

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 31 日現在

機関番号：11101

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2008～2011

課題番号：20390322

研究課題名（和文）

テーラーメイド癌治療構築のための新低酸素細胞画像化剤の有用性に関する研究

研究課題名（英文）

Research on the usefulness of newly developed hypoxia imaging agent for PET for a tailor-made treatment of cancer

研究代表者：高井 良尋(TAKAI YOSHIHIRO)

弘前大学・大学院医学研究科・教授

研究者番号：50107653

研究成果の概要（和文）：

研究代表者らが開発した水溶性の高い新低酸素細胞画像化剤[18F]FRP-170 を用いて種々の臨床応用を行い、低酸素細胞の多寡を指標にしたテーラーメイド癌治療の可能性を検証した。[18F]FRP-170 の取り込みと、放射線治療時の腫瘍の反応性、手術で摘出した肺癌での低酸素応答遺伝子発現との相関性、脳腫瘍における良性、悪性グリオーマとの相関および悪性グリオーマでの実際の酸素分圧との関係を調べた。その結果、すべての検証において、[18F]FRP-170 の低酸素細胞画像化に関する信頼性と癌治療のテーラーメイド化に資する可能性が示された。

研究成果の概要（英文）：

[18F]FRP170,1-(2-fluoro-1-[hydroxymethyl]ethoxy)methyl-2-nitroimidazole, is a new PET tracer for imaging hypoxia which was developed by the principal researcher and his colleagues of this Grant-in-Aid for Scientific research. The usefulness of [18F]FRP-170 for a treatment for a tailor-made treatment of cancer was investigated by looking at the relationship between the rate of FRP-170 uptake of tumor and the radiation responsiveness, the hypoxia related gene expression in the resected lung cancer, benign or malignant glioma, and O<sub>2</sub> partial pressure in the malignant glioma. The results obtained from these clinical investigation were all positive for the usefulness of the drug. [18F]FRP-170, therefore, is strongly suggested to be a promising new hypoxia marker to establish a tailor-made-treatment of cancer.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	3,800,000	1,140,000	4,940,000
2009年度	3,300,000	990,000	4,290,000
2010年度	3,300,000	990,000	4,290,000
2011年度	3,500,000	1,050,000	4,550,000
年度			
総計	13,900,000	4,170,000	18,070,000

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：核医学（PET を含む）

## 1. 研究開始当初の背景

癌組織は正常組織と異なり、極めて広範な酸

素分圧に渡って存在する。その低酸素状態は、癌細胞の低酸素応答を惹起し、HIF を介した

関連遺伝子の誘導により、腫瘍血管新生、腫瘍増殖を惹起し、ひいては再発や転移を促進することによって腫瘍の悪性度を増加させることが知られている。臨床的にも子宮頸癌の局所の浸潤性やリンパ節への転移性、また、軟部肉腫では術後の転移性が、腫瘍の高度な低酸素状態で増すことが報告されており、低酸素細胞の存在そのものが腫瘍の悪性度、浸潤性の指標になることが判っている。すなわち、腫瘍内低酸素細胞は手術、放射線治療、化学療法などすべてのがん治療に対する大きな抵抗性因子となっている。従って、癌治療の個別化のためには低酸素細胞の客観的評価が極めて重要である。しかしながら、市販され容易に利用できる低酸素細胞イメージング剤が未だに開発されていないし、低酸素細胞増感剤であるミソナダゾールを $[^{18}\text{F}]$ でラベルしたF-MISOがPET用低酸素イメージング剤として研究用として世界的に使用されているが、この薬剤は、脂溶性が高いためクリアランスが悪く、正常組織とのコントラスト不良で、イメージング剤として好ましくない。

一方、我々は、基盤B一般「低酸素細胞を指標とした新癌治療法の開発に関する研究」において、非常に水溶性の高い低酸素細胞増感剤であるRP-170を $[^{18}\text{F}]$ で標識することに成功し、低酸素細胞イメージング用の新放射化合物 $[^{18}\text{F}]$ FRP-170(米国特許：US 6,743,925 B1)の開発に成功した。この新低酸素細胞イメージング剤 $[^{18}\text{F}]$ FRP-170は、本基盤研究開始時すでに臨床的に、極めて有用であることが証明されていた。

## 2. 研究の目的

申請者らが開発した新低酸素細胞イメージング剤 $[^{18}\text{F}]$ FRP-170は、毒性試験の後、東北大学の倫理委員会の許可のもとですでに臨床応用が行われていた。この研究で我々は、癌治療の手段である手術、化学療法、放射線治療すべてにおいて、治療前に低酸素細胞定量化し、治療効果と予後予測が可能かどうかを調べる。さらに、低酸素細胞応答遺伝子発現との関連も同時に調べることにより、低酸素細胞をベースとした癌治療のテーラーメイド化の可能性を検討するための画像的基礎データを、新低酸素細胞 $[^{18}\text{F}]$ FRP-170を応用して集積し、その有効性を検討するための基礎的・臨床的研究を進めること。現代の放射線治療は放射線生物学的観点から言えば、いわばめくら打ち照射とも言えるが、この研究では、治療前の $[^{18}\text{F}]$ FRP-170を用いたPET検査での低酸素細胞の定量化により、放射線治療を行うべき症例の科学的根拠を示す。

また、世界的に希求されている低酸素応答状態を勘案した手術、化学療法、放射線療法の治療構築に寄与すると思われるこの薬剤を

全国、さらに世界的に普及すること。

## 3. 研究の方法

(1) 放射線治療を行う患者にあらかじめ $[^{18}\text{F}]$ FRP-170によるPET検査を行い、取り込みの多寡と放射線反応性とを比較して、放射線治療ないし化学放射線療法の適応となる症例を選択するための臨床的データを取得する。

(2) 呼吸器外科と共同で手術可能非小細胞肺癌Ⅰ～ⅢA期症例を対象として、術前に $[^{18}\text{F}]$ FRP-170によるPET検査を行い、FRP-170取り込み量の定量化を行う。手術で摘出された癌組織において、 $[^{18}\text{F}]$ FRP-170取り込みとHIF-1 $\alpha$ 、VEGF、CA-9などの低酸素応答遺伝子誘導に差異があるかどうかを調べる。

(3) 脳外科との共同で、手術前の脳腫瘍に対して $[^{18}\text{F}]$ FRP-170PETを行い低酸素細胞の存在と悪性度との比較を行い、低酸素細胞領域に対する切除率向上やブースト放射線治療等に役立つデータが得られるかを検討する。

(4) 他施設への $[^{18}\text{F}]$ FRP-170の普及  
岩手医科大学、大分医科大学等この薬剤に興味を示す施設に対し、自動合成装置作成指導、薬剤合成法指導を行う。

## 4. 研究成果

(1) 悪性腫瘍内低酸素細胞の多寡と放射線感受性。(平成20～21年度成果)

根治的放射線治療を行った悪性腫瘍患者7名(術後再発食道癌4例、非小細胞肺癌1例、小細胞肺癌1例、悪性神経鞘腫1例)に対し $[^{18}\text{F}]$ FRP-170によるイメージングを治療前に行った。放射線治療に対する反応がNCであった悪性神経鞘腫と食道癌の1例のSUVが1.75, 2.14であり、他のPR, CRであった5例の平均1.31より明らかに高い取込であった。このpilot studyにより低酸素細胞の多い腫瘍で放射線感受性が低いことが示された。

(2) 肺癌手術症例による低酸素細胞イメージングと免疫染色との相関(平成20～21年度成果)

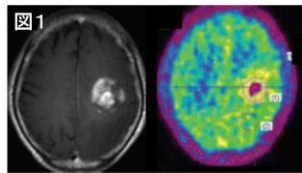
呼吸器外科との共同研究のもと、肺癌の術前症例を対象として $[^{18}\text{F}]$ FRP-170 PETを施行し、摘出標本で①HIF-1 $\alpha$  ②VEGF ③CA-IX ④GLUT-1、4種類の免疫染色を行った。肺癌患者7例(扁平上皮癌3例、腺癌4例)を対象とし、 $[^{18}\text{F}]$ FRP-170 約370MBq 静注後1時間および2時間の時点でPET/CT撮影を行った。染色の評価はPETの情報なしに病理専門医により行われ、標本中陽性細胞の割合(%)を評価し、陽性率50%以上と未満で群分けし、PETの測定因子についてt検定を施行した。

CA-IX で FRP SUVmax、Hypoxic volume (筋肉の SUVmean より高い取込の体積)、腫瘍/筋肉 (T/M)比で有意差が得られた。CA-IX は内因性の低酸素マーカーとされ、低酸素に陥った結果導かれる内因性マーカーの方が、細胞の低酸素状態をより正確に反映している可能性があることが判った。

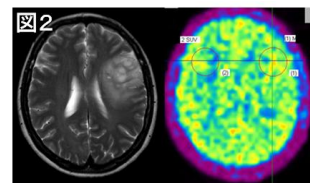
(3) 脳外科との共同研究

○東北大学脳外科との共同研究 (平成21~22年度成果)

脳神経外科との共同研究のもと、脳腫瘍8症例を対象として<sup>[18F]</sup>FRP-170 PETを施行し、その所見と、<sup>[14C]</sup>methionine(<sup>[14C]</sup>Met)PET、<sup>[18F]</sup>fluorodeoxyglucose(<sup>[18F]</sup>FDG) PET、MR イメージ、Proton MR spectroscopy、摘出標本でのHIF-1 $\alpha$ 免疫染色所見との比較検討を行った。8症例の内訳は、glioblastoma multiforme (GB) 3例、oligodendroglioma (ODG) 2例、他 diffuse astrocytoma, anaplastic ganglioglioma, 再発 anaplastic astrocytoma (AA) 各1例ずつであった。



<sup>[18F]</sup>FRP-170 の取込は、3例のGBで高度の取込が認められ(図1)、再発AAと1例のODGで中等度の取込、他の3例では取込を認めなかった(図2)

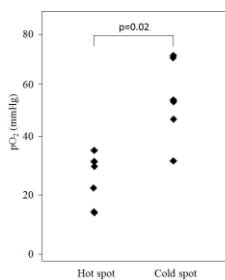


。また、3例のGBではHIF-1のupregulationが認められ、<sup>[18F]</sup>FRP-170取込との明らかな

相関が示唆された。さらに、<sup>[18F]</sup>FRP-170 PETは、proton MR spectroscopyによる乳酸ピーク出現より低酸素検出に関して、よりsensitiveと考えられた。この新低酸素イメージング剤を用いることにより非侵襲的に、脳腫瘍の低酸素状態を術前に評価することが可能であろうと思われる。

○岩手医科大学脳外科との共同研究 (平成22~23年度成果)

岩手医科大学脳外科では、悪性グリオーマに対してFRP-170 PET検査を行い、興味ある治療が得られた。6例の未治療 glioblastoma



multiforme に対し術前にFRP-170 PETを行い、取り込みのhot spotとcold spotに定量的にmicroelectrodeを刺入し、それぞれの部位の平均SUV値と酸素分圧の相関を観察した。Hot spotとcold spotの平均酸素分圧はp=0.02の危険率

で有意にhot領域で低いことが示された(図)。また、hot領域において、酸素分圧と平均SUV間に相関傾向を認めた(相関係数 r=-0.72)。FRP-170PETで高集積を示す部分は低酸素分圧であることが証明され、FRP-170PET画像は信頼性の高い低酸素細胞検出画像であることが示された。これまで、東北大で得られていたhigh grade gliomaに認められた高いFRP-170取り込みが低酸素細胞であることが、岩手医科大学の研究で明らかにされたことはこのPET薬剤の全国展開にも重要な知見である。岩手医科大学では術中、FRP-170画像とMRIをフュージョンさせてナビゲーションに導入し、FRPで高集積の部分はなるべく残存させないように摘出するなどの工夫をしており、この新低酸素イメージング剤を用いることにより非侵襲的に、脳腫瘍の低酸素状態を術前に評価することで治療法のデューメード化が可能となろう。

(4) 他施設への展開 (平成22年度成果)

この研究の当初からの大きな目的の一つであった全国展開であるが、平成22年度は岩手県滝沢村の岩手医科大学サイクロトロンセンター(仁科記念サイクロトロンセンター)に<sup>[18F]</sup>FRP170自動成装置を導入することができ、検査が可能となった。岩手医科大学では、脳外科ですでに臨床応用が始まっていることは上記の通りである。現在、新たに大分医科大学でFRP-170PETの導入を検討しているところである。

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16件)

①Umezawa R, Ariga H, Ogawa Y, Jingu K, Matsushita H, Takeda K, Fujimoto K, Sakayauchi T, Sugawara T, Kubozono M, Narazaki K, Shimizu E, Takai Y, Yamada S. Impact of pathological tumor stage for salvage radiotherapy after radical prostatectomy in patients with prostate-specific antigen < 1.0 ng/ml. Radiat Oncol. 査読有、2011  
DOI : 10.1186/1748-717X-6-150

②Onishi H, Shirato H, Nagata Y, Hiraoka M, Fujino M, Gomi K, Karasawa K, Hayakawa K, Niibe Y, Takai Y, Kimura T, Takeda A, Ouchi A, Hareyama M, Kokubo M, Kozuka T, Arimoto T, Hara R, Itami J, Araki T. Stereotactic body radiotherapy (SBRT) for operable stage I non-small-cell lung cancer: can SBRT be comparable to surgery? Int J Radiat Oncol Biol Phys. 査読有、81:1352-8, 2011

③Shimura T, Kakuda S, Ochiai Y, Kuwahara Y, Takai Y, Fukumoto M.

Targeting the AKT/GSK3 $\beta$ /cyclin D1/Cdk4 survival signaling pathway for eradication of tumor radioresistance acquired by fractionated radiotherapy. Int J Radiat Oncol Biol Phys. 査読有、80:540-8, 2011

④Shibahara I, Kumabe T, Kanamori M, Saito R, Sonoda Y, Watanabe M, Iwata R, Higano S, Takanami K, Takai Y, Tominaga T.

Imaging of hypoxic lesions in patients with gliomas by using positron emission tomography with 1-(2-[18F]fluoro-1-[hydroxymethyl]ethoxy)methyl-2-nitroimidazole, a new 18F-labeled 2-nitroimidazole analog. J Neurosurg. 査読有、113:358-68, 2010

⑤Shimura T, Kakuda S, Ochiai Y, Nakagawa H, Kuwahara Y, Takai Y, Kobayashi J, Komatsu K, Fukumoto M. Acquired radioresistance of human tumor cells by DNA-PK/AKT/GSK3 $\beta$ -mediated cyclin D1 overexpression.

Oncogene. 査読有 29:4826-37, 2010

⑥Jingu K, Ariga H, Kaneta T, Takai Y, Takeda K, Katja L, Narazaki K, Metoki T, Fujimoto K, Umezawa R, Ogawa Y, Nemoto K, Koto M, Mitsuya M, Matsufuji N, Takahashi S, Yamada S. Focal dose escalation using FDG-PET-guided intensity-modulated radiation therapy boost for postoperative local recurrent rectal cancer: a planning study with comparison of DVH and NTCP. BMC Cancer. 査読有、10:127, 2010

⑦Jingu K, Kaneta T, Nemoto K, Takeda K, Ogawa Y, Ariga H, Koto M, Sakayauchi T, Takai Y, Takahashi S, Yamada S.

(18)F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography immediately after chemoradiotherapy predicts prognosis in patients with locoregional postoperative recurrent esophageal cancer. Int J Clin Oncol. 査読有、15:184-90, 2010

⑧Chida K, Kato M, Kagaya Y, Zuguchi M, Saito H, Ishibashi T, Takahashi S, Yamada S, Takai Y. Radiation dose and radiation protection for patients and physicians during interventional procedure. (Review) J Radiat Res. 査読無、51:97-105, 2010

⑨Miura H, Ono S, Nagahata M, Shibutani K, Kakehata S, Morimoto K, Seino H, Kakuta A, Aoki M, Hatayama Y, Kawaguchi H, Takai Y, Abe Y, Kaneko T, Sawamura D, Hanada K. Lymphoscintigraphy for sentinel lymph node mapping in Japanese patients with malignant skin neoplasms of the lower

extremities: comparison with previously investigated Japanese lymphatic anatomy. Ann Nucl Med. 査読有、24:601-8, 2010

⑩Takeda K, Ogawa Y, Ariga H, Koto M, Sakayauchi T, Fujimoto K, Narazaki K, Mitsuya M, Takai Y, Yamada S.

Clinical correlations between treatment with anticoagulants/antiaggregants and late rectal toxicity after radiotherapy for prostate cancer. Anticancer Res. 査読有、29:1831-4, 2009

⑪Kanamori M, Kumabe T, Saito R, Yamashita Y, Sonoda Y, Ariga H, Takai Y, Tominaga T. Optimal treatment strategy for intracranial germ cell tumors: a single institution analysis.

J Neurosurg Pediatr. 査読有、4:506-14, 2009

⑫Namiki S, Ishidoya S, Ito A, Tochigi T, Numata I, Narazaki K, Yamada S, Takai Y, Arai Y. Five-year follow-up of health-related quality of life after intensity-modulated radiation therapy for prostate cancer. Jpn J Clin Oncol. 査読有、39:732-8, 2009

⑬Nomiya T, Nemoto K, Wada H, Takai Y, Yamada S. Long-term results of radiotherapy for T1a and T1bN0M0 glottic carcinoma.

Laryngoscope. 査読有、118:1417-21, 2008

⑭Nomiya T, Nemoto K, Kumabe T, Takai Y, Yamada S. Prospective single-arm study of 72 Gy hyperfractionated radiation therapy and combination chemotherapy for anaplastic astrocytomas. 査読有、BMC Cancer. 16:8:11, 2008

⑮Sonoda Y, Kumabe T, Sugiyama S, Kanamori M, Yamashita Y, Saito R, Ariga H, Takai Y, Tominaga T. Germ cell tumors in the basal ganglia: problems of early diagnosis and treatment. J Neurosurg Pediatrics. 査読有、2:118-24, 2008

⑯高井良尋. 低酸素細胞イメージング. Cancer Frontier 査読無、10:32-42, 2008

[学会発表] (計 12 件)

①高井良尋 画像誘導放射線治療－追跡照射法の展望－ 第 45 回横浜放射線治療懇話会 (特別講演) 横浜、2012. 2. 3

②金田朋洋 腫瘍 PET の最新動向と将来展望 「3. 低酸素剤」 第 71 回日本医学放射線学会総会 シンポジウム 横浜、2012. 4. 14

③高井良尋 最近の放射線治療の進歩－高精度放射線治療－ 第 131 回東北連合産科婦人科学会 (特別講演) 弘前 2011. 6. 4

④高井良尋 画像誘導放射線治療の現状  
第27回診療放射線技師総合学会(特別講演) 青森、2011.9.16

⑤高井良尋 IGRT時代のPET/CTと治療計画  
「シンポジウム:高精度放射線治療におけるPET/CTの役割」第51回日本核医学会学術総会、筑波、2011.10.27-29

⑥別府高明、寺崎一典、高井良尋 他  
悪性グリオーマにおける[18F]FRP-170PETによる腫瘍内低酸素細胞検出-酸素電極による腫瘍内酸素分圧との相関- 第70回日本脳神経外科学会総会 シンポジウム 横浜、2011.10.13

⑦別府高明、寺崎一典、高井良尋 他  
悪性グリオーマにおける[18F]FRP-170PETによる腫瘍内低酸素細胞検出-酸素電極による腫瘍内酸素分圧との相関- 第29回脳腫瘍学会 岐阜、2011.11.27-29

⑧高井良尋 最近の放射線治療の進歩-高精度放射線治療 ~定位放射線治療・強度変調放射線治療・頭頸部癌への応用~ (特別講演)  
第159回日耳鼻青森県地方部会学術講演会 弘前、2011.12.4

⑨高井良尋 PET用新低酸素細胞イメージング剤[18F]FRP-170の開発と臨床応用  
日本核医学技術学会第16回東北地方会(特別講演)、弘前、2010.9.4

⑩高井良尋 低酸素細胞のイメージングとその周辺 第15回北奥羽放射線治療懇話会(特別講演) 八幡平、2010.9.18

⑪高井良尋 PET/CTと治療計画「肺癌」シンポジウム 日本医学放射線学会総会 2009.4.18

⑫Takai Y. [18F]FRP-170, A novel hypoxia marker for PET. SNM(invited, continuing education) 米国核医学会 2008 annual meeting, New Orleans 2008.6.14-18

[図書] (計4件)

① 高井良尋 がん・放射線療法 2010 放射線生物学・修飾因子 p169-174 篠原出版社 2010

② Bowsher J, Takai Y et al. People's Medical Publishing House, Image-Guided Radiation Therapy "Emerging in-room imaging technology. Mundt AJ, Roeske JC (Editors); pp156-164 (総頁数615)2011

③梁川功、高井良尋、石橋忠司監修. 診療放射線技師「マスターテキスト」上巻 東京:メジカルビュー社 2008.

④梁川功、高井良尋、石橋忠司監修. 診療放射線技師「マスターテキスト」下巻 東京:メジカルビュー社 2008.

[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1件)

名称:低酸素イメージング剤(ニトロイミダゾール誘導体)

発明者:高井良尋、井戸達夫、辻谷典彦

権利者:高井良尋、ポーラファーマ

種類:日本特許

番号:第4116793号

取得年月日:2008年7月9日

国内外の別:国内

[その他]

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

高井 良尋 (TAKAI YOSHIHIRO)

弘前大学・大学院医学研究科・教授

研究者番号:50107653

### (2) 研究分担者

山谷 睦雄 (YAMAYA MUTSUO)

東北大学・大学院医学系研究科・教授(寄付講座)

研究者番号:60261640

### (3) 研究分担者

星川 康 (HOSHIKAWA YASUSHI)

東北大学・大学院医学系研究科・助教

研究者番号:90333814

### (4) 研究分担者

金田 朋洋 (KANETA TOMOHIRO)

東北大学・大学院医学系研究科・助教

研究者番号:50323019

### (5) 研究分担者(途中退職)

仲田 栄子 (NAKATA EIKO)

東北大学・大学院医学系研究科・助教

研究者番号:60375201