部会学術大会, 2017

王 禎, 杉江愛生, 近藤拓人, 河合辰哉, 松尾政之, 芝本雄太. in vitro における heat shock protein 90 阻害薬 DS-2248 による放射線増感効果の検討. 日本放射線腫瘍学会第 55 回生物部会学術大会, 2017

近藤拓人,河合辰哉,杉江愛生,王 禎,村井太郎,眞鍋良彦,中島雅大,丹羽正成,松尾政之,芝本雄太. in vivoにおける heat shock protein 90 阻害薬 DS-2248 による放射線増感効果の検討. 日本放射線腫瘍学会第 55 回生物部会学術大会,2017

〔図書〕(計 1 件)

大西洋,唐澤久美子,唐澤克之. 学研メディアカル秀潤社,がん・放射線療法 2017 改訂第 7 版,2017 Jul:1336(765-767)

〔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〕

6. 研究組織

(1)研究代表者

松尾 政之 (MATSUO, Masayuki)  
岐阜大学・大学院医学系研究科・教授  
研究者番号:40377669

(2)研究分担者

村井 太郎 (MURAI, Taro)  
名古屋市立大学・大学院医学研究科・助教  
研究者番号:00747602

芝本 雄太 (SHIBAMOTO, Yuta)  
名古屋市立大学・大学院医学研究科・教授  
研究者番号:20144719

河合 辰哉 (KAWAI, Tatsuya)  
名古屋市立大学・大学院医学研究科・研究員  
研究者番号:70597822

杉江 愛生 (SUGIE, Chikao)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・准教授

研究者番号:80509258

(3)連携研究者 ( )

研究者番号:

(4)研究協力者 ( )