

膠芽腫における $[^{18}\text{F}]$ FRP-170 PET 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-

別府高明¹、寺崎一典²、佐々木敏秋²、松浦秀樹¹、小笠原邦昭¹、
岩田 錬³、高井良尋⁴、世良耕一郎²

¹岩手医科大学脳神経外科学講座
020-8505 岩手県盛岡市内丸 19-1

²岩手医科大学サイクロトロンセンター
020-0173 岩手県岩手郡滝沢村滝沢字留が森 348-58

³東北大学サイクロトロンラジオアイソトープセンター
980-8578 宮城県仙台市青葉区荒巻字青葉 6-3

⁴弘前大学放射線科学講座
036-8562 青森県弘前市在府町 5

1 はじめに

多くの癌は過剰な酸素消費や不十分な供給、拡散限界によって腫瘍内に低酸素細胞を含有している。悪性腫瘍は腫瘍内低酸素状態を克服するために血管新生因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) の発現や転写因子である hypoxia-inducible factor (HIF) を誘導することにより低酸素状態を是正しさらに増殖するとされる。よって、低酸素細胞含有の程度は個々の腫瘍の生物学的特性の一部を決定している。また、低酸素細胞の存在は、臨床的に悪性腫瘍の治療である放射線や抗腫瘍剤の感受性を低下させることから臨床的にも大きな影響を与えている。低酸素細胞の存在は悪性脳腫瘍にもあてはまる。悪性脳腫瘍のなかでも膠芽腫は高増殖能、高浸潤能であり、現時点で5年生存率は10%を下回る難治性腫瘍である。個々の膠芽腫症

例において低酸素細胞の存在および程度を知ることは臨床的に非常に重要である。従って、膠芽腫内の低酸素細胞を低侵襲、客観的、定量的に評価が可能な神経画像が望まれる。

従来、 ^{18}F fluoromisonidazole (FMISO) をトレーサとした positron emission tomography (PET) 画像が低酸素細胞の神経画像として膠芽腫においても用いられてきた¹⁻³⁾。この FMISO のポテンシャルを上回る低酸素細胞トレーサとして、1-(2- ^{18}F fluoro-1-[hydrxymethyl]ethoxy)methyl-2- imidazole (FRP-170) が開発された^{4,5)}。この FRP-170 をトレーサとした PET 画像はすでに悪性脳腫瘍症例で撮像され、その実用性・有用性が報告されている⁶⁾。しかし、FRP170-PET 画像で高集積を示す部分が真に低酸素細胞を描出しているのか、どの程度の低酸素状態であるかはまだ検討されていない。我々は、低酸素細胞描出画像である FRP-170 PET の信頼性を確認することを目的に、FRP-170 PET 画像における standard uptake value (SUV) と手術中に測定した腫瘍内酸素分圧と比較し検討した。

2 症例と方法

対象症例

本研究の倫理的妥当性は岩手医科大学倫理委員会で承認されている (番号 H22-70)。本研究対象症例のクライテリアは、①未治療初発膠芽腫 ②大脳白質発生膠芽腫 ③成人 ④文書で同意を得た者とした。その結果、2010 年から 2011 年に岩手医科大学脳神経外科に腫瘍摘出術を目的に入院となった膠芽腫症例 6 例が対象となった。

FRP170-PET の撮像および SUV 測定

腫瘍摘出術前 1 週間以内にガドリニウム造影 T1 強調 MRI (Gd-T1WI) および FRP-170 PET は撮像された。FRP-170 の合成原料は東北大学サイクロトロン RI センター 岩田 錬教授より無償で提供していただいた。FRP-170 の合成は Ishikawa ら⁵⁾の方法に準じて実施し、放射化学的純度は 95%以上を保持していた。患者の末梢血管から FRP-170 を 370 MBq 静注し、60 分後に PET/CT 装置 (島津 SET3000GCT/M) を用いて PET 画像を撮像した。PET カラーマップ上で直径 6mm 以上の関心領域 (region of interest, ROI) を、①高集積域 (hot spot)、②低集積域 (cold spot)、③病側の反対側の正常白質の 3 箇所を設定した (図 1)。

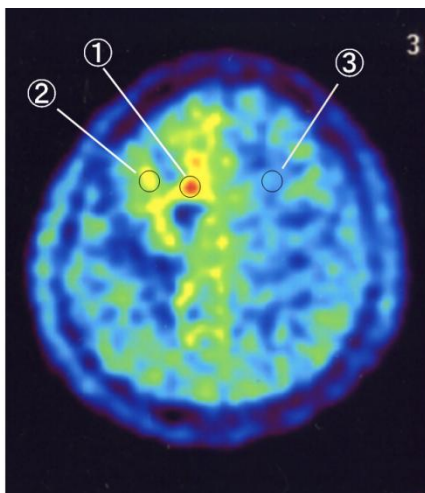


図 1 ROI の設定。①高集積域、②低集積域、③反対側正常白質

図 1 に示す 2 か所の ROI のそれぞれで平均 standardized uptake value (SUVmean) を自動的に算出し、腫瘍/正常比 (T/N 比) を高集積域と低集積域のそれぞれで算出した (R-SUVmean)。

術中腫瘍内酸素分圧の測定

腫瘍摘出術当日に脳神経外科手術用ナビゲーションシステム装置上で、ガドリニウム造影 T1 強調 MRI 画像と FRP-170 PET 画像を 3 次元的に対応させ、高集積域と低集積域を定位した (図 2A, B, C, D)。開頭後、3 次元的に定位した高集積域と低集積域の 2 か所を別々に、硬膜上から直径 5 mm 程度の棒状のナビゲーションマーカーを刺入し即座に抜去。抜去後の trajectory に直径 0.4 mm の Clark 型酸素電極 (ユニークメディカル社製、東京) を刺入し先端のセンサー部が定位した箇所に接するように設置した (図 3)。酸素電極をデジタルモニター (ユニークメディカル社製、東京) に接続し酸素分圧を測定した。酸素分圧測定時に橈骨動脈から動脈血を採取し血中酸素分圧も測定した。腫瘍内酸素分圧を測定後、腫瘍は摘出した。

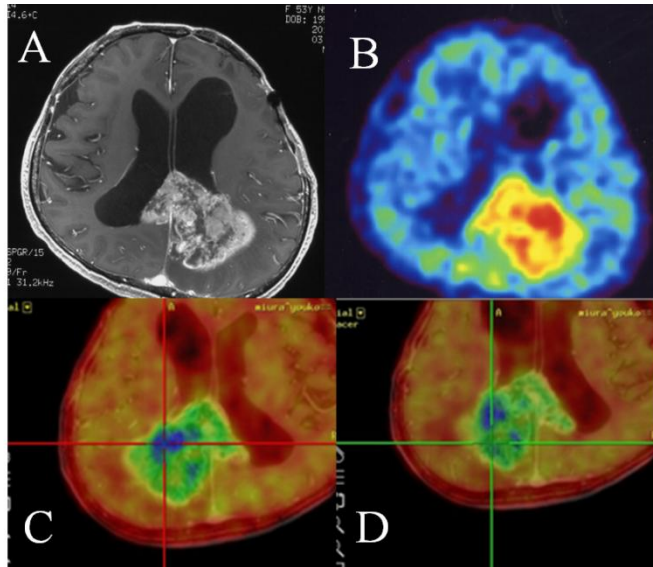


図 2 54 歳の女性。A, Gd-T1WI; B, FRP-170 PET。

CD, ナビゲーションシステム上で GdT1WI と FRP-170 PET を融合し、高集積部(C) と低集積部(D)をそれぞれ定位した。

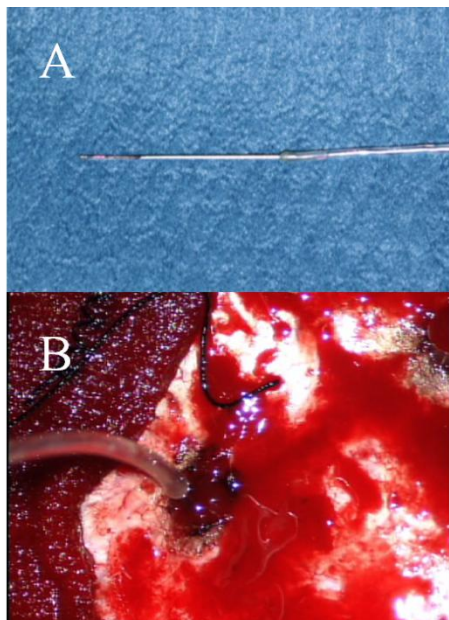


図 3 酸素電極の刺入

A, Clark 型酸素電極

B, 硬膜上から定位部位に刺入

統計解析

全例の高集積域における R-SUVmean と低集積域における R-SUVmean を Mann Whitney U test で比較した。また、術中測定した全例の高集積域の酸素分圧値と低集積域の酸素分圧を Mann Whitney U test で比較した。さらに、高集積域と低集積域のそれぞれで、R-SUVmean と酸素分圧値の相関を、Pearson's correlation coefficient test で解析した。

3 結果

対象の 6 例全例において、FRP-170 静注 60 分において良好なコントラストでカラーマップが描出された。Gd-T1WI で中心部壊死を示す症例では、FRP-170 の集積は Gd-T1WI の造影効果領域に一致し、中心壊死部ではまったく集積がなかった (図 4)。6 例の高集積域における R-SUVmean の平均は 1.95 ± 0.32 で、低集積域における R-SUVmean の平均は 1.30 ± 0.33 で、両者間で有意差があった ($p=0.02$) (図 4)。

一方、術中に測定した腫瘍内酸素分圧は、高集積域では 24.2 ± 6.9 mmHg、低集積域では 55.2 ± 15.2 mmHg で、両者間には有意な差異が認められた ($p=0.02$) (図 5)。動脈血酸素分圧平均値は 200.9 ± 17.0 mmHg であった。

各症例の R-SUVmean と酸素分圧の関係を見ると、高集積域では R-SUVmean と酸素分圧の関係は有意ではなかったが、負の相関 ($r=-0.72$, $p=0.14$) を示す傾向があったが、低集積域では全く両者に関係はなかった (図 6A, B)。

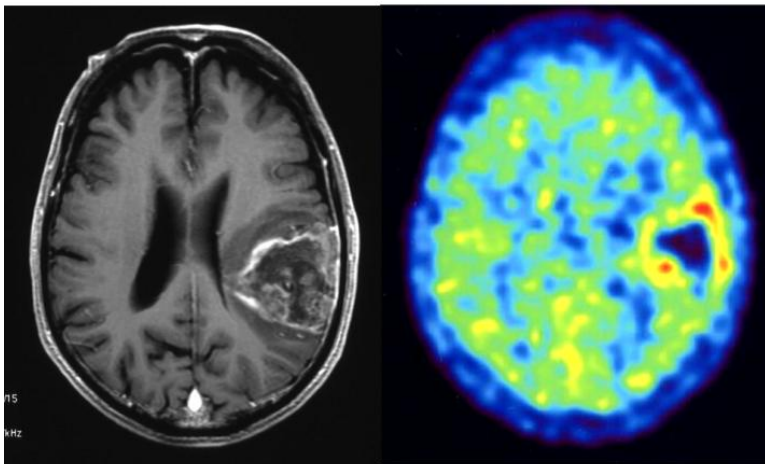


図 4 76 歳男性の膠芽腫症例。
左、Gd-T1WI; 右、FRP170-PET

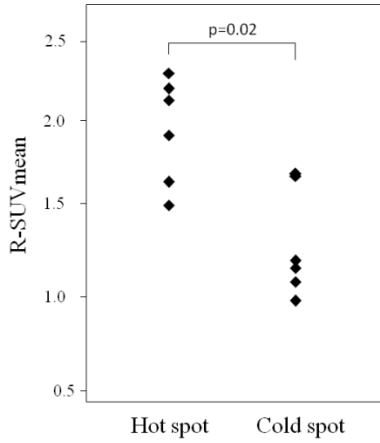


図5 高集積部と低集積部における R-SUVmean の比較

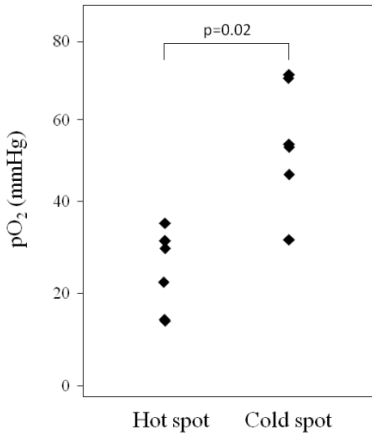


図6 高集積部と低集積部における酸素分圧の比較

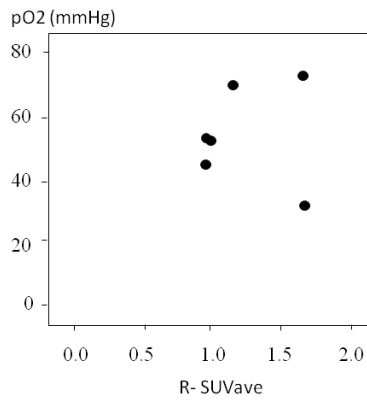
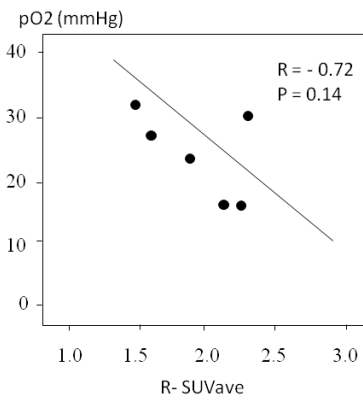


図7 R-SUVmean と酸素分圧の関係
左、高集積部 右、低集積部

4 考察

Shibahara ら⁶⁾は悪性グリオーマに対する FRP-170 PET を静注後 120 分で撮像し良好な画像の描出を報告している。本研究では FRP-170 を静注後 60 分で PET を撮像したが、結果として視覚的に十分なコントラストで高集積部を描出できた。Kaneta ら⁷⁾は肺癌症例に対して FRP-170 PET を施行し、tumor/blood ratio は静注後 120 分の方が uptake value は高いが 60 分後と比較してその差は僅かであることから、臨床的には静注後 60 分後の撮像で充分であると報告している。我々の今回の検討は膠芽腫においても静注後 60 分で充分良好な画像が描出できることが示唆され、Kaneta らの検討結果を指示する結果であった。従来の低酸素描出画像である FMISO PET は、多くの報告においてトレーサ静注後 120 分から 140 分で撮像されている¹⁻³⁾。FRP-170 PET は、FMISO PET よりトレーサ投与後短時間に撮像可能な低酸素細胞検出画像であることが示された。FMISO PET と FRP-170 PET を同一症例で比較した報告は未だないが、FRP-170 は短時間撮像時間以外に高コントラストな画像、急速な血液からのクリアランスなど、優越性が推測されている。

FRP-170 が低酸素細胞に集積する厳密なメカニズムは判っていないが、FRP-170 が細胞内に流入して細胞内の macromolecules に結合し化合物が生成され、この化合物は正常酸素濃度下では細胞外に拡散排出されるが、低酸素環境下では細胞内に閉じ込められると推測されている⁶⁾。よって、FRP-170 は壊死に陥る以前の低酸素細胞に集積することとなる。ラットを用いた虚血心筋モデルに FRP-170 を投与後オートラジオグラフィで評価した報告では、FRP-170 が代謝を伴う活動性の細胞にのみ検出されたとしている⁴⁾。膠芽腫は MRI 画像における中心部壊死巣の周囲のガドリニウム造影領域に活発な代謝・増殖を行う viable cells が存在する。我々の検討でも図 4 で示すように、MRI が描出した膠芽腫の中心部壊死巣では FRP-170 が全く集積せず、ガドリニウムで造影される領域にのみ部分的に高集積部が描出された。この結果は、FRP-170 が膠芽腫においても viable な細胞にのみ集積することを裏付けている。

今回の検討では FRP-170 の高集積域と低集積域の間には明らかな SUV の差異があり (図 5)、しかも FRP-170 高集積部の術中酸素分圧は低集積部のそれより低値を示した。この結果から FRP-170 は低酸素細胞を描出していることは間違いないと考える。興味深いのは、図 1 および図 4 が示すように、高集積部は腫瘍の最外側縁より内側に存在し、しかも高集積部と無集積部である壊死部との間に低集積域が存在する点である。腫瘍内の低酸素細胞の出現機序の一つとして、機能的毛細血管からの距離に比例した酸素供給不足があげられる。膠芽腫は腫瘍周囲から血液供給されており、一般的には腫瘍外側であるほど高酸素分圧とされる^{8,9)}。よって、高集積部より外側の低集積域は高酸素分圧な細胞集団を描出している可能性が高く、高集積部より内側で壊死部近傍の低集積域は壊死に陥ろうとしている不活性な細胞が FRP-170 を十分にトラップできない状態を表しているのかもしれない。過去の報告では、酸素電極を用いた直接的な酸素分圧測定で悪性脳腫瘍の腫瘍内酸素分圧は概ね 1~20 mmHg とされている^{8,10,11)}。本研究に使用されたものと同じ酸素電極を用いて覚醒時にベッドサイドで膠芽腫中心部と辺縁部の酸素分圧を測定した報告では、中心部で 9.2±5.8 mmHg、辺縁部で 17.9±9.3 mmHg と報告されている[8]。今回の検討では、高集積域 24.2±6.9 mmHg、低集積域 55.2±15.2 mmHg で、どちらも過去の報告における腫瘍辺縁部より高値を示した。この理由は不明であるが、同じ酸素電極を用いた前述の報告が覚醒時にベッドサイドで測定されたのに対して、本検討では術中動脈血酸素分圧が高値 (200.9±17.0 mmHg) な際に測定しており、相対的に腫瘍内の酸素分圧が高かった可能性がある。また、酸素電極を刺入する trajectory は事前に酸素電極より径の大きい定位マーカーで作成し抜去後に酸素電極を改めて刺入していることから、trajectory にエアーが混入した可能性も否定はできない。R-SUVmean と酸素分圧の関係では、高集積部では p 値は有意でなかったものの相関の傾向を認めた (図 7 左)。この結果は、FRP-170 PET における高集積部は低酸素部位を描出していることを示唆している。一方、低集積部では両者間の関係は全く見いだせなかった。図 6 が示すように、低集積部の酸素分圧値は高集積部に比べてばらつきが大きく標準偏差が大きかったことが原因と思われる。この理由として、低集積部は高集積部に比べて範囲が広く ROI の設定部位にばらつきがあることや、先に述べたように低集積部では高酸素含有細胞から FRP-170 を貯留させておくことができない壊死に陥る直前の細胞まで様々な特性をもった細胞

の存在が考えられる。

本研究に示した結果の解釈においていくつかの限界を考慮しなければならない。まず、本研究は6例という少数の症例による検討であり、その結果の信頼性が未だ低い。さらなる症例蓄積による研究の継続が必要である。第2に、酸素電極によって測定された酸素分圧は、電極に接した腫瘍組織内の酸素分圧であり、厳密な腫瘍細胞内酸素濃度ではない。よって、高集積部のR-SUVmeanと酸素分圧の相関(図7左)は、細胞内酸素濃度と腫瘍組織内酸素分圧の関係を見ているに過ぎない。第3の問題としては前述したように、使用する酸素電極や測定方法の違いや患者の状態の違いによって測定される腫瘍内酸素分圧は大きく異なる。よって、FRP-170が集積しうる腫瘍組織分圧が今回の検討で得られた酸素分圧測定値であると単純に解釈することはできない。さらに、実験的には低酸素細胞トレーサである ^{18}F fluoroetanidazole (FETA) や FMISO は組織酸素分圧1%以上の細胞を検出できると推測されている^{6,12,13}。このように酸素電極による酸素分圧と実験的な腫瘍内酸素分圧との間にも大きな乖離がある。4つ目の限界として、本研究では術中の腫瘍内酸素分圧を測定した箇所を病理学的に検討していない。測定された部分の組織像や増殖能、HIF-1 α の発現の程度などを今後検討し、FRP-170 PETが検出する細胞集団の病理組織学的特性を検討する必要がある。

5 結語

FRP170-PETの高集積部におけるSUVmeanの腫瘍/正常比(R-SUVmean)と酸素電極による酸素分圧が負の相関を示す傾向があることがわかった。この結果は、FRP-170 PETの高集積部は低酸素細胞を含む組織を描出していることを示唆している。

文献

1. Eschmann SM, Paulsen F, Reimold M, Dittmann H, Welz S, Reischl G, Machulla HJ, Bares R: Prognostic impact of hypoxia imaging with ^{18}F -misonidazole PET in non-small cell lung cancer and head and neck cancer before radiotherapy. *J Nucl Med* 46: 253-260, 2005
2. Kawai N, Maeda Y, Kudomi N, Miyake K, Okada M, Yamamoto Y, Nishiyama Y, Tamiya T: Correlation of biological aggressiveness assessed by ^{11}C -methionine PET and hypoxic burden assessed by ^{18}F -fluoromisonidazole PET in newly diagnosed glioblastoma. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 38: 441-450, 2011
3. Swanson KR, Chakraborty G, Wang CH, Rockne R, Harpold HL, Muzi M, Adamsen TC, Krohn KA, Spence AM: Complementary but distinct roles for MRI and ^{18}F -fluoromisonidazole PET in the assessment of human glioblastomas. *J Nucl Med* 50: 36-44, 2009
4. Kaneta T, Takai Y, Kagaya Y, Yamane Y, Wada H, Yuki M, Iwata R, Tsujitani M, Takahashi S, Yamada S: Imaging of ischemic but viable myocardium using a new ^{18}F -labeled 2-nitroimidazole analog, ^{18}F -FRP170. *J Nucl Med* 43: 109-116, 2002
5. Ishikawa Y, Iwata R, Furumoto S, Takai Y: Automated preparation of hypoxic cell marker [^{18}F]FRP-170 by on-column hydrolysis. *Appl Radiat Isot* 62: 705-710, 2005
6. Shibahara 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- ^{18}F fluoro-1-[hydroxymethyl]ethoxy)methyl-2-nitroimidazole, a new ^{18}F -labeled 2-nitroimidazole analog. *J Neurosurg* 113: 358-368, 2010
7. Kaneta T, Takai Y, Iwata R, Hakamatsuka T, Yasuda H, Nakayama K, Ishikawa Y, Watanuki S, Furumoto S, Funaki Y, Nakata E, Jingu K, Tsujitani M, Ito M, Fukuda H, Takahashi S, Yamada S: Initial evaluation of dynamic human imaging using ^{18}F -FRP170 as a new PET tracer for imaging hypoxia. *Ann Nucl Med* 21: 101-107, 2007

8. Beppu T, Kamada K, Yoshida Y, Arai H, Ogasawara K, Ogawa A: Change of oxygen pressure in glioblastoma tissue under various conditions. *J Neurooncol* 58: 47-52, 2002
9. Brown JM: Evidence for acutely hypoxic cells in mouse tumours, and a possible mechanism of reoxygenation. *Br J Radiol* 52: 650-656, 1979
10. Kayama T, Yoshimoto T, Fujimoto S, Sakurai Y: Intratumoral oxygen pressure in malignant brain tumor. *J Neurosurg* 74: 55-59, 1991
11. Rampling R, Cruickshank G, Lewis AD, Fitzsimmons SA, Workman P: Direct measurement of pO₂ distribution and bioreductive enzymes in human malignant brain tumors. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 29: 427-431, 1994
12. Nunn A, Linder K, Strauss HW: Nitroimidazoles and imaging hypoxia. *Eur J Nucl Med* 22: 265-280, 1995
13. Rasey JS, Hofstrand PD, Chin LK, Tewson TJ: Characterization of [¹⁸F]fluoroetanidazole, a new radiopharmaceutical for detecting tumor hypoxia. *J Nucl Med* 40: 1072-1079, 1999
14. Bracken CP, Fedele AO, Linke S, Balrak W, Lisy K, Whitelaw ML, Peet DJ: Cell-specific regulation of hypoxia-inducible factor (HIF)-1 α and HIF-2 α stabilization and transactivation in a graded oxygen environment. *J Biol Chem* 281: 22575-22585, 2006

Detection of hypoxic cells in glioblastoma using [¹⁸F]FRP-170 positron emission tomography: correlation with oxygen pressure within tumor bulk

T. Beppu¹, K. Terasaki², T. Sasaki², H. Matsuura¹, K. Ogasawara¹, R. Iwata³, Y. Takai⁴ and K. Sera²

¹Department of Neurosurgery, Iwate Medical University
Uchimaru 19-1, Morioka 020-8505, Japan

²Cyclotron Research Center, Iwate Medical University
348-58 Tomegamori, Takizawa 020-0173, Japan

³Cyclotron and Radioisotope Center, Tohoku University
Aoba 6-3, Sendai 980-8578 Japan

⁴Department of Radiology, Hirosaki University School of Medicine
5 Zaifu, Hirosaki 036-8562, Japan

Abstract

Positron emission tomography with 1-(2-[¹⁸F]fluoro-1-[hydryxymethyl]ehoxy)methyl-2- nitroimidazole (FRP-170 PET) is widely noticed as a novel examination for detecting hypoxic cell in cancer. To clarify the reliability of detecting hypoxic cells in glioblastoma using FRP-170 PET, we evaluated relationship between the findings on color maps from FRP-170 PET and the oxygen pressure within glioblastoma, measured during surgery for tumor resection. Six patients with glioblastoma underwent magnetic resonance image (MRI) with contrast medium and FRP-170 PET within 7days before tumor resection. PET scan was performed 60 min after intravenously injection of 370 MBq FRP-170. On color maps from PET, the mean of standardized uptake value (SUVmean) was calculated at interest of regions in the hot spot, cold spot, and normal white matter in the contralateral cerebrum, and then ratio of SUVmean (R-SUVmean), i.e., tumor/normal ratio, was calculated in each the hot spot and cold spot. During surgery, we measured the real oxygen pressure in both the hot and cold spots using oxygen electrodes. As a result, mean of R-SUVmean in the hot spots of all patients was significantly higher than that in the cold spots. Mean of oxygen pressure in the hot spots was significantly lower than that in the cold spots. Relationship between R-SUVmean and oxygen pressure in the hot spots was found a tendency of negative correlation in the hot spots, whereas there was entirely no correlation in the cold spots. In conclusion, the present study suggests that the hot spot on color map from FRP-170 PET really represents hypoxic tissue containing hypoxic cells in glioblastoma.