

研究種目：基盤研究（C）  
 研究期間：2006～2008  
 課題番号：18591329  
 研究課題名（和文）アミノ酸輸送担体を標的とした膵癌のPET診断および個別的内照射併用治療の研究  
 研究課題名（英文）Specific PET diagnosis and tailored radioisotope therapy of pancreatic cancer targeting L type amino acid transporter.  
 研究代表者  
 樋口 徹也（HIGUCHI TETSUYA）  
 群馬大学・大学院医学系研究科・助教  
 研究者番号：60323367

## 研究成果の概要：

2年目までの検討で膵癌では糖代謝亢進によりFDG（F18フルオロデオキシグルコース）の集積は強いがRI標識アミノ酸であるFAMT（F18 $\alpha$ メチルチロシン）の集積は弱いことがわかり、研究のターゲットを頭頸部腫瘍、肺癌に変更し、ポジトロンCT検査（PET検査）でのFAMT（F-18標識 $\alpha$ メチルチロシン）集積と悪性度や増殖能、LAT1（L型アミノ酸輸送担体）発現の関連に関する研究を行った。頭頸部腫瘍では、FAMT-PET/CTにて良悪性の鑑別が可能であることがわかった。一方、肺癌症例を対象にした研究では、36例の肺癌でのLAT1、CD98、Li-67、VEGF、CD31、CD34を評価に加えた免疫組織学的検討で、LAT1、CD98、増殖能、血管新生の因子が、FAMTの集積と最も関連しており、FAMT集積の高い症例では、一般に悪性度が高く転移のリスクも高いことが示された。

## 交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	1,100,000	0	1,100,000
2007年度	800,000	240,000	1,040,000
2008年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総計	2,500,000	420,000	2,920,000

研究分野：医歯薬学

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：FAMT、PET、膵癌

## 1. 研究開始当初の背景

癌患者数は年々増加の一途をたどっており、癌の早期診断、早期治療が新しいテクノロジーの進歩と相まって進んでいる。一方、癌治療法は、多岐にわたり、従来の外科治療、化

学療法、免疫治療、放射線治療に加え、分子標的治療も行われている。肺がんのグリベックによる分子標的治療を行う例にとると、治療効果の非常に高い症例がある一方、効果が乏しく、副作用が目立ち、中には死亡例も見

られ、社会問題となっている。この様な、状況より、遺伝子診断による治療効果予測が行われ、より治療効果の高い症例を治療前に選別する試みが始まり、テーラーメイド医療 (tailor made medicine) による治療法の個別化が実際に進行している。

ポジトロンCTは、陽電子放出核種を用いて生体内の臓器血流や代謝異常を定量的に評価する診断技術であり、ここ数年で、急速にその臨床応用が進み一般的な臨床検査となっている。特に $^{18}\text{F}$ -FDGは、平成14年4月より、健康保険収載となり急速に臨床検査として普及が進んでいる。 $^{18}\text{F}$ -FDGは、癌細胞の細胞表面にて過剰発現されているブドウ糖担体 (glucose transporter) や細胞内のリン酸化酵素であるヘキソキナーゼの活性と関連し癌細胞に取り込まれるが、この事を利用して、特に悪性リンパ種などで治療化学療法抵抗性の患者の早期同定に応用されている。一方、 $^{18}\text{F}$ -FDGは、炎症や良性腫瘍への擬陽性の集積や放射線治療後では、むしろ集積が亢進してしまうなどの点がありブドウ糖代謝のみで癌患者の個別化を行う事には限界があり、新たな薬剤による治療効果予測などが期待されている。我々のH15年より3年間の文部科学省科学研究費補助金若手研究(B)により、癌細胞に選択的に過剰発現されていることが報告されているL型の中性アミノ酸の細胞内への輸送に係わる細胞表面の担体であるLAT1(L-type amino acid transporter 1)と、我々の施設でアミノ酸代謝の評価を目的にPET検査として開発され臨床応用されている、L-3-[fluorine-18]fluoro-alpha-methyl tyrosin (以下 $^{18}\text{F}$ -FAMTと略) の集積に相関が見られる事がわかり、 $^{18}\text{F}$ -FAMTの癌への集積性の違いによりLAT1をターゲットにした癌治療の個別化が可能になると期待される。

頭頸部腫瘍は主に手術治療により比較的良好な治療成績が得られるが、一方、膵癌は、早期発見が難しく、従来のCT、MRI、血管造影、FDG-PETでの診断によっても、膵癌と腫瘤形成性膵炎などの鑑別が困難であり、手術適応の判断が難しい。術後、癌でないことが判明する事例や、逆に嚢胞性膵腫瘍などでは、FDG集積が低く、偽陰性になり、手術に踏み切れないケースも散見される。この様な問題点の解決には、FDGを補完する役割を果たす薬剤が必要であり、アミノ酸製剤である $^{18}\text{F}$ -FAMTなどが従来のアミノ酸製剤の $^{11}\text{C}$ メチオニンにみられる膵への生理的集積がないため、膵癌の診断に応用が可能であり、より特異的な膵癌の診断法につながる可能性がある。また、LAT1をターゲットにした膵癌治療への応用も期待される。

## 2. 研究の目的

(1) 膵癌の診断における $^{18}\text{F}$ -FAMT PETの有用性を基礎的に検討する。

膵癌細胞におけるLAT1の発現を抗LAT1抗体を用いた免疫組織染色にて評価を行う。その後、膵癌細胞移植ヌードマウスを用いて、 $^{18}\text{F}$ -FAMTの生体内分布を%ID/gにより評価し、膵癌組織におけるLAT1の発現の程度を評価可能であるかどうかを検討する。さらに、FDG-PETとの比較検討を行う。

(2) 膵癌症例を対象に、FDG-PETに $^{18}\text{F}$ -FAMT PETの追加を行う事により、術前診断の正診率が向上するかを検討する。

(3) LAT1をターゲットとしたcytostatic治療であるBCHによる膵癌治療に加え、 $^{18}\text{F}$ -FAMTの類似体であるベータ線放出核種のL-3-[ $^{131}\text{I}$ ]iodine-alpha-methyl tyrosine (IMT) (以下 $^{131}\text{I}$ -IMT)の投与による内照射療法の追加により治療効果の増幅が得られる

かを動物実験で検討する。

### 3. 研究の方法

基礎的検討としては、LAT1 の発現の確認されているヒト腓腫瘍移植ヌードマウスにおいて、<sup>18</sup>F-AMTの集積とLAT1 発現との関係を確認する。腓腫瘍細胞株を購入し、ヌードマウスの皮下に接種して腫瘍モデルを作成する。腫瘍が、約 1cmに達した時点で、実験を行う。<sup>18</sup>F-AMTは、群馬大学付属病院サイクロトロン診断部門にて、製造を行う。実際に、臨床に使用されており、無菌操作で、放射化学純度 95%以上の標識体が得られている。マウスの尾静脈に、<sup>18</sup>F-AMTを投与し、約 50 分後に、解剖し、腫瘍の他主要な臓器を取り出し、<sup>18</sup>F-FAMTの生体内分布を%ID/gにより評価し、癌組織におけるLAT1 の発現の程度を評価可能であるかどうかを検討する。凍結した腫瘍組織は、抗LAT1 抗体により免疫染色を行い、<sup>18</sup>F-FAMT集積と比較する。

次に、より特異的に、<sup>18</sup>F-FAMTが腫瘍にLAT1 を介して集積している事を確認する目的で、LAT1 の阻害剤である、BCH (2-aminobicyclo-2(2,2,1)-heptane-2-carboxylic acid) の投与を行い、上記と同じ、ヒト腓腫瘍移植ヌードマウスにおいて、投与の有無により、腫瘍集積が生体内分布の%ID/gで変化するかを確認する。

さらに、<sup>18</sup>F-FAMTの化学的類似体である、<sup>131</sup>I-IMTの集積が<sup>18</sup>F-FAMTの集積とほぼ同等であるかを検討する。ほぼ同等である場合、<sup>131</sup>I-IMTによるターゲティング治療が可能である根拠となりうる。<sup>131</sup>I-IMTの集積の有無に関しては、上記と同じヒト腓腫瘍移植ヌードマウスを用い<sup>18</sup>F-FAMTと<sup>131</sup>I-IMTを同時投与し、2核種の生体内分布を同じマウスで評価し、より正確な、比較を行う。集積が同等である場合、上記と同じヒト腓腫瘍移植ヌードマウスを用い、BCH単独治療の場合と<sup>131</sup>I-IMT

との併用治療の場合での腫瘍の縮小効果に違いがあるかを検討する。一方、臨床的には、平行して、腓腫瘍にて手術が行われる症例の登録を行い、術前に従来 of 検査に加え FDG-PETおよび<sup>18</sup>F-FAMT PETの追加を行い、画像データを蓄積する。解析は、2名の核医学診断専門医が、独立して定性的およびSUVをも引いた定量的な解析で行う。対象症例の登録に関しては、外科の担当医との間で情報交換を行う。対象症例に選別および結果の解析に関して、研究分担者（遠藤啓吾）より助言を受ける。術後は、通常の病理診断に加え、標本の一部を凍結保存し、抗LAT1 抗体を用いて、免疫染色を行う。

### 4. 研究成果

1年目より2年目まで行った、腓癌を対象として、臨床的検討の結果、腓癌では糖代謝亢進によりFDGの集積は強く見られるものの、RI標識アミノ酸であるFAMTの集積は弱い症例が多いことがわかった。これは血流や組織型と関連しているとも考えられた。このため、腓癌では、一般的には、LAT1をターゲットにした、RI治療は、困難であると考え、研究のターゲットを2年目より、頭頸部腫瘍、肺癌に変更した。PET検査でのFAMT (F-18標識αメチルタイロシン) 集積と悪性度や増殖能、LAT1発現の関連に関する研究を継続した。

術前の頭頸部腫瘍の症例に対して、FDG-PETおよびFAMT-PETを行い、良悪性の鑑別に、FAMT-PETは、FDG-PETと同様に有用であり、より特異性の高い悪性の診断が可能であることがわかった。さらに、組織標本を用いて、Ki-67による増殖やLAT1発現とFAMT集積との関連を追加で検討中である。これらの結果は、本年6月の米国核医学会にて発表予定である。

一方、肺癌症例を対象にした研究では、36例の肺癌でのLAT1、CD98、Ki-67、VEGF、CD31、

CD34 を評価に加えた免疫組織学的検討で、LAT1、CD98、増殖能、血管新生の因子が、FAMT の集積と最も関連しており、FAMT 集積の高い症例で、一般に悪性度が高く転移のリスクも高いことが示された。さらに、37 例の非小細胞肺癌を対象に検討を行っている。VEGF、CD31、CD34、LAT1、Ki-67 の発現を検討し、毛細血管密度と VEGF が関連し、VEGF と FDG、FAMT の集積とも良好な相関があり、FAMT-PET により、毛細血管密度の評価が可能であることが示唆された。

#### 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 5 件)

1. Hanaoka H, Higuchi T (他 10 名、7 番目)、Radioimmunotherapy of solid tumors targeting a cell-surface protein, FZD10: therapeutic efficacy largely depends on radiosensitivity, Ann Nucl Med. 5; 2009, 査読有

2: Kaira K, Oriuchi N, Shimizu K, Ishikita T, Higuchi T (他 13 名、5 番目)、Correlation of angiogenesis with (18)F-FMT and (18)F-FDG uptake in non-small cell lung cancer, Cancer Sci. 1;2009 Jan 9、査読有

3: Kaira K, Higuchi T (他 13 名、5 番目)、Evaluation of thoracic tumors with (18)F-FMT and (18)F-FDG PET-CT: a clinicopathological study, Int J Cancer. 2009 Mar 1;124(5):1152-60、査読有

4: Takano A, Higuchi T (他 7 名、7 番目)、Detection of metastatic lesions from malignant pheochromocytoma and paraganglioma with diffusion-weighted magnetic resonance imaging: comparison with 18F-FDG positron emission tomography and 123I-MIBG scintigraphy, Ann Nucl Med. 22(5):395-401, 2008、査読有

5: Miyakubo M, Higuchi T (他 12 名、4 番目)、Diagnosis of maxillofacial tumor with L-3-[18f]-fluoro-alpha-methyltyrosine (FMT) PET: a comparative study with FDG-PET, Ann Nucl Med. 21(2):129-35, 2007、

査読有

[学会発表] (計 2 件)

① Higuchi T Clinical usefulness of FDG-PET/CT in the evaluation of Langerhans cell histiocytosis occurred in pelvic bone Annual meeting of the European association of nuclear medicine 2008.10.12 ヌンペン・ドイツ

② Higuchi T Comparative study of FDG-PET and I-123 MIBG scan in the evaluation of therapeutic effect of malignant pheochromocytoma treated by I-131 MIBG therapy Annual meeting of the European association of nuclear medicine 2007.10.15 コペンハーゲン、デンマーク

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

樋口 徹也 (HIGUCHI TETSUYA)  
群馬大学・大学院医学系研究科・助教  
研究者番号: 60323367

##### (2) 研究分担者

遠藤 啓吾 (ENDO KEIGO)  
群馬大学・大学院医学系研究科・教授  
研究者番号: 10115800