

平成21年 6月 19日現在

研究種目：基盤研究（C）  
 研究期間：2007～2008  
 課題番号：19500401  
 研究課題名（和文） 標的造影治療複合剤による磁気共鳴細胞分子イメージングの開発  
 および疾患治療への適用  
 研究課題名（英文） Development of Cellular and Molecular Magnetic Resonance Imaging  
 and Application using targeted multimodal probes.  
 研究代表者  
 青木伊知男（Aoki Ichio）  
 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・チームリーダー  
 研究者番号：10319519

## 研究成果の概要：

高磁場 MRI を用いて、①Ca<sup>2+</sup>チャネルを通過するマンガン造影剤を使用し、脳虚血後に生じるグリア細胞の増殖であるグリオシスの in vivo 検出および経時的観察に成功した、②DDS 技術による腫瘍集積性を生かしたフラーレン・マンガン造影剤を使用した微小腫瘍の検出、および超音波／光治療の効果判定と経時的追跡を行った、③光イメージングにおいて良好な周波数分解能を持つカンタムドット（Quantum dots; QD）を使用した光・MRI のハイブリッド造影剤の開発に成功した。

## 交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
平成19年度	1,400,000	420,000	1,820,000
平成20年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,700,000	810,000	3,510,000

## 研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：人間医工学・医用生体工学・生体材料学

キーワード：医用・生体画像

## 1. 研究開始当初の背景

「分子イメージング」は、従来検出されていた巨視的な代謝や機能だけでなく、微視的な分子機序あるいは特定の受容器や細胞群を検出し画像化するという試みである。その背景には、幹細胞移植に代表される再生・移植医療の経過観察、免疫細胞療法の効果、あるいは遺伝子操作モデルの発現状況等を、非侵襲的かつ経時的に観察したいという要求がある。加えて、近年に劇的に進歩した数々の基盤技術、例えば、ナノテクノロジーに代表される微小な構造体を精製する技術、薬剤標的技術、PET リガンドの精製

技術などが存在する。

## 2. 研究の目的

磁気共鳴細胞分子イメージングを達成する、(1)Ca<sup>2+</sup>チャネルを通過するマンガン造影剤を使用し、脳虚血後に生じるグリア細胞の増殖であるグリオシスの in vivo 検出と経時的観察、(2)DDS 技術による腫瘍集積性を生かしたフラーレン・マンガン造影剤を使用した微小腫瘍の検出、および超音波／光治療の効果判定と経時的追跡、(3)光イメージングにおいて良好な周波数分解能を持つカンタムドット（Quantum dots; QD）を使用した光・

MRI のハイブリッド造影剤の開発を行う。

### 3. 研究の方法

7T あるいは 4.7T の高磁場 MRI を用いて、

(1) 一過性ラット脳虚血モデルを作成し、1 日後、11 日後、22 日後の 3 群に対して、マンガン造影剤を尾静脈から投与、24 時間後に MRI 撮像を行った (MEMRI 法)。撮像後、灌流固定し、GFAP, Iba1, TUNEL および ssDNA 染色を実施した。

(2) フラーレンにマンガン・キレート剤を結合させ、PEG により親水化させた新規造影剤を開発した。マウス大腸癌腫瘍を皮下に移植したマウスモデルを作成し、新規造影剤投与後 10 時間の経時変化を連続撮像した。また 10 時間後に、腫瘍部に超音波照射を行い、ラジカル発生により期待される抗腫瘍効果について腫瘍径を指標に経時的に追跡した。

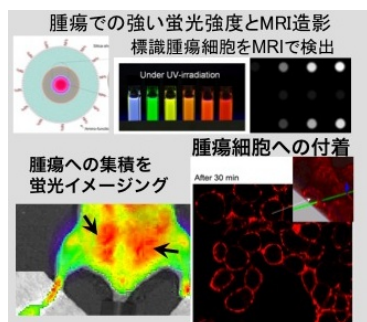
(3) シリカ内部に Gd 造影剤を保持する複合 QD を作成した。腫瘍細胞表面に結合させ、その MRI 緩和能と共焦点顕微鏡での観察を行った。

### 4. 研究成果

(1) 脳虚血後に生じるグリア細胞の増殖であるグリオシスを高信号として非侵襲的に in vivo で検出に成功した。11-22 日後群では脳虚血コアを取り囲むように、GFAP 陽性反応性アストログリオシスが観察され、MRI の高信号領域と一致した。Iba1 陽性のマイクログリオシスが生じた領域は、虚血領域全体に分布したが、MEMRI で観察されたリング状の信号とは一致しなかった。

(2) 新規造影剤が EPR 効果により腫瘍に集積する様子が、10 時間に渡り連続的に MRI で可視化された。当初は腫瘍辺縁部に集積し、10 時間後には中心部に到達した。超音波照射による SDT の結果、有意な抗腫瘍効果が観察された。

(3) シリカ内部に Gd 造影剤を保持する複合 QD を開発し、蛍光特性および MRI 緩和能を損なうことなく維持できた。腫瘍細胞表面に結合させ、共焦点顕微鏡での観察を行った。また、細胞密度に応じた MRI の信号強度が観察された (下図)。



### 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 7 件)

①. Sawada K, Sun XZ, Fukunishi K, Kashima M,

Sakata-Haga H, Tokado H, Aoki I, Fukui Y. Developments of sulcal pattern and subcortical structures of the forebrain in cynomolgus monkey fetuses: 7-tesla magnetic resonance imaging provides high reproducibility of gross structural changes. Brain Struct Funct. 2009 Feb 12. 査読有

②. Zhelev Z, Bakalova R, Aoki I, Matsumoto KI, Gadjeva V, Anzai K, Kanno I. Nitroxyl Radicals for Labeling of Conventional Therapeutics and Noninvasive Magnetic Resonance Imaging of Their Permeability for Blood-Brain Barrier: Relationship between Structure, Blood Clearance, and MRI Signal Dynamic in the Brain. Mol Pharm. 2009 Feb 10. 査読有

③. Zhelev Z, Bakalova R, Aoki I, Matsumoto K, Gadjeva V, Anzai K, Kanno I. Nitroxyl radicals as low toxic spin-labels for non-invasive magnetic resonance imaging of blood-brain barrier permeability for conventional therapeutics. Chem Commun (Camb). 2009 Jan 7;(1):53-5. Epub 2008 Nov 13. 査読有

④. Bakalova R, Zhelev Z, Aoki I, Masamoto K, Mileva M, Obata T, Higuchi M, Gadjeva V, Kanno I. Multimodal silica-shelled quantum dots: direct intracellular delivery, photosensitization, toxic, and microcirculation effects. Bioconjug Chem. 2008 Jun;19(6):1135-42. 査読有

⑤. Bakalova, R., Zhelev, Z., Aoki, I., Kanno, I. Multimodal and biocompatible quantum dots - strategy of design. Nature Photonics, 2007, 1(9): 487-489. 査読有

⑥. Shimizu Y, Umeda M, Mano H, Aoki I, Higuchi T, Tanaka C. Neuronal response to Shepard's tones. An auditory fMRI study using multifractal analysis. Brain Res. 2007 Dec 19;1186:113-23. Epub 2007 Oct 16. 査読有

⑦. Silva AC, Lee JH, Wu CW, Tucciarone J, Pelled G, Aoki I, Koretsky AP. Detection of cortical laminar architecture using manganese-enhanced MRI. J Neurosci Methods. 2008 Jan 30;167(2):246-57. Epub 2007 Sep 2. 査読有

[学会発表] (計 19 件)

①. Ichio Aoki, Misao Yoneyama, Jun Hirose, Yuzuru Minemoto, Takayoshi Koyama, Sadahito Aoshima, Jeff

- Kershaw, Kenji Kono, Yukihiro Ishizaka, Iwao Kanno. Development of Multimodal Thermosensitive Polymer-Modified Liposome (MTPL) as a Carrier for MRI and Optical Imaging. 2008 World Molecular Imaging Congress, 1569, Nice, France, 10 - 13 September 2008
- ②. Winn Aung, Sumitaka Hasegawa, Michiko Koshikawa, Takayuki Obata, Hiroo Ikehira, Takako Furukawa, Ichio Aoki, Tsuneo Saga. In Vivo Optical and Magnetic Resonance Imaging of Electroporation-Mediated Transgene Expression in Experimental Tumors. 2008 World Molecular Imaging Congress, 698, Nice, France, 10 - 13 September 2008
- ③. Kenichi Odaka, Ichio Aoki, Junji Moriya, Kaoru Tateno, Hiroyuki Tadokoro, Tohru Minamino, Toshiaki Irie, Issei Komuro, Kanno Iwao. In-Vivo Application of Manganese-Labeled Immunocytes. 2008 World Molecular Imaging Congress, 1034, Nice, France, 10 - 13 September 2008
- ④. Michiko Koshikawa, Sumitaka Hasegawa, Isao Takahashi, Misao Hachiya, Takako Furukawa, Makoto Akashi, Satoshi Yoshida, Ichio Aoki, Tsuneo Saga. Exploring Molecular Targets for Mesothelioma Imaging. 2008 World Molecular Imaging Congress, 1141, Nice, France, 10 - 13 September 2008
- ⑤. Joonas A. Autio, Jeff Kershaw, Takayuki Obata, Sayaka Shibata, Daigo Kuroiwa, Iwao Kanno, Ichio Aoki. Compartmentalized Diffusion-Weighted Fmri Signal in Alpha-Chloralose Anesthetized Rat Somatosensory Cortex at 7 T. 2008 World Molecular Imaging Congress, 1918, Nice, France, 10 - 13 September 2008
- ⑥. Zhivko Zhelev, Bakalova Rumiana, Aoki Ichio, Gadjeva Veselina, Kanno Iwao. Quantum Dots in Multimodal Imaging: Probe Design, Spectral Characteristics, and Application, 2008 World Molecular Imaging Congress, 1595, Nice, France, 10 - 13 September 2008
- ⑦. Rumiana Bakalova, Zhivko Zhelev, 青木伊知男, 松本謙一郎, Veselina Gadjeva, 安西和紀, 菅野 巖. Multimodal Molecular Probes: Chemical Design, Spectral Characteristics and Application for In Vitro and In Vivo Imaging. 第3回日本分子イメージング学会、埼玉、2008年5月22-23日
- ⑧. 青木伊知男、米山 操、廣瀬 淳、峯本 謙、小山貴芳、青島貞人、Jeff Kershaw、河野 健司、石坂幸人、菅野 巖. 温度感受性リポソームによるMRI/蛍光の複合機能プローブの開発—腫瘍検出、薬剤放出の可視化、化学療法のために。第3回日本分子イメージング学会、埼玉、2008年5月22-23日
- ⑨. 長谷川純崇、Winn Aung、米山操、越川道子、榑崎美智子、小島隆行、古川高子、青木伊知男、佐賀恒夫。マウス実験腫瘍へのエレクトロポレーションによる遺伝子導入とその遺伝子発現のin vivo MRI/蛍光イメージング。第3回日本分子イメージング学会、埼玉、2008年5月22-23日
- ⑩. 城潤一郎、林 雪、米山操、柴田さやか、青木伊知男、田畑泰彦。血管新生モニタリングのための磁気共鳴イメージング造影剤の作成。第3回日本分子イメージング学会、埼玉、2008年5月22-23日
- ⑪. 青木伊知男、Afonso Silva、Alan Koretsky。マンガン増感MRI (MEMRI) によるラット前肢末梢神経経路トレーシング。第35回日本磁気共鳴医学会、神戸、2007年9月27-29日
- ⑫. 小高謙一、青木伊知男、米山 操、森谷純治、館野 馨、田所 裕之、南野 徹、小室一成、入江俊章、鈴木和年、菅野 巖。マンガン増感MRIによる移植細胞標識の試み。第35回日本磁気共鳴医学会、神戸、2007年9月27-29日
- ⑬. 小柴満美子、荻野孝史、青木伊知男、池平博夫、菅野 巖、中村 俊。社会性コミュニケーション行動に関する脳領域の7T MRIによる解析。第35回日本磁気共鳴医学会大会、神戸、2007年9月27-29日
- ⑭. Bakalova R, Masamoto K, Zhelev Z, Aoki I, Obata T, Kanno I. Polymer coating of quantum dots is crucial for their in vivo optical imaging application. Joint Molecular Imaging Conference, Providence, USA, 0366, 2007; Sep 8-11.
- ⑮. Bakalova Rumiana, Zhivko Zhelev, 青木伊知男、Genoveva Zlateva、小島隆行、菅野 巖。複合イメージングと生物学診断のためのカンタムドットを利用した分子プローブについて。第2回日本分子イメージング学会学術集会、福井、2007年6月28-29日
- ⑯. 米山 操、Jeff Kershaw、菅野 巖、青木伊知男。高速・定量値マッピングのマンガン増感MRIへの適用。第2回日本分子イメージング学会学術集会、福井、2007年6月28-29日
- ⑰. 小高謙一、青木伊知男、米山 操、森

谷純治、館野 馨、田所 裕之、南野 徹、小室一成、入江俊章、鈴木和年、菅野 巖 . マンガン増感MRIによる移植免疫細胞の標識技術の開発. 第2回日本分子イメージング学会学術集会、福井、2007年6月28-29日

- ⑱. Y. Kawai, I. Aoki, N. Matsumoto, M. Umeda, T. Higuchi, J. Kershaw, A. C. Silva, C. Tanaka. Detection of Reactive Gliosis using Manganese-enhanced MRI (MEMRI). International Society for Magnetic Resonance in Medicine, Scientific Meeting and Exhibition, Berlin, Germany, 2007; May 19-25.
- ⑲. Aoki I, Yoneyama M, Hirose J, Minemoto Y, Koyama T, Aoshima S, Kershaw J, Kono K, Ishizaka Y, Kanno I. Thermosensitive Polymer-Modified Liposome as a Multimodal and Multifunctional Carrier for MRI and Optical Imaging: Tumor Detection, Visualization of Triggered Drug Release, and Chemotherapy. International Society for Magnetic Resonance in Medicine, Scientific Meeting and Exhibition, 2007; May19-25.

[図書] (計 5 件)

- ①. 青木伊知男、Bakalova Rumian. DDSによる「MR分子イメージング」へ、Drug Delivery System、2008 (in press)
- ②. 青木伊知男. MRIによる分子イメージングの研究動向、放射線科学、50(12)、2007
- ③. 青木伊知男. 動物用MRイメージング計測、ますます広がる分子イメージング技術：生物医学研究から先端医療、創薬研究までを支える分子イメージング技術(遺伝子医学MOOK ; 9)、2008 (in press)
- ④. 青木伊知男、Rumiana Bakalova、DDS による「MR分子イメージング」へ、Drug Delivery System、分子イメージングとDDS、総説、23(1)、2008、61-68
- ⑤. 青木伊知男、動物用MRイメージング計測、遺伝子医学MOOK9号「生物医学研究から先端医療、創薬研究までを支える分子イメージング技術」、第1章、2. MRIによる分子イメージングISBN978-4-944157-39-6、p101-106

[産業財産権]

○出願状況 (計 1 件)

- ①. 「常磁性金属含有ポリアミドアミンデンドロン脂質」2008. 4. 25

## 6. 研究組織

(1)研究代表者

青木 伊知男 (Aoki Ichio)

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・チームリーダー

研究者番号：10319519

(2) 研究分担者 2007年

田中 忠蔵 (Tanaka Chuzo)

明治国際医療大学・医学教育研究センター・教授

研究者番号：80163541

菅野 巖 (Kanno Iwao)

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・センター長

研究者番号：10360356

(3) 連携研究者 2008年

田中 忠蔵 (Tanaka Chuzo)

明治国際医療大学・医学教育研究センター・教授

研究者番号：80163541

菅野 巖 (Kanno Iwao)

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・センター長

研究者番号：10360356