

令和 5 年 6 月 18 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19H03845

研究課題名(和文)低酸素分子イメージングに基づく新しい口腔癌治療戦略の構築

研究課題名(英文) Novel strategy for treatment of oral cancer based on hypoxia imaging

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) 14,510,000円

研究成果の概要(和文)：難治性がんを克服するためには、酸素濃度の低下により HIF-1/hypoxia-response element (HRE) 経路が活性化するがん細胞を同定することが重要な課題の一つである。本研究で、低酸素に対する遺伝的応答に基づいて、2種類の低酸素ターゲットPETトレーサーを評価した。低酸素ターゲットPETトレーサーの腫瘍SUVは、低酸素に対する遺伝的応答を反映していた。HIF-1/HRE の活性化は主に両タイプの低酸素ターゲット PET トレーサーが集積しない領域で観察され、この領域に着目することの重要性が示唆された。

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)：One of the most important issues to overcome refractory cancer is to identify cancer cells in which the HIF-1/hypoxia-response element (HRE) pathway is activated by reduced oxygen levels. Therefore, the aim of this study is, based on the genetic response to hypoxia, to evaluate two types of hypoxia-targeted PET tracers: [18F]fluoromisonidazole (18F-FMISO) and 64Cu-diacetyl-bis(N4-methylthiosemicarbazone) (64Cu-ATSM). The tumor SUV of hypoxia-targeted PET tracers reflected genetic response to hypoxia. The intratumoral distributions of both types of hypoxia-targeted PET tracers showed partial overlap with those of genetic response to hypoxia. We found that HIF-1/HRE activation was mainly observed in the region where both types of hypoxia-targeted PET tracers do not accumulate, suggesting that the importance of focusing on this region.

研究分野：医歯薬学

キーワード：低酸素 遺伝子応答 PET 口腔がん 頭頸部がん FMISO 分子イメージング

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

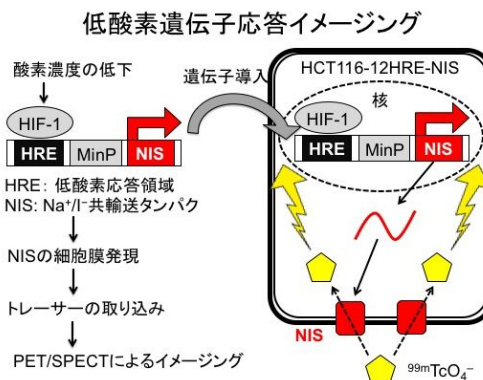
低酸素状態を呈する癌組織は、治療抵抗性を示し、予後も悪いことが報告されている。癌組織内の低酸素状態を非侵襲的に評価する方法は、治療方針を決定する際に極めて重要である。癌は、その活発な増殖ゆえに栄養や酸素の供給と老廃物の除去に重要な血管新生が追いつかず低酸素 (hypoxia) に陥ることが指摘されている。細胞内酸素分圧が低下すると低酸素誘導因子 (Hypoxia-inducible factor 1 : HIF-1) などの転写因子が伝達され、癌組織は低酸素の悪条件の中で生存、発育する能力を獲得する。低酸素環境下では、細胞質で安定化し、核内移行の後、DNA上の低酸素応答領域 (HRE: hypoxia 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。北海道大学病院では2009年から核医学診療科の協力のもと、¹⁸F-Fluorodeoxyglucose (FDG) PETと共に低酸素分子イメージングとして¹⁸F-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

難治性がんを克服するためには、酸素濃度の低下により HIF-1/hypoxia-response element (HRE) 経路が活性化するがん細胞を同定することが重要な課題の一つである。そこで、本研究の目的は、低酸素に対する遺伝的応答に基づいて、2種類の低酸素ターゲット PET トレーサーを評価することである: [¹⁸F]fluoromisonidazole (¹⁸F-FMISO) と ⁶⁴Cu-diacetyl-bis(N4-methylthiosemicarbazone) (⁶⁴Cu-ATSM) である。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) pGL4-12HRE-NIS を安定的にトランスフェクトしたヒト結腸癌 HCT116 細胞 (American Type Culture Collection, Manassas, VA, USA) を使用した。Na⁺/I⁻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 (¹²⁴I-) あるいは SPECT (^{99m}TcO₄⁻) イメージングを試みた。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% O₂, normoxia: 21% O₂, hypoxia: 10% O₂) で飼育の後、¹⁸F-FMISO/^{99m}TcO₄⁻ あるいは ⁶⁴Cu-ATSM/^{99m}TcO₄⁻ を投与し、PET/SPECT 同時収集イメージングを行った。3つの異なる酸素条件下で飼育したマウスで、デュアルトレーサーオートラジオグラフィと PET/SPECT 同時撮影を実施した。トレーサー蓄積量と腫瘍内分布を定量化した。



- (2) 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 スキャナー (True Point Biograph 64: 朝日シーメンス社製) 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。

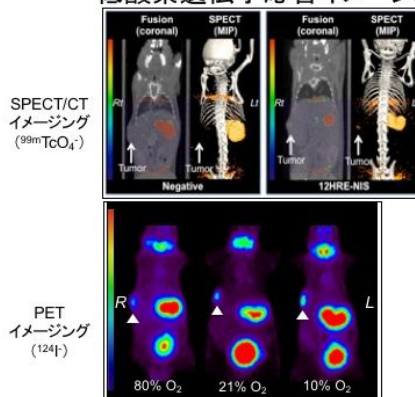
4. 研究成果

- (1) 両タイプの低酸素ターゲット PET トレーサーの腫瘍集積は、低酸素に対する遺伝的応答のトレーサーである ¹²⁵I-および ^{99m}TcO₄⁻ と正の相関を示した (¹⁸F-FMISO および ^{99m}TcO₄⁻: R₂ = 0.8264, p < 0.0001; ⁶⁴Cu-ATSM と ^{99m}TcO₄⁻: R₂ = 0.5427, p = 0.0005)。両タイプの低酸素ターゲット PET トレーサーの腫瘍内分布は、¹²⁵I-および ^{99m}TcO₄⁻ と部分的に重なる

ことが示された。HIF-1/HRE 経路の活性化は、 ^{18}F -FMISO の取り込み領域の約 25% (正常時: 19.6%、低酸素時: 31.1%)、 ^{164}Cu -ATSM の取り込み領域の約 10.7% (正常時: 8.5%、低酸素時: 12.9%) で観察された。低酸素標的 PET トレーサーの腫瘍 SUV は、低酸素に対する遺伝的応答を反映していた。両タイプの低酸素標的 PET トレーサーの腫瘍内分布は、低酸素に対する遺伝的応答の分布と部分的に重なることがわかった。その結果、HIF-1/HRE の活性化は主に両タイプの低酸素標的 PET トレーサーが集積しない領域で観察され、この領域に着目することの重要性が示唆された。

- (2) 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。

低酸素遺伝子応答イメージング



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Inubushi M, Takeuchi Y, Murai C, Kitagawa Y.	4. 巻 -
2. 論文標題 Method to Investigate Genetic Response of Various Numbers of Hypoxia Response Elements to Hypoxia in vitro Using Luciferase Reporter Genes and Luciferase Assay.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Methods Mol Biol.	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） 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 Inubushi M, Takeuchi Y, Murai C, Kitagawa Y.	4. 巻 -
2. 論文標題 Method to Investigate Genetic Response of Multiple Copies of Hypoxia Response Elements to Hypoxia ex vivo and in vivo Using Sodium/Iodide Symporter Reporter Gene and Radionuclide Imaging.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Methods Mol Biol.	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） 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 1.Kitagawa Y, Ohga N, Asaka T, Sato J, Hata H, Helman J, Tsuboi K, Amizuka N, Kuge Y, Shiga T	4. 巻 55
2. 論文標題 Imaging modalities for drug-related osteonecrosis of the jaw (3), Positron emission tomography imaging for the diagnosis of medication-related osteonecrosis of the jaw.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Jpn Dent Sci Rev	6. 最初と最後の頁 65-70
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jdsr.2018.12.001	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 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 3件/うち国際学会 3件）

1. 発表者名 Kitagawa Y.
2. 発表標題 Hypoxia Molecular Imaging in Oral Cancer.
3. 学会等名 Chongqing-Hokkaido International Symposium on Collaborative Innovation in Stomatology（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 北川善政
2. 発表標題 顎骨壊死予防対策
3. 学会等名 Sapporo Osteoporosis Academy 2022 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kitagawa Y.
2. 発表標題 FDG-PET and 3-phase bone scintigraphy to monitor the activity of MRONJ.
3. 学会等名 Chongqing-Hokkaido International Symposium on Collaborative Innovation in Stomatology (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Ken-ichiro Sakata, Takuya Asaka, Noritaka Ohga, Jun Sato, Kenji Hirata, Yuji Kuge, Tohru Shiga, Yoshimasa Kitagawa
2. 発表標題 Role of 3-phase bone scintigraphy and FDG-PET to monitor hyperbaric oxygen therapy for several types of refractory osteomyelitis.
3. 学会等名 Society of Nuclear Medicine and Molecular Imaging (SNMMI), Anaheim, USA (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 Kenji Hirata, Shiro Watanabe, Yoshimasa Kitagawa, Kohsuke Kudo	4. 発行年 2023年
2. 出版社 Sprinter Nature	5. 総ページ数 -
3. 書名 "Hypoxia Imaging Using 18F-Fluoromisonidazole Positron Emission Tomography" in Methods to Detect Hypoxia, "Methods in Molecular Biology" series	

〔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	竹内 康人 (TAKEUCHI Yasuto) (10735187)	金沢大学・がん進展制御研究所・助教 (13301)	
研究分担者	大賀 則孝 (OHGA Noritaka) (40548202)	北海道大学・歯学研究院・助教 (10101)	
研究分担者	佐藤 淳 (SATO Jun) (60319069)	北海道大学・歯学研究院・准教授 (10101)	
研究分担者	犬伏 正幸 (INUBUSHI Masayuki) (70399830)	川崎医科大学・医学部・准教授 (35303)	
研究分担者	趙 松吉 (ZHAO Songji) (80374239)	福島県立医科大学・公私立大学の部局等・教授 (21601)	
研究分担者	志賀 哲 (SHIGA Tohru) (80374495)	北海道大学・アイソトープ総合センター・客員研究員 (10101)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------