

23-B-23 治療抵抗性がんの克服に向けた腫瘍内低酸素環境
およびがん悪性度診断の新規分子イメージング法の開発

梅田 泉
独立行政法人国立がん研究センター
東病院 臨床開発センター
機能診断開発分野 ユニット長

研究の分類・属性

発がん・がん生物学

研究の概要

固形腫瘍の病巣内には低酸素領域が常在し、放射線治療や化学療法に対する抵抗性の原因となっている。従って腫瘍内低酸素領域の可視化はがん治療の最適化に必須で、がん画像診断の重要な課題である。これまで低酸素イメージングプローブとして FMISO、FAZA、Cu-ATSM などが開発されてきたが、これらが描画するのは重篤な低酸素領域であり、治療抵抗性はそれより“軽度”な低酸素領域で既に起きている。一方この軽度低酸素環境では低酸素応答転写因子 **HIF1** が活性化し、固形腫瘍における血管新生、糖代謝、転移、浸潤等に関与する 100 余の遺伝子発現を誘導する。常酸素環境では HIF1 は速やかに代謝されて存在しないため、HIF1 陽性領域は“軽度”低酸素領域であり、かつその誘導能からがん悪性度の高い領域とも考えられる。

本研究は、核医学を中心に分子イメージング技術を駆使し、この **HIF1** 活性を指標として、“軽度”低酸素環境を可視化できる新しい画像診断法を開発し、革新的ながん悪性度診断法を確立することを目的とする。

最近 HIF1 が p53 や NF- κ B を介して化学療法感受性を制御するといった報告も多く見られるようになり、HIF1 活性を指標としたがん悪性度診断は、放射線治療のみならず、化学療法の治療効果予測にも貢献できる。本研究では日常がん治療にあたる臨床医も参画し、常に臨床応用を念頭に置きながら、治療成績向上に大きな貢献が期待できる新しい画像診断法の開発に臨む。

研究経費

年 度	研究経費
平成 23 年度	5,000 千円
平成 24 年度	3,430 千円
平成 25 年度	3,430 千円
総 計	11,860 千円

※平成 23 年度残額 77 千円（未使用として返金）

研究班の組織

梅田 泉 (主任研究者)	国立がん研究センター東病院 臨床開発センター機能診断開発 分野 ユニット長	・分子イメージングプローブ分子設計、合成・品質評価 ・細胞・実験動物を用いた評価 ・体内動態等の検討、至適化 ・生理・薬理的動態解析 ・研究全体の統括
藤井博史 (研究分担者)	国立がん研究センター東病院 臨床開発センター機能診断開発 分野 分野長	・MRI/核医学融合画像への展開 ・臨床画像診断へのトランスレーション ・放射線治療の効果判定、新規治療計画、評価 ・研究全体のスーパーバイズ

吉野孝之 (研究分担者)	国立がん研究センター東病院 外来・病棟医長	<ul style="list-style-type: none"> 化学療法の効果判定、効果予測、治療計画 臨床の観点からの研究展開 新薬臨床開発の見地からのスーパーバイズ
近藤科江 (研究分担者)	東京工業大学大学院 生命理工学研究科 教授	<ul style="list-style-type: none"> HIF1α ミミック関連融合たんぱく質の供給 HIF活性との相関の検討 (HER-Luc遺伝子導入細胞調製、HIF活性発現測定、KO、KI動物作成等)

研究の目的と到達目標及び実績要点

全期間 (研究の背景と目的)

固形腫瘍の病巣内には低酸素領域が常在し、放射線治療や化学療法に対する抵抗性の原因となる。従って腫瘍内低酸素領域の可視化は、がん治療の最適化に必須で、がん画像診断の重要な課題である。これまで低酸素イメージングプローブとして FMISO、FAZA、Cu-ATSM などが開発されてきたが、これらが描画するのは重篤な低酸素領域であり、治療抵抗性はもっと“軽度”な低酸素領域で既に起きている。一方、この軽度低酸素環境では、低酸素応答転写因子 HIF1 が活性化し、固形腫瘍における血管新生、糖代謝、転移、浸潤等に関与する 100 余の遺伝子発現を誘導する。常酸素環境では HIF1 は速やかに代謝されて存在しないため、HIF1 陽性領域は“軽度”低酸素領域であり、かつその誘導能からがん悪性度の高い領域とも考えられる。

我々は高分解能 SPECT 装置 (分解能 1mm 程度) を用いて、これまで困難であった腫瘍内部性状の高分解能イメージングに取り組んでいる。また、9.4T 小動物用 MRI 装置を用いた腫瘍イメージング、さらに SPECT/MRI 融合画像診断の開発にも着手している。一方、近藤 (分担者) は、HIF1 中の酸素依存的分解ドメインに着目し、HIF1 α ミミックとして HIF 陽性低酸素領域で特異的に安定化される融合タンパク質を開発している。先端部に細胞膜透過性ドメインを導入し、細胞到達性も高い。本研究では HIF1 α ミミックタンパク質である POH および POL を土台として、新規 SPECT プローブを開発し、腫瘍内低酸素環境およびがん悪性度の評価する新規画像診断法の開発を目指すものである。

(到達目標)

- 1 HIF1 ミミックを土台として、イメージングプローブを設計、合成する。
- 2 培養細胞系および担がん動物を用いて評価を行い、組織化学的手法、薬物動態解析などにより、至適化を図る。
- 3 腫瘍内に分布する HIF1 陽性領域の可視化技術を確立する。

(研究終了時点の実績要点)

- 1 HIF1 ミミックタンパク質 (PO タンパク質) を土台として、HIF1 活性を可視化するプローブを設計、開発した。分子内に HaloTag あるいはルシフェラーゼを導入し (POH、POL)、それぞれのタンパク質の活性を損なわずに定位置に確実に SPECT 画像診断用核種 ^{111}In を導入することに成功した。
- 2 得られた ^{111}In 標識 POH および ^{111}In 標識 POL につき、投与量や投与後の体内動態を検討した結果、担がん動物において、良好な腫瘍集積 (腫瘍 1g あたり投与量の 1-2%) と腫瘍/正常組織比が得られるようになった。これらの結果より *in vivo* イメージングの可能性が示唆された。
- 3 小動物用 SPECT/CT 装置を用いて、腫瘍内のプローブの不均一な分布を *in vivo* で可視化できた。摘出腫瘍凍結切片を用いたオートラジオグラフィと HIF1 α 免疫染色陽性領域には良い相関があった。

研究方法

HaloTag システムを利用した ^{111}In 標識 POH プローブの合成

プラスミドの作成 : PTD-ODD-HaloTag7 タンパク (POH) をコードしたプラスミドは PTD3-ODD-procaspase-3(POP33)*1 の procaspase-3 をコードするシークエンスを HaloTag7(Promega, Madison, WI, USA)に組み替えることで構築した。構築した cDNA は plasmid pGEX-6P-3 (GE Healthcare Bio-Science Corp., Piscataway, NJ, USA)に挿入した。

融合タンパク質(POH)の作成：融合タンパク質はBL21-CodonPlus cells (Stratagene, La Jolla, CA, USA)細胞にGSTタグタンパク質として発現させた。GSTタグタンパク質は過去の報告に従い作成した*1。GSTタグタンパク質はGST-columnで精製した後に、precision protease (GE healthcare Bio-Science Corp.)により融合タンパク質部分からGSTタグを除いた。最終的に得られた融合タンパク質はPBS (pH 8.0, Mg²⁺/Ca²⁺-free) 中で平衡化した。

*1. Kizaka-Kondoh S, Itasaka S, Zeng L, Tanaka S, Zhao T, et al.; Clin Cancer Res (2009)15, 3433.

HaloTag-Bn-DOTA の合成：HaloTag Amine (O4) Ligand (Promega) 1.0 mg (in 100 μ L of DMF) にSCN-Bn-DOTA (Macrocylics) 1.316 mg とDIPEA 溶液 (10% DMF solution) を加え、室温にて6時間、攪拌した。DMF、DIPEA を減圧留去後、HPLCにて精製し、目的物であるHaloTag-TUBn-DOTA: **1** を得た。m/z = 863.5 (M + H⁺)。

HaloTag-Bn-DOTA の ¹¹¹In 標識：0.2 M 酢酸アンモニウム溶液 (pH 5.5) に ¹¹¹InCl₃ (日本メジフィジックス) を加えた後に **1** を加え、60°Cで1時間反応を行った。反応混合液をradio-HPLCで精製し、目的の ¹¹¹In 標識体 ¹¹¹In-DOTA-TUBn-HL: **2** を得た。放射化学収率: 80%

¹¹¹In 標識 POH の調製：PBS(Ca/Mg free, pH = 8.0)に溶解したPOH (200 μ g, 4 nmol) に **2a** (17.9 MBq) を加え、4°Cで終夜インキュベーションした。反応溶液をゲルろ過スピカラム法により、目的の標識タンパク質を生成し、¹¹¹In-DOTA-TUBn-HL-POH: **3** を放射化学収率 51% (9.09 MBq) で得た。得られたタンパク質はSDS-PAGE/ARG法により目的タンパクであることを確認した。

担がん動物における体内動態の検討

5週齢雌性 C3H/He マウスは日本エスエルシー株式会社から購入し、水と餌を自由に摂取させた。マウス乳癌由来のFM3A細胞を10% FBS (AusGeneX) を含むRPMI-1640培地 (Sigma-Aldrich) を用いて培養した。対数増殖期にある細胞を回収し、6週齢のマウスに5 \times 10⁶ cells/headを右上肢皮下に移植した。移植14日後、腫瘍径おおよそ0.5-1 cmのマウスを実験に供した。動物を用いた実験は、国立がん研究センター動物実験倫理委員会指針を順守し、国立がん研究センター東病院臨床開発センター実験動物安全管理規程に従って行った。全ての実験手順は国立がん研究センターにおける動物実験に関する指針に従った。

¹¹¹In 標識 POH を担がんマウスに尾静脈内 (200 μ L, POH タンパク質として100 μ g, 0.3-0.5 MBq) 投与し、一定時間 (15分、1時間、6時間、24時間) 経過後に動物を屠殺し、腫瘍および各組織を摘出した。重量測定後、オートガンマカウンター (2480 WIZARD²、パーキンエルマー社) で放射能を測定することで生体内分布を求めた。また、糞尿中への排泄量の評価を目的として、投与後24時間動物を代謝ケージに置き、その間の糞および尿を回収して放射能を測定した。

in vivo SPECT イメージング

¹¹¹In 標識 POH を担がんマウスに尾静脈内 (200 μ L, POH タンパク質として100 μ g, 18 MBq) 投与した。投与後各時間 (1、6、23時間) 経過後、小動物用 SPECT/CT 装置 (nanoSPECT、BioScan 社) を用いて SPECT/CT 画像を撮像し、経時的にイメージングを行った。麻酔は5%イソフルランにて導入し、1-1.5%イソフルランで維持した。撮像の際は直径32 mmのマウス専用ベッドにマウスの頭部を装置前方に向け、うつ伏せにした状態で固定した。SPECT撮像は4基の直径1.4 mmの9穴ピンホールコリメータを用いて、28方向より撮像した。全身撮像では1方向あたり60秒で18分間撮像した。腫瘍部位撮像では1方向あたり600秒で70分間撮像した。撮像データは画像処理アプリケーション (In Vivo Scope ver.2.00) により、ボクセルサイズ 0.4 mm の条件でOSEM (ordered subsets-expectation maximization) 法を用いて再構成し、SPECT画像を得た。X線CT撮像は、X線の管電圧を45 kV、管電流を0.177 mAで6分間 (全身撮像時) または3分間 (腫瘍部位撮像時) 照射した。得られた画像は画像処理アプリケーション (In Vivo Scope ver.2.00) で再構成した。

研究成果と考察

全期間 (研究終了時)

固形腫瘍内には低酸素領域が常在し、放射線治療や化学療法に対する抵抗性の原因となる。低酸素領域可視化プローブの開発は以前より行われているが、従来のものは重篤な低酸素領域を描画することとどまる。一方、最近の研究では、治療抵抗性はより“軽度”な低酸素領域で既に起きていることが明らかになってきた。そういった軽度低酸素領域では低酸素応答転写因子 HIF1 が活性化し、固形腫瘍における血管新生、糖代謝、転移、浸潤等に関与する100余の遺伝子発現を誘導する。常酸素環境では HIF1 は速やかに代謝されて存在しないため、HIF1 陽性領域は“軽度”低酸素領域であり、かつその誘導能からがん悪性度の高い領域とも考えられる。

本研究課題は、この HIF1 活性を可視化する核医学プローブを開発し、“軽度”低酸素環境、ひいてはがん悪性度診断に繋げることを目的とした。プローブの分子設計として、HIF1 の酸素依存的分解ドメイン (ODD) に注目し、この両側に細胞膜透過性ドメイン (PTD) と、機能性タンパク質をそれぞれ繋いだ PO 融合タンパク質を土台として、これに生物活性を損なうことなく放射性核種で標識することを企画し、合成を行った。

1. HIF1 ミミックタンパク質を土台とした 2 種類の SPECT イメージングプローブの設計および合成

1-1 POH プローブの設計・合成

PO にタグタンパク質である HaloTag をつなぎ、一方で HaloTag と極めて特異的かつ強固に結合する低分子化合物 HaloTag ligand (HL) に放射性核種 (RI) の配位子を導入して RI を標識するという分子設計を行った。この設計により、PO タンパク質の活性を損なわずに定位置に確実に RI を導入することができた。設計に基づき 3 種類の HL 誘導体を合成し、POH-¹¹¹In プローブ(共に分子量約 43 kDa)を得ることができた。

1-2 POL プローブの設計・合成

POH プローブは以下の項に記すように比較的良好な成績を示したが、いくつか問題点も明らかになったため、N 末端にシステイン残基を導入した PO タンパク質、POL-SH を土台として、POH プローブとは別のプローブ設計を行い、POL-¹¹¹In プローブを得た(分子量約 46 kDa)。

2. 担がん動物を用いたイメージングプローブの機能評価 (腫瘍集積性、HIF1 活性との相関等)

両プローブの製剤安定性、血清中での安定性、投与後の腫瘍集積性と体内動態、糞尿中への排泄などを検討した。放射性核種を用いる利点は、組織分布等を定量的に解析できることであり、この特長を活かして、腫瘍集積量を定量的に比較するなどして、プローブ設計の至適化を進めた。

2-1 POH プローブ

¹¹¹In 標識 POH プローブは、血清とのインキュベーションでは長時間にわたって安定であった。一方、動物に投与した場合は、設計通り速やかに臓器に移行することが認められた。マウス乳がん細胞 FM3A 皮下移植モデルにおいて良好な腫瘍集積性(腫瘍 1g あたり投与量の 2-3%、%AD/g)を示した。本プローブは血中からの消失が極めて早く、投与 15 分でほぼ 1 %AD/g 以下となった。その結果、早期に高い腫瘍/血液比が得られ、HIF1 可視化プローブとして期待された。しかし、ヒト膀胱癌細胞 Suit2 移植モデルを用いた場合は、血中消失が早い故に腫瘍集積が十分でなく、詳細な検討は難しかった。

2-2 POL プローブ

プローブ集積と HIF1 活性との相関検討のため、抗 HIF1 抗体を用いた免疫染色を実施するにあたり、抗ヒト抗体しか入手できないことから、ヒトがんモデルでの検討が必要であった。上述のように、POH プローブではヒト膀胱癌細胞 Suit2 への集積が十分でなかったことから、プローブ設計の再検討を行い、POL プローブを得た。¹¹¹In 標識 POL プローブは、POH プローブと同様に、血清とのインキュベーションでは安定であり、動物に投与した場合は、速やかに臓器に移行した。しかし、POH プローブとは異なり、投与 1 時間後ではまだ血液中に intact な形で循環している POL プローブが認められた。血中滞留性が POH プローブより長いことを反映して、Suit2 腫瘍での腫瘍集積性が改善された。

HIF1 活性依存ルシフェラーゼを導入した Suit2 腫瘍細胞を用い、同一個体腫瘍でのプローブ集積と HIF1 活性を検討した結果、良好な正の相関が得られた (R=0.82)。また、摘出腫瘍凍結切片を用いたオートラジオグラフィと HIF1 α 免疫染色の比較でも、プローブの分布と HIF1 活性に良好な相関が認められた。

3. 腫瘍内 HIF1 陽性領域の高空間分解能での *in vivo* 可視化

SPECT 核種 ¹¹¹In で標識した POH プローブを用いて、FM3A 担がんマウスで *in vivo* SPECT/CT イメージングを行った。我々は高い空間分解能での小動物 *in vivo* SPECT/CT を得るための技術を開発しており、それを応用することで、単に腫瘍を塊として描画するだけでなく、腫瘍内部のプローブの局在を *in vivo* で可視化することができた。マウス腫瘍内部のプローブの局在が腫瘍の部位によって大きく異なることを *in vivo* で明瞭に可視化できた。わずか 0.3 g 程度の腫瘍の内部性状の SPECT による可視化はこれまでほとんど報告がなく、画期的である。また、腫瘍の凍結薄切片のオートラジオグラフィ (ARG) によって、このプローブが腫瘍内で実際に不均一に集積していることを明らかにした。

倫理面への配慮

実験動物を用いた基礎的研究およびトランスレーション研究に関しては、当該機関の動物実験に関する指針および NIH のガイドラインに従うものとする。

実際の動物実験は当該施設の動物委員会に申請し、承認を得たうえで実施する。

これらの成果を基にした臨床研究を実施する際には、ヘルシンキ宣言ならびに臨床研究に関する倫理指針に十分配慮して研究を立案する。その後、当該機関の倫理審査委員会の承認を得て、研究を実施する。前向き研究においては、文書による同意を得たうえで研究を実施する。また、蓄積した臨床症例の解析に当たっては、個人情報の匿名化を行い、個人情報の漏洩を防止する。

本研究に関連する、本研究期間中の主な発表論文等

(雑誌論文)

2013年度

①「がん研究開発費」による支援を受けたことを明記している論文
なし

②明記はしていないが、関連している論文

- Development of an Oxygen-Sensitive Degradable Peptide Probe for the Imaging of Hypoxia-Inducible Factor-1-Active Regions in Tumors. Ueda M, Ogawa K, Miyano A, Ono M, Kizaka-Kondoh S, Saji H. Mol Imaging Biol. 15(6):713-21, 2013
- Radiosynthesis and initial evaluation of (18)F labeled nanocarrier composed of poly(L-lactic acid)-block-poly(sarcosine) amphiphilic polydepsipeptide. Yamamoto F, Yamahara R, Makino A, Kurihara K, Tsukada H, Hara E, Hara I, Kizaka-Kondoh S, Ohkubo Y, Ozeki E, Kimura S. Nucl Med Biol. 40(3):387-94, 2013
- 臨床応用を目指した分子イメージング研究の現状と今後の展望. 梅田泉, 藤井博史. 日本耳鼻咽喉科学会会報 116(8):933-940, 2013

③間接的ではあるが関連している論文

- バイオマーカーによる個別化治療の展望 (特集 大腸癌の最新治療: 治癒に向けた最先端研究) . 大瀬良省三、吉野孝之. 日本臨床 72(1): 29-34, 2014
- Panitumumab in Japanese patients with unresectable colorectal cancer: a post-marketing surveillance study of 3085 patients. Boku N, Sugihara K, Kitagawa Y, Hatake K, Gemma A, Yamazaki N, Muro K, Hamaguchi T, Yoshino T, Yana I, Ueno H, Ohtsu A. Jpn J Clin Oncol 44(3):214-23, 2014
- Phase I dose-escalation study of buparlisib (BKM120), an oral pan-class I PI3K inhibitor, in Japanese patients with advanced solid tumors. Ando Y, Inada-Inoue M, Mitsuma A, Yoshino T, Ohtsu A, Suenaga N, Sato M, Kakizume T, Robson M, Quadt C, Doi T. Cancer Sci 105(3):347-53, 2014
- Development of ¹¹¹In-labeled liposomes for vulnerable atherosclerotic plaque imaging. Ogawa M, Umeda IO, Kosugi M, Kawai A, Hamaya Y, Takashima M, Yin H, Kudoh T, Seno M, Magata Y. J Nucl Med. 55(1):115-120, 2014
- Intensity Correction Method Customized for Multi-animal Abdominal MR Imaging with 3T Clinical Scanner and Multi-Array Coil. Mitsuda M, Yamaguchi M, Nakagami R, Furuta T, Sekine N, Niitsu M, Moriyama N, Fujii H. Magn Reson Med Sci. 12(2): 95-103, 2013
- Predominant contribution of L-type amino acid transporter to 4-borono-2-¹⁸F-fluoro-phenylalanine uptake in human glioblastoma cells. Yoshimoto M, Kurihara H, Honda N, Kawai K, Ohe K, Fujii H, Itami J, Arai Y. Nucl Med Biol. 40(5): 625-9, 2013
- SPECT/CT of lung nodules using ¹¹¹In-DOTA-c(RGDfK) in a mouse lung carcinogenesis model. Hayakawa T, Mutoh M, Imai T, Tsuta K, Yanaka A, Fujii H, Yoshimoto M. Ann Nucl Med. 27(7): 640-7, 2013

- Maximum standardized uptake value on FDG-PET is a strong predictor of overall and disease-free survival for non-small-cell lung cancer patients after stereotactic body radiotherapy. Takeda A, Sanuki N, Fujii H (corresponding author), Yokosuka N, Nishimura S, Aoki Y, Oku Y, Ozawa Y, Kunieda E. *J Thoracic Oncol.* 9(1):65-73, 2014
- Development of a novel interferon- α 2b gene construct with a repetitive hypoxia-inducible factor binding site and its suppressive effects on human renal cell carcinoma cell lines in vitro. Fukui N, Kageyama Y, Higashi Y, Kihara K, Kizaka-Kondoh S, Hiraoka M, Shinojima T, Suzuki K, Oya M. *Int J Clin Oncol.* 19(3):97-504, 2014
- A hypoxia-inducible factor (HIF)-3 α splicing variant, HIF-3 α 4 impairs angiogenesis in hypervascular malignant meningiomas with epigenetically silenced HIF-3 α 4. Ando H, Natsume A, Iwami K, Ohka F, Kuchimaru T, Kizaka-Kondoh S, Ito K, Saito K, Sugita S, Hoshino T, Wakabayashi T. *Biochem Biophys Res Commun.* 433(1):139-44, 2013
- The protective role of the transmembrane thioredoxin-related protein TMX in inflammatory liver injury. Matsuo Y, Irie K, Kiyonari H, Okuyama H, Nakamura H, Son A, Lopez-Ramos DA, Tian H, Oka S, Okawa K, Kizaka-Kondoh S, Masutani H, Yodoi J. *Antioxid Redox Signal.* 18(11):1263-72, 2013

2012年度

①「がん研究開発費」による支援を受けたことを明記している論文

- *In Vivo* Visualization of Heterogeneous Intratumoral Distribution of Hypoxia-Inducible Factor-1 α Activity by the Fusion of High-Resolution SPECT and Morphological Imaging Tests. Fujii H, Yamaguchi M, Inoue K, Mutou Y, Ueda M, Saji H, Kizaka-Kondoh S, Moriyama N, Umeda IO. *J Biomed Biotechnol.* 2012:262741. doi:10.1155/2012/262741, 2012

②明記はしていないが、関連している論文

- *In vivo* SPECT imaging with ^{111}In -DOTA-c(RGDfK) to detect early pancreatic cancer in a hamster pancreatic carcinogenesis model. Yoshimoto M, Hayakawa T, Mutoh M, Imai T, Tsuda K, Kimura S, Umeda IO, Fujii H, Wakabayashi K. *J Nucl Med.* 53(5):765-71, 2012
- *In vivo* imaging of brain ischemia using an oxygen-dependent degradative fusion protein probe. Fujita Y, Kuchimaru T, Kadonosono T, Tanaka S, Hase Y, Tomimoto H, Hiraoka H, Kizaka-Kondoh S, Ihara M, Takahashi R. *Plos One.* 7(10): e48051, 2012.
- HIFs 活性化細胞のバイオセンシングによる腫瘍内低酸素微小環境の可視化と治療薬開発. 門之園 哲哉, 近藤科江. *医学のあゆみ.* 241(6):450-55, 2012
- 低酸素応答に対する治療戦略. 近藤科江. *細胞.* 44(11):498-502, 2012

③間接的ではあるが関連している論文

- Synthesis and biological evaluation of furylindazoles as hypoxia inducible factor (HIF)-1 α inhibitors. Takeuchi A, Hori M, Hyun, Ban S, Kuchimaru T, Kizaka-Kondoh S, Yamori T, Nakamura H. *Med Chem Commun.* 3:1455-1461, 2012
- 2-Nitroimidazole-Tricarbocyanine Conjugate as a Near-Infrared Fluorescent Probe for *in vivo* imaging of tumor hypoxia. Okuda K, Okabe Y, Kadonosono T, Ueno T, Youssif BG, Kizaka-Kondoh S, Nagasawa H. *Bioconjug Chem.* 22: 324-29, 2012
- Optimization of coded aperture radioscintigraphy for sentinel lymph node mapping. Fujii H, Idoine JD, Gioux S, Accorsi R, Slochower DR, Lanza RC, Frangioni JV. *Mol Imaging Biol.* 14(2): 173-82, 2012
- Comparison of animal studies between interstitial magnetic resonance lymphography and radiocolloid SPECT/CT lymphoscintigraphy in the head and neck region. Kitamura N, Kosuda S, Araki K, Tomifuji M,

- Mizokami D, Shiotani A, Shinmoto H, Fujii H, Ichihara K. *Ann Nucl Med.* 26(3): 281-5, 2012
- Sentinel node navigation surgery with ^{99m}Tc-tin colloid in breast cancer: radiation safety considerations. Ejiri K, Minami K, Toyama H, Kudo G, Hattori H, Kobayashi N, Kato M, Ishiguro M, Fujii H, Kuroda M, Utsumi T, Iwase K, Katada K. *Open Med Imaging J.* 6:89-96, 2012
 - Optimization of injection dose based on noise-equivalent count rate with use of an anthropomorphic pelvis phantom in three-dimensional ¹⁸F-FDG PET/CT. Inoue K, Kurosawa H, Tanaka T, Fukushi M, Moriyama N, Fujii H. *Radiol Phys Technol.* 5(2): 115-22, 2012
 - Active learning framework with iterative clustering for bioimage classification. Kutsuna N, Higaki T, Matsunaga S, Otsuki T, Yamaguchi M, Fujii H, Hasezawa S. *Nat Commun.* 3(1032): 1-10, 2012.
 - Initial experience of individualized chemoradiotherapy for superficial esophageal cancers based on the sentinel lymph node concept. Kaburagi T, Takeuchi H, Fujii H, Saikawa Y, Murakami K, Fukada J, Shigematsu N, Ozawa S, Ando N, Kitagawa Y. *Esophagus.* 9(3): 147-52, 2012
 - Impact of the first tumor response at eight weeks on overall survival in metastatic breast cancer patients treated with first-line combination chemotherapy. Suzuki C, Blomqvist L, Hatschek T, Carlsson L, Einbeigi Z, Linderholm B, Lindh B, Loman N, Malmberg M, Rotstein S, Söderberg M, Sundqvist M, Walz TM, Åström G, Fujii H, Jacobsson H, Glimelius B. *Med Oncol.* 30(1):415, 2013
 - Evaluation for local failure by ¹⁸F-FDG PET/CT in comparison with CT findings after stereotactic body radiotherapy (SBRT) for localized non-small-cell lung cancer. Takeda A, Kunieda E, Fujii H, Yokosuka N, Aoki Y, Oooka Y, Oku Y, Ohashi T, Sanuki N, Mizuno T, Ozawa Y. *Lung Cancer.* 79(3): 248-53, 2013
 - Delayed hepatic signal recovery on ferucarbotran-enhanced magnetic resonance images: an experimental study in rat livers with gadolinium chloride-induced Kupffer cell damage. Furuta T, Yamaguchi M, Nakagami R, Akahane M, Minami M, Ohtomo K, Moriyama N, Fujii H. *Magn Reson Mater Phy.* 26(3):313-24, 2013
 - Artifact-Reduced Simultaneous MR Imaging of Multiple Rats with Liver Cancer using PROPELLER. Yamaguchi M, Mitsuda M, Ezawa K, Nakagami R, Furuta T, Sekine N, Niitsu M, Fujii H. *J Magn Reson Imaging.* 38(1):225-30, 2013
 - Clinical Outcome of Japanese Metastatic Colorectal Cancer Patients Harboring the KRAS p.G13D Mutation Treated with Cetuximab + Irinotecan. Hideaki bando, Yoshino Y, Yuki S, Shinozaki E, Nishina T, Kadowaki S, Yamazaki K, Kjiura S, Tsushihara K, Fujii S, Yamanaka T. *Jpn J Clin Oncol.* 42(12):1146-51 doi:10.1093/jjco/hys160, 2012
 - KRAS mutations in primary tumours and post-FOLFOX metastatic lesions in cases of colorectal cancer. Kawamoto Y, Tsuchihara K, Yoshino T, Ogasawara N, Kojima M, Takahashi M, Ochiai A, Bando H, Fuse N, Tahara M, Doi T, Esumi H, Komatsu Y and Ohtsu A. *British Journal of Cancer.* 107:340-44, 2012

2011年度

- High resolution SPECT imaging for visualization of intratumoral heterogeneity using a SPECT/CT scanner dedicated for small animal imaging. Umeda IO, Tani K, Tsuda K, Kobayashi M, Ogata M, Kimura S, Yoshimoto M, Kojima S, Moribe K, Yamamoto K, Moriyama N and Fujii H, *Annal Nuc Med.* 26(1): 67-76, 2012
- Evaluation of [¹²⁵I]IPOS as a molecular imaging probe for hypoxia-inducible factor-1-active regions in a tumor: Comparison among single-photon emission computed tomography/X-ray computed tomography imaging, autoradiography, and immunohistochemistry. Ueda M, Kudo T, Mutou Y, Umeda IO, Miyano A, Ogawa K, Ono M, Fujii H, Kizaka-Kondoh S, Hiraoka M, Saji H. *Cancer Sci.* 102(11):2090-6, 2011
- Synthesis and evaluation of a novel ^{99m}Tc-labeled bioreductive probe for tumor hypoxia imaging. Kimura S, Umeda IO, Moriyama N, Fujii H. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters.* 21(24):7359-62, 2011

- Detection of the onset of ischemia and carcinogenesis by hypoxia-inducible transcription factor-based in vivo bioluminescence imaging. Kadonosono T, Kuchimaru T, Yamada S, Takahashi Y, Murakami A, Tani T, Watanabe H, Tanaka T, Hirota K, Inoue M, Tsukamoto T, Toyoda T, Urano K, Machida K, Eto T, Ogura T, Tsutsumi H, Ito M, Hiraoka M, Kondoh G, Kizaka-Kondoh S. PLoS One. 6(11):e26640, 2011

(学会発表)

2013年度

- 腫瘍内低酸素領域を *in vivo* 可視化する新規 ^{99m}Tc 標識分子プローブの開発. 梅田泉、木村禎亮、藤井博史. 日本薬学会第 134 年会, 2014/3/28, 熊本
- Hybrid imaging probes for dual modality imaging of near-infrared light and radionuclides. Fujii H, Saitoh R, Umeda IO, and Soga K. International symposium on technologies against cancer 2014, 2014/3/9, 葛飾
- *in vivo* NIR Fluorescence and Nuclear Medical Hybrid Bioimaging Probe. saitoh R, Hyodo H, Umeda IO, Fujii H, Soga K. International symposium on technologies against cancer 2014, 2014/3/8, 葛飾
- 臨床応用を目指した分子イメージング研究の現状と今後の展望. 梅田泉、藤井博史. 第 878 回放射線診療研究会 (教育講演), 2013/11/18, 新宿
- A novel tumor hypoxia PET probe, ^{18}F -FPINI, with high selectivity and rapid background clearance. Kimura S, Kuriyama T, Kojima Y, Umeda IO, Fujii H. SNMMI 2013 Annual Meeting, 2013/06/09, Vancouver, Canada
- Radiolabeled liposomes with excellent hepatic clearance for tumor diagnostic imaging and radionuclide therapy. Umeda IO, Koike Y, Kimura S, Higashi K, Moribe K, Yamamoto K, Fujii H. SNMMI 2013 Annual Meeting, 2013/06/10, Vancouver, Canada
- Novel radiolabeled liposomes with excellent background clearance for tumor diagnostic imaging and radionuclide therapy. Umeda IO, Koike Y, Kimura S, Hamamichi S, Moribe K, Yamamoto K, Sakata M, Moriyama N, Fujii H. EANM Congress 2013, 2013/10/22, Lyon, France
- ^{111}In -ethylenedicycysteine carrying liposomes for improved tumor imaging and potential radionuclide therapy. ^{111}In -ethylenedicycysteine 封入りポソーム: 正常組織集積低減による優れた腫瘍イメージング剤の開発. 梅田泉、小池悠介、濱道修生、木村禎亮、藤井博史. 第 72 回日本癌学会学術総会, 2013/10/4, 横浜
- Education of the hypoxia-inducible factor involvement in tumorigenesis and metastasis by using mouse models. マウスモデルを用いたがん化・悪性化過程における低酸素誘導因子活性の寄与の解明. 近藤科江、門之園哲哉、口丸高弘. 第 72 回日本癌学会学術総会, 2013/10/4, 横浜
- BRET based-functional protein probes for high specific optical imaging of HIF activity in tumors. BRET を利用した機能性タンパク質プローブによる腫瘍内 HIF 活性の高コントラスト光イメージング. 須加智也、口丸高弘、廣田圭佑、石川龍太郎、門之園哲哉、近藤科江. 第 72 回日本癌学会学術総会, 2013/10/4, 横浜
- 新規低酸素 PET プローブ ^{18}F -FPINI の腫瘍内分布及び代謝物の解析. 木村禎亮、栗山拓也、小島良紀、梅田泉、藤井博史. 日本薬学会第 133 年会, 2013/3/30, 横浜
- 骨吸収由来 IGF-1 と低酸素環境のクロストークは造骨性骨転移を促進する. 相川友弥、口丸高弘、星野卓哉、門之園哲哉、近藤科江. 第 8 回日本分子イメージング学会学術集会, 2013/5/31, 横浜
- 腫瘍内低酸素環境と炎症環境のダイナミクスをイメージングするデュアルレポーターシステムの構築. 中川賢治、石川龍太郎、相川友弥、口丸高弘、星野卓哉、門之園哲哉、近藤科江. 第 8 回日本分子イメージング学会学術集会, 2013/5/31, 横浜
- BRET を利用した機能性タンパク質プローブによる排泄臓器近傍における腫瘍内 HIF 活性の高コントラスト光イ

メージング. 須加智也、山口鉄郎、口丸高弘、廣田圭佑、石川龍太郎、門之園哲哉、近藤科江. 第8回日本分子イメージング学会学術集会, 2013/5/31, 横浜

- 細胞膜透過ペプチド融合イメージングプローブの Neuropilin-1 依存的血管透過機構の解析. 門之園哲哉、後藤俊樹、口丸高弘、近藤科江. 第8回日本分子イメージング学会学術集会, 2013/5/31, 横浜

2012年度

- In vivo imaging of HIFs-active tumors by optical protein probes. Kadonosono T, Kuchimaru T, Kizaka-Kondoh S. 5th International Symposium on Nanomedicine (ISNM2012), 2012/3/16, Nagoya, Japan
- A novel PET probe for tumor hypoxia imaging with excellent renal clearance. Kimura S, Kuriyama T, Kojima YK, Umeda IO, Moriyama N, Fujii H. SNM 2012 Annual Meeting, 2012/6/10, Miami Beach, FL, USA
- In vivo optical imaging of carcinogenesis by the detection of HIF-active cells using HOL transgenic mice. Kadonosono T, Kuchimaru T, Tanaka T, Hirota K, Tsutsumi H, Ito M, Urano K, Kondoh G, Kizaka-Kondoh S. 2012 World Molecular Imaging Congress, 2012/9/8, Dublin, Ireland
- Development of a novel hypoxia-activatable near-infrared fluorescent probe for tumor hypoxia imaging. Okuda K, Kawano I, Hirayama T, Uno B, Kadonosono T, Kizaka-Kondoh S, Nagasawa S. 2012 World Molecular Imaging Congress, 2012/9/8, Dublin, Ireland
- Fusion protein-based BRET probes for highly specific in vivo imaging of HIF-active tumor cells. Kuchimaru T, Hirota K, Suka T, Kadonosono T, and Kizaka-Kondoh S. 2012 World Molecular Imaging Congress, 2012/9/6, Dublin, Ireland
- Quantitative Estimation of Activity with an Artificial Neural Network for Multi-isotope SPECT Study. Ogawa K, Abe S, Koike Y, Umeda IO, Fujii H. WMIC 2012, 2012/9/5, Dublin, Ireland
- Radionuclide-carrying liposomes with excellent clearance from reticuloendothelial system for diagnostic tumor imaging and radionuclide therapy. Umeda IO, Koike Y, Kimura S, Higashi K, Moribe K, Yamamoto K, Fujii H. WMIC 2012, 2012/9/6, Dublin, Ireland
- Development of RGD-liposomes for MR imaging of pancreatic tumor. Yoshimoto M, Hayakawa T, Yamaguchi M, Kimura S, Umeda IO, Fujii H. WMIC 2012, 2012/09/08, Dublin, Ireland
- Inorganic and organic surface modification of rare-earth doped ceramics nanophosphors for OTN-NIR in vivo imaging. Soga K, Hyodo H, Kishimoto H, Umeda IO, Fujii H. E-MRS 2012 spring meeting, 2012/5/16, Strasbourg, France
- Estimation of True Activity with An Artificial Neural Network for Multiple Isotope SPECT Study. Abe S, Ogawa K, Koike Y, Umeda IO, Fujii H. 2012 World congress on medical physics and biomedical engineering, 2012/5/30, Beijing, China
- 生体光イメージングを用いた低酸素応答の可視化, ワークショップ1「組織を用いたイメージング技術の進歩と病理学」、近藤科江. 第101回日本病理学会総会, 2012/4/26, 新宿
- 近赤外蛍光/SPECT ハイブリッドイメージングプローブの表面機能化. 齋藤梨絵、山崎良太、兵藤宏、曾我公平、岸本英博、梅田泉、藤井博史. 第2回 CTC ワークショップ, 2012/4/28, 野田
- 投与後早期のイメージングが可能な新規低酸素 PET プローブの開発. 木村禎亮、栗山拓也、小島良紀、梅田泉、藤井博史. 第7回日本分子イメージング学会総会・学術集会, 2012/5/24, 浜松
- 低酸素誘導因子 HIF とがん幹細胞様形質とのリンク; ~幹細胞研究の最前線~, 近藤科江、口丸高弘、門之園哲哉. 平成24年度日本生化学会関東支部例会, 2012/6/23, 前橋
- HIF 活性化がん細胞を in vivo イメージングするための BRET 融合タンパク質プローブの開発. 須加智也、口丸高弘、廣田圭佑、門之園哲哉、近藤科江. 第16回がん分子治療標的学会学術集会, 2012/6/28, 福岡
- 良好な網内系クリアランスを示す放射性核種封入リポソームの開発. 小池悠介、森部久仁一、リムウィクラン・ワリー、東頭二郎、木村禎亮、梅田泉、藤井博史、山本恵司. 第28回日本 DDS 学会学術集会, 2012/7/04, 札幌

- ・近赤外蛍光バイオイメージングと核医学画像診断のハイブリッド *in vivo* イメージングプローブの作成と評価. 齋藤梨絵、辻孝輔、山崎良太、兵藤宏、曾我公平、岸本英博、梅田泉、藤井博史. 第 21 回日本バイオイメージング学会学術集会, 2012/8/27, 京都
- ・Radionuclide-carrying liposomes for tumor imaging and therapy: rapid clearance from the reticuloendothelial system. 梅田泉、小池悠介、木村禎亮、藤井博史. 第 71 回日本癌学会学術総会, 2012/9/19, 札幌
- ・腫瘍内 HIF-1 α 陽性領域可視化を目指した融合タンパク質 POH-SPECT プローブの体内動態に関する検討. 柿島祐、梅田泉、木村禎亮、口丸高弘、近藤科江、田沼靖一、藤井博史. 第 52 回日本核医学会学術総会, 2012/10/12, 札幌
- ・Tc-99m および In-111 同時データ収集におけるニューラルネットワークを用いたプライマリ光子の推定. 尾川浩一、小池悠介、梅田泉、藤井博史. 第 52 回日本核医学会学術総会, 2012/10/12, 札幌
- ・高いクリアランス能を有した新規低酸素 PET プローブの開発. 第 52 回日本核医学会学術総会, 木村禎亮、栗山拓也、小島良紀、梅田泉、藤井博史. 2012/10/12, 札幌
- ・近赤外線イメージングガイド下 SLN マッピングに炎症反応が与える影響に関する検討. 大貫和信、山口雅之、梅田泉、軸屋博之、本川修、藤井博史. 第 14 回 SNNS 研究会学術集会, 2012/11/17, 名古屋

2011 年度

- ・Multimodal *in vivo* imaging of hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1) active tumors by HIF-1 α -mimic oxygen-dependent degradation protein probes with interchangeable labeling system. Umeda IO, Kuchimaru T, Kakishima Y, Kimura S, Yanaka A, Kizaka-Kondoh S, Fujii H. 2011 World Molecular Imaging Congress, 2011/9/7-10. San Diego, California
- ・Development of novel ^{99m}Tc-labeled bioreductive probe for tumor hypoxia imaging. Kimura S, Umeda IO, Fujii H. 2011 World Molecular Imaging Congress, 2011/9/7-10, San Diego, California
- ・Clinical translation of a novel *in vivo* imaging probe for HIF-1 active tumors using multimodality imaging system. Umeda IO, Kakishima Y, Kimura S, Kuchimaru T, Yanaka A, Kizaka-Kondoh S, Fujii H. 第 70 回日本癌学会学術総会, 2011/10/3-5, 名古屋
- ・酸素依存的分解ドメインを含む融合タンパク質を利用した HIF-1 α 陽性領域可視化 SPECT プローブの開発. 柿島祐、梅田泉、木村禎亮、口丸高弘、近藤科江、谷中昭典、藤井博史. 第 51 回日本核医学会学術総会, 2011/10/27-29, つくば
- ・腫瘍内 HIF-1 α 陽性領域可視化を目指した SPECT プローブの開発 —組織分布の経時的変化と腫瘍内分布の検討— 柿島祐、梅田泉、木村禎亮、口丸高弘、近藤科江、谷中昭典、藤井博史. 日本薬学会第 132 年会, 2012/3/30, 札幌

(書籍)

(知的財産権) 特許出願

出願番号：特願 2013-178801

出願日：平成 25 年 8 月 30 日

発明の名称：放射性テクネチウムの結合部位を有する化合物、及び、その放射性テクネチウム錯体

発明者：木村禎亮、藤井博史、梅田泉

(政策提言 (寄与した指針等))

(その他)