

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 25 年 3 月 31 日現在

機関番号： 82606

研究種目： 挑戦的萌芽研究

研究期間： 2010～2012

課題番号： 22659226

研究課題名（和文） 新しい超偏極MRIによる抗がん剤感受性予測分子イメージング

研究課題名（英文） Molecular imaging for the evaluation of chemosensitivity by a novel hyperpolarized magnetic resonance imaging

研究代表者

藤井 博史 (FUJII HIROFUMI)

独立行政法人国立がん研究センター・臨床開発センター・分野長

研究者番号： 80218982

研究成果の概要（和文）：新規の超偏極技術(NMR-SABRE)の導入に必要な基礎的検討を進めた。具体的には、超偏極プローブの安全性について検討し、現行の基礎実験で使用している溶媒や触媒の代替物質を探索した。また、抗がん剤感受性予測に必要な動物腫瘍モデルの治療における反応を観測・評価する技術の確立について検討し、総コリン量の定量化、拡散係数の指標化を行った。抗がん剤 5-FU およびその細胞傷害性代謝産物の核磁気共鳴信号計測技術の実用化を図った。

研究成果の概要（英文）： We investigated the pre-clinical tests for the introduction of NMR-SABRE, a novel hyperpolarized nuclear magnetic resonance technique. One was the evaluation of the safety of hyperpolarized probes. In this study, we searched for safe alternative solvents and catalysts instead of materials that are currently used in basic researches. The other was the development of methods for *in vivo* prediction of chemosensitivity in animal tumor models. In this study, we suggested the usefulness of the quantification of total choline and diffusion index. The evaluation methods of 5-FU, an anticancer drug, and its cytotoxic metabolite were also studied using NMR technique.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,000,000	0	1,000,000
2011 年度	900,000	270,000	1,170,000
2012 年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	2,800,000	540,000	3,340,000

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)、超偏極、分子イメージング

1. 研究開始当初の背景

日本では年間約 30 万人が、がんで死亡するため、治療成績を向上させるための研究が続けられている。しかし、固形がんに対する化学療法の成績は依然低い。これは、多くの患者が感受性の低い抗がん剤治療を受けていることも原因の一つである。個々の患者に対して、抗がん剤感受性試験を実施することが理想的であり、これには、最近研究が盛んな分子イメージングの技術を応用して、抗がん剤の分子的、代謝的な働きを画像化し、病変に効果的に作用していることを *in vivo* で検証することが期待されている。我々は、過去には核医学の手法を用いて、抗がん剤の効果予測を試みたが実用には至っていない。核医学では、抗がん剤と化学的な構造が類似した化合物をラジオアイソトープで標識して使用するので、薬物動態が真の抗がん剤とは異なり、予測に誤差が生ずるためである。一方、MRI の化学シフトイメージングでは、抗がん剤の構造を変えることなく、抗がん剤の代謝を追跡し、mM レベルであれば定量化できる。しかし、ヒト生体内で、 μM レベルの抗がん剤の感受性を予測には、MRI の検出感度を高めなくてはならない。最近、NMR-SABRE (NMR signal amplification by reversible exchange) という新しい超偏極法が報告され、常温かつ低磁場環境下で、パラ水素を使い、化合物の化学構造を変えることなく、そのプロトン NMR 信号を 800 倍以上に増強できることが着目されている。これを *in vivo* MRI に応用して、がん組織内において抗がん剤の薬剤動態や代謝の様子をイメージングすることができれば、有用と考えられる。

2. 研究の目的

新しい超偏極法 NMR-SABRE (NMR signal amplification by reversible exchange) とプロトン MRI を使って、抗がん剤に対するがん病変の感受性や耐性を *in vivo* 計測する分子イメージング法を開発する。

抗がん剤のプロトン原子核の磁気共鳴 (NMR) 信号を、超偏極技術で約 800 倍に増強したのち、これを投与し、抗がん剤の薬物動態や代謝が異なる微細領域 (1mm 以下) を 1H MRI 上で検出することを目指す。

3. 研究の方法

(1) 生体内に超偏極プローブを投与することの安全性

NMR-SABRE の原法で溶媒として用いられているメタノールや tetrafluoroborate と異なり、人体に対して毒性を示さず、人体に投与可能な代替化合物を探索した。また、超偏極反応時に添加する触媒作用を有する物質についても同様に人体に投与可能な代替物質を検討した。

(2) MR-SABRE を用いて抗がん剤感受性予測を行うための定量的指標の確立

マウス移植腫瘍を摘出し、組織を粉碎した後、NMR 信号の解析を行い、腫瘍の代謝活性を評価するのに適当なピークを示す生体内物質を探した。具体的には、9.4 Tesla 小動物専用 MRI 装置を用いて、マウスモデルの移植腫瘍の *in vivo* MRS 定量解析を行った。

また、3.0 Tesla 人体用 MRI 装置を用いて、Wistar ラットの同所性実験肝腫瘍の拡散定数の測定を行った。

さらに、既存の抗がん剤の 5-FU と、その

細胞障害性の代謝物 FdUMP の生体内分布を画像化できるパルスシーケンスについて検討した。

4. 研究成果

(1) 生体内に超偏極プローブを投与することの安全性

超偏極プローブの溶媒として人体に投与可能な化合物について検討したが、検討した物質では、超偏極の効率の低下や超偏極の持続時間の短縮が考えられ、理想的な代替物質を決定することはできなかった。また、超偏極反応時に添加する触媒作用を有する物質については、触媒能力は維持しながら、生体には吸収されず毒性を抑えることができる化合物が理想的と考えられたが、これについても最終的な化合物を決定するには至らなかった。

(2) MR-SABRE を用いて抗がん剤感受性予測を行うための定量的指標の確立

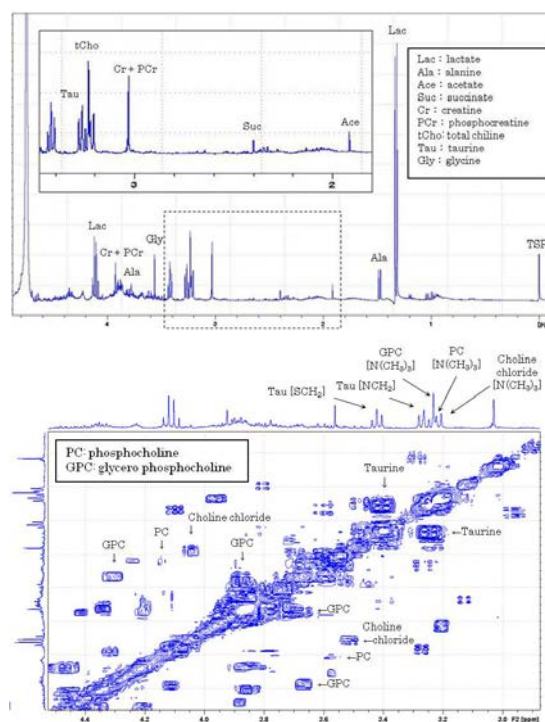
9.4 Tesla 小動物専用 MRI 装置を用いた *in vivo* MRS に関する検討では、ddY マウスに移植した S180 腫瘍など担癌マウスモデルで総コリン含有量の定量が可能となった(図 1、2)。コリンは細胞膜代謝の活性を反映し、腫瘍細胞の活性に応じたピークを示すため、腫瘍の代謝を評価するよい指標になると考えられた。

3.0 Tesla 人体用 MRI 装置を用いた検討では、Wister ラットの同所性実験肝腫瘍に対して、呼吸運動に伴うアーチファクトを抑制した拡散強調画像を得る技術を確認し、見かけの拡散定数の定量を行うことが可能となった(図 3)。この拡散定数は、腫瘍組織の活性に応じて変化し、特に腫瘍細胞が抗がん剤に反応して死滅した場合、その様式がアポトーシスであろうが壊死であろうが大きく変化するこ

とが知られている。このため、見かけ上の拡散定数は、抗がん剤投与後の細胞殺傷効果の指標として使うことができると考えられる。

既存の抗がん剤の 5-FU とその細胞障害性の代謝物 FdUMP の生体内分布を画像化できるパルスシーケンスについての検討では、1-2 mmol/kg の 5FU を投与した担がんマウスに対して、5FU から+5ppm の FdUMP を含む共鳴線を化学シフトイメージングし、腫瘍部位の信号量を計測した。しかし、研究機関終了時点では、実用化できる段階には至っていないため、今後も検討を続け、9.4 Tesla 小動物専用 MRI 装置で期待できる結果が得られた場合には、3.0 Tesla 人体用 MRI 装置を用いた検討に展開させて、超偏極技術を用いた *in vivo* イメージングを行う環境が整備されるのを待つ予定である。

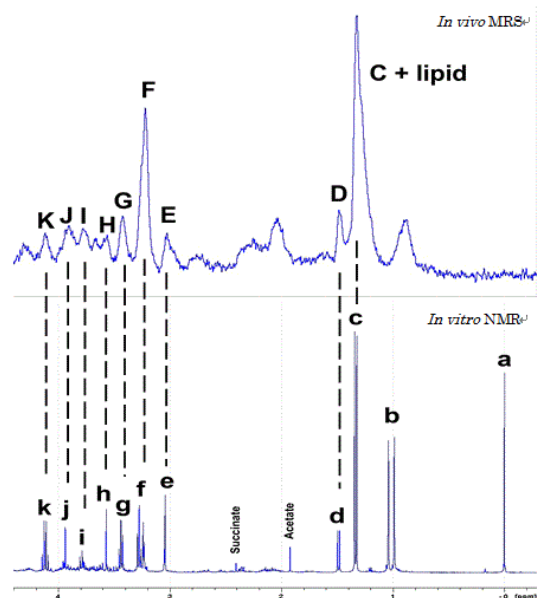
図 1 マウス移植腫瘍の NMR 解析



1D (上) 及び 2DNMR (下) 解析

tCho は、コリン化合物の全体を表示している (上)。コリン化合物は choline chloride, PC (phosphocholine), GPC (glycerophosphocholine)より成る (下)。

図2 マウス移植腫瘍の *in vivo* MRS 定量解析

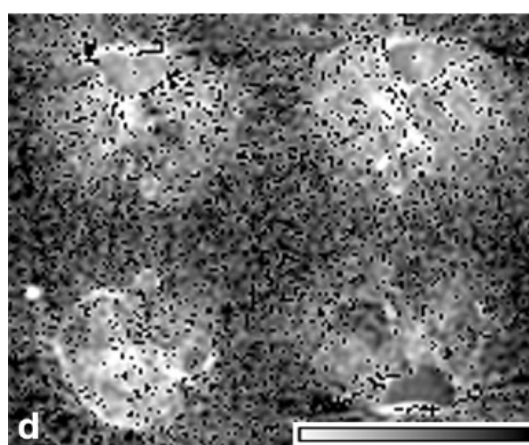
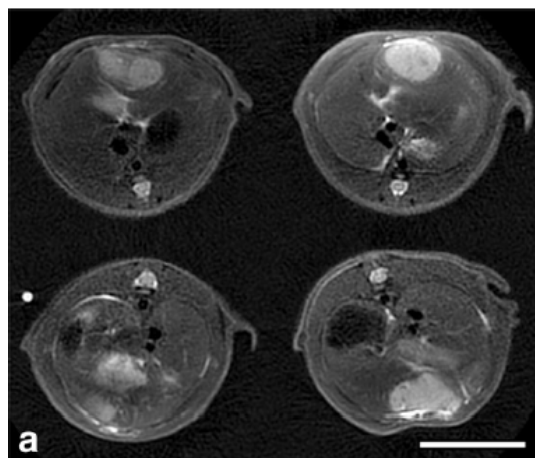


マウス移植腫瘍の *in vivo* MRS (上)と *in vitro* NMR (下)。

腫瘍内の total choline (f) は、 $1.4 \pm 0.6 \mu\text{mol/g tumor tissue}$ (n = 6)

ピークの帰属は、b; lactate, C, c, K, k; alanine, D, d, I, i; creatine, E, e, J, j; total choline F, f; taurine, F, f, G, g; glycine, H, h。3-(trimethylsilyl)-propionic -2,2,3,3-d₄ acid, a; DL-valine-2,3,-d₂ は、NMR 計測においてケミカルシフト及び回収量評価のため加えた外部標準物質であるため、*in vivo* MRS では検出されない。

図3 ラット同所性実験肝腫瘍の拡散定数



呼吸運動に伴うアーチファクトを抑制した T₂ 強調画像 (上, a) と拡散強調画像 (下, d)。上図のバーは 20 mm を表し、下図のグレイスケールは見かけの拡散定数を示し、0 (黒)から $3.0 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{sec}$ (白) を表している。4匹のラットを同時に撮影した画像で、上の2匹は仰臥位、下の2匹は腹臥位である。左下を除く3匹では、肝臓の左葉に、T₂強調高信号で、かつ ADC の低い腫瘍が認められる。

11匹の肝腫瘍の ADC は、 $1.57 \pm 0.37 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{sec}$ (平均±標準偏差)であった。

図3は Yamaguchi M, Fujii H, et al. JMIRI 2012 Dec 13. doi: 10.1002/jmri.23969 に掲載済。

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 1 件)

① Yamaguchi M, Mitsuda M, Ezawa K, Nakagami R, Furuta T, Sekine N, Niitsu M, Fujii H: Artifact-reduced simultaneous MRI of multiple rats with liver cancer using PROPELLER. J Magn Reson Imaging, doi: 10.1002/jmri.23969 (in press)

6. 研究組織

(1)研究代表者

藤井 博史 (FUJII HIROFUMI)
独立行政法人国立がん研究センター・臨床
開発センター・分野長
研究者番号：80218982

(2)研究分担者

山口 雅之 (YAMAGUCHI MASAYUKI)
独立行政法人国立がん研究センター・臨床
開発センター・ユニット長
研究者番号：90450577

(3)連携研究者

梅田 泉 (UMEDA O. IZUMI)
独立行政法人国立がん研究センター・臨床
開発センター・ユニット長
研究者番号：40160791