

令和元年5月8日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16H05536

研究課題名(和文) 治療抵抗性を反映した革新的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 strategy for oral cancer based on molecular imaging reflecting therapeutic resistance

研究代表者

北川 善政 (KITAGAWA, Yoshimasa)

北海道大学・歯学研究院・教授

研究者番号：00224957

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,300,000円

研究成果の概要(和文)：低酸素状態は固形癌の重要な予後因子のひとつで、放射線・化学療法に抵抗性を示す。HIF-1/HREによる低酸素遺伝子応答によってNISを発現する癌細胞株を樹立しイメージングに成功した。低酸素PETトレーサーの腫瘍集積値は、治療抵抗性との強い関係性を示唆しており、予後因子として利用できることの裏付けとなる結果であった。口腔がんにおけるFMISO-PETの集積と組織中のHIF-1の発現が有意に関連していることを世界で初めて明らかにした。さらに術前化学療法の効果の予測、増殖能との関係、低酸素容積と予後との関連も見いだした。FMISO-PETはがん診療に有望な低酸素分子イメージングである。

研究成果の学術的意義や社会的意義

腫瘍内環境における低酸素は多くの固形癌の強力な予後因子とされているが、低酸素状態の可視化は極めて困難であった。われわれは低酸素状態で遺伝子応答する癌細胞株を樹立し、動物実験でイメージングに成功した。さらに低酸素分子イメージングとしてFMISO-PETを口腔癌に臨床応用した。FMISO-PETの集積と組織中のHIF-1の発現が有意に関連していることを世界で初めて明らかにした。術前化学療法の効果の予測、増殖能との関係、低酸素容積と予後との関連も見いだした。

研究成果の概要(英文)：Hypoxia is a negative prognostic factor due to its association with an aggressiveness and therapeutic resistance. HIF-1/HRE pathway is a promising target for the imaging and the treatment of intractable malignancy (HIF-1; hypoxia-inducible factor 1, HRE; hypoxia responsive element). The tumor uptake level of hypoxia-targeted PET tracers reflected the gene activation level of HRE, which eventually conferred resistance to anti-cancer therapies. FMISO-PET and FDG-PET were performed in patients with oral SCC (OSCC) to elucidate the correlation between PET uptake and various parameters. FMISO uptake was an independent significant predictor of response to preoperative chemotherapy. hypoxic volume (HV) correlated significantly with both disease-free survival and loco-regional recurrence. Tumor HV measured by FMISO-PET may predict outcomes in patients with OSCC.

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 遺伝子応答 PET 治療抵抗性 化学療法 頭頸部癌

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

- (1) 近年、腫瘍内環境 (tumor microenvironment) における hypoxia (低酸素) は多くの固形癌の強力な予後因子とされており、これまでの TNM 分類、組織学的腫瘍分化度、浸潤様式などは独立した予後因子になり得ると考えられている。以前から腫瘍内の hypoxia は放射線感受性の低下および化学療法抵抗性を示すと報告されている。
- (2) 一方、酸素濃度の低下に伴う癌細胞内での反応も明らかになってきた。その反応の中心を担うのが HIF-1 (hypoxia-inducible factor 1) である。HIF-1 は、HIF-1 $\alpha$  と HIF-1 $\beta$  からなる 2 量体タンパクである。正常酸素下では、速やかに分解される。しかし、低酸素環境下では、細胞質で安定化し、核内移行の後、DNA 上の低酸素応答領域 (HRE: hypoxia responsive elements) に結合し、転写因子として様々な遺伝子発現を誘導する。その結果、低酸素応答が誘導された癌細胞は、代謝リプログラミング・血管新生・浸潤転移能・アポトーシス抵抗性などの新たな形質を獲得し、治療抵抗性を獲得すると考えられている。
- (3) 北大病院では 2009 年から核医学診療科の協力のもと、<sup>18</sup>F-Fluorodeoxyglucose (FDG) PET と共に低酸素分子イメージングとして <sup>18</sup>F-Fluoromisonidazole (FMISO) PET を口腔扁平上皮癌 (OSCC) 患者に臨床応用している。

### 2. 研究の目的

- (1) 癌の治療抵抗性を評価することができれば、治療方針の決定や予後予測に役立つが、これまでに有用な評価手法が存在しなかった。そこで、われわれは癌細胞の治療抵抗性に関する HIF-1/HRE による低酸素遺伝子応答のイメージングを試みた。
- (2) われわれは OSCC における FMISO-PET の集積と組織中の HIF-1 の発現、術前化学療法の効果の予測、増殖能との関係、低酸素容積 (hypoxic volume:HV) と予後との関連を検索する。

### 3. 研究の方法

- (1) Na<sup>+</sup>/I<sup>-</sup> 共輸送タンパク (NIS: sodium/iodine symporter) を利用して、癌細胞の低酸素遺伝子応答イメージングを行った。HIF-1/HRE による低酸素遺伝子応答によって NIS を発現する癌細胞株を樹立し、PET (<sup>124</sup>I-) あるいは SPECT (<sup>99m</sup>TcO<sub>4</sub><sup>-</sup>) イメージングを試みた。
- (2) 低酸素遺伝子応答イメージングを可能にする担癌マウスを、3 つの異なる酸素環境下 (hyperoxia: 80% O<sub>2</sub>, normoxia: 21% O<sub>2</sub>, hypoxia: 10% O<sub>2</sub>) で飼育の後、<sup>18</sup>F-FMISO/<sup>99m</sup>TcO<sub>4</sub><sup>-</sup> あるいは <sup>64</sup>Cu-ATSM/<sup>99m</sup>TcO<sub>4</sub><sup>-</sup> を投与し、PET/SPECT 同時収集イメージングを行った。
- (3) PET/SPECT 同時収集イメージングと同様の条件で飼育した担癌マウスに、<sup>18</sup>F-FMISO/<sup>125</sup>I- あるいは <sup>64</sup>Cu-ATSM/<sup>125</sup>I- を投与した後、皮下腫瘍を摘出し、オートラジオグラフィによるイメージングを行った。
- (4) 当科で根治手術を行った OSCC 患者の術前に FMISO-PET/CT と FDG-PET/CT 検査を行った。PET 検査は 3D・PET/CT スキャナ (True Point Biograph 64: 朝日シ - メンス社製) を用いて、FMISO は注射 4 時間後、FDG は注射 1 時間後に撮像した。画像の評価は当初は FDG-PET, FMISO-PET とともに Standardized Uptake Value (SUV) を測定して、腫瘍内の SUV の最高値: SUV max を算出した。

### 4. 研究成果

- (1) HIF-1/HRE による低酸素遺伝子応答によって NIS を発現する癌細胞株を樹立し、PET (<sup>124</sup>I-) あるいは SPECT (<sup>99m</sup>TcO<sub>4</sub><sup>-</sup>) イメージングに成功した。HIF-1/HRE による低酸素遺伝子応答イメージングは、腫瘍の治療抵抗性を反映するイメージングと捉えることもできる。この新たなイメージング手法によって、既存の低酸素 PET トレーサーの集積分布と腫瘍集積量 (SUVmax) を、治療抵抗性という観点から評価することが可能になった。
- (2) 低酸素 PET トレーサーの腫瘍集積量 (<sup>18</sup>F-FMISO/<sup>64</sup>Cu-ATSM SUVmax) は、酸素濃度の低下に伴って増加した。また、低酸素遺伝子応答の腫瘍集積量 (<sup>99m</sup>TcO<sub>4</sub><sup>-</sup> SUVmax) も同様に、酸素濃度の低下に伴って増加した。さらに、低酸素 PET トレーサーの腫瘍集積量 (SUVmax) は、低酸素遺伝子応答の腫瘍集積量 (<sup>99m</sup>TcO<sub>4</sub><sup>-</sup> SUVmax) と正の相関を示した。このことは、低酸素 PET トレーサーの腫瘍集積量の値 (SUVmax) は、治療抵抗性との強い関係性を示唆しており、予後因子として利用できることの裏付けとなる結果であった。
- (3) <sup>18</sup>F-FMISO と <sup>64</sup>Cu-ATSM の腫瘍内集積分布は異なるものであった。また、低酸素遺伝子応答集積分布 (<sup>125</sup>I-) とのオーバーラップに着目すると、<sup>64</sup>Cu-ATSM の集積分布よりも、<sup>18</sup>F-FMISO の集積分布の方が、より広く低酸素遺伝子応答集積分布 (<sup>125</sup>I-) とオーバーラップしていた。このことから、PET トレーサー集積を利用した強度変調放射線治療などの放射線治療における照射範囲の決定には、<sup>64</sup>Cu-ATSM の集積分布よりも、<sup>18</sup>F-FMISO の集積分布の方が適していることが明らかになった。
- (4) OSCC における FMISO-PET の集積と組織中の HIF-1 の発現が有意に関連していることを世界で初めて明らかにした。さらに術前化学療法の効果の予測、増殖能との関係、低酸素容積 (hypoxic volume:HV) と予後との関連も見いだした。FMISO-PET はがん診療に有望な低酸素分子イメージングである。今後は、in vivo イメージングによって得られた新たな知見を臨床へとフィードバックすることが期待される。また、分子レベルの新たな生物学的意義やエビデンスを、臨床で使用されている PET トレーサーに付与していくことに

よって、核医学手法を用いた診断が、“Precision Medicine”の一役を担うことに繋がるのではないかと考える。

#### 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 11 件)

Kitagawa Y, Ohga N, Asaka T, Sato J, Hata H, Helman J, Tsuboi K, Amizuka N, Kuge Y, Shiga T: Imaging modalities for drug-related osteonecrosis of the jaw (3), Positron emission tomography imaging for the diagnosis of medication-related osteonecrosis of the jaw. *Jpn Dent Sci Rev*. 2019 Nov;55(1):65-70. (査読有) DOI: 10.1016/j.jdsr.2018.12.001.  
北川善政, 佐藤 淳, 大賀則孝, 浅香卓哉, 竹内康人, 犬伏正幸, 久下裕司, 志賀 哲: 口腔癌における低酸素分子イメージング. *お茶の水医学* 66(2): 193-211, 2018. (査読有)  
北川善政, 浅香卓哉, 佐藤 淳, 秦 浩信, 坪井香奈子, 網塚憲生, 久下裕司, 志賀 哲: 薬剤関連顎骨壊死の PET 検査. *臨床放射線* 63(10): 1071-1081, 2018. (査読有) DOI: <https://doi.org/10.18888/rp.0000000575>

Ohga N, Sato J, Asaka T, Morimoto M, Yamazaki Y, Kitagawa Y: Successful conservative treatment of jaw osteonecrosis caused by denosumab in patients with multiple bone metastasis. *J Oral Sci*. 2018;60(1):159-162. (査読有) DOI: 10.2334/josnusd.17-0027.

Yoshikawa K, Onodera-Kyan M, Kitagawa Y, Satoh A, Sato J, Kitamura T, Shiga T, Watanabe S: Clinical possibility of baseline FDG-PET SUVmax as a prognostic factor in patients with head and neck non-Hodgkin's lymphoma: a preliminary study. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, Medicine and Pathology (JOMSMP)*, 2018; 30(4), July, 319-23. (査読有)

Sato J, Kitagawa Y, Watanabe S, Asaka T, Ohga N, Hirata K, Shiga T, Satoh A, Tamaki N: Hypoxic volume evaluated by 18F-fluoromisonidazole positron emission tomography (FMISO-PET) may be a prognostic factor in patients with oral squamous cell carcinoma: preliminary analyses. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2018;47(5):553-560. (査読有) DOI: 10.1016/j.ijom.2017.09.007.

Yu W, Zhao S, Zhao Y, Fatema CN, Murakami M, Nishijima K, Kitagawa Y, Tamaki N, Kuge Y: Changes in tumor oxygen state after sorafenib therapy evaluated by 18F-fluoromisonidazole hypoxia imaging of renal cell carcinoma xenograft. *Oncology Letters* 2017;14(2):2341-2346. (査読有) DOI: 10.3892/ol.2017.6371.

Sato J, Kitagawa Y, Watanabe S, Asaka T, Ohga N, Hirata K, Okamoto S, Shiga T, Shindoh M, Kuge Y, Tamaki N: 18F-Fluoromisonidazole positron emission tomography (FMISO-PET) may reflect hypoxia and cell proliferation activity in oral squamous cell carcinoma. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol* 2017;124(3):261-270. (査読有) DOI: 10.1016/j.oooo.2017.05.506.

Shimizu R, Ohga N, Miyakoshi M, Asaka T, Sato J, Kitagawa Y: Unusual maxillary osteoblastic and osteolytic lesions presenting as an initial manifestation of childhood acute myeloid leukemia: A case report. *Quintessence international (Berlin, Germany)*: 1985; 48(2) 149-153. 2017. (査読有) DOI: 10.3290/j.qi.a37383.

Sakata K, Yamazaki Y, Kuroshima T, Ohga N, Satoh C, Sakakibara N, Kitagawa Y: A case of subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma of the cheek. *JOMSMP*, DOI information: 10.1016/j.ajoms.2017.04.001, 2017

Ukon N, Zhao S, Yu W, Shimizu Y, Nishijima KI, Kubo N, Kitagawa Y, Tamaki N, Higashikawa K, Yasui H, Kuge Y: Dynamic PET evaluation of elevated FLT level after sorafenib treatment in mice bearing human renal cell carcinoma xenograft. *EJNMMI Res*. 2016;6(1):90. (査読有)

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) DOI: 10.1007/s10266-015-0218-1.

〔学会発表〕(計 11 件)

Yoshimasa Kitagawa: FDG-PET and 3-phase bone scintigraphy to monitor the activity of MRONJ. 60th Anniversary of KAOMS (招待講演)(国際学会) 2019 Je Ju ICC (Korea)

北川善政: MRONJ 最近の動向と医科歯科連携(特別講演). NPO 法人日本歯科放射線学会, 第 38 回関西・九州合同地方会, 2019 年 鹿児島市勤労者交流センター(鹿児島)

吉川和人, 佐藤 淳, 佐藤 明, 小野寺麻記子, 北村哲也, 北川善政: 頭頸部非ホジキンリンパ腫における治療前の FDG-PET および血清パラメーターの予後不良因子としての有用性. 第 63 回 日本口腔外科学会学術大会・総会, 2018 年

北川善政: ARONJ-歯科からの視点:-特に予防的休薬の意義について- シンポジウム 7「日本骨粗鬆症学会・日本口腔外科学会合同シンポジウム 薬が繋ぐ医科歯科連携:骨吸収抑制薬と MRONJ/ARONJ」第 63 回日本口腔外科学会学術大会・総会, 2018 年 幕張メッセ国際会議場(千葉)

Chowdhury Nusrat Fatema, Takeshi Kuroshima, Takuya Asaka, Takahiro Abe, Jun Sato, Shiga Tohru, Yuji Kuge, Nagara Tamaki, Yoshimasa Kitagawa: Prognostic value of MET-PET in oral cancer. The 64th Annual Meeting of the Society of Nuclear Medicine and Molecular Imaging (SNMMI) (国際学会) 2017

Sato Jun, Kitagawa Yoshimasa, Watanabe Shiro, Okamoto Shozo, Ohga Noritaka, Asaka Takuya, Miyakoshi Masaaki, Hirata Kenji, Shiga Tohru, Kuge Yuji, Shindoh Masanobu, Tamaki Nagara: 18F-Fluoromisonidazole positron emission tomography (FMISO-PET) may better reflect hypoxia and cell proliferation activity in oral squamous cell carcinoma than 18F-fluoro-2-deoxyglucose (FDG)-PET: third study. The 64th Annual Meeting of the Society of Nuclear Medicine and Molecular Imaging (SNMMI) (国際学会) 2017

北川善政：顎口腔領域における PET 診断と治療への応用 . 日本歯科放射線学会第 58 回学術大会 (招待講演) 2017 年

北川善政：薬剤関連顎骨壊死 の P E T 検査 . 第 57 回日本核医学会学術総会 口腔顎顔面核医学フォーラム (招待講演) 2017 年

Sato J, Kitagawa Y, Watanabe S, Hirata K, Okamoto S, Ohga N, Asaka T, Miyakoshi M, Hata H, Shiga T, Shindoh M, Nagara T : Relationships between FMISO- and FDG-PET parameters including hypoxic volume of the tumor and prognosis in patients with oral squamous cell carcinoma after surgery. Annual Congress of the European Association of Nuclear Medicine, 2016, Barcelona.

北川善政：シンポジウム 4 薬剤関連性顎骨壊死を科学する。「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、2016 年

Chowdhury Nusrat Fatema, Takeshi Kuroshima, Takuya Asaka, Takahiro Abe, Jun Sato, Yoshimasa Kitagawa: Usefulness of MET-PET in oral cancer. The 61st Congress of the Japanese Society of Oral and Maxillofacial Surgeons, 2016

佐藤 淳、大賀則孝、浅香卓哉、宮腰昌明、吉川和人、佐藤千晴、佐藤 明、北川善政：口腔扁平上皮癌における低酸素容積：hypoxic volume は術後の予後予測になりえる . 第 61 回日本口腔外科学会総会・学術大会、2016 年

浅香卓哉、佐藤 淳、秦 浩信、宮腰昌明、佐藤 明、北川善政：Metabolic activity を用いた顎骨骨髓炎に対する新規定量的評価の確立 . 第 61 回日本口腔外科学会総会・学術大会、2016 年

〔図書〕(計 件)

〔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：

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：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

<https://www.den.hokudai.ac.jp/kouge1/mlab/member.html>

## 6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：竹内 康人

ローマ字氏名：(TAKEUCHI, Yasuto)

所属研究機関名：北海道大学

部局名：遺伝子病制御研究所

職名：博士研究員

研究者番号(8桁): 10735187

研究分担者氏名：大賀 則孝

ローマ字氏名：(OHGA, Noritaka)

所属研究機関名：北海道大学

部局名：歯学研究院

職名：助教

研究者番号(8桁): 40548202

研究分担者氏名：佐藤 淳

ローマ字氏名：(SATO, Jun)

所属研究機関名：北海道大学

部局名：歯学研究院

職名：講師

研究者番号(8桁): 60319069

研究分担者氏名：久下 裕司

ローマ字氏名：(KUGE, Yuji)

所属研究機関名：北海道大学

部局名：アイソトープ総合センター

職名：教授

研究者番号(8桁): 70321958

研究分担者氏名：犬伏 正幸

ローマ字氏名：(INUBUSHI, Masayuki)

所属研究機関名：川崎医科大学

部局名：医学部

職名：准教授

研究者番号(8桁): 70399830

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。