

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 3 月 31 日現在

機関番号：14301

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010 ～ 2011

課題番号：22791186

研究課題名（和文） マウス腫瘍における ^{19}F MRS/MRI を用いたフッ素糖代謝研究研究課題名（英文） Metabolic imaging using fluorinated hexoses in tumor bearing mouse by ^{19}F MRS/MRI

研究代表 榑崎 美智子 (NARAZAKI MICHIKO)

京都大学・大学院情報学研究所・特定研究員（地域科学技術振興）

研究者番号：10467459

研究成果の概要（和文）：核磁気共鳴法 MRS/MRI による腫瘍の質的診断に向けた定量的な代謝画像計測法確立に向け研究を行った。 ^{19}F フッ素標識糖を MRS/MRI 試薬として利用し投与直後から 48 時間後まで観測を行い、腫瘍へのフッ素糖の集積を画像化した。さらに定量性をもった ^{19}F 画像取得のため、*in vivo* におけるフッ素糖の緩和時間測定を行った。また画像測定後に腫瘍を摘出、それらの水抽出物の ^{19}F NMR 測定によって代謝物の詳細な確認を行い、2-deoxy-2-fluoro-D-glucose (FDG) 代謝物が主に FDM として長時間保持されていることを確認した。以上から本法が、腫瘍の代謝特性を生かした画像診断法であることを示した。

研究成果の概要（英文）： ^{19}F MRS/MRI using 2-deoxy-2-fluoro-D-glucose (FDG) was explored as a method for quantitative imaging towards characteristic diagnosis of tumor. ^{19}F FDG metabolic images were obtained at the tumor position at 0.5, 3, 24, 48 hour after FDG injection. Metabolites were quantified in tumor tissue and organs excised after the imaging, and the detailed analysis was performed as water extracts by ^{19}F NMR. In the excised tissue, FDG metabolites were retained for a long time at the high concentration. ^{19}F MRS/MRI was shown to be an excellent method for tumor characterization reflecting metabolic specificity.

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	300,000	1,300,000
2011 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,000,000	600,000	2,600,000

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)、多核種、 ^{19}F

1. 研究開始当初の背景

(1) 近年、分子イメージングとして生体の機能を反映した画像の取得が注目されてい

る。中でも、生体における核磁気共鳴スペクトロスコピー (Magnetic Resonance Spectroscopy, MRS) および化学シフト選択イ

メージング (Chemical Shift Imaging, CSI) は生体内の代謝物や pH、温度を非侵襲的に測定出来る方法であり、¹H MRS に加え NMR 観測可能な炭素 ¹³C で標識した糖や薬剤中に含まれる ¹⁹F 核などを測定対象とした多核種 MRS についてもその有用性が注目されている。特にフッ素は生体内に殆ど含まれず、磁気回転比が ¹H に次いで大きく NMR 検出感度が高いため、MRS/MRI 分子イメージング測定対象核として有望と期待されている。しかし MRS や CSI は生体内の低濃度の代謝物を測定対象としており、特に多核種を用いての測定は PET 等に比べ感度が低いため時間および空間分解能向上が重要な課題である。また代謝物毎または代謝物の存在する組織によっても緩和時間が異なるため、得られる MRS/MRI の信号強度について定量的な評価が困難である。

(2) PET 試薬である 2-Deoxy-2-[¹⁸F]-fluoro-glucose (FDG) は脳機能や腫瘍を対象とした糖代謝活性診断薬として広く研究されている。この FDG に対し、¹⁹F 体を用いた NMR 研究により FDG の特異的な代謝が明らかにされ (Kanazawa et al. Life Science, 1986)、さらに FDG 代謝物がマウス腹水腫瘍において主に NDP-FDM として長時間高濃度で保持されていたことから、この代謝物の集積を指標とした腫瘍診断が提案されている (Y. Kanazawa et al. NMR in Biomed, 1997)。またフッ素標識糖代謝物については脳および腹水腫瘍において ¹⁹F MRI 画像化が報告されている (T. Nakada et al. Magn Reson Med, 1988, Y. Kanazawa et al. NMR in Biomed, 1997)。

研究代表者は前出の金沢らと共に ¹⁹F 標識糖のマウス腫瘍における代謝研究に着手しており、皮下腫瘍内に存在する複数の ¹⁹F 標識糖代謝物の画像化に成功している。それら腫瘍内の代謝物濃度について画像測定後に抽出し ¹⁹F NMR を用いて推定したところ、1mM 以下と非常に低く、近年報告されている ¹⁹F 画像に比べても遜色のない画質で測定可能であった。

2. 研究の目的

¹⁹F MRS/MRI による腫瘍の質的診断法の確立に向け、

(1) 近年報告されている様々な高速画像測定法を用い、定量的な情報をもったフッ素糖代謝物画像化に最適な方法を評価する。

(2) 複数の腫瘍を用いてそれぞれのフッ素糖代謝特性を明らかにし、代謝物測定による腫瘍の質的診断法としての有用性を検討する。また、治療薬の投与を行い、治療効果の指標として代謝情報を用いることができないか、検討する。

3. 研究の方法

(1) 7T 動物用 MRI 装置において、¹⁹F フッ素で標識した糖を colon26 担がんマウスへ投与し ¹⁹F MRS/MRI にて代謝追跡を行う。研究代表者らが以前使用していた Fast spin echo (FSE) 法に加え、近年利用されている Ultra short TE (UTE)、Fast imaging with steady state (FISP)、Gradient echo (GE)、Chemical shift imaging (CSI) といった画像測定法を利用しファントム実験および *in vivo* 測定における測定を実施、一定時間で得られる S/N 比を比較検討することにより、最適な方法を選択する。また、*in vivo* において繰り返し時間 (TR) を変えた画像および、FSE において k 空間のデータ取得法を変えた測定を行い、体内の縦緩和時間 (T_1) および横緩和時間 (T_2) マップ作成のためのデータを得る。

(2) フッ素糖をマウスに投与し MRS によって代謝物の種類とその時間変化を追跡し、それらの分布を (1) によって最適化された測定法により画像化する。さらに画像測定後に抽出した腫瘍をはじめとする各臓器の ¹⁹F NMR を測定することによって画像信号強度と代謝物濃度の関係を明らかにし、画像の定量性を検証する。また抽出した腫瘍の水抽出試料を作成し、¹⁹F NMR 測定を行うことによって、詳細な生成代謝物の確認を行い、用いた腫瘍の代謝特性を明らかにする。

4. 研究成果

(1) フッ素糖の *in vivo* における緩和時間は、 $T_1=0.93\pm 0.34$ sec、 $T_2=104\pm 33$ msec であり、比較的 T_2 も長く極端に短い TE を用いる必要はないと判断した。鉄造影剤を用い、 T_2 を 100 msec に調整した FDG ファントムを用い、一定測定時間における FSE, GE, FISP, UTE, CSI の S/N 比を比較した。FSE あるいは FISP>CSI>UTE>GE という順に S/N は高かった。*In vivo* でも同等の試験を行ったが、特に生体内では低濃度の代謝物の検出を行うため、一定時間では積算効率のよい FSE, FISP でしか信号は得られなかった。さらに、ファントム形の描出と言う点で、FSE が FISP に比べ優れていた。これは、7T という高磁場で susceptibility が画質に影響を与えており、その影響が FSE より FISP で顕著であるということが原因であると考えられる。*In vivo* において特に、腫瘍のような特殊な形をしたものの描出に関しては、以上の結果から FSE が優位であると考えられた。実際に *in vivo* において、各測定を試みたところ、FSE で複数臓器に信号が認められた場

合において、FISP ではその一部しか信号が確認できないなど、FSE の有用性が確認された。

さらに、FSE を用い k 空間のサンプリングの工夫によって、 T_2 緩和時間マップ、および複数の TR を用いた画像測定を行って、 T_1 緩和時間マップを行うためのデータを得た。これらから、各々の臓器で得られた画像の信号強度に対する補正を行い、定量的な画像評価を行うことが可能となった。

(2) *in vivo* MRS による、全身の ^{19}F 信号測定により、投与した FDG が徐々にマンノース体 (FDM) へと代謝され、投与 24 時間後には投与直後の半分程度まで全体の信号は低下しているものの、FDG よりも FDM が多く保持されていることが確認された。FSE を用いた MRI において、腫瘍や心臓、脳への FDG の集積が描出され、投与 2 日目には FDM が主に腫瘍や心臓で保持されていることが確認された。摘出組織の定量結果から、投与 3 時間後において腫瘍内には $500 \mu\text{mol}$ 程度と肝臓や脳よりも高い濃度の代謝物が保持されていたことが示された。投与 24 時間後の保持量は心臓で $300 \mu\text{mol}$ 、腫瘍で $100 \mu\text{mol}$ 程度であったが、1 時間の測定で腫瘍における代謝物の画像化に成功した。

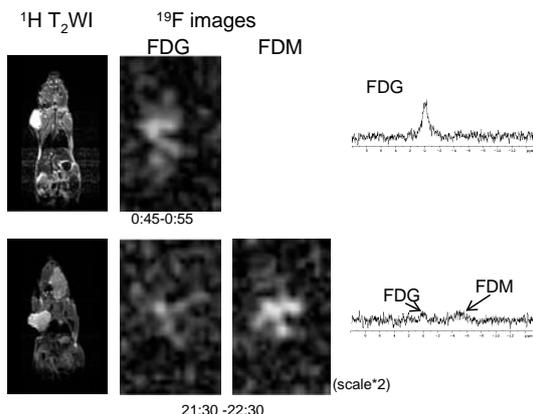


Fig.1 colon26 がんマウスにおける FDG 代謝物画像
FDG 100 mg/kg 投与、冠状断

画像 左: ^1H T_2 強調画像 中央: FDG 代謝物選択画像 右: FDM 代謝物選択画像

^{19}F 画像の下の時間は、FDG 投与からの経過時間を示す。画像の下段 (60 分測定) は上段 (10 分測定) 2 倍の強度で表示した。

スペクトル 全身からの ^{19}F スペクトル。5 分測定

さらに、腫瘍内における詳細な代謝物の情報を得るため、FDG 投与から 3, 24, 48 時間経過後に腫瘍を摘出、水抽出物を作成し、 ^{19}F $\{^1\text{H}\}$ NMR 測定を行った。投与 3 時間後には FDM 群が生成されていることが確認され、48 時間後には代謝物全体の保持量は顕著に減少したものの、FDM が FDG 群に比べ保持され

ていることを確認した。研究担当者が以前行ったマウス原発性乳腺線がんにおける同様の測定では、FDM 群の生成が少ないという特徴があり、これら代謝物について他の腫瘍と比較検討することにより、腫瘍のキャラクター化に結びつけることができると考える。

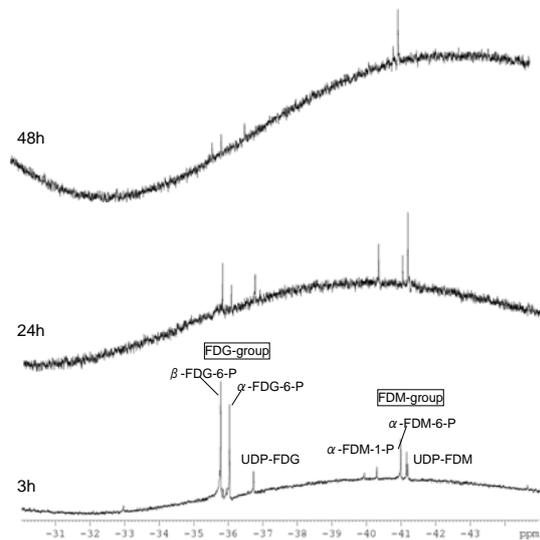


Fig.2 FDG 投与 colon26 腫瘍の水抽出物 ^{19}F $\{^1\text{H}\}$ スペクトル

抗がん剤である 5-FU の 1 週間連続投与後 FDG を投与し、画像測定および腫瘍の水抽出物の ^{19}F NMR 測定を行った。5-FU 投与、非投与群ともに、FDM の生成および、FDG 代謝物の高濃度保持が認められたが、水抽出物による詳細な代謝物の確認で、明確な差は認められなかった。腫瘍がある程度成長してから 5-FU 投与を開始したことや、さらに 5-FU 投与後の腫瘍成長にも非投与群との明確な差が認められなかったことから、5-FU の投与開始時期および、投与量、または抗がん剤の適切な設定が必要であったと考えられる。

本研究では近年用いられている高速画像化法を比較し、さらに *in vivo* における緩和時間測定を合わせて行うことによって、フッ素糖代謝物の画像化に最適な FSE による画像測定を行った。本法は化学シフトの違いによって代謝物あるいは反応生成物を識別し、その生体内分布を得る NMR の特徴を生かした分子イメージング法として有用である。また、FDG 代謝物が高濃度で長時間保持されている特長を生かし、用いた腫瘍における代謝特性を明らかにした。今後特に悪性度の異なる腫瘍を用いた検討を行うことによって、さらに、腫瘍の代謝特性を生かした画像診断法として本法が有用性が示されると期待される。

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 4 件)

- ① K Sano, T Temma, T Azuma, R Nakai, M Narazaki, Y Kuge, H Saji. (2011) A pre-targeting Strategy for MR Imaging of Functional Molecules Using Dendritic Gd-Based Contrast Agents. *Molecular Imaging and Biology* 13 1196-1203
- ② Y Takaoka, K Kiminami, K Mizusawa, K Matsuo, M Narazaki, T Matsuda, I Hamachi (2011) Systematic Study of Protein Detection Mechanism of Self-assembling ^{19}F NMR/MRI Nanoprobes toward Rational Design and Improved Sensitivity. *JACS* 133 11725-11731
- ③ Y Sun, Y Takaoka, S Tsukiji, M Narazaki, T Matsuda, I Hamachi (2011) Construction of ^{19}F -labeled lectin using ligand-tethered DMAP chemistry for a ^{19}F -NMR based saccharide biosensor. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Lett* 21 4393-4396
- ④ T kawashima, Y Inuzuka, J Okuda, T Kato, S Niizuma, Y Tamaki, Y Iwanaga, A Kawamoto, M Narazaki, T Matsuda, S Adachi, G Takemura, T Kita, T Kimura, T Shioi (2011) Constitutive SIRT1 Overexpression Impairs Mitochondria and Reduces Cardiac Function in Mice *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 51 1026-1036

[学会発表] (計 15 件)

- ①松田哲也、小森芳秋、金櫛、榎崎美智子、林浩二、天野晃スペクトラム拡散法を応用した tagging MRI による高分解能運動解析法 第 39 回日本磁気共鳴医学会大会 2011 年 9 月 29 日-10 月 1 日 0-2-285
- ②松尾和哉、高岡洋輔、水澤圭吾、榎崎美智子、松田哲也、浜地格 自己会合型 ^{19}F -NMR/MRI オフオンプローブによる酵素イメージング 第5回バイオ関連化学シンポジウム 2011年9月12-14日

③高岡洋輔、木南啓司、水澤圭吾、松尾和哉、榎崎美智子、松田哲也、浜地格 Turn-on型蛋白質検出 ^{19}F MRIプローブの検出メカニズム解明と高感度化 第5回バイオ関連化学シンポジウム 2011年9月12-14日

④T Sakamoto, K Maruno, M Narazaki, T Matsuda, N Takahashi, T Kawada Establishment of reporter systems for evaluation of UCPI expression *in vivo* ^{19}F シンポジウム褐色脂肪研究の新展開 2011. 6. 18-19, 札幌P-5

⑤木村祐、雉鳥弘樹、三宅由花、榎崎美智子、松田哲也、矢野哲哉、近藤輝幸 抗HER2 ペプチドを導入した新規デンドリマーアミン配位 Gd-MRI 造影剤の合成と機能評価 第6回日本分子イメージング学会総会 2011年5月26-27日 P-010

⑥石川峻吾、木村祐、雉鳥弘樹、三宅由花、榎崎美智子、松田哲也、矢野哲哉、近藤輝幸 ポリエチレングリコールを導入した新規デンドリマーアミン配位Gd-MRI 造影剤の合成と機能評価 第6回日本分子イメージング学会総会 2011年5月26-27日 P-008

⑦三宅由花、木村祐、雉鳥弘樹、石川峻吾、矢野哲哉、松田哲也、榎崎美智子、年光昭夫、近藤輝幸 末端アミノアルコール型新規デンドリマーアミン配位Gd-MRI 造影剤の合成と機能評価 第6回日本分子イメージング学会総会 2011年5月26-27日 P-007

⑧Y Komori, A Amano, K Maehara, J Li, M Narazaki, T Matsuda A motion tracking method applying spread spectrum communication to tagging MRI 19th ISMRM 2011 年5月9-13日 p2567

⑨近藤輝幸、神杉遼太、木村祐、年光昭夫、田畑泰彦、松田哲也、榎崎美智子 光超音波-磁気共鳴イメージングのためのサイズ制御されたGd₂O₃ナノ粒子の合成とマウスでの動態評価 第91春季年会 日本化学会 2011年3月26-29日1D7-55

⑩雉鳥弘樹、木村祐、榎崎美智子、松田哲也、矢野哲哉、年光昭夫、近藤輝幸 PEG鎖を導入した新規デンドリマーアミン配位Gd-MRI造影剤の合成と機能評価 第91春季年会 日本化学会 2011年3月26-29日3B5-17

⑪木村祐、三宅由花、雉鳥弘樹、石川峻吾、矢野哲哉、松田哲也、榎崎美智子、年光昭夫、近藤輝幸末端アミノアルコール型新規デンドリマーアミン配位Gd-MRI造影剤の合成と機

能評価 第91春季年会 日本化学会 2011年
3月26-29日3B5-16

⑫小森芳秋、天野晃、金櫛、林浩二、榎崎美智子、前原慶子、松田哲也 スペクトラム拡散通信法のタギングシネMRIへの応用 第38回日本磁気共鳴医学会大会 2010年9月30日-10月2日 T-2-222

⑬松田哲也、小森芳秋、金櫛、林浩二、榎崎美智子、前原慶子、天野晃 スペクトラム拡散通信の応用によるtagging MRIの運動解析精度の向上 第38回日本磁気共鳴医学会大会 2010年9月30日-10月2日 T-2-221

⑭金櫛、小森芳秋、榎崎美智子、天野晃、松田哲也 スペクトラム拡散通信を応用したtagging MRIによる運動追跡精度の実験的検討 MI研究会, 2010年9月3日

⑮木村祐、神杉遼太、田畑泰彦、松田哲也、榎崎美智子、近藤輝幸 磁気共鳴-光超音波マルチイメージングを目指したサイズ制御したGd203ナノ粒子の合成と機能評価 第5回分子イメージング学会 2010年5月22-23日 0-3-2, P-2-10

〔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：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

榎崎 美智子 (NARAZAKI MICHIKO)

京都大学・大学院情報学研究科・特定研究員 (地域科学技術振興)

研究者番号：10467459

(2) 研究分担者 ()

研究者番号：

(3) 連携研究者 ()

研究者番号：