

## 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 5 月 13 日現在

機関番号：11401

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22591602

 研究課題名（和文）脳腫瘍における人工アミノ酸イメージングを指標とするテモゾロミド治療  
 増強法の開発

 研究課題名（英文）Experimental studies of synthesized amino acid analog anti-FACBC as  
 imaging biomarker to monitor treatment response of glioblastomas to temozolomide therapy with  
 interferon- $\beta$  and bevacizumab

研究代表者

笹嶋 寿郎（SASAJIMA TOSHIO）

秋田大学・大学院医学系研究科・准教授

研究者番号：40235289

研究成果の概要（和文）：膠芽腫におけるテモゾロミド(TMZ)耐性株を樹立し、インターフェロン $\beta$  (IFN)、抗血管新生薬ベバシズマブ(BV)併用 TMZ 療法による治療効果は人工アミノ酸トレーサ (*anti*-FACBC)およびメチオニン集積量と増殖能で評価した。アミノ酸トレーサ集積量と増殖能は培養細胞で IFN 併用により低下し、BV 投与の効果はなかったが、移植脳腫瘍では TMZ、IFN 併用により有意に低下し、BV 追加投与によりさらに低下した。移植脳腫瘍において MRI による局在診断と効果判定は困難であったが、アミノ酸トレーサにより治療効果が鋭敏に検出された。

研究成果の概要（英文）：The temozolomide (TMZ)-resistant subline of glioblastoma was established by subculture with low-dose TMZ. We analyzed the efficacy of treatment with single-agent (TMZ, bevacizumab (BV)) and combination therapy (TMZ/interferon- $\beta$  (IFN), TMZ/BV, TMZ/IFN/BV) based on both *anti*-FACBC and methionine (Met) uptake and tumor proliferation. Although treatment with a combination of TMZ and IFN significantly decreased both *anti*-FACBC and Met uptake and proliferation of TMZ-resistant cells as much as drug-naïve cells, no additional effect of BV was noted in vitro. In the inoculated brain tumors, treatment with a combination of TMZ and IFN significantly decreased the tracer accumulation and proliferation of TMZ-resistant tumor as much as drug-naïve tumor, and in a combination with BV, those of both tumors decreased even further. *Anti*-FACBC, like Met, was more sensitive than MRI for early tumor response to TMZ therapy with IFN and BV, whereas MRI was unsuitable for tumor delineation and assessment of treatment response after the antiangiogenic therapy using BV.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	900,000	270,000	1,170,000
2011 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2012 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・脳神経外科学

キーワード：悪性脳腫瘍，腫瘍イメージング，人工アミノ酸トレーサ，テモゾロミド，増殖能，インターフェロンβ，ベバシズマブ

### 1. 研究開始当初の背景

(1) 新規経口抗がん剤テモゾロミド(TMZ)は局所放射線照射と同調させて投与するプロトコルが悪性グリオーマに対する標準治療となっているが、治療効果は未だ不十分で、TMZ 不応例および治療後の再発例に対する治療プロトコルの確立は急務である。また、従来の MRI を主体とした治療効果判定では TMZ 治療後に増強域が一過性に増大し、あたかも再発類似の所見を呈する psudoprogession と呼ばれる現象も散見されており、生物学的活性を反映したアミノ酸代謝画像による経過の追跡が切望されている。

(2)  $^{14}\text{C}$ -メチオニンは治療効果判定に有用であるが、半減期が 20 分と短く、医療用サイクロトロンを要するため、企業供給が可能な F-18 で標識したアミノ酸トレーサの臨床応用が重要である。

### 2. 研究の目的

(1) 本研究では新規人工アミノ酸トレーサ ( $^{18}\text{F}$ ]-1-amino-3-fluorocyclobutane-1-carboxylic acid:  $^{18}\text{F}$ -anti-FACBC)が  $^{11}\text{C}$ -メチオニンと同様に脳腫瘍の局在診断、治療効果の評価に有用であるかについて検討する。

(2)  $^{18}\text{F}$ -anti-FACBC による治療効果判定を指標として臨床応用可能な免疫療法 (IFN-β: IFN) および抗血管新生療法 (bevacizumab: BV) との併用による有望な治療プロトコル開発を目指す。

### 3. 研究の方法

(1) ヒトグリオブラストーマ細胞(U87)における TMZ 耐性株(U87R)を樹立し、耐性獲得は MTT assay で評価した。

(2) TMZ, IFN, BV の治療効果は三重標識組織放射能測定法で anti- $^{14}\text{C}$ -FACBC および  $^3\text{H}$ -メチオニン集積量と増殖能を定量した。

(3) 移植脳腫瘍は U87 野生株と耐性株を左右のヌードラット大脳基底核に各々接種して作成し、TMZ, BV 単独および TMZ, IFN, BV 併用療法 (図 1) 後に MRI (T2WI, 造影 T1WI)を行った。さらに二重標識オートラジオグラフィ法で anti- $^{14}\text{C}$ -FACBC の組織移行率(DAR)および  $^3\text{H}$ -Met の DAR と酸不溶性分画画像(AIF)を作成し、BBB の透過性は Evans blue で評価し、組織所見と対比し、各画像の定量解析を行い、隣接切片で MIB-1 index を算出して増殖能を評価した。

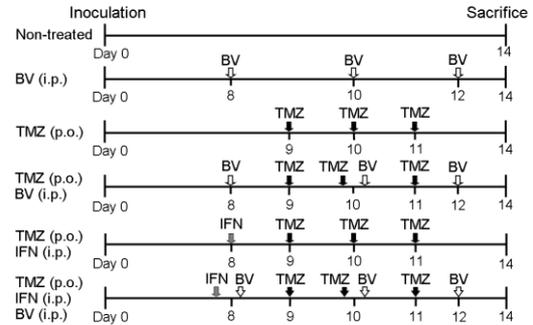


図 1 移植脳腫瘍に対する治療プロトコル

### 4. 研究成果

(1) MTT assay では耐性株の生存率が TMZ 30-120 $\mu\text{M}$  において野生株と比較して有意に増加し、耐性獲得が確認された。TMZ および IFN 単独添加群で腫瘍細胞の生存率は容量依存性に低下し、TMZ,IFN 併用によってさらに有意に低下したが、BV 単独および併用による効果はみられなかった (図 2)。

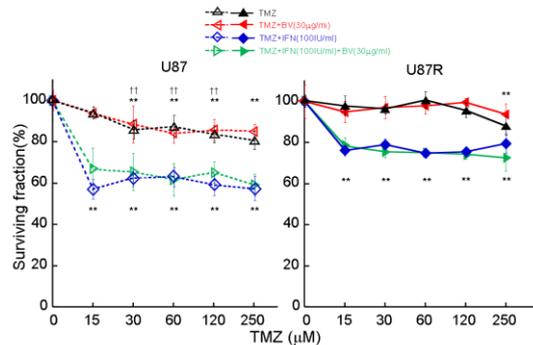


図 2 MTT assay

(2) 培養細胞ではアミノ酸トレーサ集積量と増殖能は TMZ 単独添加後に野生株で無治療群と比較して有意に低下したが、耐性株では低下が軽度で、いずれも IFN 併用によりさらに低下したが、BV 追加投与の効果はなかった(図 3-5)。

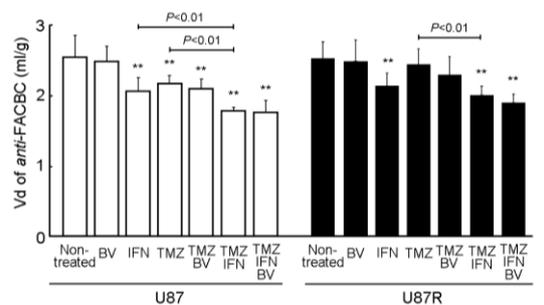


図 3 培養細胞における anti- $^{14}\text{C}$ -FACBC 集積

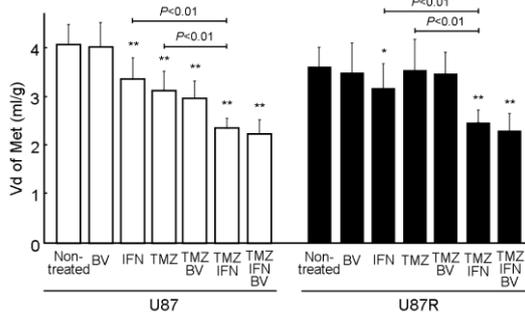


図4 培養細胞における<sup>3</sup>H-メチオニン集積

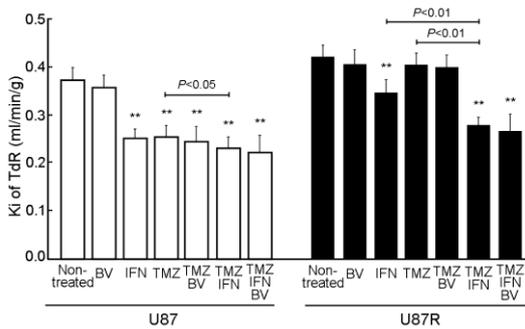


図5 培養細胞における腫瘍増殖能

(3) 移植脳腫瘍では MRI で耐性株は増強効果および Evans blue の染色性に乏しく、野生株は BV 投与により T2 高信号域、増強域は縮小し、Evans blue の染色性も低下したが、アミノ酸トレーサは腫瘍浸潤域に一致して増強域よりも広範に集積し、MRI による局在診断と効果判定は困難であった(図6)。

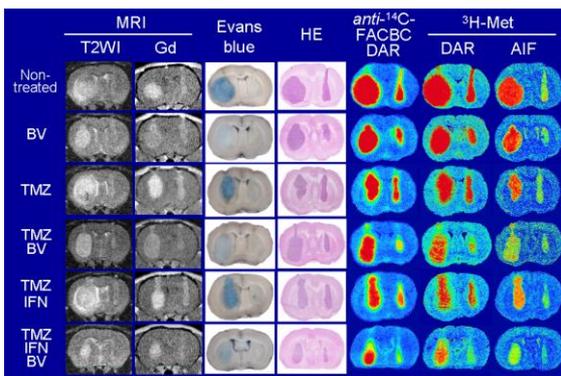


図6 各治療プロトコールにおける画像所見

各アミノ酸トレーサの集積量(DAR および AIF)は耐性株では野生株と比較して TMZ 投与による低下が軽度で、腫瘍部と健常灰白質の比(T/NT)および増殖能は野生株では TMZ 投与で有意に低下し、耐性株では TMZ,IFN 併用群で有意に低下し、BV 追加投与によりさらに低下して治療効果を的確に反映した(図7-10)。

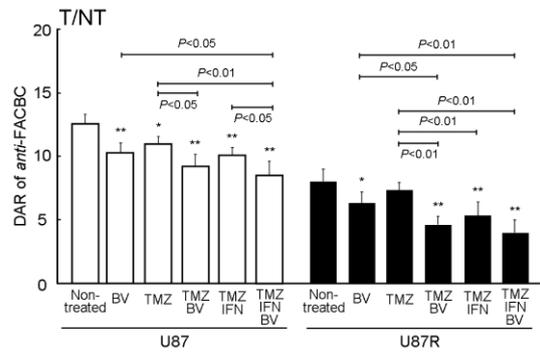


図7 移植脳腫瘍における anti-<sup>14</sup>C-FACBC 集積

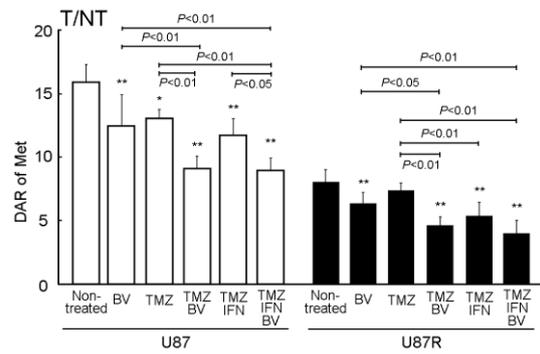


図8 移植脳腫瘍における<sup>3</sup>H-メチオニン集積(DAR)

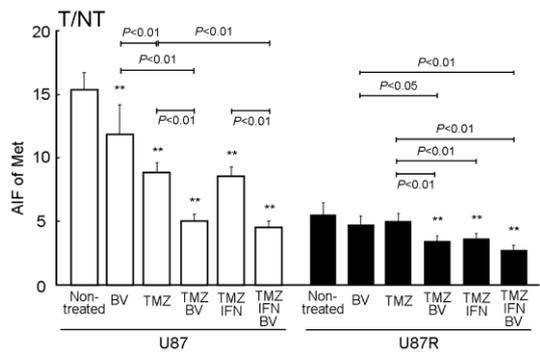


図9 移植脳腫瘍における<sup>3</sup>H-メチオニン集積(AIF)

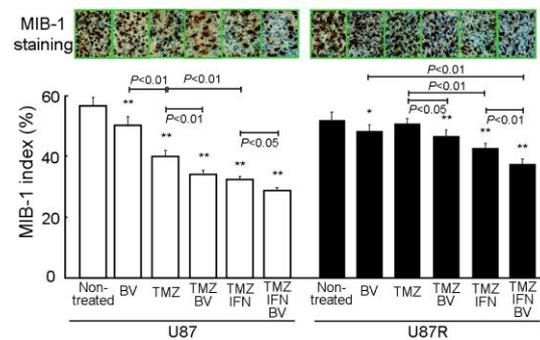


図10 移植脳腫瘍における腫瘍増殖能

結論：TMZ 耐性悪性グリオーマに対する TMZ, IFN, BV 併用療法においてはアミノ酸代謝および増殖能を反映する PET トレーサによる効果判定が重要である。

#### 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0件)

[学会発表] (計0件)

[図書] (計0件)

[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0件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年月日：

国内外の別：

[その他]

ホームページ等

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

笹嶋 寿郎 (SASAJIMA TOSHIO)

秋田大学・大学院医学系研究科・准教授

研究者番号：40235289

##### (2) 研究分担者

( )

研究者番号：

##### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：