

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 27 日現在

機関番号：32644

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23592107

研究課題名(和文)MRI情報に基づいた脳腫瘍に対する温熱・化学療法の創生

研究課題名(英文)Newly developed treatment for brain tumor under the MR temperature measurement

研究代表者

松前 光紀(MATSUMAE, Mitsunori)

東海大学・医学部・教授

研究者番号：20209604

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円、(間接経費) 1,200,000円

研究成果の概要(和文)：画像診断の分野で急速に発展したMRIの内部で、病変の局在を確認しつつ、中枢神経に発生した脳腫瘍の治療を完結する、新しいターゲティング温熱化学療法の基礎研究を行った。本研究成果としては、腫瘍組織の温度を非侵襲的にMRIで計測可能とし、腫瘍組織で温度感受性に抗腫瘍効果を発揮するターゲティング化学療法を開発し、MRI内部で非侵襲的に組織温などの物理的要素をリアルタイムにモニターしつつ腫瘍をレーザーで安全に加熱し、加熱された腫瘍組織において温熱療法と化学療法の相乗効果を有する、新しい低侵襲治療システムを創生した。以上を臨床応用するにあたり必要な基礎研究を行った。

研究成果の概要(英文)：MR temperature measurement using the water proton chemical shift technique represents a promising method for temperature monitoring in vivo. The novel diffuse-projection method is clearly visualized in different optical penetrations upon MR temperature measurement. We detected the serious problem of carbonization around the laser tip and during LITT, and herein described a combination of two methodologies that regulated temperature during LITT using MR temperature monitoring to reduce this risk of carbonization: the combined use of a diffuse-projection method and the intermittent irradiation method. Temperature measurement by MR not only evaluates the temperature profiles obtained by different methods, but also determines the appropriate irradiation method for the treatment of intracranial lesions.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・脳神経外科学

キーワード：MRI 温度計測 レーザー治療 化学療法 画像情報

## 1. 研究開始当初の背景

近年放射線診断の分野で急速に発展した MRI は、生体の詳細な画像を提供するのに加え、代謝産物の変化や、組織の温度や圧力などの生体内の化学的・物理的変量を非侵襲的に計測することを可能にしている。我々は、この MRI を用いた生体組織の温度計測に早くから注目し、脳組織をレーザーで加温した際の温度変化を、リアルタイムに測定する技術を開発してきた。一方日常の臨床においては、悪性腫瘍の治療成績向上に努めているが、脳腫瘍の分野ではここ 10 年間治療成績は一定である。頭頸部以下の悪性腫瘍の治療においては、近年温熱療法の有用性が散見されるが、頭蓋内の腫瘍に応用するには温熱療法による温度の上昇範囲を適切に、しかも侵襲を加えることなくモニターする必要がある。さらに、頭蓋内に発生した悪性腫瘍の治療成績を向上させるためには、腫瘍組織に特異性を有するターゲティング温熱化学療法の開発も望まれる。

よって今回我々は、腫瘍の局在診断に優れる MRI 装置の中で、脳腫瘍組織をレーザーで加温し、そこに経静脈的に投与された抗がん剤を、温度感受性を持たせた drug delivery system で到達させ、脳腫瘍局所で抗腫瘍効果を発揮するターゲティング温熱化学療法を開発するための、基礎研究を着想するに至った。

## 2. 研究の目的

今回我々は、脳腫瘍に対する drug delivery system として、リポソームの利用を考えた。リポソームは、生体の細胞膜を構成しているリン脂質から構成される人工の微粒子である。細胞膜と同様に二分子膜で、水溶性や脂溶性の薬物を包含することが出来き、生体適合性が高く、体内では薬物を分解酵素などから保護しながら運搬できるため、理想的な drug delivery

system と考えられる。ところが、生体が有する固有の外来異物に対する排出機構により、リポソームも例外なく、肝臓や脾臓を中心とする細網内皮系組織の貪食細胞に捕捉される。そこで、異物排出機構に捕らわれることなく目的の組織にターゲティングする機能を有し、かつ組織の温度上昇に伴い包埋された薬物を放出するリポソームの開発が望まれる。我々は、リポソームの表面を水溶性高分子ポリエチレングリコールで覆ったリポソームを開発し、細網内皮系組織に取り込まれにくく、血中に長時間循環滞留する特性を有する、ステルスリポソームの合成を平成 22 年度までに終了した。さらに、このステルスリポソームのリン脂質を調整し、温度感受性に薬物を放出させる手法も終了した。そこで臨床用診断機器として、脳腫瘍の局在診断に優れた威力を発揮する MRI にて組織の温度変化を計測し、腫瘍の形態と温度をモニタリングしながら、局所に到達した温度感受性ステルスリポソームを加温して、ターゲティング温熱化学療法を行う研究に着手する。組織の加温方法にはレーザーを選択する。レーザーによる組織の加温は、高エネルギーを利用してターゲット辺縁の温度勾配を急峻に変化させることが可能で、周囲正常脳への影響を最小限に抑える事ができ、また頭蓋内へは小孔から挿入することが可能などの理由により選択した。

イメージする脳腫瘍の温熱化学療法は、ステルスリポソームが有する長時間循環滞留特性を利用し、抗がん剤封入リポソームを血流の分布が多い腫瘍組織に集積させ、局所温熱効果によって腫瘍組織に薬剤放出をさせ、温熱と薬剤による抗腫瘍相乗効果を狙うものである。

## 3. 研究の方法

平成 23 年度は、細網内皮系組織に取り込まれにくく、血中に長時間循環滞留する特性を有し、かつ温度感受性に包埋された薬物を放出するステルスリポソームの精度確認を行った。また MRI 上で薬物分布の可視化を試みるため、ステルスリポソームにガドリニウム造影剤を同時包埋する技術

を開発した。調剤が終了したステルスリポソームを用い、MRI で大腸がん皮下移植ヌードラットの腫瘍組織に、レーザーファイバーを挿入して組織を加温し、抗がん剤の血中濃度と組織濃度、および画像所見を検討し、リポソーム開発の成果を検証した。

腫瘍組織にて最も高い薬理効果を発揮し、しかも周囲の健常組織への分布を抑制し、かつ腫瘍組織の温度上昇に応じて封入された抗がん剤を放出する、温熱感受性リポソームを開発した。リポソームに封入する抗がん剤は、ドキソルビシンを使用した。In-vitro の実験系においては、温度感受性ステルスリポソームの開発試験を行うが、具体的には 37 の結晶中で封入された抗がん剤が放出されず、しかも 40 にて血中へ放出が促されるように、リポソームの脂質組成を調整し、研究開発目標を達成した。

ステルスリポソームの処方が終了した段階で、レーザー光を用いた組織加温実験を in-vivo で行った。実験系としては、MRI 装置内部で容易に撮像が行いやすい、ヌードラット大腸がん皮下移植モデルを使用する。ここで In-vitro 実験で開発された、ドキソルビシン封入リポソームのステルス性を評価する方法を示す。対照群は、リポソームにより封入されていないフリーのドキソルビシンと、血中から容易に網内系に取り込まれる（ステルス性を持たない）リポソームに封入されたドキソルビシンとした。ヌードラット大腸がん皮下移植モデルの尾静脈から、フリーのドキソルビシン、非ステルスリポソーム封入ドキソルビシン、ステルスリポソーム封入ドキソルビシンを静注し、経時的に血中濃度を測定した。体外排泄されるフリーのドキソルビシンと、網内系に取り込まれる非ステルスリポソーム封入ドキソルビシンに対して、ステルスリポソーム封入ドキソルビシン投与群における 24 時間後の血中濃度（停滞率）が、ドキソルビシン総投与量の 25%以上である場

合、開発されたリポソームのステルス性が良好と判断した。次に網内系組織への取り込みを、組織内ドキソルビシン濃度で検証した。ドキソルビシン封入リポソームを静脈内投与し、24 時間経過後の肝臓内の残留率が、フリーのドキソルビシンの 10 倍以上である場合、その組織内滞留性良好と評価した。次にステルスリポソームとコントロールリポソーム（ステルス性をもたないもの）の比較を行う。ステルスリポソームがコントロールリポソーム（ステルス性をもたないもの）に比べ、肝臓内ドキソルビシン残留率が 50%以内に抑制された場合、網内系への取り込みが十分抑制され、良好な血中停滞性を有する、優れたドキソルビシン封入ステルスリポソームが開発された。さらに移植された腫瘍における組織内濃度を測定し、ステルスリポソームが群のドキソルビシン濃度が、その他の群と比して 2 倍以上であることを確認した。

以上の実験とその評価により、良好な血中停滞性と十分な腫瘍組織内濃度が得られる、ドキソルビシン封入ステルスリポソームが開発された。

同じ動物実験系を用い、移植された腫瘍組織をレーザーで加温し、組織の温度変化とリポソームの崩壊によるドキソルビシンの放出率を検証した。

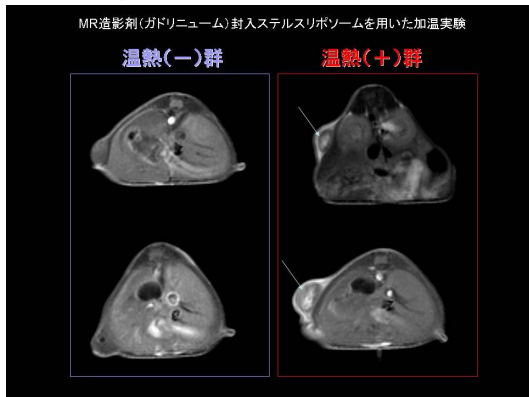
経静脈的にドキソルビシン封入ステルスリポソームを投与し、皮下移植した腫瘍内部にレーザーファイバーを挿入、MRI 温度測定下に腫瘍内温度を 36 から 44 に 2 毎の加温を行い、設定温度毎のドキソルビシン組織内濃度を測定する。In-vitro の実験系で確認された温度依存性にリポソームが崩壊し、放出されたドキソルビシンの組織内濃度は 40 を境に急速に増加することを実証した。

#### 4. 研究成果

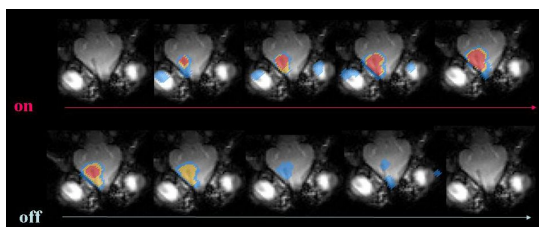
経静脈的にドキソルビシン封入ステルスリポソームを投与し、皮下移植した腫瘍内部にレーザーファイバーを挿入、MRI 温度測定下に腫瘍内温度を 36 から 44 に 2 毎の加温を行い、設定温度毎のドキソルビシン組織内濃度を測定した。In-vitro の実験

系で確認された温度依存性にリポソームが崩壊し、放出されたドキソルピシンの組織内濃度は 40 を境に急速に増加することを実証した。

この段階で、リポソームから放出される抗ガン剤の組織内拡散を MRI 画像にて可視化するため、リポソームにドキソルピシンと



MRI 造影剤であるガドリニウムを同時封入する。これにより、MRI にて加温された脳腫瘍組織内部で放出されるガドリニウムの拡散を、画像表示することにより間接的にドキソルピシンの拡散を非侵襲的に評価することが可能となる。この抗ガン剤・ガドリニウム同時封入リポソームは、これまでにない独創的なターゲティング化学療法である。我々はこれまでの研究で、ガドリニウム単剤をリポソームで封入した製剤を静注し、腫瘍組織内部にこれが取り込まれたところを加温することにより、リポソームガドリニウムが放出され MRI 画像上造影効果が得られることを確認した。対象としたモデルはウサギであり、その前頭葉に挿入したレーザーファイバーからレーザー光を照射して、組織における温度上昇を経時的に記録した。この MRI による温度計測法について、撮像時間の短縮、脳の動きによるアーチファクトの軽減、レーザーファイバーからのアーチファクト軽減などを目的とした、シーケンスの改良を行った。同時に温度分布を 3 次元表示するソフトについても開発し、将来の臨床応用に向けた新しい MRI の利用方法を提言した。



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 9 件 )

1. Velocity and pressure gradients of cerebrospinal fluid assessed with magnetic resonance imaging. Matsumae M, Atsumi H, Kuroda K(他 2 名,1 番目), J Neurosurg, 査読有, DOI:10.3171/2013.7.JNS121859(2013)
2. Feasibility of noninvasive temperature imaging of fat based on magnetic resonance relaxation times of lipid proton components. Kuroda K, Morita S(他 7 名,1 番目), Thermal Medicine, 28(4),査読有, 87-96(2012)
3. Cerebrospinal fluid pulsatile segmentation – A review. Abdullah A, Hirayama A, Kuroda K, Matsumae M(他 1 名,4 番目),BMEiCon , 査読有, 10.1109/BMEiCon.2012.6465494,1-7(2012)
4. A new evolutionary kernel fuzzy clustering for cerebrospinal fluid pulsatile segmentateion. Abdullah A, Matsumae M, Kuroda K(他 2 名,5 番目), 日本磁気共鳴医学会雑誌,査読有,32 巻 (Suppl)P.236(2012)
5. Multimodality Imaging Suite:Neo-Futuristic Diagnostic Imaging Operating Suite Marks a Significant Milestone for Innovation in Medical Technology. Matsumae M, Koizumi J, Atsumi H(他 5 名,1 番目), Intraoperative Imaging, 査読有 , Supplement 109 , 215-218(2011)
6. Impact of Combination of 5-Aminolevulinic Acid-Induced Fluorescence with Intraoperative Magnetic Resonance Imaging-Guided Surgery for Glioma. Tsugu A,Ishizaka H, Matsumae M(他 5 名,8 番目), WORLD NEUROSURGERY,査読有, 76 巻, 120-127(2011)
7. Temperature Dependence of Relaxation Times in Fatty Acid Proton Components. Kuroda K(他 5 名,1 番目), Magn Reson Med Sci,査読有, 10(3), 177-183(2011)
8. Gd-DTPA-based MR-visible Polymer for Passive Visualization of Interventional Devices. Kurita T, Kuroda K(他 1 名,2 番目) Magn Reson Med Sci,査読有, 10(4), 263-267(2011)
9. Newly Developed Electromagnetic Tracked Flexible Neuroendoscope -Technical Note-. Atsumi H, Matsumae M(他 6 名,1 番目), Neurologia medico-chirurgica, 査読有 , (51)8,611-616(2011)

[ 学会発表 ] ( 計 1 件 )

術中 MRI 手術における患者安全  
第 12 回日本術中画像情報学会 学術講演  
会 2012 年 7 月 7 日, 茨城県つくば市, 継  
淳、松前光紀

〔産業財産権〕  
出願状況 (計 0 件)

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

松前 光紀 (Mitsunori Matsumae)  
東海大学・医学部・教授  
研究者番号: 20209604

##### (2) 研究分担者

厚見 秀樹 (Hideki Atsumi)  
東海大学・医学部・講師  
研究者番号: 30307269

##### (3) 研究分担者

黒田 輝 (Kagayaki Kuroda)  
東海大学・情報理工学部・教授  
研究者番号: 70205243

##### (4) 研究分担者

今井 裕 (Yutaka Imai)  
東海大学・医学部・教授  
研究者番号: 70138113

##### (5) 研究分担者

今井 正明 (Masaaki Imai)  
東海大学・医学部・助教  
研究者番号: 30459424