

令和 6 年 6 月 19 日現在

機関番号：13701

研究種目：国際共同研究加速基金（国際共同研究強化(B））

研究期間：2020～2023

課題番号：20KK0253

研究課題名（和文）臨床応用を目的とする酸素・代謝を指標とする新たな分子画像診断技術の国際共同開発

研究課題名（英文）Development of preclinical magnetic resonance imaging system for oxygen and energy metabolism as an imaging biomarker

研究代表者

松尾 政之（Matsuo, Masayuki）

岐阜大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：40377669

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 14,400,000円

研究成果の概要（和文）：酸素・およびエネルギー代謝は生体の恒常性維持を司るとともに、様々な疾患や治療において鋭敏に変化するため、新たな病態画像診断のイメージングバイオマーカーとしての活用が期待されている。本研究では、米国国立癌研究所（NCI/NIH）のMurali博士らとの国際共同研究においてMRIの感度を10000倍以上増幅する溶解超偏極法を用いたがん代謝のイメージングおよび抗がん剤の早期薬効評価についての研究を推進し、ムラリグループらの造影剤プロトコルを応用し、膵がんモデルマウスにおける抗がん剤の効果についてMRIによる形態的な変化の前段階で検出できることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

放射線や抗がん剤によるがん治療の効果を評価するにはMRIやCTなどを用いた解剖学的評価が常用されている。本研究で開発した早期薬効評価技術により、従来の方法に比べ飛躍的に早期に治療効果を評価できる可能性があり、がん治療の選択肢の拡充やQOLの向上に貢献すると考えられる。

研究成果の概要（英文）：Oxygen and energy metabolism are expected to be utilized as new imaging biomarkers for pathological imaging because they are essential for maintaining homeostasis in living organisms and are sensitively altered in various diseases and treatments. In this study, we advanced research on imaging cancer metabolism and early drug efficacy evaluation of anticancer drugs using a dissolution hyperpolarization method, which amplifies MRI sensitivity by more than 10000-fold. This research was conducted in collaboration with Dr. Murali and colleagues at the National Cancer Institute (NCI/NIH), applying their contrast agent protocol. We applied this protocol to detect the effects of anticancer drugs in pancreatic cancer model mice at the preliminary stage of morphological changes induced by MRI.

研究分野：放射線治療

キーワード：放射線治療 MRI 超偏極

1. 研究開始当初の背景

正常組織におけるエネルギー代謝もミトコンドリア内で行われ、好氣的代謝よりピルビン酸からクエン酸回路（TCA）及び電子伝達系（ETC: Electron Transfer Chain）を介して ATP が産生される。しかしながら、腫瘍内のエネルギー代謝は酸素の有無にかかわらずピルビン酸から乳酸への代謝が優先されることが知られている（Warburg 効果）。従ってピルビン酸をイメージング造影剤として活用することにより、腫瘍の存在/局在を鋭敏かつ特異的に検出することが可能となる。エネルギー代謝イメージングは超偏極とよばれる MRI の感度を劇的に増幅する技術により MRI 信号の超高感度化が実現し ^{13}C 化合物による代謝イメージングが可能となっている。Murali 博士の研究室では GE と共同で超偏極装置（Hypersence）を早期に導入し、これまでに腫瘍内のエネルギー代謝の可視化など多くの実績を有する（Cancer Cell 2014, Cancer Met 2015, Clin Can Res 2015, 2018, Cancer Res 2018）。また本年度からは臨床用超偏極装置（SpinLab）による臨床試験を開始する予定である。Hypersence による超偏極技術は感度を劇的に向上させるメリットがある一方で、偏極プローブの緩和時間に依存した測定時間のリミット、磁場の影響、造影剤の調整法、ノイズ等々多くの解決すべき課題がある。

2. 研究の目的

エネルギー代謝など生理機能の代謝を可視化する技術は、疾患の早期評価および疾患の治療効果の予測・超早期判別において有用なイメージングバイオマーカーとして活用できると考え、国際共同研究を通じ岐阜大学において世界第 2 号機を開発し、臨床に即した病態を用いた国際共同研究を実施する。また現在超偏極技術による代謝イメージングは、前立腺癌、脳腫瘍、乳癌などの癌領域や心機能評価において臨床試験が世界各国で開始している。申請者らは腫瘍における治療効果の早期評価に着目し、将来的な臨床超偏極装置（SpinLab）の導入と臨床試験を見据え、dissolution DNP-MRS/MRI 法を用いた早期診断および薬効評価法の開発を目的として研究を進める。

3. 研究の方法

ヒト膀胱がん細胞（MIA PaCa-2）は ATCC から購入した。細胞は、DMEM（和光純薬工業株式会社、大阪、日本）、10%不活性化ウシ胎児血清（MP Bio LLC、東京、日本）およ

びペニシリン-ストレプトマイシン (100U/mL ペニシリンおよび 100mg/mL ストレプトマイシン、Gibco Life Technologies、東京、日本) を添加し、5%CO₂を含む加湿インキュベーター内で 37°Cで培養した。0.8×10⁶~1.2×10⁶/マウス MIA PaCa-2 癌細胞を各マウスの右脚に筋肉内投与し腫瘍モデルを作成した。腫瘍体積が約 500mm³に達した時点で実験を開始した。腫瘍体積の測定には、以下の近似式を用いた：腫瘍体積 = 長さ×幅×高さの 1/2。実験前の体重は 18~20g であった。超偏極実験では、¹³C-ピルビン酸に電子スピンとして 15mM OX063 を加えて行った。HyperSense DNP 装置では(Oxford Instruments, UK)マイクロ波照射周波数 93.42GHz、100mW、1.4K で約 45 分間超偏極を実施した。超偏極したプローブ溶液を、50mM Trisaminomethane、0.3mM EDTA、60mM NaOH を含む 3mL の溶解バッファーと混合した。溶解後すぐに、250μL の超偏極プローブ溶液を、350μL の 500mM NADH を含む腫瘍ホモジネート溶液を混合した。その後、1.4T Spinsolve 60 Carbon High-Performance benchtop NMR 装置 (Magritek、ニュージーランド) を用いて、フリップ角=10°、繰り返し時間=4s で 4 分間、¹³C スペクトルの取得を開始した。抗がん剤としては、抗血管新生阻害剤であるアバスチンをマウスに腹腔内投与し、その前後において、dissolution DNP-MRS および MRI による解剖学的情報を得た。さらに、将来的なスペクトルの画像化に向けて超偏極した ¹³C-ピルビン酸を用いた Chemical Shift Imaging (CSI) についても検討を行った。

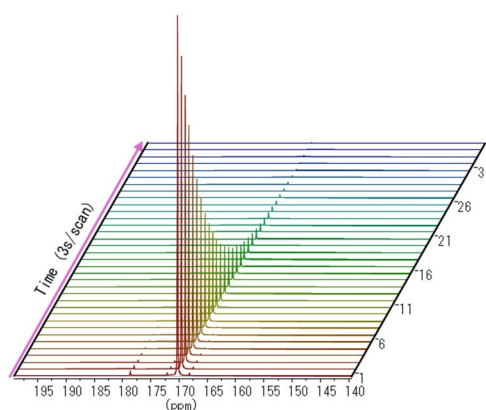


図1：超偏極した¹³Cピルビン酸のNMR信号
熱平衡状態では信号は検出できないが、超偏極によりNMR信号が増幅され、¹³CのT1緩和時間に依存して信号が減衰している。

4 . 研究結果

本研究では、先行して研究が進められている米国 NIH との国際共同研究において、dissolution DNP-MRI に関するプローブの調整法や撮像法等について共同で研究を推進することにより、岐阜大学に超偏極装置導入後速やかに実験に移行し ¹³C ピルビン酸の超偏極信号の取得に成功した。熱平衡状態では ¹³C ピルビン酸の信号は NMR および MRI においても計測することは困難であるが、超偏極後においては、SN 比で 13600 を示す超高感度信号を得ることができた。

次のがん代謝で観測されるピルビン酸から乳酸への代謝プロセスを検討するために、予め試験間に乳酸脱水素酵素(LDH)を重点して 37 度で加温した後、超偏極した ¹³C ピルビン酸を混合して NMR で計測を実施した。その結果、図 2 に示すように LDH 添加により 183ppm 付近に ¹³C の乳酸のピークを確認した。また 4 秒に 1 回スペクトルを計測することにより、ピルビン酸および乳酸の時間変化をリアルタイムで計測することができた。

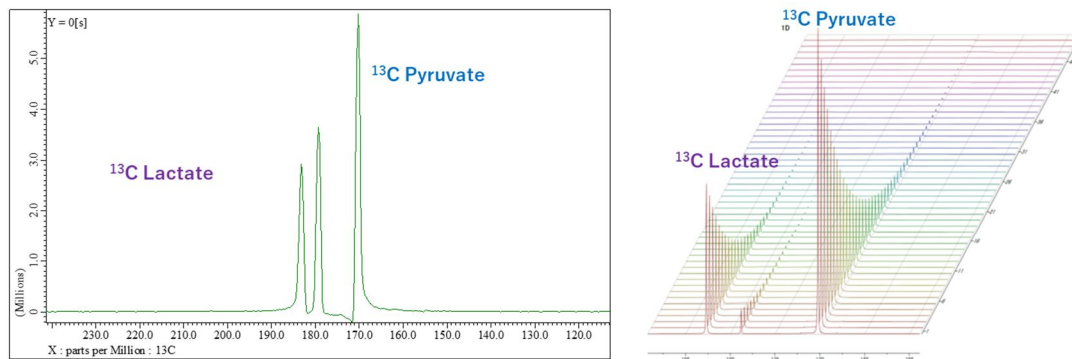


図2：乳酸脱水素酵素（LDH）添加による ^{13}C ピルビン酸から熱平衡状態では信号は検出できないが、超偏極によりNMR信号が増幅され、 ^{13}C のT1緩和時間に依存して信号が減衰している。

次に 1.5T MRI を用いた動物実験において、膵がん移植モデルマウスを用いてまず解剖学的情報を取得した。超偏極した ^{13}C ピルビン酸をマウスの尾静脈より急速投与して ^{13}C MRI によりマウス下肢部の ^{13}C 信号を連続的に取得した。その結果、投与した ^{13}C ピルビン酸の高感度な信号に加えて、がん代謝により生じた ^{13}C 乳酸の信号の検出に成功した。抗がん剤を用いた治療効果の早期評価の研究において、アバスチン処置前と処置後7日における ^{13}C ピルビン酸を用いた検討を実施した。MRI による形態観測では、腫瘍サイズに明確な違いは見られなかった。一方、超偏極 MRI を用いた実験では、 ^{13}C ピルビン酸から産生される ^{13}C 乳酸のピークは、処置前に比べ有意に低下した。これらの結果は、抗がん剤による治療効果は、腫瘍の縮小効果で見られる形態的な変化に比べ早期に変化することが示唆された。今後、他の抗がん剤や放射線治療などについても検証し、本法の有用性を示す予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 7件 / うち国際共著 1件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Kawai Tatsuya, Matsuo Masayuki, Takakusagi Yoichi, Saito Keita, Hyodo Fuminori, Devasahayam Nallathamby, Matsumoto Shingo, Kishimoto Shun, Yasui Hironobu, Yamamoto Kazutoshi, Krishna Murali C.	4. 巻 35
2. 論文標題 Continuous monitoring of postirradiation reoxygenation and cycling hypoxia using electron paramagnetic resonance imaging	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 NMR in Biomedicine	6. 最初と最後の頁 4783
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/nbm.4783	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 該当する
1. 著者名 Mori Takayuki, Kato Hiroki, Kawaguchi Masaya, Kanayama Tomohiro, Furui Tatsuro, Noda Yoshifumi, Hyodo Fuminori, Matsuo Masayuki	4. 巻 158
2. 論文標題 MRI characteristics for predicting histological subtypes in patients with uterine cervical adenocarcinoma	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 European Journal of Radiology	6. 最初と最後の頁 110612 ~ 110612
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ejrad.2022.110612	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 Kawaguchi Masaya, Kato Hiroki, Kobayashi Kazuhiro, Miyazaki Tatsuhiko, Nagano Akihito, Noda Yoshifumi, Hyodo Fuminori, Matsuo Masayuki	4. 巻 127
2. 論文標題 MRI findings to differentiate musculoskeletal dedifferentiated liposarcoma from atypical lipomatous tumor	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 La radiologia medica	6. 最初と最後の頁 1383 ~ 1389
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11547-022-01547-9	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 Koyasu Norikazu, Hyodo Fuminori, Iwasaki Ryota, Eto Hinako, Elhelaly Abdelazim Elsayed, Tomita Hiroyuki, Shoda Shinichi, Takasu Masaki, Mori Takashi, Murata Masaharu, Hara Akira, Noda Yoshifumi, Kato Hiroki, Matsuo Masayuki	4. 巻 179
2. 論文標題 Spatiotemporal imaging of redox status using in vivo dynamic nuclear polarization magnetic resonance imaging system for early monitoring of response to radiation treatment of tumor	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Free Radical Biology and Medicine	6. 最初と最後の頁 170 ~ 180
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.freeradbiomed.2021.12.311	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 -

1. 著者名 Eto Hinako, Naganuma Tatuya, Nakao Motonao, Murata Masaharu, Elhelaly Abdelazim Elsayed, Noda Yoshifumi, Kato Hiroki, Matsuo Masayuki, Akahoshi Tomohiko, Hashizume Makoto, Hyodo Fuminori	4. 巻 169
2. 論文標題 Development of 20?cm sample bore size dynamic nuclear polarization (DNP)-MRI at 16?mT and redox metabolic imaging of acute hepatitis rat model	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Free Radical Biology and Medicine	6. 最初と最後の頁 149 ~ 157
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.freeradbiomed.2021.04.017	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 -

1. 著者名 Hyodo Fuminori, Eto Hinako, Naganuma Tatsuya, Koyasu Norikazu, Elhelaly Abdelazim Elsayed, Noda Yoshifumi, Kato Hiroki, Murata Masaharu, Akahoshi Tomohiko, Hashizume Makoto, Utsumi Hideo, Matsuo Masayuki	4. 巻 36
2. 論文標題 <i>In Vivo</i> Dynamic Nuclear Polarization Magnetic Resonance Imaging for the Evaluation of Redox-Related Diseases and Theranostics	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Antioxidants & Redox Signaling	6. 最初と最後の頁 172 ~ 184
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1089/ars.2021.0087	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 -

1. 著者名 Miyai Masafumi, Kanayama Tomohiro, Hyodo Fuminori, Kinoshita Takamasa, Ishihara Takuma, Okada Hideshi, Suzuki Hiroki, Takashima Shigeo, Wu Zhiliang, Hatano Yuichiro, Egashira Yusuke, Enomoto Yukiko, Nakayama Noriyuki, Soeda Akio, Yano Hirohito, Hirata Akihiro, Matsuo Masayuki, Hara Akira, Tomita Hiroyuki	4. 巻 3
2. 論文標題 Glucose transporter Glut1 controls diffuse invasion phenotype with perineuronal satellitosis in diffuse glioma microenvironment	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Neuro-Oncology Advances	6. 最初と最後の頁 150
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/oaajnl/vdaa150	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 Hyodo Fuminori, Ito Shinji, Eto Hinako, Elhelaly Abdelazim Elsayed, Murata Masaharu, Akahoshi Tomohiko, Utsumi Hideo, Matsuo Masayuki	4. 巻 14
2. 論文標題 Free radical imaging of endogenous redox molecules using dynamic nuclear polarisation magnetic resonance imaging	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Free Radical Research	6. 最初と最後の頁 1 ~ 9
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/10715762.2020.1859109	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 Shoda Shinichi, Hyodo Fuminori, Tachibana Yoko, Kiniwa Mamoru, Naganuma Tatsuya, Eto Hinako, Koyasu Norikazu, Murata Masaharu, Matsuo Masayuki	4. 巻 92
2. 論文標題 Imaging of Hydroxyl-Radical Generation Using Dynamic Nuclear Polarization-Magnetic Resonance Imaging and a Spin-Trapping Agent	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Analytical Chemistry	6. 最初と最後の頁 14408 ~ 14414
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.analchem.0c02331	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 Hosain Md. Zahangir, Hyodo Fuminori, Mori Takeshi, Takahashi Koyo, Nagao Yusuke, Eto Hinako, Murata Masaharu, Akahoshi Tomohiko, Matsuo Masayuki, Katayama Yoshiki	4. 巻 10
2. 論文標題 Development of a novel molecular probe for the detection of liver mitochondrial redox metabolism	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 16489
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-73336-1	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 -

[学会発表] 計10件(うち招待講演 4件/うち国際学会 6件)

1. 発表者名 'Abdelazim Elsayed Elhelaly, Fuminori Hyodo, Norikazu Koyasu, Hiroyuki Tomita, Masaharu Murata, Yoshifumi Noda, Hiroki Kato, Masayuki Matsuo
2. 発表標題 Usage of Dissolution Dynamic Nuclear Polarization Magnetic Resonance Spectroscopy Depicts Efficacy of Chemotherapeutic and Radiotherapeutic anticancer interferences
3. 学会等名 ISMRT 31st Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Fuminori Hyodo, Masayuki Matsuo
2. 発表標題 Imaging tissue metabolism using dynamic nuclear polarization
3. 学会等名 Asia-Pacific EPR/ESR Symposium (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Abdelazim Elsayed Elhelaly, Fuminori Hyodo, Norikazu Koyasu, Masayuki Matsuo
2. 発表標題 Early Assessment of Radiotherapy Efficacy in MIA PaCa-2 Cancer Model by Dissolution DNP-MRS
3. 学会等名 日本放射線腫瘍学会第35回学術大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Fuminori Hyodo, Masaharu Murata, Hinako Eto, Norikazu Koyasu, Ryota Iwasaki, Abdelazim Elhelaly, Takashi Mori, Yoshifumi Noda, Hiroki Kato, and Masayuki Matsuo
2. 発表標題 Dynamic Nuclear Polarization(DNP) MRI for imaging tissue metabolism Application of dissolution DNP and in vivo DNP to animal disease models
3. 学会等名 ISMAR (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Abdelazim Elsayed Elhelaly, Fuminori Hyodo, Norikazu Koyasu, Hiroyuki Tomita, Masaharu Murata, Yoshifumi Noda, Hiroki Kato, Masayuki Matsuo
2. 発表標題 Application of Hyperpolarized ¹³ C pyruvate MRS for early evaluation of anti-cancer treatment
3. 学会等名 AMSRM (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 松尾政之
2. 発表標題 量子イメージングの放射線治療への応用
3. 学会等名 第59回日本癌治療学会学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Koyasu N, Hyodo F, Shoda S, Iwasaki R, Tomita H, Takasu M, Mori T, Matsuo M
2. 発表標題 Noninvasive Redox Imaging of Tumor Redox Status for Early Detection of Radiation Response using in vivo DNP-MRI
3. 学会等名 Annual meeting of American Society for Radiation Oncology (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Koyasu N, Hyodo F, Iwasaki R, Iwasaki R, Mori T, Yamaguchi T, Matsuo M
2. 発表標題 Visualization of free radical generation induced by radiation using dynamic nuclear polarization-MRI
3. 学会等名 Annual meeting of American Society for Radiation Oncology (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 松尾政之
2. 発表標題 放射線診療における近未来 画像診断・IVR・放射線治療
3. 学会等名 第48回日本救急医学会総会・学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 松尾政之
2. 発表標題 量子スピンドックス医療の創造
3. 学会等名 名古屋大学 未来社会創造機構 ナノライフシステム研究所 第9回NLSセミナー・GTRセミナー (招待講演)
4. 発表年 2021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	兵藤 文紀 (Hyodo Fuminori) (10380693)	岐阜大学・高等研究院・准教授 (13701)	
研究分担者	加藤 博基 (Kato Hiroki) (70377670)	岐阜大学・大学院医学系研究科・准教授 (13701)	
研究分担者	野田 佳史 (Noda Yoshifumi) (60643020)	岐阜大学・医学部附属病院・助教 (13701)	
研究分担者	川田 紘資 (Kawada Hiroshi) (00585276)	岐阜大学・医学部附属病院・講師 (13701)	
研究分担者	河合 信行 (Kawai Nobuyuki) (20724561)	岐阜大学・医学部附属病院・助教 (13701)	
研究分担者	田中 秀和 (Tanaka Hidekazu) (30509782)	山口大学・大学院医学系研究科・教授 (15501)	

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