

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 5月 1日現在

機関番号：14401
 研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2009～2011
 課題番号：21791191
 研究課題名（和文） 核磁気共鳴画像による肝細胞膜タンパク質発現の生体イメージングに関する基礎的検討
 研究課題名（英文） Basic Research in Bioimaging for Expression of Hepatocyte Surface Membrane Protein Using Magnetic Resonance Imaging
 研究代表者
 大西 裕満（ONISHI HIROMITSU）
 大阪大学・医学系研究科・助教
 研究者番号：20452435

研究成果の概要（和文）：本研究では、核磁気共鳴画像における肝細胞特異性造影剤 Gd-EOB-DTPA の肝細胞取り込みに関与するトランスポーターについて検討した。ヒトの膜タンパク質遺伝子を導入したアフリカツメガエルの卵母細胞を用いて、ヒトの肝臓において OATP2 と OATP8 が Gd-EOB-DTPA の取り込みに関与することを証明した。さらに Gd-EOB-DTPA の臨床的有用性についても検討し、肝細胞がんの診断において優れることを示した。

研究成果の概要（英文）： The main purpose of the present study was to investigate the transporters that mediate the uptake of hepatocyte-specific magnetic resonance imaging contrast agent, gadoxetate disodium. Human organic anion transporting polypeptide (OATP) 2 and 8 have been proven to mediate the uptake of gadoxetate disodium using human cRNA-injected *Xenopus laevis* oocytes. The other purpose was to evaluate the accuracy of detection of hypervascular hepatocellular carcinoma by gadoxetate disodium-enhanced MR imaging. gadoxetate disodium-enhanced MR imaging revealed significant improvement in sensitivity and diagnostic accuracy for detection of hypervascular hepatocellular carcinoma.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	2,000,000	600,000	2,600,000
2010年度	800,000	240,000	1,040,000
2011年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・放射線科学

キーワード：核磁気共鳴画像（MRI）、肝細胞特異性造影剤、ガドキセト酸ナトリウム（Gd-EOB-DTPA）、肝細胞、organic anion transporting polypeptide (OATP)、肝細胞がん、アフリカツメガエル卵母細胞、

1. 研究開始当初の背景

(1) ヒトの肝細胞におけるビリルビンの血中からの取り込みおよび胆汁中への排泄に

関与する膜タンパク質として、それぞれ有機アニオン輸送担体（OATP2、OATP8 など）と多剤耐性関連タンパク質（MRP2（cMOAT）、MDR3

など)がある。これらのタンパク質の異常はビリルビンの代謝に影響し、胆汁うっ滞性疾患の原因となりうる。また、これらのタンパク質は生体内での薬物動態にも大きな影響を有しており、特にがん細胞における抗がん剤に対する耐性にも影響している。

2008年より核磁気共鳴画像(MRI)用の造影剤として、Gd-EOB-DTPA(ガドキセト酸ナトリウム、商品名:EOB・プリモビスト)が市販され、肝腫瘍のMRI診断において臨床で広く用いられるようになった。このGd-EOB-DTPAは、肝細胞に特異的に取り込まれ、胆汁中に排泄される肝特異性造影剤である。それまでの研究の結果よりラットにおいては、Gd-EOB-DTPAはoatp1を介して肝細胞に取り込まれ、cMOATを介して肝細胞から胆汁中に排泄されると考えられていた。一方、ヒトにおいてはそれらの機序はまだ確立されていなかったが、取り込みについてはOATP2あるいはOATP8、排泄に関してはMRP2の関与が推察されていた。

(2) Gd-EOB-DTPA造影MRIは肝臓の腫瘍の診断に有用であることは報告されていたが、肝細胞がんの診断における有用性についてはまだ確立されていなかった。Gd-EOB-DTPA造影MRIでは、肝細胞相における病変の検出に加えて、ダイナミック・スタディの動脈優位相および門脈優位相における血流の評価が可能である。しかしながら、Gd-EOB-DTPA製剤は推奨投与量において、従来の細胞外液性MRI造影剤と比較してガドリニウムの含有量が4分の1であるため、特に動脈優位相での血流の評価が困難となる可能性があった。この血流の評価は肝細胞がんと他の腫瘍との鑑別のほか、治療方針の選択などにも有用であるため、診断において非常に重要な要素である。それゆえ、Gd-EOB-DTPA造影MRIを用いて多血性か乏血性かを含めて肝細胞がんを正しく診断できるかどうかは臨床における重大な検討課題であった。

2. 研究の目的

(1) 第一の目的はヒトOATP遺伝子導入アフリカツメガエル卵母細胞を用いて、OATP2あるいはOATP8それぞれのGd-EOB-DTPAの細胞内への取り込みの関与の有無について検討することである。

(2) 第二の目的は臨床症例での多血性肝細胞がんにおけるGd-EOB-DTPA造影MRIの診断能について詳細に検討することである。

3. 研究の方法

(1) ヒトOATP遺伝子導入アフリカツメガ

エル卵母細胞と対照用のアフリカツメガエル卵母細胞についてGd-EOB-DTPAの取り込みの有無を評価した。遺伝子導入アフリカツメガエル卵母細胞は業者より購入して用いていたが、当初より製品の品質が安定せず、最終的には出荷が停止したため、改めて別の業者より購入することになり、研究遂行にかなりの時間を要した。ヒトの遺伝子導入にはOATP2あるいはOATP8の遺伝子をマイクロインジェクション法により細胞内に注入し、これらの膜タンパク質が細胞表面上に発現するのに必要な期間(3日間)培養したものをを用いた。その後、各遺伝子導入群と対照群をそれぞれGd-EOB-DTPAありとなしの環境で一定時間培養し、Gd-EOB-DTPAの細胞内への取り込みを測定した。なお、培養に用いたGd-EOB-DTPAの濃度や取り込みの時間については、過去の文献で報告されていたラットのoatp1遺伝子導入の実験の方法および結果を参考にして適正と思われる値を算出して用いた。

(2) 肝細胞がんが疑われてGd-EOB-DTPA造影MRIが撮影された症例を対象にMRI画像と手術結果などをレトロスペクティブに対比してGd-EOB-DTPA造影MRIによる多血性肝細胞がんの診断能を評価した。31例において73結節の多血性肝細胞がんが認められ、それらのGd-EOB-DTPA造影MRIにおいて5名の放射線科医が読影実験を行った。画像のセットは、グラディエント・エコーT1強調像(in-phaseとout-of-phase)、高速スピン・エコーT2強調画像、ダイナミック・スタディ(造影前、動脈優位相、門脈優位相)、肝細胞相であり、拡散強調像は今回の検討では含めなかった。そして、結節ベースにおいてalternative free-response receiver operating characteristic (AFROC)解析におけるAz値、検出感度、陽性適中率を算出した。

4. 研究成果

(1) ヒトOATP2あるいはOATP8遺伝子導入アフリカツメガエル卵母細胞ではGd-EOB-DTPAの取り込みが認められたのに対し、対照群の卵母細胞においては明らかな取り込みが認められなかった。この結果よりヒトにおいてGd-EOB-DTPAがOATP2あるいはOATP8を介して肝細胞により込まれることがわかった。海外からも1件のみ、本研究とは評価方法が多少異なるが、ヒトOATP遺伝子導入アフリカツメガエル卵母細胞を用いた検討が行われており、同様の結果が報告されている。この検討結果は肝臓の様々な疾患の病態とGd-EOB-DTPA造影MRIの特に肝細胞相における画像所見とを結びつける上で必要不可欠な知見であり、疾患における病態の解

明や疾患のより詳細な診断等に役立つことと思われる。今後は、上記の OATP2 あるいは OATP8 以外のトランスポーターについても Gd-EOB-DTPA の肝細胞への取り込みの関与の有無について検討が必要と思われる。

(2) 多血性肝細胞がんにおける Gd-EOB-DTPA 造影 MRI の Az 値は 0.74-0.86、検出感度は 0.63-0.73、陽性適中率は 0.88-0.98 であり、多血性肝細胞がんの診断における Gd-EOB-DTPA 造影 MRI の有用性が明らかとなった。血流評価を加味した Gd-EOB-DTPA 造影 MRI の肝細胞がんにおける診断能について検討した研究論文は海外を含めて現時点ではこれ以外にない。この検討結果は肝細胞がんの診療におけるガイドラインのエビデンスとして重要と考えられ、疾患の診断において画像診断が大きな比重を占める肝細胞がんの臨床に大きく貢献するものと思われる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 7 件)

- ① Onishi H, Kim T, Imai Y, Hori M, Nagano H, Nakaya Y, Tsuboyama T, Nakamoto A, Tatsumi M, Kumano S, Okada M, Takamura M, Wakasa K, Tomiyama N, Murakami T, Hypervascular hepatocellular carcinomas: detection with gadoxetate disodium-enhanced MR imaging and multiphasic multidetector CT, European Radiology, 査読有、22 巻、(2012)、845-854
- ② 大西裕満, 金東石, 堀雅敏, 巽光朗, 坪山尚寛, 中本篤, 富山憲幸、【肝臓の EOB・プリモビスト造影 MRI 本検査を有効に活用するための理解すべき課題】EOB・プリモビスト造影 MRI 肝細胞相で非典型的造影所見を示す症例、日獨医報、査読無、55 巻、(2010)、167-178

[学会発表] (計 10 件)

- ① Onishi H, Kim T, Hori M, Tatsumi M, Nakamoto A, Tsuboyama T, Tomiyama N, Can Human Organic Anion Transporting Polypeptide Mediate the Uptake of Gadoxetate Disodium into Hepatocytes?, Radiological Society of North America (RSNA), 97th Scientific Assembly and Annual Meeting, November 30, 2011, Chicago, USA

- ② 大西裕満, ランチョンセミナーV 肝臓 MRI: CO-OPERATION の功績 肝細胞特異性 MR 造影剤 EOB・プリモビストと薬物トランスポーター ~造影剤の肝細胞取り込み機序について~, 第 38 回日本磁気共鳴医学会大会、2010 年 10 月 1 日、茨城県つくば市

- ③ 大西裕満, Gd-EOB-DTPA と薬物トランスポーター ~MRI による生体分子イメージングの可能性~, 大阪大学大学院医学系研究科 放射線統合医学講座同門会講演会、2010 年 4 月 24 日、大阪府吹田市

- ④ 大西裕満, 村上卓道, 今井康陽, 金東石, 堀雅敏, 坪山尚寛, 中本篤, 中矢泰裕, 高村学, 熊野正士, 多血性肝細胞癌における Gd-EOB-DTPA 造影ダイナミック MRI の診断能: 造影ダイナミック CT との比較, 第 69 回日本医学放射線学会学術集会、2010 年 4 月 10 日、神奈川県横浜市

- ⑤ 大西裕満, 金東石, 堀雅敏, 巽光朗, 坪山尚寛, 中本篤, 大須賀慶悟, 前田登, 東原大樹, 友田要, Gd-EOB-DTPA の肝細胞取り込みに関与するトランスポーターの同定: 遺伝子導入卵母細胞を用いた検討, 第 69 回日本医学放射線学会学術集会、2010 年 4 月 10 日、神奈川県横浜市

- ⑥ Onishi H, Murakami T, Kim T, Hori M, Imai Y, Nagano H, Tsuboyama T, Nakaya Y, Nakamoto A, Kumano S, Takamura M, Hypervascular Hepatocellular Carcinomas: Detection with Gd-EOB-DTPA-enhanced MR Imaging and Contrast-enhanced Dynamic MDCT, Radiological Society of North America (RSNA), 95th Scientific Assembly and Annual Meeting, December 1, 2009, Chicago, USA

[図書] (計 2 件)

- ① 大西裕満, 他、秀潤社、画像診断 別冊 KEY BOOK シリーズ 肝胆膵の画像診断 -CT・MRI を中心に-, (2010)、12 (250-261)
- ② Onishi H, Murakami T, Nakamura H, Springer, Diagnosis of Hepatocellular Carcinoma: Multidetector-Row Computed Tomography and Magnetic Resonance Imaging. In: Hayat MA, ed. Methods of Cancer Diagnosis, Therapy, and Prognosis. Volume 5 Liver Cancer, (2009)、15 (221-235)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

大西 裕満 (ONISHI HIROMITSU)

大阪大学・大学院医学系研究科・助教

研究者番号：20452435

(2) 研究分担者

無

(3) 連携研究者

無