

令和 5 年 6 月 5 日現在

機関番号：17401

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K08000

研究課題名（和文）分子結合技術を用いた新たな造影剤による革新的がんMRI画像化技術の開発

研究課題名（英文）Development of Innovative Cancer MRI Imaging Techniques Using New Contrast Agents Based on Molecular Binding Technology

研究代表者

平井 俊範（Hirai, Toshinori）

熊本大学・大学院生命科学研究部（医）・教授

研究者番号：40274724

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：細胞実験において、腫瘍細胞（4T1 cell）にクリック反応する糖とPBS bufferを加えて培養し、MRI造影剤（Gadobutrol）やクリック反应用到に化学修飾したGadobutrolを加えました。そのあと細胞を破碎してgadolinium（Gd）量をICP-MSで測定しました。その結果、クリック反应用到に化学修飾したGadobutrolと反応させた腫瘍細胞のGd量がコントロールと比べて有意に高値でした。これはクリック反応によりGd造影剤が腫瘍細胞に大量に残留することを示唆しました。次の段階として、腫瘍マウスを用いてMRI撮像して腫瘍の信号強度を測定し、また腫瘍内のGd量を測定予定です。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究による新たな画像診断技術の開発は、汎用性の高いMRI装置を用いた空間分解能の高い新たな分子イメージング技術の開発に繋がっていくものと考えられ、FDG-PETのようのがんの早期発見、がん治療前のステージング、がん治療後の経過観察に有効な手法になる可能性が期待されます。

研究成果の概要（英文）：In the cell experiments, each tumor cell (4T1 cell) was first cultured with click-reactive sugar and PBS buffer, and then MRI contrast agent (Gadobutrol) or Gadobutrol chemically modified for click reaction were added. The cells were then crushed and the amount of gadolinium (Gd) was measured by ICP-MS. The results showed that the amount of Gd in the tumor cells reacted with chemically modified Gadobutrol for the click reaction was significantly higher than that in the control cells. This suggested that the Gd contrast agent remained in tumor cells in large amounts due to the click reaction. In the next step, we plan to perform MRI imaging on tumor mice to measure the signal intensity of the tumor and the amount of Gd in the tumor.

研究分野：放射線医学

キーワード：MRI 造影剤 癌 バイオマーカー 分子結合

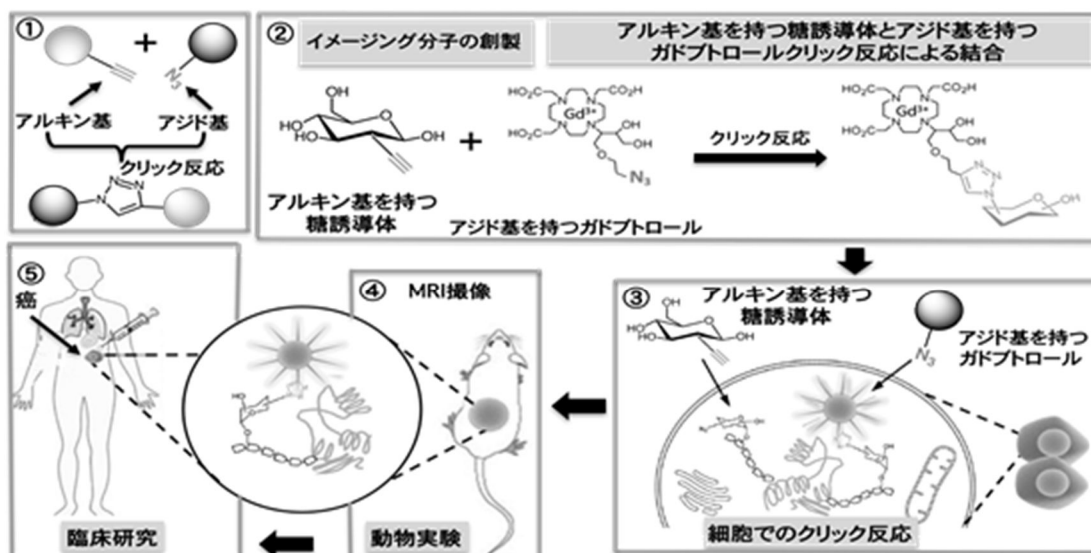
1. 研究開始当初の背景

「がん研究 10 か年戦略」が策定され、「がんによる死亡者の減少」を目標に「バイオマーカーを用いた診断技術」で、がんの性質や病勢を明らかにすることができれば、個々人の、個々のがんの性格を治療前に的確に把握することが可能となり、患者にとってはより大きな治療効果が見込め、また、より負担の少ない治療が可能となる。よって、革新的バイオマーカーを用いて診断技術を確立し実用化することが強く求められている。その一つの代表として FDG-PET 検査のような「分子イメージング」は、生体内の分子レベルの代謝情報を画像化し、臨床において今や必須の診療画像情報を提供している。具体的に、PET は、がん細胞が通常の細胞と比較して 3 倍から 8 倍ものブドウ糖を消費する性質を利用して、放射性トレーサー「F-18FDG」(ブドウ糖の誘導体)を体内に注入し、その成分の集まり具合を画像化することによりがん細胞の有無を検査する。しかし、糖誘導体「F-18FDG」を放射性トレーサーとして用いた PET 検査は、一般に放射性核種の半減期は短く、また PET 検査では高額装置の準備の必要性や患者や医療スタッフの被ばくの問題から、我が国の地域医療に広く根ざすには至っていない。一方、MRI 装置は広く普及しているが、この検査で用いる造影剤は血管内や血管から移行した間質を増強させるもので、がんを特異的に描出するものではない。そのため、がんの早期発見のための革新的で汎用性の高い非侵襲的画像化技術の開発が切に望まれる。

本研究では、強力なクリック反応を用いた造影剤を開発し、汎用性が高く被ばくのない MRI イメージングによるがん細胞に特異的な画像化を目指す。我々の研究分担者は、すでにクリック反応という新しい化学反応を利用することにより、細胞内で核酸構造や染色体を画像化することに成功している (Angew. Chem., Int. Ed. 2009;48:3281-3284; Chem Commun 2012;48:10835-10837; Molecules 2013;18:12909-12915; Bioorg Med Chem 2014;22:4419-4421; Sci Rep 2016;6:33217)。「クリック反応」とは(下図)アルキン基とアジド基を含む二つの化合物をカップリングするもので、保護や精製の必要がなく、細胞内で効率的かつ特異的に反応し生体応用にも適する優れた手法である。「クリック」とは、シートベルトのバックルが「カチッと音を立てて (clicking)」つながるように、二つの分子が簡単につながることを意味する。(この反応は我々を含めて既に細胞及び動物に应用されている Science 320, 664, 2008)

そこで、本研究は、この技術を応用し、MRI 検査で使われている造影剤の分子と今まで開発されたトレーサー分子となるがんマーカー(糖、核酸、およびアミノ酸)をクリック反応させて、新たな MRI による特異的ながんイメージングを開発することを目指す。これまでの核医学イメージングの問題点である、汎用性が低いこと、検査費用が高価であること、半減期が短いこと、患者や医療スタッフの被ばく、大掛かりな設備などを解決する。

概要を下図に示す。アルキン基を持つ糖誘導体にアジド基を持つガドリニウム製剤を加えると(下図)クリック反応を経ることで糖誘導体とガドリニウム製剤が結合した分子が生成される。



一般に糖代謝が異常亢進するがん細胞病巣に多く集積する性質を有するため、バイオマーカーと MRI 画像技術の組み合わせにより、プローブ分子同士ががん細胞内もしくは細胞膜で効率的なクリック反応することで(図)がんの部位が MRI 画像で描出することが可能になることが期待される(図)。これらの研究結果から臨床応用への橋渡しを探索する(図)。PET のような分子イメージングを MRI で可能になれば、汎用性や医療経済的な観点から大きなメリットである。

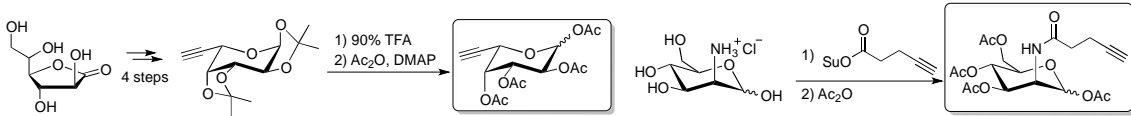
## 2. 研究の目的

本研究の目的は、クリック反応を用いて MRI 造影剤（ガドリニウム製剤）の分子とがんマーカー（糖）を結合させ、この技術ががんに特異的な新たな MRI 画像診断技術になるかを細胞実験や動物実験で明らかにすることである。

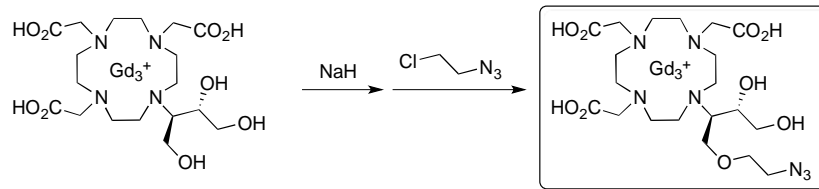
## 3. 研究の方法

(1) アルキンを持つ糖誘導体およびアジド基を持つガドリニウム製剤分子の創製：

アルキンを持つ糖誘導体の合成を下図に示す。ガラクトン酸  $\beta$ -ラクトンを出発原料とし、4段階変換を経て中間体を得る。続いて脱保護反応およびアセチル化により所望の糖誘導体を得る。糖代謝のがん病巣への集積性を高めるため、精密な空間的構造の最適化をする必要がある。そのため、下図に示すもう1つのアルキンを持つ糖誘導体を合成する。D-マンノサミン塩酸塩を *N*-スクシンイミジル4-ベンチノエートと反応させてアルキンを持つ糖誘導体を得る。次いで、アセチル化によって所望の糖誘導体を得る。

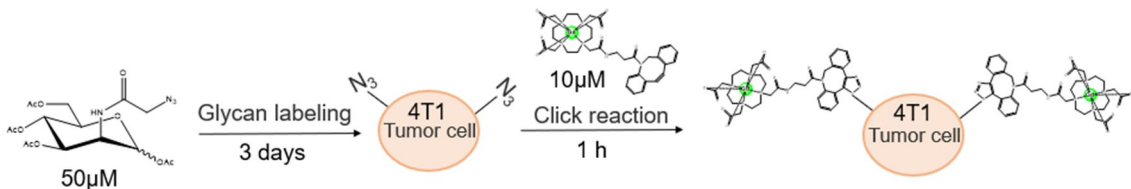


ガドリニウム製剤分子の合成を下図に示す。市販の MRI 造影剤であるガドブトロールの水酸基をアジド基に変換することで得る。



(2) 細胞実験によるガドリニウム製剤分子の反応確認

腫瘍細胞（4T1 cell）にアルキンを持つ糖誘導体と PBS buffer を加えて培養してから、クリック反応用に化学修飾したガドブトロールを加える。そのコントロールとして、アルキンを持つ糖誘導体と PBS buffer を加えて培養したものに通常のガドブトロールを加える。その後に細胞を破碎してガドリニウム(Gd)量を誘導結合プラズマ質量分析法(ICP-MS)で測定する。



(3) 動物実験による MRI での画像化

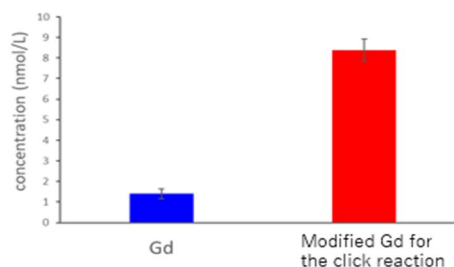
がん細胞を移植した腫瘍マウスを作製する。麻酔管理の下に腫瘍マウスにアルキンを持つ糖誘導体の尾静脈投与後、アジド基を持つガドブトロールを静注し、動物用 1.5T MRI 装置で 2D T1 強調像、3D gradient T1 強調像等にて撮像を行う。コントロールとして、通常のガドブトロールを投与した腫瘍マウスも同様に MRI で撮像する。腫瘍部の信号強度を測定し、2群間の信号強度の差を検定する。サクリフェイス後に腫瘍部を破碎してガドリニウム(Gd)量を誘導結合プラズマ質量分析法(ICP-MS)で測定する。

## 4. 研究成果

(1) アルキンを持つ糖誘導体およびアジド基を持つガドブトロールを創製した。

(2) 細胞実験にて、クリック反応用に化学修飾したガドブトロールと反応させた腫瘍細胞の Gd 量はコントロールの Gd 量と比べて有意に高かった。これはクリック反応によりガドブトロールが腫瘍細胞に大量に残留することが明らかとなった。

2群における腫瘍細胞の Gd 量の比較



( 3 ) 動物実験は現在準備中であり、近日中に MRI 撮像予定である。

本研究は新たな分子イメージング技術の開発に繋がっていくものと考えられ、将来 FDG-PET のような機能情報を汎用性が高い MRI を用い、がんの早期発見、がん治療前のステージング、がん治療後の経過観察の情報が得られる可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

|       | 氏名<br>(ローマ字氏名)<br>(研究者番号)                        | 所属研究機関・部局・職<br>(機関番号)           | 備考 |
|-------|--|---------------------------------|----|
| 研究分担者 | 東 美菜子<br><br>(Azuma Minako)<br><br>(00643389)    | 宮崎大学・医学部・教授<br><br><br>(17601)  |    |
| 研究分担者 | 片岡 寛章<br><br>(Kataoka Hiroaki)<br><br>(10214321) | 宮崎大学・医学部・教授<br><br><br>(17601)  |    |
| 研究分担者 | 佐藤 裕之<br><br>(Sato Hiroyuki)<br><br>(20545404)   | 宮崎大学・農学部・准教授<br><br><br>(17601) |    |
| 研究分担者 | 徐 岩<br><br>(Xu Yan)<br><br>(40506763)            | 宮崎大学・医学部・教授<br><br><br>(17601)  |    |
| 研究分担者 | 石塚 匠<br><br>(Ishizuka Takumi)<br><br>(50700085)  | 宮崎大学・医学部・助教<br><br><br>(17601)  |    |

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

| 共同研究相手国 | 相手方研究機関 |
|---------|---------|
|---------|---------|