

令和 4 年 5 月 9 日現在

機関番号：13701

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2021

課題番号：20K16696

研究課題名（和文）高感度水動態の可視化技術の開発と腹膜播種モデルへの応用

研究課題名（英文）Highly sensitive detection of in vivo H₂O using DNP-MRI

研究代表者

水野 希（高木希）（Nozomi, Mizuno）

岐阜大学・大学院医学系研究科・特任助教

研究者番号：10509798

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、水の高感度可視化技術の開発を目的として、フリーラジカルを重水素で溶解しステルス化プローブとする超偏極MRIを用いた技術を開発した。実際にステルス化プローブは水の割合の増加に伴い直線的に信号が増幅した。また正常マウスを用いた検討においても腹膜内の水の量に依存してDNP-MRIによる信号強度は増幅した。さらに腹膜播種モデルを用いた検討に置いては、腹膜播種早期における微量な水の変化を本法を用いることで高感度に検出できる事をしめした。これらの結果より、本技術により癌の腹膜転移における腹水の変化を早期に検出し転移の予測に応用することが期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本技術は生体内の水の動態を超高感度に検出する技術を構築し、それを腹膜播種モデルにおける腹水の高感度検出に応用した研究である。本技術により癌の腹膜転移における腹水の変化を高感度に検出することで、癌転移を早期に検出（早期診断）し、転移の予測に応用することが期待される。

研究成果の概要（英文）：This study aimed to develop the highly sensitive detection of H₂O in the abdominal cavity with a free radical molecule and deuterium oxide (D₂O) contrast agent using in vivo dynamic nuclear polarization-MRI (DNP-MRI). Phantom imaging experiments demonstrated a linear relationship between H₂O volume and image intensity. To demonstrate the utility of this method for disease, malignant ascites in peritoneal metastasis animal model was selected as one of the typical examples. The image intensity with increasing malignant ascites in SUIT-2 bearing mice was significantly increased at days 7, 16, and 21. This increase corresponded to in vivo tumor progression, as measured by bioluminescent imaging. These results suggest that H₂O signal enhancement in DNP-MRI using radical-D₂O contrast could be a useful biomarker for malignant ascites with cancer metastasis.

研究分野：放射線医学

キーワード：DNP 高感度 水 腹膜播種

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

水は体内の約 70%を占め最もモル濃度の高い生体内因性分子であり、炎症・脳梗塞などによる浮腫やがん転移による腹水(滲出液・漏出液)の蓄積など、様々な生体の変化に鋭敏に反応する生体内因性マーカーであるともいえる。MRI は水分子のプロトン核スピンの情報を基に組織像や、浮腫などの疾患部位を描写する診断装置である。しかしながら、疾患応答で浸出した腹水と組織中の水(自由水・結合水)のプロトン核スピンにおける磁氣的性質(緩和時間など)が近い場合には、両者を明確に識別(コントラストを得る)することは難しい。超偏極(DNP: Dynamic Nuclear Polarization)-MRI はラジカル分子にエネルギーを与え(電子スピン励起) そのエネルギーが水プロトンの核スピンに遷移することで MRI の信号を数倍~数十倍に増幅する手法である。申請者は、臨床応用を指向した DNP-MRI 装置の開発や、様々なレドックス疾患における非侵襲生体イメージング法の開発を行ってきた。

2. 研究の目的

本研究はラジカルプローブを用いた生体レドックスの可視化(プローブ内のラジカルがレドックス反応を経て消失を観測する方法)とは逆の発想で、ラジカル造影剤を DNP-MRI 非信号のステルスプローブ化することができれば、ラジカルプローブに近接する水のみを識別し DNP-MRI で高感度に可視化できるのではないかと考えた。また腹膜播種に伴う腹水はこれまで高感度な検出法がないため、末期の指標とされてきたが、本法で癌性腹水の高感度・分離可視化が達成されれば微量腹水の検出が可能となり、「水動態」を腹膜播種進展の内因性マーカーとする新たな早期癌診断・薬効評価技術への展開を目的として研究を進めた。

3. 研究の方法

プローブのステルス化検討: 投与するプローブ溶液は MRI 信号を与えない(ステルス)ことが前提であるため、まず本研究に最適な溶媒を検討する。具体的にステルス化溶媒に求められる要件としては MRI 非信号、生体投与可能、生体浸出液との相互作用が極めて低く、スペクトルの線幅に影響を与えないことなどが挙げられる。候補溶媒として生体適用可能な重水素(D₂O)を溶媒として用い DNP-MRI にて検討を行った。

水高感度可視化検討と微量腹水変動の画像診断へ向けた検討: 水の濃度を段階的に変えた疑似資料(ファントム)を用意し、実際に水の濃度と DNP-MRI 信号の相関関係を求めた。このときラジカルプローブは感度や膜透過性など様々な性質を持つため磁気共鳴特性を考慮し、DNP による MRI の増幅率より本研究において最も有用なプローブとその至適濃度を明確化した。

癌性腹水ファントムを用いた DNP-MRI による検証: 前年度に絞り込んだステルス化プローブを用い、腹膜播種マウスより採取した腹水(血性)において腹水量と DNP-MRI の信号強度の相関を検討する。マウスモデルとしてはヒト膵がんの腹膜播種モデル(SUIT2-luc)を用いた。また本研究では超早期の腹水浸潤の検出を目的としているので、SUIT2 腹膜播種モデルにおける腹水量の経日変化を調べ、DNP-MRI を用いた検討を実施した。

腹膜播種モデルマウスを用いた実証試験と超早期検出の検討: SUIT2 腹膜播種モデルを作成し、1~2 で決定した条件・プローブを用い腫瘍移植早期から経日的な変動を DNP-MRI で追跡イメージングし、MRI シグナル強度と腹水の関係を検討した。またオプティカルイメージングで腹膜播種の進展を確認、本法と比較し腹膜播種の進行度と腹水による MRI 信号強度変化との相関性を求めた。

4. 研究成果

悪性腹水には、水以外にアルブミン、血球、がん細胞、炎症細胞などが含まれていることが多い。これらの要因が DNP-MRI 信号に影響を与えるかどうかを確認するために、SUIT-2 腹膜転移マウスから採取した悪性腹水をファントムスタディに使用した。まず、腫瘍移植後の腹膜転移と腹水の動態を確認した。次に、SUIT-2 腹膜転移マウスから 18 日目に出血性悪性腹水約 4.0mL を採取した。2.5 mM CmP-D₂O プローブ(最終濃度)を用いて様々な量の悪性腹水(0.1-100%)を調製し、その溶液を *in vivo* DNP-MRI で測定した。ESR-ON では、悪性腹水を含むファントムの画像は明らかに有意な強度増強(最大 20%)を示し、直線的に増加した(R²=0.999)。腹水 10% および 20% チューブの画像強度は、対照チューブ(プローブなしの腹水)の画像強度のそれぞれ 31 倍および 82 倍であった。腹水 50% 以上では画像強度はプラトーとなり、30 分以上安定した画像強度を示したことから、この条件下では CmP と腹水の反応性は無視できるほど低いことが示唆された。

生きたマウスにおける H₂O の選択的イメージングに応用することを試みた。ラジカルのスピン-スピン相互作用による DNP-MRI 信号の減衰と、悪性腹水モデルにおけるプローブ溶液の希釈係数のモデル化のため高濃度の CmP を用いた。正常マウスでは 30 mM CmP-D₂O プローブの腹腔内注入後 6 分まで増強は認められなかった。

次に、SUIT-2 播種マウスの *in vivo* DNP-MRI を、腫瘍細胞の腹腔内注射後 7 日から 21 日の間に

実施し、悪性腹水の体積を測定した。7日目のマウスには明らかな変化やルシフェラーゼ活性の変化がないにもかかわらず、DNP-MRIによる画像強度は上昇し、16日目と21日に著しく増幅された。これらのデータは、生物発光イメージングで測定した *in vivo* での腫瘍の進行とよく対応した。これらの結果は、DNP-MRIにおける増強が腹膜転移の程度と密接に関連しており、転移液の変化を検出するのに有用であることを示唆するものであった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	兵藤 文紀 (Hyodo Fuminori)		
研究協力者	松尾 政之 (Matsuo Masayuki)		

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関