

令和 4 年 5 月 20 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2021

課題番号：17K10393

研究課題名(和文) Gd-EOB-DTPAおよびICGを用いた新たな肝腫瘍診断法の開発

研究課題名(英文) Development of new liver tumor diagnostic method using Gd-EOB-DTPA and ICG

研究代表者

赤井 宏行 (Akai, Hiroyuki)

東京大学・医科学研究所・准教授

研究者番号：80770437

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：Gd-EOB-DTPA(以下EOB)およびICGはお互いに肝臓への取り込みを阻害することを利用した肝腫瘍診断法の開発を試みたが、ICG投与による肝臓へのEOB取り込み阻害の影響が強く、肝腫瘍の鑑別に有用な投与方法の開発は実現しなかった。関連して複数の副論文を公表することはでき、ICGがEOBの肝集積および排泄が阻害されること(Invest Radiol 2017:441-5)、EOBが一過性の過呼吸を引き起こすこと(Eur Radiol 2018:4128-33)、およびガドリニウムの脳沈着がマウスの運動や行動に影響を及ぼさないこと(Radiology 2021:409-16)を発見した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

Gd-EOB-DTPAの基礎的な検討を通して、同造影剤の臨床応用の一助となったと考えられる。

また、ガドリニウムの脳沈着はガドリニウム造影剤の安全性を考え上で重要な懸念となるが、少なくともマウスにおいては運動や行動に影響を及ぼさないことが確認されたことで、ガドリニウム造影剤の安全性に関する新たな治験が積み重なったと考えられる。

研究成果の概要(英文)：In this study, we attempted to develop a new liver tumor diagnostic method using Gd-EOB-DTPA (hereinafter referred to as EOB) and ICG. Although, the effect of ICG administration on the inhibition of EOB uptake into the liver was stronger than expected. So, the development of an administration method useful for differentiating liver tumors was not realized. We published multiple sub-papers, and found that ICG inhibits EOB liver accumulation and excretion (Invest Radiol 2017:441-5), and that EOB causes transient tachypnea (Eur Radiol 2018:4128-33), and that gadolinium brain deposition does not affect mouse movement or behavior (Radiology 2021:409-16).

研究分野：放射線診断学

キーワード：ガドリニウム造影剤

1. 研究開始当初の背景

肝特異性 MRI 造影剤である Gd-EOB-DTPA は ICG とほぼ同様の分子量を有する有機アニオン物質であり、OATP1B3 を介して肝細胞に取り込まれることで、腫瘍-肝実質コントラストを高め腫瘍検出能が向上することが報告されている。腫瘍自体の信号に関しては、肝細胞癌の脱分化が進むにつれ低信号病変の割合が増える報告がなされているが、オーバーラップも多く、より正確な分化度の推定が依然期待されている状態である。また、肝転移などの非肝細胞由来の腫瘍と肝細胞癌などの肝細胞由来の腫瘍の信号もオーバーラップが大きく、正確に区別することは困難な状態にある。

一方で、インドシニアニンググリーン(ICG)は心機能や肝機能検査に用いられる緑色色素である。ICG は OATP1B3 や NTCP などのトランスポーターを介して肝細胞に取り込まれ、一部の肝細胞癌への取り込みも報告されている。また、ICG は肝細胞に取り込まれたのちは、OATP 系トランスポーターに対する阻害作用が報告されており、我々の検討においても、ICG 投与 10 分後においては Gd-EOB-DTPA をマウスに投与した時における肝細胞への取り込み阻害が確認されている。

2. 研究の目的

本研究では、前記に示した ICG の Gd-EOB-DTPA の取り込み阻害作用を利用して、ICG 投与時と非投与時の Gd-EOB-DTPA 造影 MRI の腫瘍信号の変化の有無、程度を検討することにより、以下のことを明らかにすることを目標としている。

1. 腫瘍診断法の開発の基礎検討として、ICG の Gd-EOB-DTPA の取り込み阻害作用が最大となるような投与方法を検討する。

2. 非肝細胞由来の腫瘍(大腸癌肝転移モデルマウスの肝転移)と肝細胞由来の腫瘍(NASH モデルマウスの肝細胞癌)の二つが、ICG 投与時と非投与時の Gd-EOB-DTPA 造影 MRI の腫瘍信号の変化の有無で鑑別可能かを検討する。

3. NASH モデルマウスの肝細胞癌を用いて、肝細胞癌の分化度が ICG 投与時と非投与時の Gd-EOB-DTPA 造影 MRI の腫瘍信号の変化の程度で推定可能かを検討する。

3. 研究の方法

いずれの実験においても、共通の方法にて各腫瘍の信号変化を測定することを通して、肝腫瘍の ICG の取り込み機能を評価する。いずれの撮影においても 3D グラジエントエコー法の T1 強調画像を用いる。普段より我々はマウスの MRI 画像においては 0.5mm 弱のスライス厚を採用しているため、1mm 以上の病変であれば測定には耐えうるが、本研究においてはより正確な信号測定のために 1.5mm 以上の病変を測定対象とする。測定した腫瘍信号は、マウスの背部に設置する自作の硫酸銅ファントムの信号で除することにて正規化する。なお、肝実質の信号を用いたいわゆる tumor to liver ratio は、ICG 投与下においては Gd-EOB-DTPA 造影後の肝実質信号自体も低下し、本研究では用いることはできないため、前記のファントムを使用した手法を採用している。上記の手法にて正規化された Gd-EOB-DTPA 造影前の腫瘍信号 (SRpre) および Gd-EOB-DTPA 造影後の肝胆道相における正規化された腫瘍信号 (SRpost) を用い、腫瘍の造影比 (CR) を以下の式を用いて求める。

$$CR = (SRpost - SRpre) / SRpre$$

ICG 非投与下の CR と ICG 投与下の CR の差分 (CR) を測定することで、肝腫瘍の ICG の取り込み機能を評価する。ICG が腫瘍内に存在していなければ、原理上はこの CR は 0 になるはずであり、ICG が腫瘍内に存在していればその量に応じてこの CR が低下するため、CR が大きいほど腫瘍内の ICG が多いことを意味する。

上記の測定を、1. 大腸癌肝転移モデルマウスの肝転移および NASH モデルマウスの肝細胞癌にて比較することで、非肝細胞由来の腫瘍と肝細胞由来の腫瘍が鑑別可能であるかを検討、2. 様々な分化度の肝細胞癌を得るために、生後 12 週、16 週、20 週の時点で NASH モデルマウスの肝細胞癌に対して行うことで、CR の変化の程度にて肝細胞癌の分化度が推定可能であるかを検討する。

4. 研究成果

(1) Gd-EOB-DTPA による呼吸変動の確認

前記の研究方法にてマウスに Gd-EOB-DTPA を投与していると、マウスの呼吸数が上昇していることに気づいた。こちらを定量的に評価するために、マウスにリン酸緩衝液(コントロール)、gadoteridol、gadopentetate dimeglumine ないし Gd-EOB-DTPA を投与し、その後の呼吸数、心拍数および血中酸素飽和度の変化を確認した。結果、Gd-EOB-DTPA 投与マウス群では、心拍数や血中酸素飽和度は変化しないものの、有意な呼吸数の上昇(20 回/分程度の上昇)が確認された(図 1)。また、gadopentetate dimeglumine 投与群では、約 12%程度の心拍数の低下も確認された。

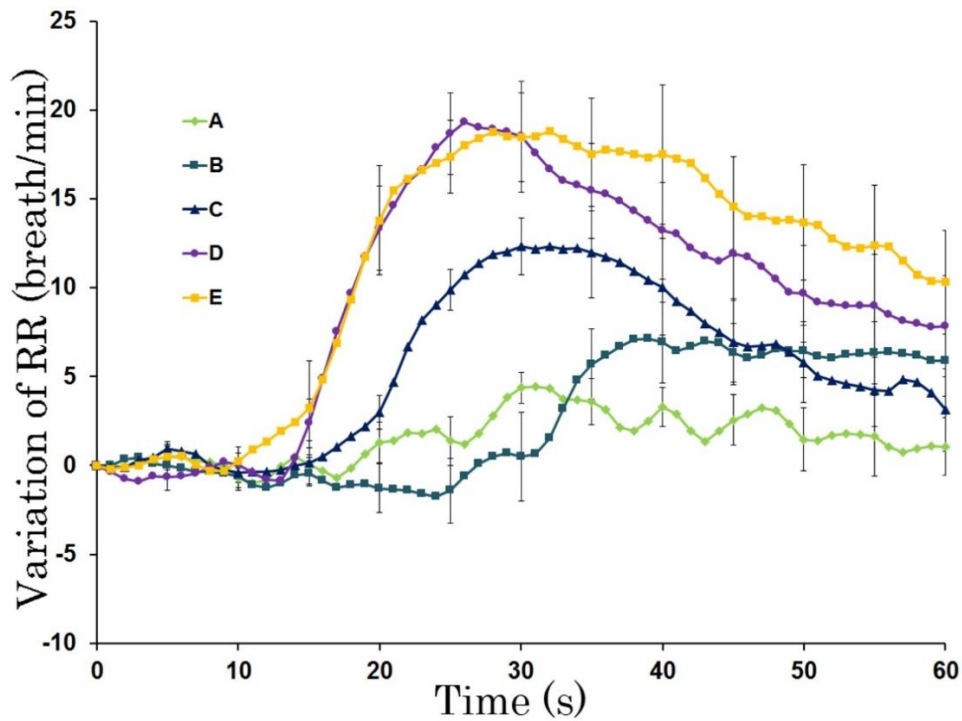


図1 種々の造影剤による呼吸数の変動(3秒後の平均) A: コントロール、B: gadoteridol、C: gadopentetate dimeglumine、D,E: Gd-EOB-DTPA (注入速度:遅,速)

(2) Gd-EOB-DTPA による ICG の肝取り込み・排泄阻害の確認

本研究の前提として、ICG 投与下においては Gd-EOB-DTPA の肝取り込みが低下することが確認されていたが、逆に Gd-EOB-DTPA が ICG の肝取り込み・排泄を阻害するかは不明であった。そのため、低体温および通常体温下にて、通常通り ICG を投与した場合と Gd-EOB-DTPA 投与後に ICG を投与した場合の肝臓の蛍光強度の時間強度曲線を評価した。結果、低体温および通常体温いずれにおいても、有意差はないものの ICG の肝取り込みを Gd-EOB-DTPA が阻害する傾向が確認され、また有意差をもって ICG の肝からの排泄を Gd-EOB-DTPA が阻害することが確認された(図2)。

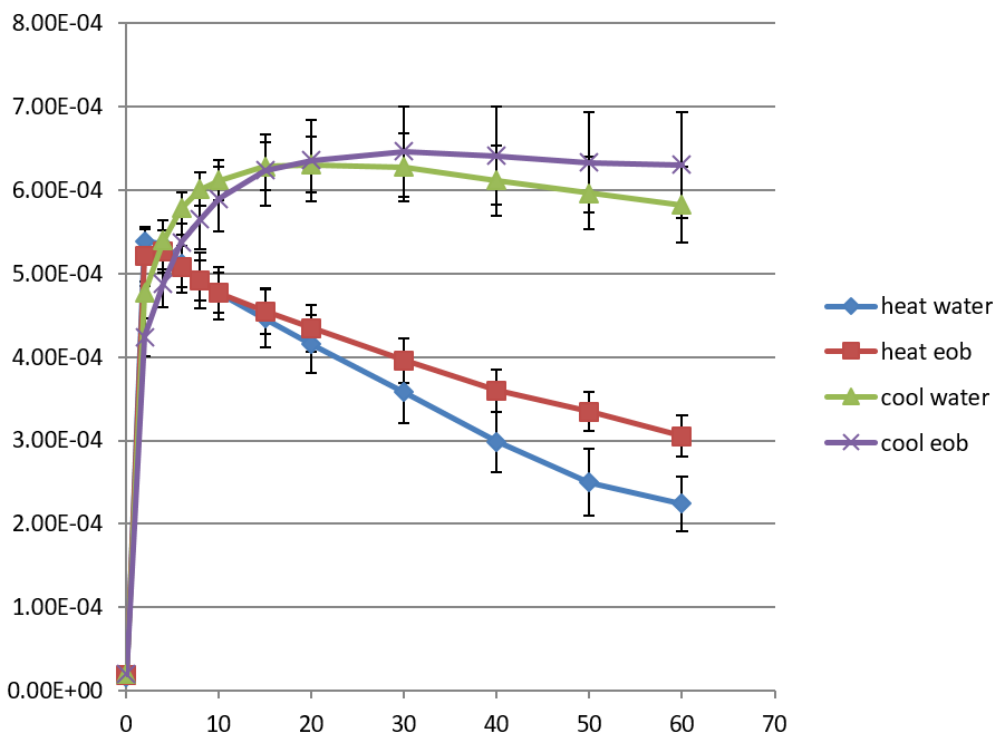


図2 低体温・通常体温時における Gd-EOB-DTPA 投与の肝 ICG 蛍光強度への影響

(3) Gd-EOB-DTPA および ICG を用いた肝腫瘍由来の推定

まず初めに、大腸癌肝転移モデルマウスにおける転移性肝腫瘍に対して、ICG 投与下および ICG 非投与下での Gd-EOB-DTPA 造影 MRI の肝胆道相画像における信号強度の変化(上記の CR)を測定した。その結果、CR が負の値となり、非肝細胞由来の腫瘍である転移性肝腫瘍(純粋に同腫瘍の病理学的性質だけで推測すれば CR はほぼゼロとなるべき腫瘍)であるにもかかわらず、ICG 投与下の方が ICG 非投与下と比較して腫瘍の信号が上昇していることが確認された(図3)。

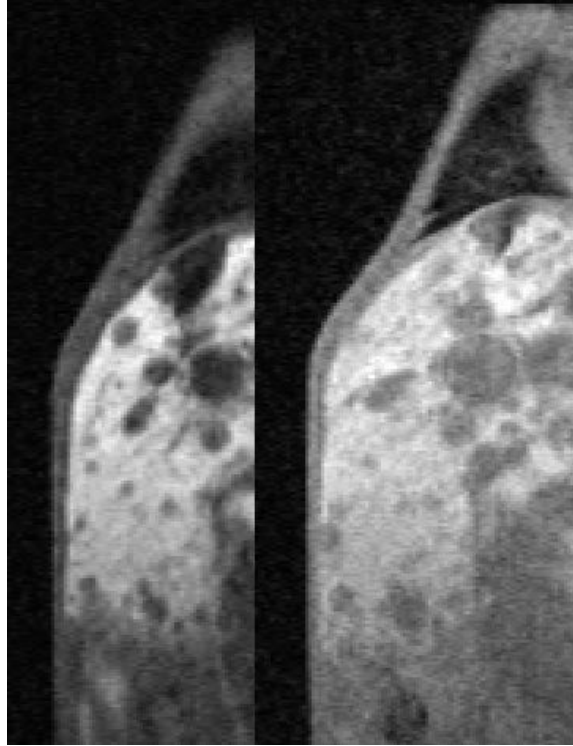


図3 大腸癌肝転移モデルマウスの ICG 非投与下での Gd-EOB-DTPA 造影 MRI の肝胆道相画像(左) および ICG 投与下での Gd-EOB-DTPA 造影 MRI の肝胆道相画像(右)

NASH モデルマウスに発生した肝細胞癌(純粋に同腫瘍の病理学的性質だけで推測すれば CR は正の値となるべき腫瘍)においても CR が負の値となる病変が散見された。これらの事象は ICG 投与に伴い、肝実質への Gd-EOB-DTPA 取り込みが阻害されたため、血液プール中に残存する Gd-EOB-DTPA 量が増えたために起きたと考えられ、当初想定していた投与方法では CR を用いた肝腫瘍由来の推定が困難であると考えられた。そのため、投与する ICG の量を減らすもしくは、投与する Gd-EOB-DTPA を増量することで、当初の目的である肝腫瘍由来の推定を実現する投与方法を検討していたが、最終的には実現できなかった。研究期間中に MRI 機器の故障もあり、研究が円滑に進まなかったことも今回の結果の一因となった。

(4) Gd 脳沈着マウスの行動解析

Gd-EOB-DTPA を投与したマウスにの脳 MRI を撮影した時に小脳歯状核の信号上昇が確認できたことをヒントとして受け、造影剤投与に伴うガドリニウム脳沈着がマウスの行動に及ぼす影響について検討することとした。結果、直鎖状ガドリニウム造影剤は脳ガドリニウム沈着を引き起こすものの、自発運動能力、不安レベルや短・長期記憶のいずれも障害を引き起こさない事がわかった。また、環状ガドリニウム造影剤においても同様にマウスの運動や行動への影響が認められなかったことより、環状ガドリニウム造影剤の高い安全性も同時に確認された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Akai Hiroyuki, Yasaka Koichiro, Kunimatsu Akira, Nojima Masanori, Inoue Yusuke, Abe Osamu, Ohtomo Kuni, Kiryu Shigeru	4. 巻 28
2. 論文標題 The inhibitory effect of gadoxetate disodium on hepatic transporters: a study using indocyanine green	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 European Radiology	6. 最初と最後の頁 4128 ~ 4133
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00330-018-5403-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Akai Hiroyuki, Yasaka Koichiro, Nojima Masanori, Kunimatsu Akira, Inoue Yusuke, Abe Osamu, Ohtomo Kuni, Kiryu Shigeru	4. 巻 28
2. 論文標題 Gadoxetate disodium-induced tachypnoea and the effect of dilution method: a proof-of-concept study in mice	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 European Radiology	6. 最初と最後の頁 692 ~ 697
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00330-017-5037-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Akai Hiroyuki, Miyagawa Kazuya, Takahashi Kohei, Mochida-Saito Atsumi, Kurokawa Kazuhiro, Takeda Hiroshi, Tsuji Minoru, Sugawara Haruto, Yasaka Koichiro, Kunimatsu Akira, Inoue Yusuke, Abe Osamu, Ohtomo Kuni, Kiryu Shigeru	4. 巻 301
2. 論文標題 Effects of Gadolinium Deposition in the Brain on Motor or Behavioral Function: A Mouse Model	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Radiology	6. 最初と最後の頁 409 ~ 416
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1148/radiol.2021210892	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 赤井宏行、八坂耕一郎、國松聡、井上優介、阿部修、大友邦、桐生茂
2. 発表標題 Gd造影剤の呼吸に対する急性期の影響に関する検討
3. 学会等名 第46回日本磁気共鳴医学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 赤井宏行、桐生茂、八坂耕一郎、國松聡、井上優介、大友邦、阿部修
2. 発表標題 Indocyanine Greenを用いたGd-E0B-DTPAの肝トランスポーターへの影響の検討
3. 学会等名 第13回日本分子イメージング学会総会・学術集会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	桐生 茂 (Kiryu Shigeru) (20313124)	国際医療福祉大学・医学部・教授 (32206)	

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
---------	---------