

令和元年6月4日現在

機関番号：13301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K19812

研究課題名(和文) 腫瘍血管の成熟性を評価可能な光音響イメージングの腫瘍放射線医学への応用

研究課題名(英文) Application of photoacoustic imaging for evaluating tumor vascular maturity

研究代表者

吉田 耕太郎 (Yoshida, Kotaro)

金沢大学・医学系・助教

研究者番号：30645130

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究課題の研究において、インドシアニングリーンの血管内投与を用いた光音響イメージングは各臓器での血管透過性の評価に用いる事ができた。また腫瘍内においても濃度依存性を示しインドシアニンググリーンは定量可能であった。腫瘍における抗腫瘍薬による血管透過性の低下をインドシアニンググリーンは検知することができ、その後の腫瘍細胞の縮小をいち早く予測できると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

インドシアニングリーンの血管内投与を用いた光音響イメージングは、実験レベルではあるが、生体内の臓器の血管透過性の状態をリアルタイムに非侵襲的に描出できると考えられる。血管透過性の制御は生体内の様々な状態、特に腫瘍の活動性の状態を把握するために非常に重要であり、これを評価する事ができる新たなイメージング手法であると考えられた。

研究成果の概要(英文)：We demonstrated the applicability of photoacoustic (PA) imaging with indocyanine green (ICG) in a mouse tumor model. It allows safe and real-time imaging acquisition, and unlike common conventional contrast agents such as iodinated and gadolinium based contrast agents, ICG-enhanced PA imaging can less depict the IVC and hypervascular organs such as kidney and liver. The PA signal of ICG was rather enhanced in the interstitial extravascular space of tumors and salivary gland at the early phase after ICG injection. PA imaging with ICG allows for assessment of the early treatment response at a time when there is still no difference in tumor size after anti-VEGF therapy in this tumor model in mice and can directly reflect vascular permeability, which is not feasible at all with other imaging systems. Thus, PA imaging has a potential for the broader application for diagnosis of other pathologies characterized by changes in vascular permeability.

研究分野：放射線科

キーワード：光音響イメージング

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

腫瘍組織において、血管内皮細胞、血管周皮細胞あるいは血管周囲間質が血管内外のバリアーと働いており、血管内物質の血管外漏出を調節している。また一般的に腫瘍組織内においては未熟な毛細血管から成熟した血管まで様々な血管が均衡を保ちながら増殖しており、これらの血管成熟性は腫瘍の増殖にとって重要である。未熟な血管は脆弱であり血管バリアー機能は低下しているとされ、成熟した血管は血管バリアー機能が亢進しているとされる。近年、血管内皮増殖因子 (VEGF) や血小板由来増殖因子 (PDGF) などの受容体型チロシンキナーゼをターゲットとした様々な分子標的薬が臨床応用されている。これらの分子標的薬により腫瘍内の未熟な血管の減少が得られるものの、残存した成熟した血管は血管バリアー機能が亢進しており、既存の抗癌剤の効果が減弱する可能性がある。これらの血管成熟性を評価することは、分子標的薬や抗癌剤による治療を行うにあたり重要であるが、評価方法は確立されていない。

近年、注目されている光音響イメージング法は、従来の超音波検査が対象物に当てられた超音波に対して生体内で反射した超音波を画像化するに対し、対象となる物質に対して近赤外線 (700~900nm) 波長のレーザー光を断続的に照射し、照射されたレーザー光を吸収した物質分子が光熱変換過程を経てわずかに膨張する際に発生する応力波 (光音響波) を検知することを利用した新たなイメージング技術である。生体内のイメージング対象物はヘモグロビン、メラニン、水、脂質とされる。これまでの蛍光イメージング法は自家蛍光や散乱などの光学特性の問題から生体深部の描出には不向きであったが、光音響イメージングは蛍光イメージングに近い高い空間分解能を維持しつつ、生体透過性の高い応力波を検出に用いる事によって、数センチメートルの深部検出能を有しており、また既存の超音波とのフュージョン画像を作成する事により、より正確な生体内組織の画像化を可能にする。生体内のイメージング対象物に加え、生体外の光音響イメージングの対象物としてインドシアニンググリーン (ICG)、メチレンブルー (MB)、金ナノ粒子、単層カーボンナノチューブなどが候補とされている。この光音響イメージング法は近年、画像処理能力向上などにより画像解像度、時間分解能の進歩に伴って応用性が広がっており、物質の静的画像の収集からリアルタイムの動的画像の取得が可能となっており、医用画像の領域への応用も期待されている。しかし、実験動物での画像診断領域において、これらの生体への応用は始まったばかりであり、十分な知見が得られていないのが現状である。

癌をはじめとする腫瘍に対する画像診断において、一般的には大きさ・形態、周囲への浸潤の程度、また造影検査による腫瘍内部血流の評価により腫瘍の進行度・悪性度は評価されてきた。日常臨床においては、ヨード造影剤を用いた造影 CT、ガドリニウム造影剤を用いた造影 MRI、微小気泡造影剤を用いた造影超音波、ヨード造影剤を用いた血管造影、核種を用いたシンチグラフィが一般的に広く行われている。またドップラー超音波によって、腫瘍内血管の描出も可能となってきている。これらは各標的臓器あるいは全身を広く検索する事ができるが、空間分解能には一定の限界があり、微細構造である血管構造や血管のバリアー機能を評価し得るには至っていない。光音響イメージングでは、光音響波を生じうるレポータープローブを体外から投与する事が可能であり、これらを生体内に経血管的に投与する事により、造影剤として用いる事ができる可能性がある。これらは血管内のみならず血管外の間質あるいは周囲実質細胞に取り込まれる可能性があるが、詳細な検討はなされていない。さらにこれらのプローブには抗体を結合させる事ができる薬剤が存在しており、組織や特定の細胞などのバイオマーカーを特異的にイメージングできる可能性がある。これらのように種々の物質が基質として存在しているが、生体への投与による薬剤動態や画像化の評価に関して十分な検討は行われておらず、新たなイメージングの造影剤としての可能性を秘めている。

2. 研究の目的

光音響イメージングは、近年新たな医用画像としての応用が注目されている非侵襲的イメージング技術である。光音響イメージングは、これまでの臨床で用いられている画像モダリティでは不十分であった組織空間分解能を有しており、生体内の詳細な臓器組織内構築、あるいは腫瘍内構造の非侵襲的描出に強い期待が寄せられている。腫瘍血管は幼弱な血管が増生し透過性が亢進しているとされるが、血管内皮増殖因子 (VEGF) 阻害剤などの分子標的薬により、血管の成熟化が生じ薬剤抵抗性が生じる可能性がある。

本研究では動物モデルを用いて、光音響イメージングによる非侵襲的な組織描出、腫瘍内イメージング法を確立し、腫瘍血管成熟性の非侵襲的評価を目指す。

3. 研究の方法

光音響イメージングシステムで利用可能なマウスを実験動物モデルとして用いる。腫瘍モデルとしては、確立されている Lewis Lung Carcinoma 細胞 (LLC) 皮下移植モデルを用いる。麻醉下に各主要臓器 (肝臓、腎臓、皮膚、血管内)、腫瘍の光音響シグナルを評価する。

定常状態における、肝臓、腎臓、皮膚、血管内、腫瘍の光音響シグナルの評価

光音響波を放出する薬剤の経静脈的投与による、肝臓、腎臓、皮膚、血管内、腫瘍の光音響シグナルの経時的変化の評価

VEGF 過剰発現下および VEGF 阻害剤投与下におけるマウス皮下腫瘍モデルでの光音響イメージングのシグナル変化評価

インドシアニングリーン、メチレンブルー投与例では、蛍光顕微鏡にて各臓器における投与薬剤の分布に関して組織学的に検討する。

4. 研究成果

生体レベルでの定常状態における主要臓器の光音響シグナルの評価をおこなった。具体的には、実験動物モデルとして、C57BL/6J マウスを用い、既存の光音響イメージング装置として小動物超音波高解像度イメージングシステム (Vevo LAZR Imaging System) を使用し光音響イメージングの撮影、およびシグナル測定をおこなった。体表から観察可能なマウスの各臓器 (肝臓、腎臓、皮膚、血管内、腫瘍) の光音響シグナルを光音響波を放出する薬剤であるインドシアニンググリーンに絞って、様々な濃度を尾静脈より静脈注射し、マウスの各臓器における光音響シグナルの変化を経時的に観察した。これにより至適濃度をどの程度に設定すべきかの知見を得た。またインドシアニンググリーン投与では濃度勾配に従ってシグナル増強が観察された。またインドシアニンググリーの組織分布を摘出標本の免疫染色と合わせて検討した。腫瘍モデルを用いた研究では血管新生阻害剤を用いた状態での、光音響イメージングを行い、腫瘍縮小効果との比較検討を行った。血管新生阻害剤投与モデルにおいては、腫瘍縮小効果の出現以前の段階で、光音響イメージングにおける ICG の腫瘍内シグナルの減少が観察された。これは腫瘍内における血管透過性の減弱を捉えたものと思われる。これらの結果は以下の論文にて発表した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計1件, 査読あり)

Okumura K, Yoshida K, Yoshioka K, Aki S, Yoneda N, Inoue D, Kitao A, Ogi T, Kozaka K, Minami T, Koda W, Kobayashi S, Takuwa Y, Gabata T. Photoacoustic imaging of tumour vascular permeability with indocyanine green in a mouse model. Eur Radiol Exp. 2018;2(1):5. doi: 10.1186/s41747-018-0036-7.

〔学会発表〕(計1件)

Kotaro Yoshida, Kenichiro Okumura, Dai Inoue, Tetsuya Minami, Wataru Koda, Toshifumi Gabata, Satoshi Kobayashi, Sho Aki, Kazuaki Yoshioka, Yoh Takuwa

Usefulness of indocyanine green contrast agent for photoacoustic imaging in an in vivo model

第75回日本医学放射線学会総会, 2016

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年:

国内外の別:

取得状況 (計0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。