

## 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 2日現在

機関番号：11301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2010～2011

課題番号：22650113

研究課題名（和文）腫瘍血管遮断効果を機能的に融合した新規化学粒子線治療技術の開発

研究課題名（英文）Development of a novel charged-particle therapy combined with effects of tumor blood flow interruption

研究代表者

寺川 貴樹 (TERAKAWA ATSUKI)

東北大学・大学院工学研究科・准教授

研究者番号：10250854

研究成果の概要（和文）：

陽子線治療と腫瘍血流遮断剤 AVE8062 を機能的・相補的に併用する新規治療法の開発を目的とし、マウス腫瘍モデルによる単回治療実験を実施した。治療効果を糖代謝トレーサー及び低酸素イメージング剤を用いた超高分解能 PET により評価した結果、腫瘍中心部の広範囲に細胞死が誘発され、腫瘍辺縁部に低酸素状態を含む腫瘍細胞の生存領域が認められたが、陽子線再照射等の再治療で腫瘍を消失させる可能性を得ることができた。

研究成果の概要（英文）：

Therapeutic experiments were performed based on a murine solid tumor to develop a novel combined-treatment between proton therapy and a vascular disrupting agent AVE8062. Therapeutic effects on tumor growth were evaluated from high spatial resolution PET using [<sup>18</sup>F]Fluoro-Deoxy-Glucose and [<sup>18</sup>F]Fluoromisonidazole. The results of the PET scans show that a single combined treatment between proton therapy and AVE8062 caused extensive necrosis in the inner region of the tumor, while tumor cells in the tumor periphery survived the single treatment. It is suggested that the tumor receiving the single combined-treatment can be cured after the second proton irradiation.

交付決定額

(金額単位：円)

|        | 直接経費      | 間接経費    | 合計        |
|--------|-----------|---------|-----------|
| 2010年度 | 1,700,000 | 0       | 1,700,000 |
| 2011年度 | 1,300,000 | 390,000 | 1,690,000 |
| 年度     |           |         |           |
| 年度     |           |         |           |
| 年度     |           |         |           |
| 総計     | 3,000,000 | 390,000 | 3,390,000 |

研究分野：粒子線治療

科研費の分科・細目：人間医工学・医用システム

キーワード：粒子線治療，腫瘍血流遮断剤，超高分解能 PET

## 1. 研究開始当初の背景

近年の癌治療戦略において、腫瘍血管を標的とする治療は、重要な位置づけにあり、様々な腫瘍血管標的薬剤が開発されている。現在、欧米にて第1相/2相の臨床試験が進行中の腫瘍血流遮断剤 AVE8062（コンプレタ

スタチン A4 誘導体）は、腫瘍血管を選択的・不可逆的に遮断し腫瘍細胞を壊死させる効果を有する。しかしながら、遮断剤単独で全ての腫瘍細胞を殺傷することは原理的に困難であり、正常組織境界の腫瘍細胞が低酸素状態として壊死を免れ、再酸素化をきっかけ

に再増殖することが知られている。

一方、放射線治療の分野では、従来の X 線に比べて物理学的・生物学的に優位な特徴を持つ粒子線治療が注目されている。一般に、粒子線治療では陽子線または炭素線が用いられる。特に炭素線は生物学的効果が高く従来の放射線抵抗性腫瘍の治療に効果が期待されているが、加速器や照射システムの大型化・高コスト化の問題等がある。さらに、炭素線の高い生物学的効果は照射を受けた正常組織にも影響するため、放射線の有害事象（副作用）の回避に特に注意が必要である。陽子線の場合、生物学的効果は低いが加速器・照射システムの小型化・低コスト化が炭素線に比べて容易なため、化学療法との併用等で放射線増感効果が得られるならば粒子線の治療的ポテンシャルを最大限活用できる可能性がある。

## 2. 研究の目的

このような背景のもとに、本研究では、腫瘍血流遮断剤 AVE8062 で問題となる正常組織境界領域の腫瘍細胞のみに、局所的に線量集中が可能な陽子線治療で予め致死的效果を与えた後に、AVE8062 投与により腫瘍中心領域の腫瘍細胞（低酸素細胞を含む）の壊死を図り、両治療法の効果を機能的・相補的に活用し、上記の問題を解決する新たな治療法の開発を目指す。本研究で提案する治療法について、腫瘍細胞を移植したマウスによる治療実験を基に治療効果の評価を行う。治療効果の判定手段として腫瘍体積の経時変化（腫瘍増殖遅延 assay）のデータや、1 mm 以下の超高分解能 PET (Positron Emission Tomography, 陽電子断層撮影) カメラを用いて取得した腫瘍の糖代謝画像、低酸素細胞イメージング剤による診断画像を解析し、本研究の治療法の優位性、妥当性を総合的に評価することを目指す。

## 3. 研究の方法

本研究の治療実験は、研究代表者らが開発した東北大学サイクロトロン・ラジオアイソ

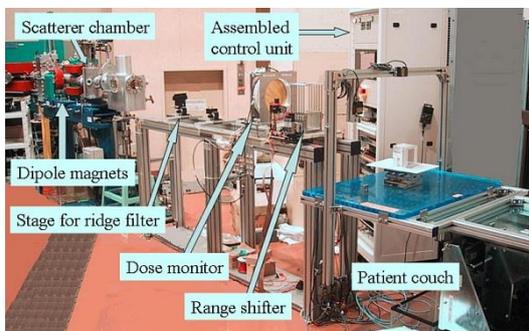


図1 東北大学サイクロトロン・ラジオアイソトープセンターのの小動物用粒子線治療装置

トープセンター (CYRIC) の小動物用粒子線治療装置 (図1) を用いて行った。治療用の陽子線を形成するために、粒子線照射用のビーム形成デバイスを開発し、大型サイクロトロンより得られる 80MeV 陽子線を用いて照射装置の動作試験を実施した。

治療実験の方法および使用する物質等の概要を下記にまとめる。

- 難治癌の治療を想定し、放射線、抗癌剤に一定の抵抗性を持つ肉腫を治療対象とする。
- マウス由来 NFSa 線維肉腫細胞  $1 \times 10^6/50 \mu\text{L}$  を、C3H/He マウス 10 週齢のオスの両後脚に移植する。
- マウス腫瘍を AVE8062 投与、陽子線照射 (右後脚腫瘍のみに照射) の有無に対応して、比較対照の無治療コントロール群 (左後脚腫瘍)、陽子線単独治療群 (右後脚腫瘍)、AVE8062 単独治療群 (左後脚腫瘍)、陽子線と AVE8062 の併用治療群 (右後脚腫瘍) に分ける。
- 直径約 10 mm の腫瘍塊の形成を確認し実験を開始する。コントロールと有意な腫瘍増殖遅延効果がある陽子線単回照射 (15 Gy または 30 Gy)、または AVE8062 の腹腔内単回投与 (40 mg/kg 程度) を行う。
- 治療後 1 日毎の腫瘍体積の計測から腫瘍縮小による増殖遅延を評価し、各治療群における抗腫瘍効果を比較する。
- 治療効果判定に、1 mm 以下の空間分解能を達成している小動物用超高分解能半導体 PET 装置を用い (図1 1)、腫瘍内の糖代謝、低酸素状態の分布について、マウスが生きたまま診断する。すなわち、増殖のために腫瘍へブドウ糖が異常集積する性質を利用し、陽電子放出核  $^{18}\text{F}$  で標識化された糖代謝トレーサー  $^{18}\text{F}$  標識化 Fluoro-Deoxy-Glucose ( $^{18}\text{F}$ FDG) を投与し、腫瘍組織内の高分解能糖代謝分布を得て治療効果を判定する。また、腫瘍組織内の低酸素状態の領域を、低酸素細胞イメージング剤  $^{18}\text{F}$  標識化ミソナゾール ( $^{18}\text{F}$ MISO) により可視化し、本治療法における低酸素細胞殺傷効果の詳細な情報を得る。なお、両 PET 薬剤による PET スキャンは、1 mCi を尾静脈より投与し、投与 1 時間後に 1 時間スキャンする条件で行った。
- AVE8062 による急速な血流遮断効果が誘導される腫瘍内元素動態を解析し、治療効果との各種元素動態との相関について調べる。

## 4. 研究成果

各種治療群の腫瘍体積変化を図2に示す。

腫瘍体積  $V$  は、腫瘍の 3 直径を  $a, b, c$  として  $V = (\pi/6)abc$  で近似し、腫瘍数  $n$  に対する平均値と平均誤差で評価した。陽子線 15 Gy 単独治療と AVE8062 40 mg/kg の単独治療の腫瘍増殖遅延効果はほぼ同等の結果であり、いずれも単回治療約 4 日後で腫瘍は再増殖したが、両治療法を併用した場合には治療 4 日後以降も腫瘍は縮小し、陽子線 30 Gy 単独治療に迫る腫瘍増殖遅延効果が得られた。さらに、陽子線 30 Gy 治療と AVE8062 40 mg/kg の併用治療条件においては、各々の単独治療の腫瘍増殖遅延の単純相加的効果に比べて著しく腫瘍の増殖が抑制されることが確認された。

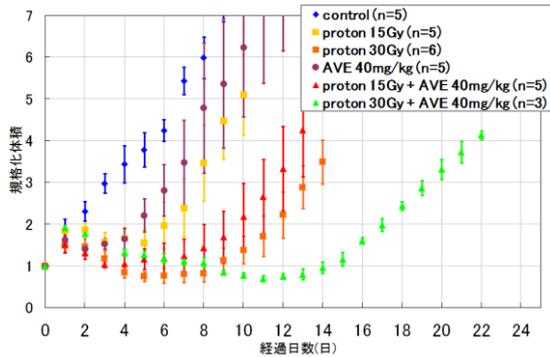


図 2 AVE8062 を併用した陽子線治療および各種単回治療の腫瘍体積変化。治療はいずれも単回治療で 0 日に実施された。

マウスの両後脚部の腫瘍のほぼ中心部の体軸に垂直な方向の  $^{18}\text{F}$ FDG-PET 断層画像を図 3 に示す。コントロール及び陽子線 15 Gy 単独治療では腫瘍の全域に  $^{18}\text{F}$ FDG が集積し腫瘍の糖代謝が活発である。AVE8062 40 mg/kg 単独治療の腫瘍では  $^{18}\text{F}$ FDG 集積は腫瘍中心部にはなく、広範囲に血流遮断による壊死が誘発されたものと推測されるが、辺縁部の  $^{18}\text{F}$ FDG 集積が腫瘍細胞の残存を示している。したがって、これらの生き残った細胞が、陽子線 15 Gy 単独治療および AVE8062 40 mg/kg 単独治療の場合の治療 4 日目以降の再増殖の要因と考えられる。併用治療条件では、 $^{18}\text{F}$ FDG の高集積がほとんど認められないことから腫瘍細胞が効果的に殺傷され顕著な腫瘍増殖遅延に至ったと解釈できる。

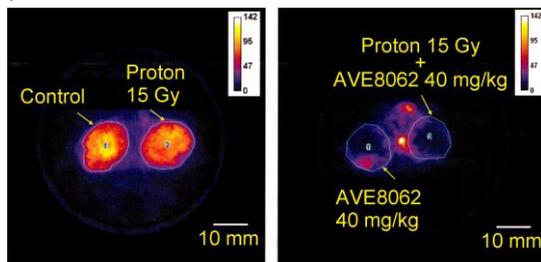


図 3 各種単回治療 4 日後におけるマウス両後脚部腫瘍の体軸方向  $^{18}\text{F}$ FDG-PET 断層画像

図 4 にコントロールおよび AVE8062 40 mg/kg 治療における  $^{18}\text{F}$ MISO-PET による腫瘍断層画像を示す。AVE8062 投与群では低酸素細胞が腫瘍辺縁部に生き残っていることが示唆される。本治療実験のプロトコルは単回治療条件による腫瘍の応答を調べる範囲内に留めたが、臨床的な併用治療条件を想定した場合、単回治療後に 2 回以降の陽子線照射で辺縁部に線量集中させることで残存細胞を殺傷し腫瘍を消失させることが可能と考えられる。

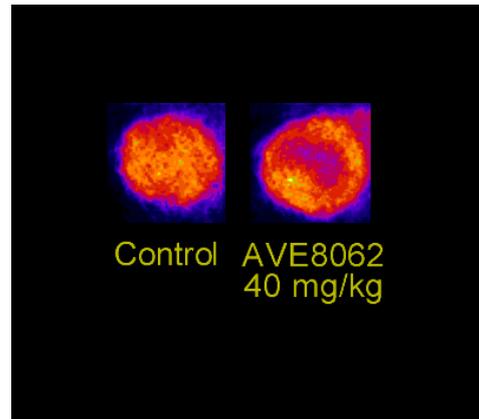


図 4 マウスの両後脚部の腫瘍の体軸方向  $^{18}\text{F}$ FDG-PET 断層画像。 ( $^{18}\text{F}$ FDG-PET の腫瘍とは異なる)

本研究で用いた AVE8062 は腫瘍血流を急速、不可逆的に遮断するため、腫瘍内部は劇的な低酸素状態に陥り最終的に広範囲な壊死が誘発される。この過程で低酸素・低栄養環境の腫瘍細胞の適応応答に伴って、腫瘍内の元素分布に変化をもたらされる可能性があり、元素動態と治療効果との相関を調べることは治療戦略を構築し最適化する上で重要である。したがって、AVE8062 40 mg/kg 投与 1 日後の腫瘍をマウスから摘出し、その凍結切片を Particle-induced X-ray emission (PIXE)法により元素分析した。PIXE 分析は東北大学工学研究科の高速中性子実験施設のサブミリ PIXE 分析システムを用いて行われた。

腫瘍の凍結切片サンプルに対して、ビームサイズ  $0.5 \text{ mm} \times 0.5 \text{ mm}$  の 3 MeV 陽子ビームをスキャンし、各種元素の特性 X 線の測定から得られた PIXE 分析結果を図 5 に示す。PIXE 分析はナトリウムより重い元素分析が可能である。無治療の腫瘍切片ではリンよりも重い生体内主要元素は一樣に分布しているのに対して、AVE8062 を投与した腫瘍では内部の壊死組織にカリウムなどの元素集積は低く、辺縁部の生存組織のみに高いことが確認された。さらにカルシウムに関して、辺縁部の生存細胞の組織と中央の壊死組織の中間領域にリング状の特徴的な集積が認められた。一般に、カルシウムは低酸素環境に

おける細胞の適応応答に密接に関連する元素であり、壊死組織を取り巻くようなカルシウムの分布は、AVE8062で誘発された低酸素環境に起因する可能性が示唆される。

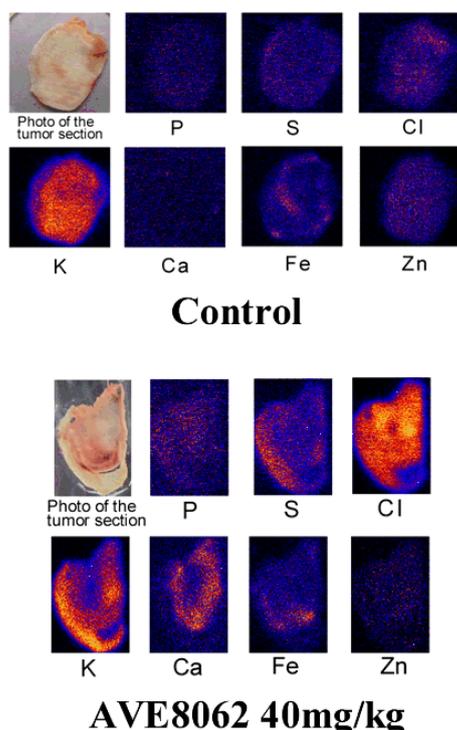


図5 コントロール(上)およびAVE8062 40 mg/kg 治療1日後におけるマウス腫瘍切片のPIXE元素分析

#### 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4件)

1. A. TERAKAWA, K. ISHII, S. MATSUYAMA, Y. KIKUCHI, S. YASUNAGA, Y. ITO, A. TAGAWA, T. KAWAMURA, Y. TAKAHASHI, Y. HATORI, N. HAMADA, K. FUJIKI, Y. MIURA, H. YAMAZAKI, Y. FUNAKI, S. FURUMOTO, N. ITO, S. WADA, and K. SERA, PIXE ANALYSIS OF A MURINE FIBROSARCOMA TUMOR TREATED WITH A VASCULAR DISRUPTING AGENT AVE8062, 査読有, International Journal of PIXE, Vol. 21 Nos. 3&4, (2011), 125-131.

2. A. Terakawa, K. Ishii, H. Yamazaki, S. Matsuyama, Y. Kikuchi, Y. Ito, A. Tagawa, S. Yasunaga, T. Kawamura, Y. Takahashi, Y. Hatori, N. Hamada, K. Fujiki, N. Ito, S. Wada, Y. Funaki and K. Sera, PIXE analysis of a murine solid tumor treated with proton therapy combined with

cisplatin, X-RAY Spectrometry, 査読有, 40, 2011, 198-201.

3. A. TERAKAWA, Y. ITO, K. ISHII, S. MATSUYAMA, Y. KIKUCHI, S. YASUNAGA, A. TAGAWA, T. KAWAMURA, Y. TAKAHASHI, Y. HATORI, N. HAMADA, K. FUJIKI, H. YAMAZAKI, Y. FUNAKI, N. ITO, S. WADA, K. SERA, PIXE ANALYSIS OF A MURINE FIBROSARCOMA TUMOR FOR PROTON THERAPY COMBINED WITH THE CHEMOTHERAPEUTIC AGENT CISPLATIN, 査読有, International Journal of PIXE, Vol. 20 Nos. 3&4, 2010, 85-91.

4. A. Esmaili Torshabi, A. Terakawa, K. Ishii, H. Yamazaki, S. Matsuyama, Y. Kikuchi, H. Akiyama, K. Koyata, A. Tagawa, Y. Itoh, S. Yasunaga, Development of an adjustable beam flattening system for modification of passive beam delivery technique in proton therapy, 査読有, Nuclear Instruments and Methods in Physics Research, A 615, 2010, 138-141.

[学会発表] (計3件)

1. T. Kawamura, Y. Ito, A. Terakawa, Submilli-PIXE analysis of a murine fibrosarcoma tumor treated with proton therapy combined with cisplatin. 7th International Symposium on Bio-PIXE, 2011年11月1日, 東北大学

2. 寺川貴樹, 腫瘍血管遮断剤AVE8062を投与したマウス固形腫瘍のPIXE分析, 第27回PIXEシンポジウム, 2010年11月17日 京都大学

3. A. Terakawa, PIXE analysis of a murine solid tumor treated with proton therapy combined with cisplatin, 12th International Conference on Particle Induced X-ray Emission and its Analytical Applications, 2010年6月28日, Guildford, イギリス

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

寺川 貴樹 (TERAKAWA ATSUKI)  
東北大学・大学院工学研究科・准教授  
研究者番号: 10250854

##### (2) 研究分担者

( )  
研究者番号:

##### (3) 連携研究者

( )  
研究者番号: