

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25年 6月 6日現在

機関番号：82674

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2010～2012

課題番号：22390241

研究課題名（和文） PETによるDNA合成速度の定量的測定に基づいたがん診断法の開発

研究課題名（英文） Development of cancer diagnosis method based on the quantitative measurement of DNA synthesis rate by means of positron emission tomography.

研究代表者

豊原 潤 (TOYOHARA JUN)

地方独立行政法人東京都健康長寿医療センター（東京都健康長寿医療センター研究所）

・東京都健康長寿医療センター研究所・専門副部長

研究者番号：50425659

研究成果の概要（和文）：新規PET薬剤4DSTを用いて、がんのDNA合成速度の定量的測定に基づくがん診断法を開発した。4DSTは安全で、300例以上で検査が行われた。脳腫瘍ではオリゴ系腫瘍の悪性度診断、鑑別診断、治療反応性評価に有用であった。肺がんでは細胞増殖能評価、リンパ節転移の高感度検出、予後予測に有用であった。骨髄腫では腫瘍の高感度検出が可能であった。体幹部腫瘍（大腸がん、腎がん、頭頸部がん）の検出と鑑別診断に有用であった。

研究成果の概要（英文）：4DST is a newly developed PET tracer that can be used to image DNA synthesis, and its application in clinical settings is being studied at many facilities. 4DST will be applied to more types of cancer. Establishment of the clinical significance is needed.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	4,700,000	1,410,000	6,110,000
2011年度	4,200,000	1,260,000	5,460,000
2012年度	3,100,000	930,000	4,030,000
年度			
年度			
総計	12,000,000	3,600,000	15,600,000

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）、放射性医薬品、分析化学、放射線、核酸、癌、薬学

1. 研究開始当初の背景

がんの研究において、インビボで癌細胞の増殖能を評価するために「DNA合成速度を測定」することが望まれている。これは、細胞増殖（＝DNA合成速度）が、がんの最重要の特徴の一つであり、診断において重要な役割を果たすと期待されているからである。この目的を達成するため、ポジトロンCT（PET）で「DNA合成速度をインビボで定量する」試みが1970年代より欧米を中心に検討されたが、これまで成功例はない。これ

に対し、研究代表者らは様々なヌクレオシド誘導体の開発検討を行い、その中からインビボでがんのDNA合成速度を直接計測できる有望なPET薬剤として¹¹C-4'-thiothymidine（4DST）を見いだした。

2. 研究の目的

本研究では、「PETによるDNA合成速度の定量的測定に基づいたがん診断法の開発」を行い、その臨床応用に達することを目的とする。

3. 研究の方法

本研究では、「PET による DNA 合成速度の定量的測定に基づいたがん診断法の開発」を目指して、4DST の非臨床試験を行い、臨床応用に到達し、基礎実験で構築した代謝モデルに基づいた「DNA 合成速度の定量測定法」を臨床において展開する。研究期間の後半では、さらにがん患者を対象とした多施設臨床研究を展開する。

4. 研究成果

4DST の非臨床安全性試験結果および PET 薬剤としての製造試験結果を薬剤委員会ならびに倫理委員会で審議し、臨床使用が認められ、2010 年 3 月に 4DST は世界で初めてヒトへ投与された。4DST は世界で初めてヒトへ投与する薬剤であったため、フェーズ I に相当する初期臨床試験を実施した。すなわち、5 例の脳腫瘍患者ボランティアを対象として、4DST 投与に伴う、臨床症状、理学所見、血液検査による副作用調査を実施した。同時に、4DST ダイナミック PET 計測を施行し、目的機能を測定できるかどうかの有効性評価を行った。また、3 例の健常ボランティアを対象とした全身 PET 計測から、被曝線量の推定を行った。

初期臨床試験の結果、4DST 投与に伴う有害事象は認められず、実行線量は $4.2 \mu\text{Sv}/\text{MBq}$ であった。被曝線量推定のために実施した全身 PET 計測では、DNA 合成の盛んな骨髄や脾臓への集積が認められ、4DST が DNA 合成活性を反映した動態を示しているものと考えられた。また、代謝排泄経路である肝臓、腎臓ならびに唾液腺への生理的な集積が認められた。一方、縦隔、脳実質、肺、心筋および骨格筋への集積は低かった (図 1)。

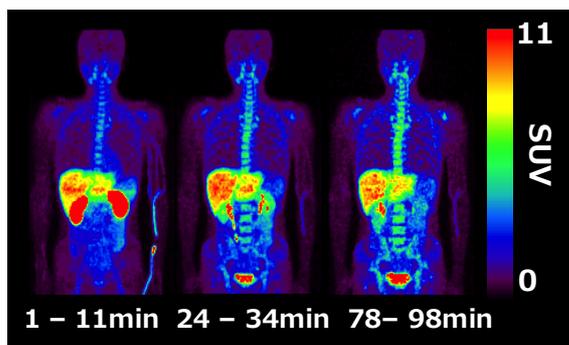


図 1. 4DST 全身画像

4DST のヒト体内分布では、げっ歯類と異なり肝臓への高い集積が認められたが、この原因として、4DST 代謝の種差が考えられた。4DST のヒトにおける代謝はげっ歯類に比べて早く、水溶性の代謝物を生じる。この水溶性代謝物の主成分は β グルクロニダーゼで処理すると 4DST になることから、4DST のヒト肝臓での抱合化反応が、肝臓への高集積の原因と考えられた。

ヌクレオシド誘導体である 4DST は血液脳関門を通過し難いことから、脳実質の放射能集積が低く、大部分の脳腫瘍を描出可能であった。4DST の脳腫瘍への放射能集積は治療状況に応じて変化に富む集積性を示し、同時に撮像した ^{14}C -メチオニン (以下、MET と略) とは明らかに異なる症例も存在した (図 2)。

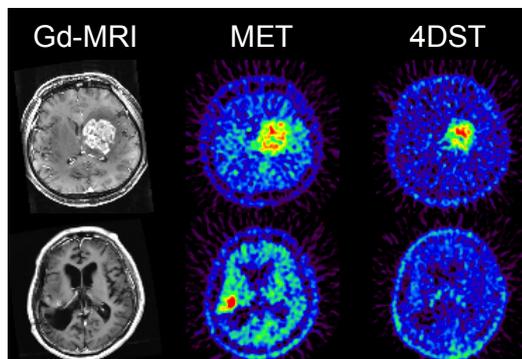


図 2. 上段は、抗がん剤であるテモゾロミド治療抵抗性、下段はテモゾロミド治療反応性の症例である。この様に、4DST は放射線治療や化学療法に対する腫瘍細胞の反応性を鋭敏にとらえられる可能性が示唆された。

初期臨床試験の後、脳腫瘍ではさらに多くの症例で検討が行われ、4DST が MET に比べて血管床の影響を受けず、オリゴ系悪性腫瘍の病理学的な悪性度診断、多発性硬化症等の炎症性疾患と悪性腫瘍の鑑別診断に有用であることが明らかとなった。また、4DST のみが造影 MRI や MET に比べて正確に腫瘍の臨床学的な治療反応性を反映することも明らかとなった。

初期臨床試験で得られた 4DST の脳腫瘍における時間-放射能曲線は非可逆的な動態を示し、4DST が代謝的にトラップされている可能性を示唆していた。また、Patlak グラフ解析の結果は直線を示し、これを支持するものであった。予備的に実施した解析では、4DST が 2 組織 3 コンパートメントモデルにフィットし、 k_4 が無視し得るほど小さいことから、4DST は DNA にまで取り込まれていることが示唆された。解析の結果得られた k_3 ($k_4 = 0$) 値は、DNA 合成速度を反映する K_1 ($k_4 = 0$) との相関が高く (Pearson $r = 0.925$, $p = 0.001$)、細胞内輸送を反映する K_1 ($k_4 = 0$) との相関は認められなかった。また、SUV は K_1 (Patlak) と最も良い相関 (Pearson $r = 0.963$, $p = 0.0001$) を示し、 K_1 ($k_4 = 0$) および k_3 ($k_4 = 0$) とも良い相関 (Pearson $r = 0.942$, $p = 0.0005$; $r = 0.857$, $p = 0.0065$) を示した。以上の結果は、SUV 画像による半定量的な解析でも DNA 合成画像が得られる可能性を示唆している。

さらに、動態解析を裏付ける目的で、4DST の DNA への放射能集積動態を基礎的に検討し

た。4DST の経時的な増殖組織への DNA 取り込み率はミカエリスメンテン型の飽和曲線で示され、十二指腸及び脾臓では、投与後 5 分及び 8 分で放射能の 50% が DNA に取り込まれ、最大取り込み率は 99% 及び 94% に達した。これらの組織全体の時間-放射能曲線は DNA 画分の時間-放射能曲線とほぼ一致し、非 DNA (未変化体+リン酸化体) とは異なっていた。以上の結果は、4DST 集積において DNA 取り込み過程が律速であることを示唆している。

4DST 初期臨床試験の結果、血液中代謝物の存在は定量測定に好ましくないものの、それを凌駕する有用性が認められた。また、4DST は動物実験等の基礎データから高い有用性が期待されていたため、国立国際医療研究センターおよび香川大学医学部との共同研究を開始した。共同研究では、事前に合成技術移転・倫理審査委員会等への申請準備を進めて、当施設の初期臨床試験とほぼ同時期に臨床試験を開始した。また、臨床データを基礎的に裏付けるための研究もフローニンゲン大学 (オランダ) およびワシントン大学 (シアトル) と進めた。

国立国際医療研究センターでは肺がん症例を中心に検討を開始した。原発性肺がんに対して区切除以上+リンパ節郭清を施行した 18 例 (19 病変) の肺がん患者に対して、FDG-PET/CT と 4DST PET/CT を同時期に施行し、病変部におけるそれぞれの SUVmax を測定した。その結果と、病理組織学的な評価 (Ki-67 index 等) の比較を行った。組織型は、腺癌 (BAC 含む) 16 病変・扁平上皮癌 2 病変・大細胞癌 1 例で腫瘍径平均 27.2mm であった。原発巣における集積の平均は、4DST : 2.9 ± 1.0、FDG : 6.2 ± 4.5 と 4DST の集積は FDG の半分程度であった。集積度と Ki-67 index との相関は、4DST : 0.81、FDG : 0.71 であり 4DST が有意に高く、4DST は DNA 合成能 (細胞増殖能) を示す PET 薬剤として原発性肺がんに対し有用であると考えられた。

肺がんでは、さらにリンパ節転移の診断に関する検討が行われ、4DST が造影 CT や FDG に比べてリンパ節転移を最も感度良く検出し、かつ再発や転移といった予後との相関が高いことも示された。また、肺がんにおいても 4DST のみが造影 CT や FDG に比べて正確に腫瘍の抗がん剤への反応性を評価できる可能性が示唆された。

がんの診断において良・悪性の鑑別診断は命題である。研究代表者は、フローニンゲン大学と共同で動物モデルにおける腫瘍と炎症の鑑別診断に 4DST が役立つか否かを検討した。Wistar ラット右肩部に C6 glioma を移植し、9 日後にテレピン油を左後肢に注射して、腫瘍・急性炎症モデルを作成し、起炎翌日に小動物 PET で 4DST 動態撮像を行い、撮像後に体内分布を実施して、FLT、FDG、コリ

ン、MET ならびに 2 つのシグマ受容体リガンド (FESA5845 と SA4503) と比較した。その結果 4DST は検討した薬剤の中で最も高い腫瘍集積 (SUV=4.9) を示し、腫瘍筋肉比は 13 で FDG に匹敵した。4DST の腫瘍炎症比は非常に高く (49)、FESA5845 と同程度で、FDG より 10 倍以上高かった。4DST は腫瘍と骨髄で持続的な集積増大を示した。一方、炎症組織からは洗い出され、投与 40 分後で正常筋肉と同レベルとなった。この様に、4DST は感度・選択性ともに最も優れた薬剤であり、腫瘍と炎症における動態は全く異なっていた。さらに、慢性炎症モデルの動物実験からも鑑別に優れるとした結果が得られている。以上の結果は 4DST の臨床有用性を強く示唆するものである。臨床においても、4DST が大腸がん、子宮がんおよび前立腺がんの鑑別診断に有用であるとする結果が得られている。

骨髄腫では、多発性骨髄腫の全身画像診断において、エネルギー代謝 (FDG)、M 蛋白の生産 (MET)、細胞増殖 (4DST) と複数の性質を持ち、病期により、それぞれの特徴の出方が異なることが判明した。経過観察でよい時期と、強力な化学療法が必要な時期を、これらの画像診断によりの確に判断し、治療の最適化に貢献することが期待されている。

これらの結果は、4DST の臨床有用性を強く示唆するものである。今後、さらに多くの種類のがんへの応用が期待されるとともに、生理的集積や病変に関して多くのデータが蓄積されることによって 4DST PET 診断意義の確率が望まれる。

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 8 件)

- ① Toyohara, J., Sakata, M., Oda, K., Ishii, K. and Ishiwata, K. Longitudinal observation of ¹¹C-4DST uptake in turpentine-induced inflammatory tissue. Nucl. Med. Biol., 2013; 40:240-244. 査読有 10.1016/j.nucmedbio.2012.10.008
- ② Toyohara, J., Kobayashi, T., Mita, S. and Ishiwata, K. Application of [¹¹C]SA4503 to selection of novel sigma1 selective agonists. Nucl. Med. Biol., 2012; 39:1117-1121. 査読有 10.1016/j.nucmedbio.2012.06.004
- ③ Toyohara, J., Sakata, M. and Ishiwata, K. Re-evaluation of in vivo selectivity of [¹¹C]SA4503 to sigma1 receptors in the brain: contributions of emopamil binding protein. Nucl. Med. Biol., 2012; 39:1049-1052. 査

- 読 有
10.1016/j.nucmedbio.2012.03.002
- ④ Toyohara, J., Sakata, M. and Ishiwata, K. Roles of signal receptors in the mechanisms of action of CNS drugs. *Trans. Neurosci.*, 2012; 3:294-299. 査読有 10.2478/s13380-012-0030-0
- ⑤ Toyohara, J., Elsinga, P.H., Ishiwata, K., Sijbesma, J.W.A., Dierckx, R.A.J.O. and van Waarde, A. Evaluation of 4'-[methyl-¹¹C]thiothymidine (¹¹C-4DST) in a rodent tumor and inflammation model. *J. Nucl. Med.*, 2012; 53:488-494. 査読有 10.2967/jnumed.111.098426
- ⑥ Minamimoto, R., Toyohara, J., Seike, A., Ito, H., Endo, H., Moorka, M., Nakajima, K., Mitsumoto, T., Ito, K., Okasaki, M., Ishiwata, K. and Kubota, K. ¹¹C-4DST PET/CT for proliferation imaging in non-small-cell-lung cancer. *J. Nucl. Med.*, 2012;53:199-206. 査読有 DOI: 10.2967/jnumed.111.095539
- ⑦ Toyohara, J. and Ishiwata, K. Animal tumor models for PET in drug development. *Ann. Nucl. Med.*, 2011; 25:717-731. 査読有 10.1007/s12149-011-0531-x
- ⑧ Toyohara, J., Nariai, T., Sakata, M., Oda, K., Ishii, K., Kawabe, T., Irie, T., Saga, T., Kubota, K. and Ishiwata, K. Whole-body distribution and brain tumor imaging with ¹¹C-4DST: a pilot study. *J. Nucl. Med.*, 2011; 52:1322-1328. 査読有 10.2967/jnumed.111.088435
- [学会発表] (計30件)
1. 豊原潤、FDG以外の腫瘍PETイメージングプローブ、第7回国産PET勉強会(招待講演)、2013.3.16、高松
2. Inaji, M., Imaging of DNA synthesis rate of malignant brain tumor with newly developed PET molecular imaging probe ¹¹C-4DST, Joint neurosurgical convention 2013 (the 6th international Mt. Bandai symposium for neuroscience and the 7th Pan-pacific neurosurgery congress), 2013.1.29-2013.2.3, Hawaii (USA)
3. 成相直、¹¹C-4DST PETを用いた悪性脳腫瘍のDNA合成能評価法の検討、第52回日本核医学会学術総会、2012.10.11-2012.10.13、札幌
4. 岡崎百子、多発性骨髄腫のFDG-PET、メチオニンPET、4DST-PETの比較検討、第52回日本核医学会学術総会、2012.10.11-2012.10.13、札幌
5. 坂田宗之、PET薬剤の被曝線量評価における小動物実験とヒト全身PETの比較、第52回日本核医学会学術総会、2012.10.11-2012.11.13、札幌
6. 豊原潤、¹¹C-4DSTの炎症集積に関する検討、第52回日本核医学会学術総会、2012.10.11-2012.11.13、札幌
7. 南本亮吾、DNA合成診断薬剤¹¹C-4DSTによる肺癌リンパ節転移の検出能力に関する検討、第52回日本核医学会学術総会、2012.10.11-2012.11.13、札幌
8. 豊原潤、新規PET薬剤からfirst-in-human studyまで-多施設共同研究への取り組み-、第52回日本核医学会学術総会(招待講演)、2012.10.11-2012.11.13、札幌
9. 稲次基希、¹¹C-4DST PETを用いたDNA合成能イメージングによる悪性脳腫瘍診断、第13回日本分子脳神経外科学会、2012.9.20-2012.9.21、熊本
10. 豊原潤、DNA合成の分子イメージング-4DST研究の現状と展望-、第77回日本核医学会関東甲信越地方会(招待講演)、2012.7.14、東京
11. Okasaki, M., A molecular imaging study of multiple myeloma: comparison of ¹⁸F-FDG, ¹¹C-methionine (MET), and ¹¹C-thiothymidine (4DST) PET. 59th Annual meeting of the society of nuclear medicine, 2012.6.9-2012.6.13, Miami (USA)
12. Minamimoto, R., Proliferation imaging by ¹¹C-4DST PET/CT for differentiation of malignant and benign lesion. 59th Annual meeting of the society of nuclear medicine, 2012.6.9-2012.6.13, Miami (USA)
13. Nariai, T., Clinical use of 4DST as a new PET molecular imaging probe to measure DNA synthesis of brain tumor. The 4th International symposium of brain tumor pathology, 2012.5.24, Nagoya
14. 成相直、DNA合成能のPET分子イメージングによる脳腫瘍増殖能の画像診断-新規診断薬剤¹¹C-4DSTの臨床応用-、第35回日本脳神経CI学会、2012.3.2.-2012.3.3、横浜
15. Minamimoto, R., [¹¹C]4DST as novel PET tracer for imaging DNA synthesis in non-small cell lung cancer. Radiological society of north America 97th scientific assemble and annual meeting. 2011.11.27-2011.12.2,

- Chicago (USA)
16. Nariai, T., Initial clinical trials of carbon-11-labeled 4DST for malignant brain tumors as a PET molecular imaging probe to measure DNA synthesis rate. 16th Annual scientific meeting of the society for neuro-oncology, 2011. 11. 17-2011. 11. 20, Orange County, (USA)
 17. 南本亮吾、新規 DNA 合成診断薬剤 ¹¹C-4DST の非小細胞肺癌における有用性の検討、第 51 回日本核医学会学術総会、2011. 10. 27-2011. 10. 29、つくば市
 18. 豊原潤、¹¹C-4DST PET の腫瘍と炎症の鑑別診断に関する基礎的検討、第 51 回日本核医学会学術総会、2011. 10. 27-2011. 10. 29、つくば市
 19. 成相直、DNA 合成診断薬剤 ¹¹C-4DST の悪性脳腫瘍治療効果モニターリングへの応用、第 51 回日本核医学会学術総会、2011. 10. 27-2011. 10. 29、つくば市
 20. 豊原潤、¹¹C-4DST 動態解析に関する基礎的検討、第 51 回日本核医学会学術総会、2011. 10. 27-2011. 10. 29、つくば市
 21. Toyohara, J., Evaluation of 4'-[methyl-¹¹C]thiothymidine in a rodent model of tumor and inflammation. Annual congress of the European association of nuclear medicine, 2011. 10. 15-2011. 10. 18, Birmingham (UK)
 22. 稲次基希、PET 分子イメージングの有用性と可能性、第 70 回日本脳神経外科学会総会、2011. 10. 12-2011. 10. 14、横浜
 23. Nariai, T., Clinical use of molecular imaging for the treatment of malignant brain tumor. Annual meeting of congress of neurological surgeons, 2011. 10. 1-2011. 10. 6, Washington DC (USA)
 24. Toyohara, J., Initial clinical trials of carbon-11-labeled 4DST in brain tumors. 58th Annual meeting of the society of nuclear medicine, 2011. 6. 4-2011. 6. 8, San Antonio (USA)
 25. Minamimoto, R., DNA synthesis imaging of non-small-cell lung cancer using a new PET tracer [¹¹C]4DST. 58th Annual meeting of the society of nuclear medicine, 2011. 6. 4-2011. 6. 8, San Antonio (USA)
 26. Sakata, M., Kinetic modeling of [¹¹C]4DST PET imaging DNA synthesis rate: initial clinical trials in brain tumors. 10th International conference of quantification of brain function with PET, 2011. 5. 24-2011. 5. 28, Barcelona (Spain)
 27. 成相直、新規 DNA 合成診断薬剤 ¹¹C-4DST の初期臨床評価-悪性脳腫瘍への臨床応用、第 50 回日本核医学会学術総会、2010. 11. 11-2010. 11. 13、大宮
 28. 坂田宗之、新規 DNA 合成診断薬剤 ¹¹C-4DST の初期臨床評価-脳腫瘍での動態解析、第 50 回日本核医学会学術総会、2010. 11. 11-2010. 11. 13、大宮
 29. 窪田和雄、新規 DNA 合成診断薬剤 ¹¹C-4DST の初期臨床評価-全身 PET 画像の評価、第 50 回日本核医学会学術総会、2010. 11. 11-2010. 11. 13、大宮
 30. 豊原潤、新規 DNA 合成診断薬剤 ¹¹C-4DST の初期臨床評価-安全性評価と代謝分析、第 50 回日本核医学会学術総会、2010. 11. 11-2010. 11. 13、大宮
- 〔図書〕(計 3 件)
- ① Nariai, T., Inaji, M., Sakata, M. and Toyohara, J. Springer Verlag, Tumors of the central nervous system, in press.
 - ② Toyohara, J., Sakata, M. and Ishiwata, K. Springer Verlag, PET and SPECT for neurobiological systems, in press.
 - ③ Toyohara, J. and Ishiwata, K. World Scientific Publishing Co., Trends on the role of PET in drug development, 2012, 768 (193-218)
6. 研究組織
- (1) 研究代表者
豊原 潤 (TOYOHARA JUN)
地方独立行政法人東京都健康長寿医療センター (東京都健康長寿医療センター研究所)・東京都健康長寿医療センター研究所・専門副部長
研究者番号：50425659
 - (2) 研究分担者
窪田 和雄 (KUBOTA KAZUO)
独立行政法人国立国際医療研究センター・放射線科核医学室・医長
研究者番号：40161674
山本 由佳 (YAMAMOTO YUKA)
香川大学・医学部付属病院・講師
研究者番号：30335872
 - (3) 連携研究者
石渡 喜一 (ISHIWATA KIICHI)
地方独立行政法人東京都健康長寿医療センター (東京都健康長寿医療センター研究所)・東京都健康長寿医療センター・研究

部長

研究者番号：50143037

石井 賢二 (ISHII KENJI)

地方独立行政法人東京都健康長寿医療センター（東京都健康長寿医療センター研究所）・東京都健康長寿医療センター・研究部長

研究者番号：10231135

織田 圭一 (ODA KEIICHI)

地方独立行政法人東京都健康長寿医療センター（東京都健康長寿医療センター研究所）・東京都健康長寿医療センター・研究員

研究者番号：70224235

坂田 宗之 (SAKATA MUNHEYUKI)

地方独立行政法人東京都健康長寿医療センター（東京都健康長寿医療センター研究所）・東京都健康長寿医療センター・研究員

研究者番号：00403328

成相 直 (NARIAI TADASHI)

東京医科歯科大学・医学部附属病院・准教授

研究者番号：00228090

(4) 研究協力者

Philip Elsinga

Professor, Faculty of Medical Sciences,
University Medical Center Groningen,
Groningen, The Netherlands

Jeffrey L. Schwartz

Associate Professor, Department of
Radiation Oncology, University of
Washington Medical Center, Seattle, WA,
USA