

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 13 日現在

機関番号：82502

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23700589

研究課題名(和文) 温度崩壊型ナノ粒子を用いた薬剤送達イメージング温熱治療システムの開発

研究課題名(英文) Development of a thermal treatment system combined with drug-delivery imaging using a multi-functional thermo-sensitive nano-carrier

研究代表者

國領 大介 (Kokuryo, Daisuke)

独立行政法人放射線医学総合研究所・分子イメージング研究センター・研究員

研究者番号：20508543

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円、(間接経費) 1,020,000円

研究成果の概要(和文)：造影剤ならびに抗がん剤を含有する多機能温度崩壊型リポソーム担体と、MRI(磁気共鳴画像)装置下で、超音波を中心とした加温技術を組み合わせた、“薬剤送達イメージング温熱治療システム”の開発を目的とし、薬剤集積の定量的評価に向けた複数のMR定量画像化法の検討・評価を行い、腫瘍領域ならびに肝臓・腎臓などの正常組織の薬剤動態を定量的に評価した。さらに、取得した複数のMR画像情報を用いたリアルタイム温度変化・治療可視化システムの構築、およびMR対応超音波照射プローブに関する検討を行った。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study was to develop a thermal treatment system combined with drug-delivery imaging using a multi-functional thermo-sensitive liposome. The dynamics of the liposomes in tumor and normal tissues such as liver and kidney was evaluated using quantitative MR imaging techniques. Also, a real-time visualization system for temperature changes and treatment effects was developed and an investigation of heating in the MR scanner with an ultrasound probe was performed.

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：人間医工学・医用システム

キーワード：低侵襲治療 薬剤送達 磁気共鳴画像 温熱療法

1. 研究開始当初の背景

悪性腫瘍はわが国の死亡原因の3割を超え、その治療には多大な肉体的・精神的な苦痛を伴う。近年、患者における“生活の質”の向上・維持が求められており、患者の苦痛を低減した腫瘍治療の実現は医学的かつ社会的急務であり、外科的手法・化学治療の改良、温熱治療、カテーテル治療や内視鏡下手術などの低侵襲治療の開発・改良が行われている。本研究課題では、化学治療における耐え難い副作用を低減し、かつ効果的な治療を実現するために、(1) 薬剤送達システム (Drug Delivery System; DDS)”, (2) 超音波加温を中心とした温熱治療を併用するとともに、(3) 生きたまま体内の状態を観察する“分子イメージング技術”とを組み合わせることに着目した。

DDSは、副作用を抑え、治療効果を上げるために、“必要な薬剤を、必要なときに、必要な部位に送り届ける”という概念を有する薬剤治療法である。近年、高分子化学やナノテクノロジーの急激な発展に伴い、正常組織への薬剤集積を抑え、かつ患部への集積量を向上させる研究が盛んに行われてきた。その結果として、抗がん剤を内包したナノ粒子にポリエチレングリコール(PEG)などを付加することにより、正常組織での取り込みを回避し、血中滞留性を高め、腫瘍集積性を向上させることや、粒子径を精密に制御することにより、ナノ粒子を病変部位内の血管から遠い組織まで送達させることが可能となってきた。また、抗体を使用することにより病変部位への標的性能も向上させる研究も実施されている。またナノ粒子に含まれる薬剤を限局部位での効果的な放出の実現に向け、光温度、pHの変化といった外部刺激を引き金に、ナノ粒子内の薬剤を放出させるための“刺激応答性高分子”を用いた研究も行われている。研究代表者が所属するチームでは、これまでに、温度に応答して、親水性から疎水性へ変化する温度応答性ポリマーを用いた多機能温度崩壊型リポソーム担体を用いた研究を実施してきた。

温熱治療は、腫瘍細胞が正常細胞よりも熱に弱い性質を利用した治療法であり、臨床においては単独治療のほか、放射線治療や化学治療と併用することにより、その治療効果を向上させている。患部の加熱は、温水の還流やマイクロ波・ラジオ波の照射により行われている。近年では、超音波を集束させることで熱を加える方法が臨床現場でも使用されつつある。

分子イメージング技術は、MRI (Magnetic Resonance Imaging), CT (Computed Tomography), PET (Positron Emission Tomography) など、さまざまな生体イメージング装置を使用し、体内で起こる様々な状態の変化を生きたまま観察するための方法である。本研究課題で主に使用するMRIは、核磁気共鳴現象を用いて生体内部の情報を画像化するものであり、軟部組織の描出に優れること、撮像法やパラメータの変化や機能性を有する造影剤の使用により、組織の状態を反映した画像を取得できること、などの特徴を有している。

2. 研究の目的

抗がん剤・造影剤を内包した多機能温度崩壊型リポソーム担体とMRガイド下において超音波などによる加温を組み合わせ、さらに治療前後の生体の状態変化を、MRIを中心とした分子イメージング技術により定量的に捉える“薬剤送達イメージング温熱治療システム”を開発することである。

提案システムの実現に向けて、下記の項目について検討する。

- ・薬剤動態追跡・腫瘍集積の可視化・定量計測技術の開発・改良
- ・MR対応型超音波プローブの開発・改良の検討
- ・MRガイド下加温時のリアルタイム温度変化・治療範囲の可視化システムの構築

3. 研究の方法

使用する温度崩壊型リポソーム担体は、粒子径を約100nmに調整し、内部にMR造影剤であるマンガンおよび抗がん剤であるドキソルビシン、脂質膜内に蛍光色素であるローダミンを含み、周囲にPEGおよび温度応答性ポリマーを付与する。in vivo実験においては、マウス由来大腸癌細胞 Colon26 を皮下に移植した腫瘍モデルマウスを用いる。

薬剤動態追跡・腫瘍集積の可視化・定量計測技術の開発・改良に関しては、スピンエコー法やグラディエントエコー法を用いて取得したT₁強調画像、T₂強調画像に加え、¹Hの緩和時間であるT₁、T₂ 定量値、ADC (Apparent Diffusion Coefficient, 見かけの拡散係数) 値等、MRIで取得できる定量値を取得するための複数のMR定量撮像法の検討・最適化、および取得した画像情報の処理方法の検討を行い、短時間で精度よく定量的な情報を取得できるか、サンプルを用いたin vitro実験、および腫瘍モデルマウスを用いた

in vivo 実験により評価する。MRI の取得には、前臨床用水平型 7.0 テスラ MR 装置を使用する。*in vivo* 実験では、腫瘍モデルマウスの尾静脈から温度崩壊型リポソーム担体を投与し、検討した撮像法を用いて、腫瘍・正常臓器における薬剤送達・集積を可視化・評価する。また摘出した腫瘍・正常組織を用いて取得した *ex vivo* 蛍光画像の結果との比較も行う。

MR 対応型超音波プローブの開発・改良の検討に関しては、研究代表者の所属研究チームが以前改良・使用に関わったプローブを参考に開発に取り組む。また照射位置とプローブの位置関係にずれが生じないように、MR 装置内で使用できる部品を使用した固定方法も検討する。

MR ガイド下加温時のリアルタイム温度変化・治療範囲の可視化システムの構築に関しては、先に検討した MR 撮像法・パラメータならびに処理法を用い、リポソーム担体の腫瘍集積、加温中の温度・組織変化、ならびに加温後の薬剤放出・治療範囲をリアルタイムで可視化・評価する、“リアルタイム温度変化・治療可視化システム”の構築を行う。システムの構築には、Matlab などの数値解析ソフトウェアや C 言語などのプログラム言語、ならびにそのための統合開発環境を利用する。

4. 研究成果

薬剤動態追跡・腫瘍集積の可視化・定量計測技術の開発・改良に関しては、複数の MR 定量撮像法を使用し、*in vitro* 実験、および *in vivo* 実験を実施し、その性能を評価した。反転パルス照射後に複数の RF パルスを照射し取得した画像情報より T_1 定量値を取得できる Look-Locker 法を用い、腫瘍ならびに正常組織におけるリポソーム担体の薬剤動態の評価を行ったところ、腫瘍領域の T_1 値は、リポソーム担体を投与後、なだらかに減少し、投与 4~12 時間で最も減少した。一方、正常組織である肝臓・腎臓の T_1 値は、投与直後に最も減少し、その後徐々に投与前の T_1 値に戻り始め、腫瘍領域の薬剤動態は異なることが定量的に確認できた。*ex vivo* 蛍光画像を用いたリポソーム担体の薬剤動態と比較したところ、腎臓において、蛍光信号が投与 1 日後にはほとんど存在しなかったのに対し、 T_1 値は、投与前よりも短縮したままであった。このことから、腎臓では、リポソーム担体が集積・蓄積したままではなく、リポソーム担体から流れ

出した造影剤が蓄積していることが示唆された。

また、複数のフリップ角を用いて撮像した画像を組み合わせることで T_1 定量値を取得できる可変 Flip Angle 法に関しては、水ファントムを用いた *in vitro* 実験を行い、 T_1 値を取得したところ、フリップ角が 30 度以下に設定して取得した 2 種類の画像を使用することで、従来法で得られた T_1 値と同等の結果を得ることができた。Look-Locker 法、可変 Flip Angle 法ともに、従来法に比べ、撮像にかかる時間は長くても 10 分程度であることから、腫瘍・正常組織への薬剤動態の定量評価以外の *in vivo* 実験への適用も可能と考えられた。

さらに、複数の繰り返し時間 TR とエコー時間 TE を使用して撮像する RAREVTR 法を使用し、パラメータの調整を行うことにより、腫瘍モデルマウスの腫瘍領域の T_1 値および T_2 値を同時に短時間で取得することができた。また、RAREVTR 法および拡散強調画像化法を用い、リポソーム担体の投与の有無、自作の温水還流装置を用いた局所加温の有無による、 T_1 値、 T_2 値、および ADC 値の違いを比較したところ、リポソーム担体を投与し、局所加温した場合の T_1 値が、その他の場合に比べ、短縮したことが確認できたことから、 T_1 値がリポソーム担体の加温による崩壊範囲や治療範囲の定量的な評価に有用となることが示唆された。

超音波プローブの開発・改良に関しては、研究代表者の所属研究チームが共同研究において使用した超音波プローブを参考に、MR 装置内でも簡単に使用できるプローブの開発・改良に向けた検討を実施した。また、現在保有している超音波プローブの MR 装置内での使用方法の検討も実施した。

MR ガイド下における加温時のリアルタイム温度変化・治療範囲の可視化システムの開発に関しては、ソフトウェアの構築を開始し、加温前後の MR 位相分布の変化を用いる MR 温度分布画像化法より計測した温度変化画像を Matlab を用いて表示できるようにした。さらに、加温後の T_1 強調画像および T_1 値マップとの実時間での重畳・比較方法を検討した。

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 1件)

1. Daisuke Kokuryo, Etsuko Kumamoto, Yoshie Takao, Susumu Fujii, Toshiya Kaihara and Kagayaki Kuroda: Evaluation of a vessel-tracking-based technique for dynamic targeting in human liver. Magn Reson Med. 査読有, 67: 1 (2012); 156-63. doi: 10.1002/mrm.23005.

6 . 研究組織

(1)研究代表者

國領 大介 (KOKURYO Daisuke)

独立行政法人放射線医学総合研究所・分子
イメージング研究センター・研究員

研究者番号：20508543