

令和 2 年 6 月 10 日現在

機関番号：32409

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K10361

研究課題名(和文) 非侵襲的なエストロゲン受容体および低酸素PETによる乳癌治療戦略構築のための研究

研究課題名(英文) Investigation of development of breast cancer treatment strategy with non-invasive estrogen receptors and hypoxic PET

研究代表者

久慈 一英 (Ichiei, Kuji)

埼玉医科大学・医学部・教授

研究者番号：90283142

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：乳癌でのホルモン療法反応性はエストロゲン受容体(ER)の発現や低酸素と関わっている。ステージ 以上の治療前乳癌患者で腫瘍へのFDG集積度(SUVmax)とFMISO集積(FMISO-TBR)を計測し病理組織学的因子との相関を検討した。非侵襲的なFES-PETによるER測定も確立した。FMISO-TBRでは、腫瘍径、核グレード、ER、PgRで有意な相関を認めた。低酸素と相関の高かった血中サイトカインはVEGF、IL-8、TGF1であった。低酸素状態とエストロゲン受容体発現低下および新生血管増生との関連が示された。FES-PETは画質も良好で、非侵襲的なER測定可能と考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

乳癌ではホルモン療法感受性がエストロゲン受容体(ER)発現と関連しており、低酸素状態が治療後に関与していることが示された。本研究では治療前乳がん組織の慢性低酸素状態が病理組織学的関係因子と関連しており、ER陽性がんではER陰性がんと比較して低酸素状態が軽度で、またER陽性乳がんでは低酸素が強いと治療効果が低下することが示された。腫瘍の慢性低酸素解消により治療効果が向上する可能性が示された。また、ホルモン療法に重要なER評価がFES-PETで非侵襲的に可能と考えられた。転移病変の評価に役立つ可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Hormonal therapy reactivity in breast cancer is related to the expression of estrogen receptor (ER) and hypoxia. In patients with pre-treatment breast cancer stage, FDG accumulation in tumors (SUVmax) and FMISO accumulation (FMISO-TBR) were measured to examine the correlation between histopathological factors. ER measurement by non-invasive FES-PET has also been established. In FMISO-TBR, significant correlation was observed in tumor diameter, nuclear grade, ER, PgR. Blood cytokines that were highly correlated with hypoxia was VEGF, IL-8, TGF1. The association between hypoxic state and the decrease in estrogen receptor expression and neovascular growth was shown. FES-PET was considered to be capable of non-invasive ER measurements with good image quality.

研究分野：核医学

キーワード：低酸素PET エストロゲン受容体 乳癌 サイトカイン 新生血管増生

1. 研究開始当初の背景

(1) 頭頸部癌や脳腫瘍では慢性低酸素環境が治療抵抗性や予後不良と関係することが知られていたが、乳癌では低酸素環境とエストロゲン受容体 (ER) の発現との関連や治療効果との関連については確かな知見がなかった。

(2) 我々は、低酸素 PET とエストロゲン受容体 PET を利用して乳癌について臨床研究を行ってきたが、今回は乳癌組織と低酸素の関係をエストロゲン受容体 PET と低酸素 PET と病理結果および術前化学療法治療反応性とを対比して検討することとした。

2. 研究の目的

(1) 乳癌患者での $^{16}\alpha$ -[F-18]fluoro- $^{17}\beta$ -estradiol (FES)-PET/CT の実施と病理結果の比較検討を行う。遠隔転移のある患者での画像の特徴を確認する 1)。

(2) 乳癌における治療前の病理的因子と治療反応性の関係を調べる。特に、ER の発現による治療効果の関連について検討する 2)。

(3) 原発性乳癌において治療開始前に計測した FMISO-PET/CT による腫瘍集積の指標が臨床病理学的因子とどのような相関関係を示すか、また予後予測に役立つかどうかを検討した 2)。

検討因子:

- ① 腫瘍への FES 集積と ER 発現の関係確認
- ② 腫瘍への FMISO 集積パラメータ: SUV_{max} と TBR の比較
- ③ 腫瘍への FMISO 集積と臨床病理学的因子及びがん関連サイトカインとの関連
- ④ 腫瘍への FMISO 集積と予後

3. 研究の方法

(1) ^{18}F -FES-PET/CT

^{18}F -FES を合成し、投与 1 時間後に PET/CT 装置での撮像を行った。1 ベッドあたり 2 分で、頭頂部から大腿部までの撮像を行った。手術切除例から遠隔転移例まで合計 28 例安全に実施できた。

検討事項

- ① 未治療の乳癌患者に対する FES PET/CT における原発巣への FES 集積と摘出組織標本における ER 発現の関連性
- ② 転移性乳癌症例における FES PET/CT 所見の特徴

(2) ^{18}F -FMISO-PET/CT

① 撮像方法: PET 検査は 3D-PET/CT スキャナー (Biograph 6/16, Siemens, Erlangen, Germany) を用いて、6 時間以上の絶食後、FMISO (7.4 MBq/kg) は注射 2 時間後に撮像した。

② 対象症例: 針生検により病理学的に浸潤性乳癌と確定診断された原発性乳癌患者

③ 画像評価: 治療前の乳房 MRI および FDG-PET/CT によって同定された腫瘍の位置を参考に FMISO-PET/CT で腫瘍の関心領域を設定し、腫瘍集積を計測した。

(3) 血中サイトカインと低酸素との相関

原発性乳癌患者 44 名の内、同意を得た 17 名を対象に血液サンプルから遠心分離器で血漿を採取し、ELISA 法でサイトカインを測定した。

(4) FMISO と予後の関係

- ①対象患者:初発 Stage II / III 原発性乳癌患者 44 名を登録。
- ②方法:治療開始前に FDG-PET/CT と FMISO-PET/CT をペアで施行し、原発巣の FDG-SUVmax、FMISO-TBR を測定した。無病生存率 (DFS)、全生存率 (OS) との相関を比較し検討した。予後に関わる最適なカットオフ値を設定し、高値群と低値群の 2 群を比較した。
- ③統計手法:ログランクテスト、Cox 比例ハザード回帰モデルで検討した。

4. 研究成果

(1) FES-PET/CT による ER 発現との相関の基礎的検討

手術切除例から遠隔転移例まで合計 28 例安全に実施できた。

①未治療乳癌病変での FES 集積と病理学的 ER 陽性との対比

未治療の乳癌患者に対する FES-PET/CT における原発巣への FES 集積と摘出組織標本における被験者のうち、未治療の患者 14 例 15 病変の検討で、 $[^{18}\text{F}]$ FES-PET/CT で測定された SUVmax は、組織標本で得られた ER 発現陽性群で有意に高く ($p < 0.01$, t-test)、ER 発現陰性のものには有意な集積増加は見られなかった。一方で、プロゲステロン受容体 (PgR) や、MIB-1 発現との関連性は見られなかった。

②転移性乳癌症例における FES-PET/CT 所見の特徴

特に画質が良いため FDG-PET に遜色なく、リンパ節転移など転移の特異性が高いと思われた。FDG-PET/CT で両側腋窩リンパ節転移が疑われた ER 陽性乳癌患者において、リンパ節の $[^{18}\text{F}]$ FES 集積が認められなかったことから転移が否定された症例も経験された (1)。

(2) FMISO-PET/CT で用いたパラメータ

SUVmax (standardized uptake value, SUV) と組織対血流比 (TBR, tissue-to-blood ratio) の関係の検討した。

図 1 に示すように、FMISO-SUVmax・FMISO-TBR 両者の間には相関係数 0.94、 $p=0.001$ 未満と良好な相関が示された。FMISO-TBR をパラメータとして用いているが、FMISO-SUVmax も TBR と同様に低酸素の指標として有用であると考えた。

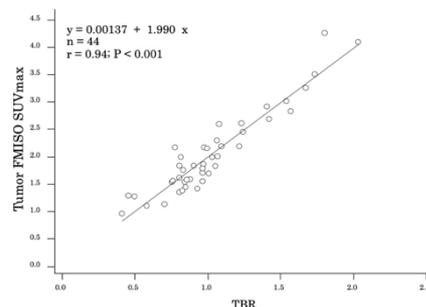


図1. 腫瘍FMISO-SUVmaxと腫瘍FMISO-TBRの相関

(3) 腫瘍への FMISO 集積と臨床病理学的因子の相関

①対象症例:治療前の原発性乳癌患者 44 名

②方法:腫瘍への FMISO 集積 (FMISO-TBR) を計測し、針生検または手術組織によって得られた病理組織学的因子との相関を検討した (2)。

Variables	Number	(%)	FDG-SUV _{max}		FMISO-TBR	
			Mean	p	Mean	p
Number of patients	44					
年齢 (y/o)	Average 53.5 (range) (38-78)					
	<50	20 (45.4)	11.1	0.02	1.3	
	≥50	24 (45.5)	7.9		1.2	0.3
腫瘍径	Average 40.9 (range) (14-80)					
	<4cm	25 (56.8)	8		1.1	
	≥4cm	19 (43.1)	11.1	0.02	1.4	0.03
組織型	IDC	41 (93.1)	9.6	0.1	1.2	0.9
	Others	3 (6.8)	6		1.2	
核グレード	1/2	17 (38.6)	7.4	0.06	1	0.007
	3	21 (47.7)	10		1.4	
	unknown	6 (13.6)	-		-	
リンパ節転移	0	12 (27.2)	6.8	0.01	1.2	0.9
	≥1	32 (72.7)	10.5		1.2	
ER	+	26 (59)	9.1	0.7	1.1	0.04
	-	18 (40.9)	9.6		1.4	
PgR	+	19 (43.1)	7.9	0.07	1	0.009
	-	25 (56.8)	10.4		1.4	
HER2	+	7 (15.9)	7.8	0.3	1.2	1
	-	37 (84)	9.6		1.2	

図2. FDG-SUVmax/FMISO-TBRと臨床病理学的因子

(4) FDG-SUVmax/FMISO-TBR と臨床病理学的因子

患者の FDG-SUVmax、FMISO-TBR と臨床病理学的因子 (年齢、腫瘍径、組織型、核 Grade、リンパ節転移の有無、ER, PR、HER2 の発現の有無) との相関関係を検討した (図 2)。FDG では年齢、腫瘍径、リンパ節転移陽性で高い傾向が、FMISO では腫瘍径、核グレード 3

以上、リンパ節転移陽性、ER, PgR が陽性の乳癌で高値であった。

病理学的サブタイプ分類との相関をみると、乳癌の subtype 別に比較すると、ER 陽性、PgR 陽性である Luminal A type に比較して ER・PgR などホルモン受容体の発現のない TNBC で優位に FMISO-TBR が高いという結果であった(図3)。

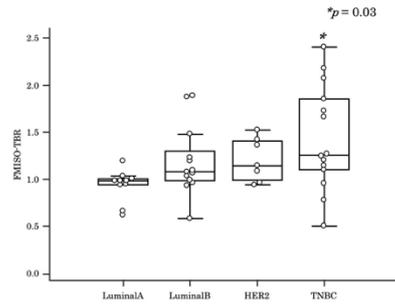


図3. 腫瘍へのFMISO集積とサブタイプ

(5) 腫瘍への FMISO 集積とサイトカインの相関

図4に FMISO-SUVmax と 37 種類のがん関連サイトカインの相関関係を示す。縦軸に相関係数 R、横軸にサイトカインを相関の順に並べています。TGFA、IL8、VEGF の 3 種類のサイトカインで有意に FMISO 集積が高い症例と血中濃度で相関があった。

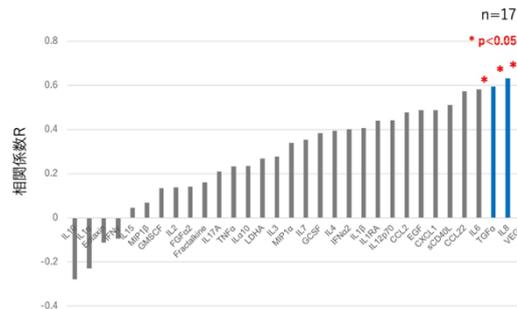


図4. 低酸素 (FMISO-TBR) と血中サイトカインの相関

(6) FMISO-TBR と予後の相関

①カプラン・マイヤー生存曲線は、FMISO-TBR 高値群 (cut off 値 1.48) で DFS (p = 0.0007) と OS (p = 0.04) とともに FMISO-TBR 低値群と比較し予後不良であった(図5)。

ER 陽性乳癌と ER 陰性乳癌に分けて解析すると、ER 陽性乳癌では DFS (p < 0.0001) および OS (p = < 0.0001) のいずれも FMISO-TBR 高値群で FMISO-TBR 低値群と比較し予後不良であった(図6)。

一方、ER 陰性乳癌では DFS (p = 0.9)、OS (p = 0.5) において両群間で有意差がみられなかった。

②COX 比例ハザードモデルによる予後因子解析
今回解析した病理因子と FMISO-TBR の中で、予後と有意な相関を認めたのは、ER (p=0.03) と FMISO-TBR (p=0.005) のみであった。

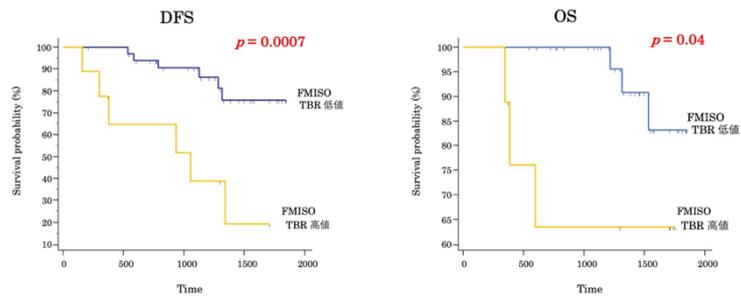


図5. FMISO-TBRと予後の相関

(7) 考察

- ① 乳癌での FES-PET は画質も良く、非侵襲的に ER 発現を調べるには有効である。
- ② 腫瘍への FMISO 高値群は低値群と比較して有意に予後不良

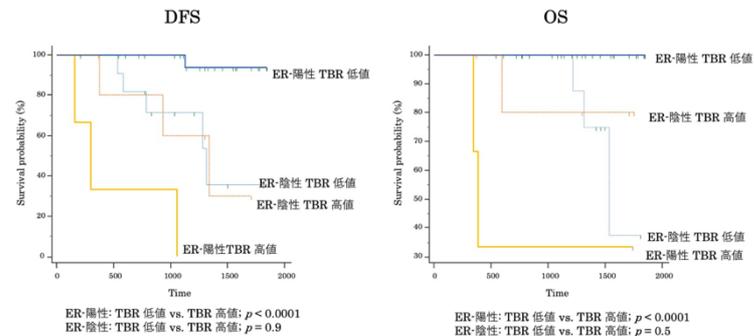


図6. FMISO-TBRと予後の相関 (ER陽性/陰性に比較)

であった。

- ③ DFS における予後因子 5 項目の多変量解析では、ER 陰性と腫瘍 FMISO 高値が独立した予後因子であった。
- ④ ER 陰性群では腫瘍への FMISO 集積と予後に相関しない一方、ER 陽性群では FMISO 低値群と比較して高値群で有意に予後不良であった。

(8) まとめ

- ① 腫瘍への FMISO 集積は核グレードやリンパ節転移など臨床病理学的予後因子との相関が認められ、がん関連サイトカインのうち、特に血管新生に関わるサイトカインの分泌が高いことが分かった。このことは、FMISO 集積の高い乳癌は低酸素状態にあり、血管新生が盛んであることを示唆する。
- ② 腫瘍への FMISO 高値の症例は、ER 陰性乳癌ではなく、ER 陽性乳癌で有意に予後不良であった。ER 陽性乳癌におけるシグナル伝達経路の特性と低酸素誘導メカニズムが関係していることを示唆する。
- ③ FES-PET により治療前の乳癌患者では ER 測定結果が病理 ER 結果と相関しており、非侵襲的に評価可能なことが確認された。

(9) 国内外での位置付けと今後の展望

- ① 乳癌の FMISO 集積は ER 陽性乳癌の予後因子となった。
- ② この結果は、腫瘍径・核グレード・リンパ節転移には関係なく、乳がん再発の baseline risk を知る上で重要な情報となりうる。
- ③ FMISO-PET/CT は、乳癌でも低酸素を定量化するイメージング法として臨床的に有用であることを示した。
- ④ 乳癌における多数例での病理学的検討結果は国内外でも初めてで、今後の乳癌治療法への応用が期待できる結果であった。
- ⑤ 非侵襲的な ER 測定ができると考えられるので、今後は多発転移例を中心として、転移病変ごとの ER 発現と程度とホルモン療法や新たな CDK4/6 阻害剤併用療法による治療変化を検討する予定である。

<引用文献>

- ① Yamane T., Ueda S., Seto A., Kuji I., ¹⁸F-Fluoroestradiol PET/CT Correctly Diagnosed ¹⁸F-FDG-Avid Inflammatory Lymph Nodes in a Patient With Estrogen Receptor-Positive Breast Cancer, 43, 5, Clinical Nuclear Medicine, 2018, 379-380, 10.1097/RLU.0000000000002041
- ② Asano A., Ueda S., Kuji I., Yamane T., Takeuchi H., Hirokawa E., Sugitani I., Shimada H., Hasebe T., Osaki A., Saeki T., Intracellular hypoxia measured by ¹⁸F-fluoromisonidazole positron emission tomography has prognostic impact in patients with estrogen receptor-positive breast cancer, 20, 1, Breast Cancer Research, 2018, 78, 10.1186/s13058-018-0970-6
- ③ 上田 重人, 山根 登茂彦, 久慈 一英, 浅野 彩, 大崎 昭彦, 佐伯 俊昭, 生体機能イメージングによる癌微小環境の可視化と乳癌治療への新たな展望, 33, 1, 乳癌の臨床, 2018, 83-91

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Yamane T., Aikawa M., Yasuda M., Fukushima K., Seto A., Okamoto K., Koyama I., Kuji I.	4. 巻 9
2. 論文標題 [18F]FMISO PET/CT as a preoperative prognostic factor in patients with pancreatic cancer	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 EJNMMI Res	6. 最初と最後の頁 39-47
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s13550-019-0507-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Hashimoto K., Kaira K., Yamaguchi O., Mouri A., Shiono A., Miura Y., Murayama Y., Kobayashi K., Kagamu H., Kuji I.	4. 巻 9
2. 論文標題 Potential of FDG-PET as Prognostic Significance after anti-PD-1 Antibody against Patients with Previously Treated Non-Small Cell Lung Cancer	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Clin Med	6. 最初と最後の頁 725-735
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/jcm9030725	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Asano A., Ueda S., Kuji I., Yamane T., Takeuchi H., Hirokawa E., Sugitani I., Shimada H., Hasebe T., Osaki A., Saeki T.	4. 巻 20
2. 論文標題 Intracellular hypoxia measured by 18F-fluoromisonidazole positron emission tomography has prognostic impact in patients with estrogen receptor-positive breast cancer	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Breast Cancer Res	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s13058-018-0970-6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 上田 重人, 山根 登茂彦, 久慈 一英, 浅野 彩, 大崎 昭彦, 佐伯 俊昭	4. 巻 33
2. 論文標題 生体機能イメージングによる癌微小環境の可視化と乳癌治療への新たな展望	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 乳癌の臨床	6. 最初と最後の頁 83-91
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yamane Tomohiko, Ueda Shigeto, Seto Akira, Kuji Ichiei	4. 巻 43
2. 論文標題 18F-Fluoroestradiol PET/CT Correctly Diagnosed 18F-FDG-Avid Inflammatory Lymph Nodes in a Patient With Estrogen Receptor-Positive Breast Cancer	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Clinical Nuclear Medicine	6. 最初と最後の頁 379-380
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/RLU.0000000000002041	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ueda Shigeto, Saeki Toshiaki, Osaki Akihiko, Yamane Tomohiko, Kuji Ichiei	4. 巻 23
2. 論文標題 Bevacizumab Induces Acute Hypoxia and Cancer Progression in Patients with Refractory Breast Cancer: Multimodal Functional Imaging and Multiplex Cytokine Analysis	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Clinical Cancer Research	6. 最初と最後の頁 5769 ~ 5778
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1158/1078-0432.CCR-17-0874	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計9件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 山根登茂彦
2. 発表標題 シンポジウム・乳癌PETの現状と将来の可能性: 乳癌のPET検査: エストロゲン受容体、その他
3. 学会等名 第58回日本核医学会学術総会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 上田重人, 山根登茂彦, 久慈一英, 大崎昭彦, 佐伯俊昭
2. 発表標題 シンポジウム・乳癌PETの現状と将来の可能性: 低酸素PETと光イメージングの乳癌への応用
3. 学会等名 第58回日本核医学会学術総会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 上田 重人, 佐伯 俊昭, 大崎 昭彦, 竹内 英樹, 廣川 詠子, 杉谷 郁子, 島田 浩子, 浅野 彩, 貫井 麻未, 一瀬 友希, 高橋 孝郎, 山根 登茂彦, 久慈 一英
2. 発表標題 ペバシズマブによる腫瘍低酸素の誘導と治療効果との関連についての核医学的考察
3. 学会等名 日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2017年～2018年

1. 発表者名 浅野彩、上田重人、山根登茂彦、久慈一英、竹内英樹、廣川詠子、杉谷郁子、島田浩子、貫井麻未、一瀬友希、高橋孝郎、大崎昭彦、佐伯俊昭
2. 発表標題 低酸素イメージングFMISO-PET/CTの乳癌患者への臨床応用
3. 学会等名 日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2017年～2018年

1. 発表者名 一瀬 友希, 上田 重人, 山根 登茂彦, 大崎 昭彦, 杉谷 郁子, 廣川 詠子, 島田 浩子, 浅野 彩, 久慈 一英, 佐伯 俊昭
2. 発表標題 エストロゲン受容体イメージング[18F]FES-PET/CTを施行した乳癌患者の症例報告
3. 学会等名 日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2017年～2018年

1. 発表者名 上田 重人, 佐伯 俊昭, 大崎 昭彦, 山根 登茂彦, 久慈 一英
2. 発表標題 ペバシズマブによる急性低酸素の誘導とがん進展に関する核医学的・分子生物学的考察
3. 学会等名 日本癌治療学会学術集会
4. 発表年 2017年～2018年

1. 発表者名 浅野彩、上田重人、久慈一英、山根登茂彦、竹内英樹、廣川詠子、杉谷郁子、島田浩子、長谷部 孝裕、大崎昭彦、佐伯俊昭
2. 発表標題 [18F]-fluoromisonidazole PET/CTによる乳癌の細胞内低酸素の臨床的意義についてのサブタイプ別解析
3. 学会等名 日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2018年～2019年

1. 発表者名 山根登茂彦、瀬戸陽、久慈一英
2. 発表標題 当院におけるエストロゲン受容体イメージングPETの初期経験
3. 学会等名 第85回日本核医学会関東甲信越地方会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 山根登茂彦、瀬戸陽、久慈一英
2. 発表標題 乳癌のリンパ節転移診断に18F-fluoroestradiol (FES) PETが有用と考えられた一例
3. 学会等名 第86回日本核医学会関東甲信越地方会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	山根 登茂彦 (YAMANE Tomohiko) (20526660)	埼玉医科大学・医学部・准教授 (32409)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	佐伯 俊昭 (SAEKI Toshiaki) (50201512)	埼玉医科大学・医学部・教授 (32409)	
研究 分担者	上田 重人 (UEDA Shigeto) (20646947)	埼玉医科大学・医学部・非常勤講師 (32409)	