

Title	低酸素イメージング薬剤を用いた核医学的手法による放射線治療効果の予測
Sub Title	
Author	鈴木, 天之(Suzuki, Takayuki) 久保, 敦司(Kubo, Atsushi)
Publisher	慶應医学会
Publication year	2005
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.82, No.1 (2005. 3) ,p.T1- T9
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	学位論文
Genre	Journal Article
URL	<a href="https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20050301-0001">https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20050301-0001</a>

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

学位論文

低酸素イメージング薬剤を用いた核医学的手法による  
放射線治療効果の予測

慶應義塾大学医学部放射線科学教室

(指導: 久保敦司教授)

鈴木 天之

(平成 16 年 3 月 11 日受付)

Key Words :  $^{99m}\text{Tc}$ -HL91, tumor hypoxia, autoradiography, radiation therapy, radiosensitivity

腫瘍の放射線感受性はその組織型, 細胞の分化度, 間質の状態, 担癌個体の状態, 酸素分圧など様々な要素により決定され, 中でも腫瘍の酸素分圧は治療中に大きく変化することがあり, 腫瘍内の酸素状態を逐次把握することが重要である. これまでにも, 子宮頸癌の酸素分圧が低い群で有意に治療成績が悪かったこと<sup>1)</sup>, 腫瘍低酸素が頭頸部癌<sup>2)</sup>や肺癌<sup>3)</sup>などの放射線治療の予後因子であること, 低酸素が食道癌<sup>4)</sup>や脳腫瘍<sup>5)</sup>では放射線および化学療法抵抗性の重要な因子であることなどが報告されている. すなわち, 腫瘍組織の酸素状態は放射線療法や化学療法の効果を決定する重要な要素であり<sup>6, 7)</sup>, 治療前あるいは治療中の腫瘍の酸素状態は治療効果を予測するための大きな情報である. したがって治療の経過で腫瘍の酸素状態を把握することは癌治療において急務とされている.

一方, 腫瘍の酸素状態は酸素プローブを用いて電気化学的に直接測定した値を酸素分圧の標準値のひとつとしているが, 臨床上でプローブを刺入することは侵襲的であり, そのために腫瘍の転移を引き起こす危険性も指摘されている<sup>8)</sup>. また, magnetic resonance spectroscopy (MRS)<sup>9)</sup>や phosphorometer<sup>10)</sup>などによる測定は非侵襲的であるが, 特定の部位の酸素分圧を測定しているとはいえない.

非侵襲的に生体内の生化学状態を明示しうる方法としては, 放射性薬剤を用いた核医学的イメージングが考えられる. metronidazole<sup>11)</sup>や misonidazole<sup>12)</sup>などの nitroimidazole 化合物<sup>13)</sup>が低酸素領域に集まる性格を利用して, これを放射性核種で標識した放射性薬剤により酸素状態を核医学的にイメージングする方法がこれまでに報

告されている. われわれはこれらの化合物よりも低酸素組織に対して高い親和性を示す化合物である $^{99m}\text{Tc}$ -HL91 (4, 9-diaza-3, 3, 10, 10-tetramethyldodecan-2, 11-dione dioxime)<sup>14-18)</sup>の共同開発に参画し, その生体内分布および果樹と酸素状態との関係を検討し, 当化合物が従来の低酸素イメージング製剤よりも優れた特徴を有することをすでに報告してきた<sup>19, 20)</sup>.

本研究は,  $^{99m}\text{Tc}$ -HL91 の腫瘍への取り込みと腫瘍の放射線反応性との相関を検討し, 放射線治療の効果を予測する上で臨床的に有用であることを証明することを目的とした.

## 実験材料と方法

### 1. 動物モデル

ヒト腫瘍(ヒト胃癌 MKN45, ヒト類上皮癌 KB-31, ヒト結腸癌 COLO205, ヒト肺腺癌 HLC, ヒト喉頭癌 HEP2)を移植したヌードマウスを使用した. 腫瘍細胞  $1 \times 10^7$  個をマウスの大腿皮下に接種し, 腫瘍の大きさが肉眼的に成育していることを確認してから (300-600  $\text{mm}^3$  または 100-200  $\text{mm}^3$ ) 実験に供した.

### 2. $^{99m}\text{Tc}$ -HL91

HL91 (4, 9-diaza-3, 3, 10, 10-tetramethyldodecan-2, 11-dione dioxime) 約 0.2 mg を含むバイアルに 5 ml の過テクネチウム ( $^{99m}\text{Tc}$ ) 酸ナトリウム (約 370 MBq/ml) を加え室温にて振盪し標識した. なお, TLC (thin-layer chromatography) にて測定した  $^{99m}\text{Tc}$ -HL91 の放射性化学的純度は標識後 10 分から 1 時間以

内の範囲で95%以上であった。

### 3. シンチグラフィ

0.1-0.2 ml (37-74MBq) の<sup>99m</sup>Tc-HL91 を標識後 10 分以上、1 時間以内にマウスに尾静注し、3 時間後にペントバルビタール (50mg/kg) をマウスの腹腔内に投与して麻酔し、ガンマカメラ (東芝 GCA901A) にてマウスの全身プラナ像 (256×256) を 10 分間収集した。照射実験のシンチグラムは照射前、照射 4 日後、8 日後、3 週または 4 週間後の実験最終日に行った。

### 4. 腫瘍の酸素分圧の測定

プローブは閃電極と不閃電極とが一体となりチューブ内に封入されたカテーテルタイプのクラーク型電極 (MT 技研製ニードル型 MPO-100; 0.2 mm 径, 100 mm 長) を使用した。プローブを 20℃ の生理食塩水にて 150 mmHg に標準化した後、麻酔をかけたマウスの体温が下がらないように注意しながら、プローブを腫瘍内 3-7 mm の深さに刺入して測定した。刺入は一腫瘍につき 2 回までとし、一度刺した部位には再度刺さないようにした。対側大腿の筋肉の酸素分圧も同様に測定し、腫瘍の酸素分圧との比を求めた。

### 5. 腫瘍組織内<sup>99m</sup>Tc-HL91 の分布

<sup>99m</sup>Tc-HL91 を担癌マウスに尾静注して一定時間後に心臓から脱血し犠死させ、摘出した腫瘍の一部をドライアイスにて -70℃ に冷却したアセトン内で直ちに凍結し、-20℃ に保ったクライオスタットにて 10 μm 程度の薄切切片を作成した。切片をオートラジオグラフィ用フィルム (Kodak Scientific Imaging Film X-OMAT AR) に 2 日間曝露した後、現像した。同一切片を HE 染色して顕微鏡にて組織像を観察した。

### 6. 放射線照射

マウスをペントバルビタールの腹腔内麻酔下に固定器具に固定し、腫瘍を移植した大腿のみに 4MV リナック X 線 (三菱 ML6M) を線量率 150c Gy/min にて照射した。腫瘍への線量が一定となるように、照射する下肢上に 5 mm 厚の水等価物質 (フローテーション・ベット・パット, サクラ医療器) をボラスとして載せた。各腫瘍について 2 匹から 4 匹のマウスに 10 Gy, 15 Gy または 20 Gy の 1 回照射を行い、照射前後 2, 3 日ごとに照射群と非照射群 (照射をしていない対照群) のマウスについて 3 方向の腫瘍径 L, W, H を測定して、腫瘍の成育を観測した。腫瘍を楕円体と仮定し、その体

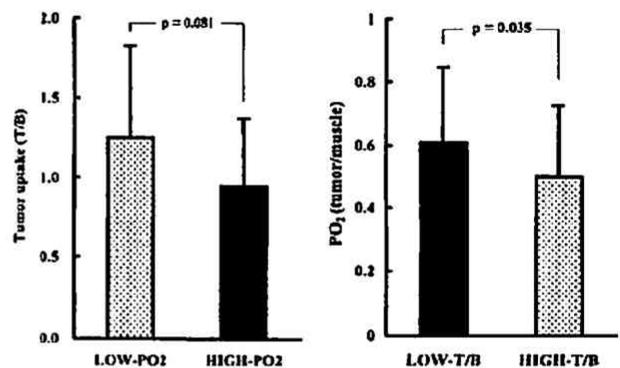
積は  $(4/3)\pi(L/2)(W/2)(H/2) \approx LWH/2$  として求めた<sup>21, 22)</sup>。照射実験における<sup>99m</sup>Tc-HL91 の取り込みは、シンチグラムより腫瘍、対側大腿の筋肉、全身に関心領域 region of interest (ROI) を設定し測定した。シンチグラムから求めた腫瘍の取り込みは対全身 (%) で表した。観測は照射後 2~4 週間に行い、その実験最終日に犠死させ血液、筋肉、腫瘍を摘出し、その重量と放射能を測定した。血液、筋肉、腫瘍への取り込み量 (% injection dose/g, 以下 %ID/g と記載) を求め、血液との比 (Tumor-to-blood, 以下 T/B と記載) を算出した。

## 結 果

### 1. 腫瘍への取り込みと酸素分圧の関係

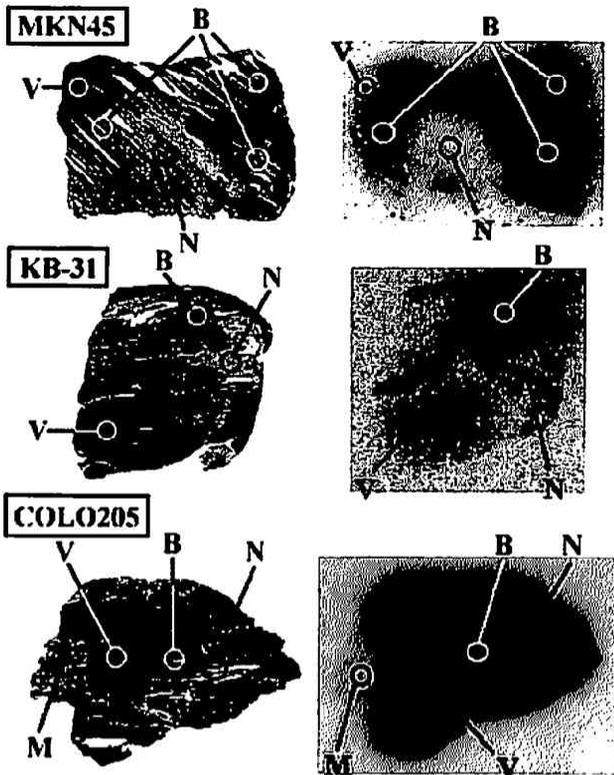
#### 1) 腫瘍の酸素分圧と<sup>99m</sup>Tc-HL91 取り込み量の関係

腫瘍内部の酸素分圧を測定した後、腫瘍を細分割して各々への<sup>99m</sup>Tc-HL91 の取り込みを腫瘍対血液比 (T/B) で求めた。前記 5 種類のヒト腫瘍を用い、計 21 腫瘍片に関して計算した。第 1 図に示すように酸素分圧 (対筋肉比) が 0.55 未満の腫瘍は<sup>99m</sup>Tc-HL91 の取り込みが T/B=1.25±0.44 と高く、酸素分圧が 0.55 以上の腫瘍は<sup>99m</sup>Tc-HL91 の取り込みが 0.95±0.31 と低い傾向 (P=0.081) があった。また<sup>99m</sup>Tc-HL91 の取り込み (T/B) が 1.0 以上の腫瘍の酸素分圧 (対筋肉比) は 0.50±0.19 と低く、取り込みが 1.0 未満の腫瘍は酸素分圧が 0.61±0.20 と高かった (P=0.035)。



第 1 図 <sup>99m</sup>Tc-HL91 の腫瘍への取り込み (腫瘍対血液比) および酸素状態 (腫瘍対筋肉比)。

LOW-PO<sub>2</sub>: 酸素分圧 < 0.55, HIGH-PO<sub>2</sub>: 酸素分圧 ≥ 0.55, LOW-T/B: 腫瘍への取り込み < 1.0, HIGH-T/B: 腫瘍への取り込み ≥ 1.0. 平均値 ± 標準誤差で示した。(鈴木天-他: 核医学, 38: 333-341, 2001 の第 5 図を許可を得て改変し転載)



第2図 腫瘍切片のHE染色およびオートラジオグラム。  
 N：壊死部，V：viable部，B：境界領域，M：筋肉。  
 (鈴木天之内，他：核医学，38：333-341，2001の第9図を許可を得て改変し転載)

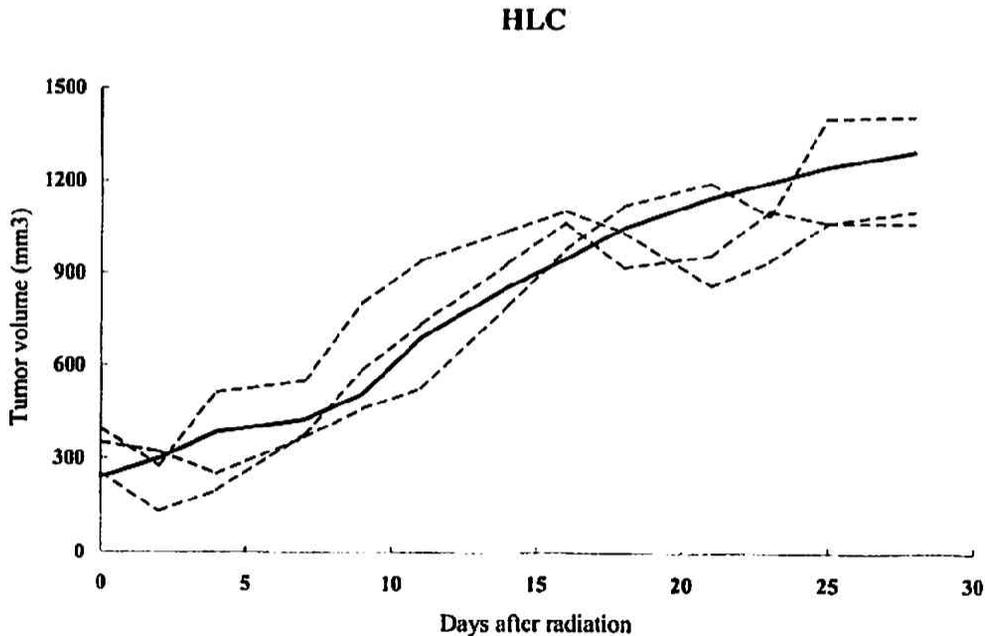
2) オートラジオグラフィ所見

各腫瘍についてオートラジオグラフィとHE染色した病理標本を比較検討した。病理標本にて、明瞭に紫色に濃染した核を有する細胞の密集する部分を“viable”，核構造を欠き細胞密度が疎で薄い赤紫色に染まった部分を壊死とし、さらにその境界領域の三つの部分に分けて<sup>99m</sup>Tc-HL91の集積を評価した。代表的な病理標本とオートラジオグラムを第2図に示す、いずれの腫瘍においても壊死部(N)とviable部(V)の<sup>99m</sup>Tc-HL91集積は低く、その境界領域(B)への集積が高いことが認められた。COLO205やHEP2の標本の一部に含まれていた筋肉(M)には<sup>99m</sup>Tc-HL91の集積がほとんど認められなかった。

2. 放射線照射の影響

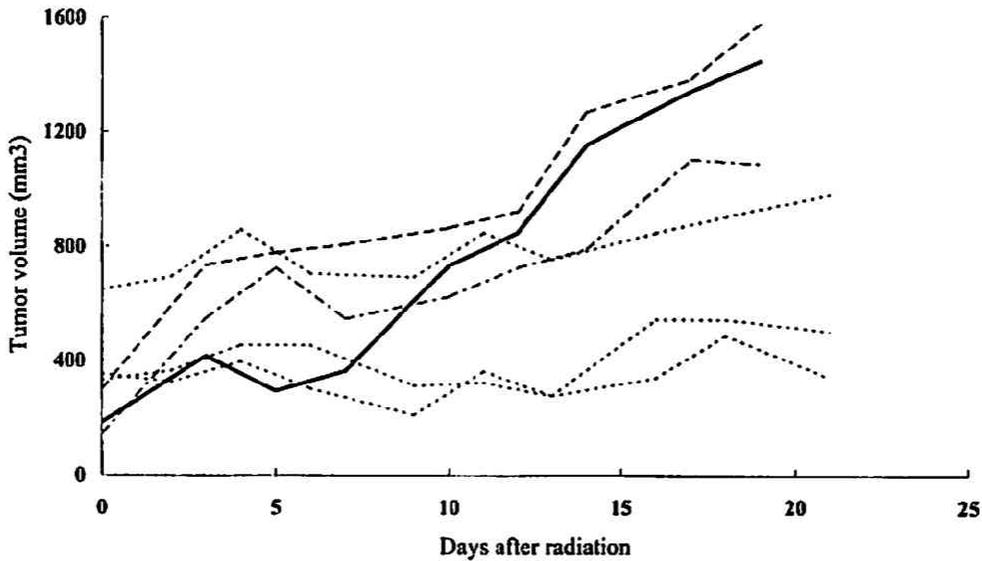
1) 肺腺癌 HLC

第3図に肺腺癌HLCの成育曲線を示す。腫瘍に10Gy照射したが、いずれのマウスも非照射のコントロール群と同様に腫瘍が増大し、肺腺癌HLCは放射線にほとんど反応しなかった。照射して28日後の<sup>99m</sup>Tc-HL91の腫瘍への取り込み(T/B)は照射群では1.7~1.9であり、非照射群のそれ、平均1.7との間に有意な差がなかった。また、シンチグラムの腫瘍にROIを設定して



第3図 肺腺癌HLCの成育曲線。  
 -----：10Gy照射腫瘍群，———：非照射腫瘍群の典型例。(Suzuki T et al：Ann Nucl Med 17：131-138，2003のFig 1を許可を得て改変し転載)

MKN45



第4図 胃癌 MKN45 の成育曲線。

----- : 15Gy 照射腫瘍 A 群, - - - - : B 群, ..... : 20 Gy 照射腫瘍群, ——— : 非照射腫瘍群の典型例。(Suzuki T et al : Ann Nucl Med 17 : 131-138, 2003 の Fig 5, Fig 7 を許可を得て改変し転載)

求めた取り込み (対全身%) は、照射前 (測定初日) と 28 日後で、照射群は 1.1%, 1.2%, 1.3% から各々 3.3%, 3.7%, 8.0% へ、非照射群は 1.1% から 5.9% へ、いずれも増加した。すなわち、非照射群では、初日と比較して 28 日後の取り込みは約 5 倍増加した。一方、照射群でも、照射前と比較して照射後には 3 ~ 6 倍に増加した。

2) 胃癌 MKN45

第 4 図に胃癌 MKN45 の成育曲線を示す。MKN45 に 15 Gy の放射線照射を行ったところ、非照射のコントロール群と同様の成育を示すマウス群 MKN45-A と、照射後に成育抑制の認められたマウス群 MKN45-B とに分かれた。測定を開始して 19 日目の非照射群の <sup>99m</sup>Tc-HL91 取り込み (T/B) は平均 0.95 で、照射して 19 日後の A 群、B 群の取り込み平均はそれぞれ、0.82, 0.68 であった。すなわち、成育抑制を示さなかった A 群の取り込みは非照射群と有意差が認められず、成育抑制を示した B 群の取り込みは非照射群よりも有意に低かった。シンチグラムから求めた腫瘍への取り込み (対全身%) は、照射前 (測定初日) と照射 19 日後で、A 群では 3.1% から 4.3% へ増加、B 群では 2.6% から 2.0% へ減少、非照射群では 0.8% から 3.7% へ大きく増加

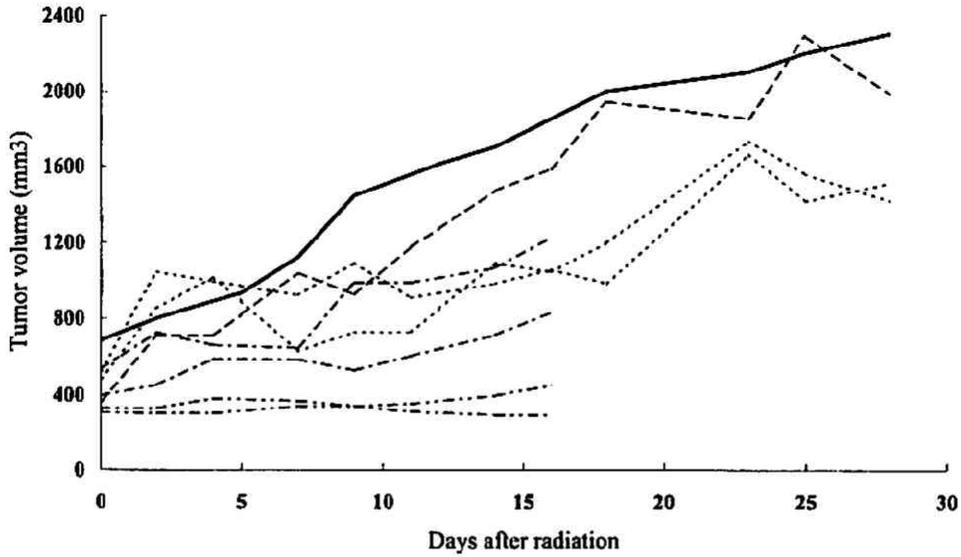
した。

照射線量が 20 Gy のときは、全ての腫瘍の成育が抑制された。腫瘍への取り込み (対全身%) は、照射前と照射 21 日後で、0.7%, 1.6%, 0.5% から各々 1.1%, 2.3%, 1.5% へと 1.4 ~ 3.0 倍に増加したが、非照射のコントロール群のそれ (19 日間で 4.6 倍) よりは小さかった。

3) 類上皮癌 KB-31

第 5 - 1 図に比較的大きい (300-600 mm<sup>3</sup>) 類上皮癌 KB-31 の成育曲線を示す。10 Gy の照射を行ったところ、成育抑制がほとんど認められなかったマウス群 KB-31-A と、照射後に成育が遅滞したマウス群 KB-31-B とに分かれた。測定を開始して 28 日目の非照射群の <sup>99m</sup>Tc-HL91 取り込み (T/B) は平均 1.7 で、照射群の A, B ともに 0.4 ~ 0.7 であり、非照射群よりも有意に低かった。腫瘍への取り込み (対全身%) は、照射前 (測定初日) と 28 日後で、A 群では 1.7% から 2.7% へ増加 (1.6 倍)、B 群では 7.3%, 1.5% から各々 3.6%, 1.2% へ減少 (0.5 ~ 0.8 倍)、非照射群では 2.0% から 3.0% へ増加した。例えば A 群マウスの照射前の腫瘍への取り込みは 1.7% で、B 群のそれは 7.3% であり、照射前の取り込みと放射線照射の効果との間には相関が認

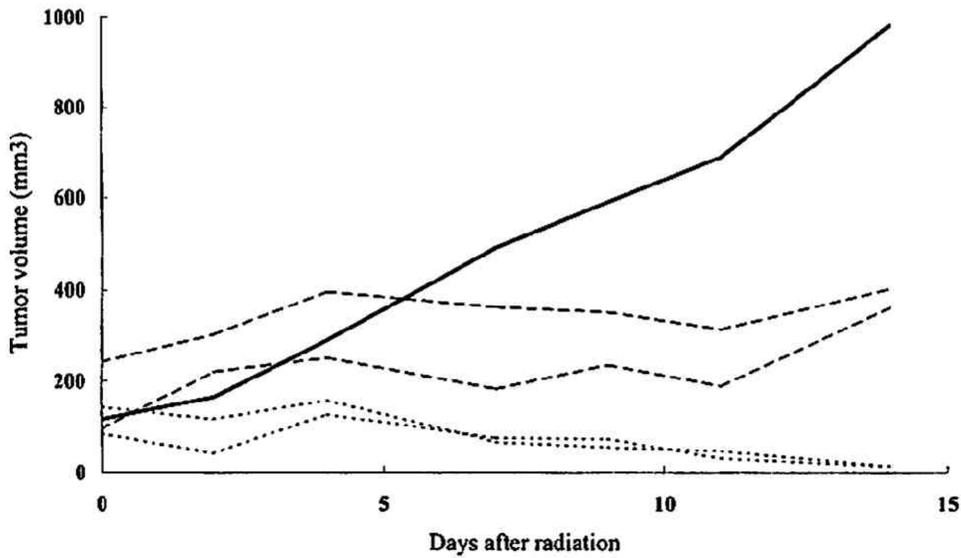
### KB-31 (large tumors)



第5-1図 類上皮癌 KB-31 (300-600 mm<sup>3</sup>) の成育曲線。

----- : 10Gy 照射腫瘍 A 群, ..... : B 群, -.-.- : 20Gy 照射腫瘍 C 群, - - - : D 群,  
—— : 非照射腫瘍群の典型例. (Suzuki T et al : Ann Nucl Med 17 : 131-138, 2003 の Fig 3, Fig 9 を許可を得て改変し転載)

### KB-31 (small tumors)



第5-2図 類上皮癌 KB-31 (100-200 mm<sup>3</sup>) の成育曲線。

----- : 20Gy 照射腫瘍 E 群, ..... : F 群, —— : 非照射腫瘍群の典型例. (Suzuki T et al : Ann Nucl Med 17 : 131-138, 2003 の Fig 10 を許可を得て改変し転載)

められなかった。

照射線量を20 Gyに増加すると、すべてのマウスで腫瘍の成育抑制が認められたが、その程度はマウスごとに異なっていた。照射をしないコントロール群の腫瘍は16日間で体積が約5.3倍に増加し、<sup>99m</sup>Tc-HL91の取り込み(対全身%)も16日間で1.7%から3.6%へ増加した。照射後の体積の増加が平均で2.2倍であった『成育抑制の程度が小さい群』KB-31-CではHL91取り込み(対全身%)は、照射前、照射4日後、8日後、16日後で、{3.7%, 2.2%, 2.8%, 3.3%}, {2.7%, 2.3%, 3.0%, 4.2%}といったん減少した後に増加した。16日目の取り込みは照射前の0.9~1.5倍となり、照射前と比較して有意な低下が認められなかった。一方、照射によって腫瘍体積の変化が平均1.3倍であった『成育抑制の程度が大きい群』KB-31-Dでは、<sup>99m</sup>Tc-HL91取り込み(対全身%)は照射後16日間増加する腫瘍はなく({3.3%, 1.9%, 1.8%, 1.9%}, {3.4%, 2.4%, 2.1%, 1.7%})、16日目には平均0.5倍に低下していた。

第5-2図に比較的小さい(100-200mm<sup>3</sup>)類上皮癌KB-31の成育曲線を示す。非照射のコントロール群では、14日間で腫瘍体積は平均8.5倍に増大した。腫瘍への<sup>99m</sup>Tc-HL91取り込み(対全身%)は、測定初日と4日後、8日後、14日後で、1.2%, 2.6%, 2.7%, 3.9%と次第に増加し、14日間で約3.3倍となった。20 Gyの照射を行ったところ、すべてのマウスで腫瘍の成育抑制が認められたが、その程度はマウスごとに異なっていた。照射によって体積の増加が平均で2.8倍であった『成育抑制の程度が小さい群』KB-31-Eでは<sup>99m</sup>Tc-HL91取り込み(対全身%)は、照射前と4日後、8日後、14日後で、{3.1%, 2.5%, 3.4%, 5.3%}, {1.4%, 1.4%, 1.5%, 1.9%}と推移し、14日目には平均1.5倍に増加した。一方、照射によって容積の変化が平均0.12倍であった『成育抑制の程度が顕著な群』KB-31-Fでは、<sup>99m</sup>Tc-HL91取り込み(対全身%)は照射して14日間低下し続け({2.3%, 2.0%, 1.6%, 1.0%}, {2.2%, 1.4%, 1.2%, 1.0%})、14日目には平均0.4倍であった。また、F群の腫瘍組織の病理所見は壊死がほとんどを占めていた。

## 考 察

### 1. <sup>99m</sup>Tc-HL91の特性

酸素分圧は酸素プローブを用いて電気化学的に直接測定した値を標準値としている。本研究では、この測定値と<sup>99m</sup>Tc-HL91の取り込みとの関係を明らかにしようと

した。しかし、滲出液に富んだ腫瘍ではプローブ挿入位置の少しのずれで測定値が変動し、プローブで測定した部位と<sup>99m</sup>Tc-HL91集積部位とを一対一で対応させることは困難であった。また、一般的に低酸素分圧とされている値より高い場合でも、<sup>99m</sup>Tc-HL91が集積することも認められた。しかし、今回検討した実験腫瘍では、プローブで測定した酸素分圧値(対筋肉比)の低い腫瘍は<sup>99m</sup>Tc-HL91の取り込みが大きく、酸素分圧値の高い腫瘍の取り込みは小さいこと、逆に取り込みの高い腫瘍は全体的に酸素分圧値が低く、取り込みの低い腫瘍は酸素分圧値が高いことが示された。これらの結果から、<sup>99m</sup>Tc-HL91は全体的にみて、酸素分圧がより低い腫瘍に集積する性質があると判断した。

オートラジオグラフィと病理組織像との比較から、壊死部とviable部への<sup>99m</sup>Tc-HL91の集積は低く、その境界領域の集積が高いことを観察した。Horsmanらによると、このような境界領域はviableな組織と壊死組織が混在し細胞密度がその中間程度であり、炎症細胞の浸潤がみられ、viableな部分よりは酸素分圧が低下していると報告されている<sup>23)</sup>。したがって、<sup>99m</sup>Tc-HL91が集積する部位は酸素分圧のより低い領域であると判断した。

低酸素細胞のイメージング製剤は投与した後、血流不足のために酸素分圧が低い領域に運ばれる必要がある<sup>24)</sup>。<sup>99m</sup>Tc-HL91は投与後比較的早く腫瘍に取り込まれ、血中から速やかに消失することをわれわれがすでに証明した<sup>19)</sup>。腫瘍と血液との取り込み比は投与後30分後に平均1.21となり、この値はこれまでに開発されている低酸素イメージング製剤の<sup>99m</sup>Tc-BMS181321<sup>25)</sup>や<sup>99m</sup>Tc-BRU59-21<sup>26)</sup>のいずれよりも高く、<sup>99m</sup>Tc-HL91が優れた低酸素イメージング製剤であることを示していた。また、腫瘍対筋肉比が投与3時間後に平均4.18に達して、その後も変化しなかったことから、イメージングは投与4時間後に行った。

### 2. 放射線照射の治療効果と<sup>99m</sup>Tc-HL91取り込み

今回検討した実験腫瘍への<sup>99m</sup>Tc-HL91取り込みは同種の腫瘍であっても、マウス間のばらつきが大きく、取り込みの値そのものから放射線治療の効果をあらかじめ予測することは困難であった。しかし、照射後<sup>99m</sup>Tc-HL91の集積を経日的に追跡し、腫瘍の成育状況を併せて検討したところ、放射線に反応し成育の抑制が認められた腫瘍は、非照射の腫瘍や成育抑制を示さなかった照射腫瘍よりも<sup>99m</sup>Tc-HL91の取り込みが低かった。放射線照射後、放射線に反応する腫瘍組織は壊死に陥り、

$^{99m}\text{Tc}$ -HL91 の取り込みが低くなったためと考えられる。他方、放射線に反応しない腫瘍は照射後も腫瘍が成育し続け、大きくなった腫瘍組織は血流が充分に行きわたらない部分＝低酸素領域が増したと考えられる。

さらに、数回のイメージングで $^{99m}\text{Tc}$ -HL91 の集積が照射後も増加し続けた腫瘍では、腫瘍の成育抑制が認められなかった。また、集積が減少し続けた腫瘍では、腫瘍の増大は認められず、最終的にほとんど完治した。経時的に観察した $^{99m}\text{Tc}$ -HL91 の取り込みがわずかながら低下した、または変化しなかった腫瘍では、成育の一時抑制や遅延が認められたが、その後取り込みが再び増加した場合には、腫瘍は再度増殖を続けた。 $^{99m}\text{Tc}$ -HL91 の集積が照射後も変化しない、または一度低下した後に再び増加する現象は、照射後一部が放射線に反応して壊死領域となり、一部が放射線照射により低酸素腫瘍細胞になり、 $^{99m}\text{Tc}$ -HL91 の集積増減が相殺され、照射前と比較して取り込みの変化が小さかったと考えられる。さらに、この低酸素腫瘍細胞はその後も増殖を続けたために、再び $^{99m}\text{Tc}$ -HL91 の集積値が大きくなったと考える。以上の結果より放射線感受性を評価するには取り込みの値そのものよりも、照射前後での取り込みの変化を逐次把握することが肝要と考えられた。

今回の検討から放射線治療と $^{99m}\text{Tc}$ -HL91 による核医学イメージングを組み合わせた臨床プロトコルを以下のように考えている。照射前および照射後数日おきに腫瘍部分のイメージングを行い、 $^{99m}\text{Tc}$ -HL91 の集積を測定して、①腫瘍の縮小が認められず、 $^{99m}\text{Tc}$ -HL91 の取り込みが増加し続ける場合は、腫瘍が大きくなり血流が不十分な領域が増加すること、または照射によって低酸素となった腫瘍細胞が増殖し続けることと判断し、再度の放射線照射には一考を要する。②腫瘍の縮小が認められ、 $^{99m}\text{Tc}$ -HL91 の取り込みが低下し続ける場合は、腫瘍組織に壊死部が増加し、腫瘍細胞は死滅していると判断し、経過観察を行うか、または放射線治療効果のある腫瘍と判断して、再度の放射線照射を考慮する。③腫瘍の増大が認められず、 $^{99m}\text{Tc}$ -HL91 の取り込みにも変化がない場合は、さらに $^{99m}\text{Tc}$ -HL91 イメージングを繰り返し行い、その増減の程度から、放射線治療の効果判定、再照射などの治療管理を決定する。

以前のわれわれの実験<sup>19)</sup>の結果では、 $^{99m}\text{Tc}$ -HL91 は正常肺への生理的集積がほとんどなかったので、このプロトコルは肺癌の放射線治療管理計画を立てる場合に特に有用であると思う。また身体の表面近くに存在する頭頸部癌などは描出が容易であり、 $^{99m}\text{Tc}$ -HL91 イメージングの有効な適応症例と考える。さらに、低酸素領域

を $^{99m}\text{Tc}$ -HL91 イメージングで照射前に同定することができれば、強度変調照射法 (intensity-modulated radiation therapy ; IMRT)<sup>27)</sup>によって正常組織を選択的に避け、腫瘍内の放射線抵抗性と考えられる領域により多くの線量を照射することも可能となる。

以上、 $^{99m}\text{Tc}$ -HL91 を用いた核医学的検査により腫瘍の低酸素の状態を非侵襲的に評価することができ、腫瘍への $^{99m}\text{Tc}$ -HL91 の取り込みを経時的に追うことで、放射線照射に対する反応性を非侵襲的に評価しうる可能性をわれわれの実験ではじめて示唆した。さらに放射線抵抗性の腫瘍に対してもその体積増大の程度と $^{99m}\text{Tc}$ -HL91 の取り込み増加の程度との関係を検討することで、放射線治療の継続や変更などの照射計画を立てるに際して臨床的に有用と考えられた。

## 結 論

担癌ヌードマウスを用いて、 $^{99m}\text{Tc}$ -HL91 の腫瘍への取り込みと酸素分圧の関係および放射線治療反応性予測の可否について検討し、以下の結論を得た。

1.  $^{99m}\text{Tc}$ -HL91 が集積する組織・細胞はそこが、低酸素状態であることを反映していた。

2. 放射線照射前と比較して、照射後に集積が増加した腫瘍は照射の効果が不良で、腫瘍が成育し続けた、または照射により低酸素細胞が増加し、これが増殖を続けたことが示唆される。したがって、放射線に対する感受性は低いと判断した。

3. 照射後に集積が低下した腫瘍は腫瘍組織が壊死に陥った、または低酸素細胞が減少したことが示唆される。したがって、放射線に対する感受性は高いと判断した。

放射線治療の前と治療中に $^{99m}\text{Tc}$ -HL91 シンチグラフィを逐次行うことにより、放射線治療の効果を非侵襲的に予測しうる可能性を示唆した。本シンチグラフィは再照射や他の治療方法への変更などの治療方針を決定する上でも、有用であると考えられる。

稿を終るにあたり、御指導、御校閲を賜りました慶應義塾大学医学部放射線科学教室久保敦司教授に深甚なる謝意を表します。また直接の御指導をいただきました慶應義塾大学医学部放射線科学教室中村佳代子講師に感謝いたします。また、照射と撮像にご協力いただきました慶應義塾大学病院中央放射線技術室の岩崎隆一郎氏、北川五十雄氏、山下範太郎氏に感謝いたします。

本論文は、鈴木天、中村佳代子、川瀬貴嗣、久保敦司；低酸素イメージング製剤、 $^{99m}\text{Tc}$ -HL91 (4,9-diaza-

3, 3, 10, 10-tetramethyldodecan-2, 11-dione dioxime) の担癌ヌードマウスにおける生体内分布と腫瘍内分布. 核医学, 38 : 333-341, 2001 の一部, および Suzuki T, Nakamura K, Kawase T, Kubo A : Monitoring of response to radiation therapy for human tumor xenografts using  $^{99m}\text{Tc}$ -HL91 (4, 9-diaza-3, 3, 10, 10-tetramethyldodecan-2, 11-dione dioxime). Ann Nucl Med 17 : 131-138, 2003 の一部を含む.

本研究の一部は文部科学省科学研究費(11670912, 12877144)補助金によった.

文 献

- 1) Höckel M, Schlenger K, Mitze M, Schaeffer U, Vaupel P : Hypoxia and radiation response in human tumors. Seminars in Radiation Oncology 6 : 3-9, 1996
- 2) Nordsmark M, Overgaard J : A confirmatory prognostic study on oxygenation status and loco-regional control in advanced head and neck squamous cell carcinoma treated by radiation therapy. Radiother Oncol 57 : 39-43, 2000
- 3) Choi N, Baumann M, Flentjie M, Kellokumpu-Lehtinen P, Senan S, Zamboglou N, Kosmidis P : Predictive factors in radiotherapy for non-small cell lung cancer : present status. Lung Cancer 31 : 43-56, 2001
- 4) Taussky D, Rousson V, Pescia R : Clinical markers of hypoxia and other predictive factors of survival in conservative therapy of squamous-cell carcinoma of the esophagus. Int J Colorectal Dis 18 : 167-171, 2002
- 5) Knisely JP, Rockwell S : Importance of hypoxia in the biology and treatment of brain tumors. Neuroimaging Clin N Am 12 : 525-536, 2002
- 6) Gray LH, Conger AD, Ebert M, Hornsey S, Scott OCA : Concentration of oxygen dissolved in tissues at time of irradiation as a factor in radiotherapy. Br J Radiol 26 : 638-648, 1953
- 7) Moulder JE, Rockwell S : Tumor hypoxia : its impact on cancer therapy. Cancer Metastasis Rev 5 : 313-341, 1987
- 8) Steinberg F, Hildenhausen-Brügemann E, Konerding MA : Oxygen electrode injury in tumour tissue. Tumor Oxygenation. (Ed) Vaupel PW, Kelleher DK, Günderoth M. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, p. 185-193, 1995
- 9) Chapman JD : Measurement of tumor hypoxia by invasive and non-invasive procedures : a review of recent clinical studies. Radiother Oncol 20 : 13-19, 1991
- 10) Wilson DF, Vinogradov SA, Dugan BW, Biruski D, Waldron L, Evans SA : Measurement of tumor oxygenation using new frequency domain phosphorimeters. Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol 132 : 153-159, 2002
- 11) Urtasun R, Band P, Chapman JD, Feldstein ML, Mielke B, Fryer C : Radiation and high-dose metronidazole in supratentorial glioblastomas. N Engl J Med 294 : 1364-1367, 1976
- 12) Overgaard J, Hansen HS, Andersen AP, Hjelm-Hansen M, Jorgensen K, Sandberg E, Berthelsen A, Hammer R, Pedersen M : Misonidazole combined with split-course radiotherapy in the treatment of invasive carcinoma of larynx and pharynx : report from the DAHANCA 2 study. Int J Radiat Oncol Biol Phys 16 : 1065-1068, 1989
- 13) Chapman JD : Hypoxic sensitizers : implications for radiation therapy. N Engl J Med 301 : 1429-1432, 1979
- 14) Archer CM, Edwards B, Kelly JD, Kelly AC, King AC, Burke JF : Technetium labelled agents for imaging tissue hypoxia *in vivo*. Proceedings of the fourth international symposium on technetium in chemistry and nuclear medicine 535-539, 1995
- 15) Cook GJR, Barrington S, Houston S, Maisey MN, Fogelman I : HL91, a new Tc-99m-labelled agent with potential for identifying tumour hypoxia : correlation with FDG PET. J Nucl Med 37 : 87-88, 1996
- 16) Zhang X, Melo T, Ballinger JR, Rauth AM : Studies of  $^{99m}\text{Tc}$ -BnAO (HL91) : a nonnitroaromatic compound for hypoxic cell detection. Int J Radiat Oncol Biol Phys 42 : 1-4, 1998
- 17) Yutani K, Kusuoka H, Fukuchi K, Tatsumi M, Nishimura T : Applicability of  $^{99m}\text{Tc}$ -HL91, a putative hypoxic tracer, to detection of tumor hypoxia. J Nucl Med 40 : 854-61, 1999
- 18) Honess DJ, Hill SA, Collingridge DR, Edwards B, Brauers G, Powell Na, Chaplin DJ : Preclinical evaluation of the novel hypoxic marker  $^{99m}\text{Tc}$ -HL91 (Prognox) in murine and xenograft systems *in vivo*. Int J radiat Oncol Biol Phys 42 : 731-5, 1998
- 19) 鈴木天、中村佳代子、川瀬貴嗣、久保敦司 : 低酸素イメージング製剤,  $^{99m}\text{Tc}$ -HL91 (4, 9-diaza-3, 3, 10, 10-tetramethyldodecan-2, 11-dione dioxime) の担癌ヌードマウスにおける生体内分布と腫瘍内分布. 核医学, 38 : 333-341, 2001
- 20) Suzuki T, Nakamura K, Kawase T, Kubo A : Monitoring of response to radiation therapy for human tumor xenografts using  $^{99m}\text{Tc}$ -HL91 (4, 9-diaza-3, 3, 10, 10-tetramethyldodecan-2, 11-dione dioxime). Ann Nucl Med 17 : 131-138, 2003
- 21) Hopkins HA, Ritenour ER, MacLeod MS, Looney WB : The effect of varying the time between irradiation and cyclophosphamide on growth response of hepatoma 3924A. Int J Radiat Oncol Biol Phys 5 : 1455-1459, 1979
- 22) Looney WB, Hopkins HA, Carter WH Jr. : Solid tumor models for the assessment of different treatment modalities : XXIII. A new approach to the more

- effective utilization of radiotherapy alternated with chemotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 11 : 2105-2117, 1985
- 23) Horsman MR : Nicotinamide and other benzamide analogs a agents for overcoming hypoxic cell radiation resistance in tumors. *Acta Oncologica* 34 : 571-587, 1995
- 24) 中村佳代子：新しいイメージング製剤の研究。最新臨床核医学（久田欣一，利波紀久，久保敦司編集），金原出版，p. 560-569, 1999
- 25) Ballinger JR, Kee JW, Rauth AM : In vitro and *in vivo* evaluation of a technetium-99m-labeled 2-nitroimidazole (BMS181321) as a marker of tumor hypoxia. *J Nucl Med* 37 : 1023-1031, 1996
- 26) Melo T, Duncan J, Ballinger JR, Rauth AM : BRU59-21, a second-generation 99mTc-labeled 2-nitroimidazole for imaging hypoxia in tumors. *J Nucl Med* 41 : 169-176, 2000
- 27) Chao KS, Bosch WR, Mutic S, Lewis JS, Dehdashti F, Mintun MA, Dempsey JF, Perez CA, Purdy JA, Welch MJ : A novel approach to overcome hypoxic tumor resistance : Cu-ATSM-guided intensity modulated radiation therapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 49 : 1171-1182, 2001
-