



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Changes in tumor oxygen state after sorafenib therapy evaluated by 18F-fluoromisonidazole hypoxia imaging of renal cell carcinoma xenograft [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	于, 聞文
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(歯学)
Dissertation Number	甲第11726号
Issue Date	2015-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/59243
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Wenwen_Yu_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（歯学） 氏 名 于 聞文

審査担当者 主査 教授 北 川 善 政
副査 教授 進 藤 正 信
副査 教授 鄭 漢 忠
副査 教授 久 下 裕 司
(アイソトープ総合センター)

学 位 論 文 題 名

Changes in tumor oxygen state after sorafenib therapy evaluated by
 ^{18}F -fluoromisonidazole hypoxia imaging of renal cell carcinoma xenograft
腎細胞癌モデルにおける sorafenib 治療後の腫瘍内酸素状態の変化を
 ^{18}F -fluoromisonidazole 低酸素イメージングにより評価

審査は、上記担当者による申請者に対する提出論文と関連事項についての口頭試問により執り行われた。審査を行った論文の概要は以下の通りである。

癌の分子標的薬である sorafenib は血管内皮細胞増殖因子受容体-2/3 (VEGFR-2 と VEGFR-3) や血小板由来成長因子受容体- β (PDGFR- β) などの活性を同時に抑制することで強力な抗血管新生作用を発揮する。抗血管新生薬の作用機序には、①腫瘍内血管の急激な減少により腫瘍への血液供給が遮断される“腫瘍内低酸素・腫瘍飢餓”と、②腫瘍内異常血管が減少し、腫瘍内血流が改善される“血管正常化”に基づくものがあると考えられている。しかしながら、sorafenib の抗腫瘍効果が「抗血管新生作用による腫瘍内低酸素・腫瘍飢餓に基づくのか」或いは「腫瘍内血管の正常化による併用療法の効果増強に基づくのか」については明らかではない。本研究では、sorafenib の抗血管新生作用機序を明らかにするため、ヒト腎細胞癌 (A498) 移植マウスに異なる用量の sorafenib 治療を行い、腫瘍内酸素状態の変化を低酸素イメージング剤である ^{18}F -fluoromisonidazole (^{18}F -FMISO) 及び免疫染色法を用いて評価した。

A498 をヌードマウスに移植し、治療群と対照群に分けた。治療群には 10, 20 或いは 40 mg/kg の sorafenib を 3 日間経口投与した。治療開始後、毎日腫瘍サイズを測定し、腫瘍成長曲線を作成した。治療 3 日後に ^{18}F -FMISO 及び pimonidazole をマウスに投与した。マウスを屠殺した後、オートラジオグラフィ (ARG) と pimonidazole、CD31 の免疫染色を行った。得られた ^{18}F -FMISO ARG 画像において、隣接切片の H&E 染色より腫瘍組織中の壊死領域を除き、腫瘍内 ^{18}F -FMISO 集積量 $[(\% \text{ID}/\text{m}^2) \times \text{kg}]$ を算出した。また、pimonidazole と CD31 免疫染色により pimonidazole-positive area (低酸素領域) 及び vessels/ mm^2 (血管密度) を求めた。

腫瘍の体積評価では、10、20 或いは 40 mg/kg の sorafenib 治療により、腫瘍体積は、治療群と対照群の間に有意な変化が認められなかった。 ^{18}F -FMISO ARG 及び病理組織学的画像

に対する視覚的評価では、対照群の腫瘍内の ^{18}F -FMISO 集積領域と pimonidazole 陽性領域は極度に少なかった。Sorafenib 治療により、腫瘍内の ^{18}F -FMISO の集積領域と pimonidazole 陽性領域は投与量依存的に増加した。一方、腫瘍内 CD31 陽性の血管数は対照群では多く存在していたが、sorafenib 治療により、著明に減少した。 ^{18}F -FMISO ARG 及び病理組織学的画像に対する定量的評価では、10、20 或いは 40 mg/kg の治療により、 ^{18}F -FMISO の腫瘍集積は対照群の 4.3 倍、8.4 倍及び 8.6 倍に増加した ($p < 0.0083$ vs 対照群)。同様に腫瘍内の pimonidazole 陽性領域は対照群の 6.8 倍、12.3 倍及び 20.2 倍に増加した ($p < 0.0083$ vs 対照群)。血管密度は治療により対照群の 33.5%、17.6%及び 14.0%に低下した ($p < 0.0083$ vs 対照群)。壊死領域は sorafenib 治療により増加傾向を示したものの、治療群と対照群の間には有意な変化が認められなかった。

以上の結果より、ヒト腎細胞癌において、sorafenib 治療により腫瘍内低酸素・腫瘍飢餓が起きたことが示唆された。この原因はヒト腎細胞癌 (A498) の特徴及び sorafenib の抗腫瘍効果の機序と関連していると考えられる。ヒト腎細胞癌 (A498) は癌抑制遺伝子である von Hippel-Lindau (VHL) の変異による低酸素誘導因子 α (HIF- α) の安定化のため、血管内皮細胞増殖因子 (VEGF) 及び血小板由来生長因子 (PDGF- β) が過剰に産生されている。一方、sorafenib は VEGFR-2/3 及び PDGFR- β を同時に抑制することで強力な抗血管新生作用を発揮する。これらの要因により、sorafenib 治療により早期に顕著な腫瘍内血管密度の低下と低酸素領域の増加、すなわち腫瘍飢餓が起きたと考えられる。以上の結果より、ヒト腎細胞癌モデルにおける sorafenib の抗腫瘍効果には抗血管新生作用による腫瘍内低酸素・腫瘍飢餓が関与していることを ^{18}F -FMISO 低酸素イメージング及び免疫染色法を用いて明らかにした。

論文審査にあたっては、申請者による学位論文要旨についての説明後、担当者により研究内容および関連事項についての質問を行った。主な質問事項は、1) 腎細胞癌及び肝細胞癌以外の sorafenib の保険適用癌、2) 長期間の sorafenib 治療後の腫瘍体積の変化、3) “腫瘍飢餓”と“血管正常化”の区別、4) 一般的に分子標的薬の治療後の腫瘍体積の変化、5) sorafenib の治療中止後腫瘍体積が regrow した場合の FMISO 集積の変化についての問題点などであった。これらの質問に対しては申請者から適切かつ明快な回答および説明が得られ、研究の立案と遂行ならびに結果の収集とその評価について、申請者が十分な能力を有していることが確認された。本研究は、ヒト腎細胞癌に対する sorafenib の抗腫瘍効果における PET 検査の有用性を示したものであり、その内容が高く評価された。申請者は、関連分野にも幅広い学識を有し発展的研究にも意欲的であり、今後の研究についての将来性も期待される。本研究業績は口腔外科のみならず関連領域にも寄与することであり、博士(歯学)の学位に値するものと認められた。