

令和 6 年 5 月 1 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K12685

研究課題名（和文）細胞機能検出MRI造影剤による膵癌の分子病態計測

研究課題名（英文）Measurement of molecular pathogenesis of pancreatic cancer using cell function detection MRI contrast agents

研究代表者

河野 喬仁（Kawano, Takahito）

九州大学・先端医療オープンイノベーションセンター・特任講師

研究者番号：90526831

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）：MRIは空間分解能と非侵襲という利点を持つ反面、疾患部位の検出感度が不利な点を有する。本研究ではMRI診断の精度と感度を向上させ、単なる形態診断法として用いるのではなく、病態の機能・代謝イメージングを可能とする新しい高感度MRIナノ造影剤の開発を目指した。代謝イメージングに基づいた動的核偏極(dynamic nuclear polarization; DNP)を利用し、膵癌マウスをDNP-MRI撮影することによって膵癌の検出可能であるかを確認した。結果から膵癌組織周辺に優位なニトロキシラジカルのシグナルや減衰が確認され、膵癌における代謝イメージングが可能となった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今回新たに癌の代謝イメージングとしてDNP-MRIを用いることによって、超早期画像診断の実現や、これまで組織レベルまで拡大進行した病変しか検出できなかった画像診断を、細胞から分子レベルの病変で見出すことが可能となる。体内のあらゆる臓器・組織に適用できる「イメージングによる病理診断技術」としての実用化が期待され、患者の重症化を回避しつつ非侵襲の機能診断へと、MRI画像診断の役割を飛躍的に発展させる可能性を秘めている。これにより、悪性度の高い癌組織を、高い解像度で得られ、今後、癌の性質を見極める高度な診断や、治療前の効果の予測や治療後の迅速効果判定にも応用できる新しい医療の形成が期待できる。

研究成果の概要（英文）：While MRI has the advantages of spatial resolution and non-invasiveness, it has a disadvantage in terms of sensitivity to detect disease sites. In this study, we aimed to improve the accuracy and sensitivity of MRI diagnosis and to develop a new highly sensitive MRI nanocontrast agent that enables functional and metabolic imaging of pathological conditions, rather than simply using MRI as a morphological diagnostic method. Using dynamic nuclear polarization (DNP) based on metabolic imaging, we confirmed whether pancreatic cancer can be detected by DNP-MRI imaging of pancreatic cancer mice. The results showed that nitroxyl radical signals and attenuation were predominant around the pancreatic cancer tissue, and metabolic imaging in pancreatic cancer was possible.

研究分野：生体機能材料

キーワード：画像診断 MRI DNP-MRI ナノカプセル 造影剤

1. 研究開始当初の背景

画像診断法の発展は疾病の早期発見とその治療効果の改善にめざましい進歩をもたらした。中でも MRI は非侵襲・無障害であること、そして軟部組織コントラストが高く、空間分解能に優れていることから臨床医学の現場において重要な位置を占めている。事実、MRI の国内設置数はすでに 8000 台を越え、臨床診断装置として不可欠な役割を担っている。また超音波診断や CT で評価困難な病変の広がりを容易に把握できることや、骨などのアーチファクトが少ないことも MRI の大きな特徴である。しかし MRI には、病巣検出能は高いものの疾患特異性が低いという欠点がある。特に微小な癌部の検出は、疾患の早期発見と術中における摘出部位の確認のために重要な課題である。

2. 研究の目的

MRI 装置のハードとソフト両面における進歩は、撮像の時間分解能や画像の空間分解能など画像診断情報の質を向上させ、MRI の対象領域をますます拡大している。しかしながらその撮影原理上、MRI によって病変部位を特異的に描出することは困難であり、ほとんどの場合、単純な形態診断法として使われている。この欠点を補完し、病変部位のコントラストを増強するために使われているのが主にガドリニウム錯体である MRI 造影剤である。既に肝臓・脾臓・骨髄といった網内系に特異的な造影剤が臨床において広く使われており、組織選択性という観点では大きな成果を上げている。しかし現在臨床で利用されている造影剤は癌などの特定の疾患に対する特異性は低く、未だ発展途上と言わざるを得ない。MRI を単なる形態診断から機能診断へと発展させるためには、病態の分子医学的情報に応答する新しい機能化造影剤の開発が不可欠である。

そこで本研究では、生体の機能を生体内外の細胞機能等を利用して分子レベルで可視化する、いわゆる分子イメージング技術を導入した新しい MRI 機能化ナノ造影剤を開発する。この機能化造影剤のプラットフォームとして、タンパク質ナノカプセルを利用する。このタンパク質ナノカプセル Mj285 は内孔(内径 10 nm)を有する球状構造体(24 量体、外径 15 nm)を形成するため、その内部に造影剤を内包することが可能である。我々はすでにこのナノカプセルの遺伝子クローニングに成功し、大腸菌を使った大量発現系と精製法を確立している。これまでに膵癌をターゲティングしたナノ造影剤の開発を行ってきた。膵癌は間質増生が強く血流が乏しいため、造影剤が十分に腫瘍到達できないため、腫瘍選択的な浸透増強効果をもたらす iRGD (cyclic(CRGDKGPDC))ペプチドをナノカプセル表面に組み込んだ。ガドリニウムを内包させたナノカプセルを尾静脈投与すると、マウスの癌組織 MRI により検出可能であることを確認している。本申請では、この造影剤内包ナノカプセルをプラットフォームとして、それを分子生物学的手法や有機合成化学によって様々に修飾することで、癌標的化、代謝イメージング、さらに病変部位で MRI シグナルを変化させることで膵癌の分子病態を可視化・数値化するインテリジェント型ナノ造影剤を開発する。

本研究では、膵癌をターゲティングした機能性ナノ造影剤の開発を目指す。近年、申請者が開発を進めている動的核偏極 (dynamic nuclear polarization; DNP) を利用する。DNP-MRI 法は、フリーラジカルの電子スピンを ESR 遷移させ、電子スピンの双極子相互作用により核スピンの偏極する現象 (オーバーハウザー効果) を利用し MRI の感度を劇的に上昇させラジカルの情報を得る技術である。DNP-MRI によるラジカル画像は MRI と同等の空間分解能と時間分解能を有し、またニトロキシルラジカルをプローブとした場合、レドックス代謝を解析することが可能である。ニトロキシルラジカルは生体内で種々のレドックス反応を媒介することが知られており、生体内では還元されラジカルを失い主にヒドロキシルアミン体 (非磁性) となる。生体内のレドックス状態に応じて画像強度の消失速度が変化するため、この消失速度をレドックス反応速度として解析する (図 1)。膵癌においてレドックス制御因子の異常が報告され、ナノカプセル内にニトロキシルラジカルを搭載できれば、膵癌のレドックス代謝を可視化することが期待される。

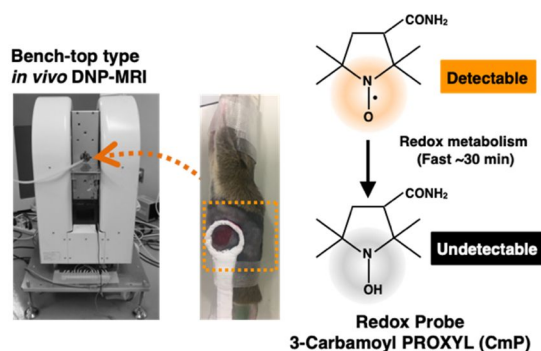


図 1 DNP-MRI 評価

3. 研究の方法

まずは膵癌のレドックス代謝が可視化できるか検討を行った。DNP-MRI 装置として低磁場型 MRI 装置 Keller (日本レドックス社製) を用いた。マウス尾静脈よりニトロキシルラジカルをプローブの一つである 3-Carbamoyl PROXYL (CmP) を 150 mM を 30 秒かけて投与し、膵臓付近の腹部表面に DNP-MRI のコイルを設置し、Keller を用いて撮影を 1 分毎に経時的測定を行った。画

像取得条件は、TR:500 ms, TE: 20 ms, FOV: 40, Slice: 50 mmである。取得した画像から、ニトロキシラジカルの減衰速度より、レドックス代謝を測定した。また抗癌剤による癌組織の代謝を比較するため、膵癌の既存治療薬であるゲムシタピンを尾静脈より投与し、その後の薬理効果や治療効果を DNP-MRI によって測定し、同様にラジカルの減衰速度からレドックス代謝を測定した。

4. 研究成果

最初に In vivo DNP-MRI によって膵癌が検出可能か検討した。図2のようにマウスを固定し、サーフェイスコイルを置いた。膵癌マウスに CmP を投与後、ESR on/off で撮像すると膵癌部位で強いシグナルを検出し、腫瘍の輪郭および内部を取得した。同様に MRI を撮影し腫瘍部位と同等の画像を得たことから、DNP-MRI によって撮像が可能であることを示した。

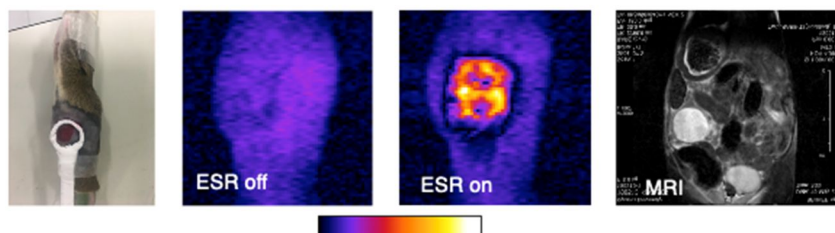


図2 膵癌マウスに対する DNP-MRI 撮像

In vivo DNP-MRI 撮像解析では、撮像画像をイメージングソフトでプロブの画像強度を解析し、画像強度の減衰グラフの傾きから、ニトロキシラジカルの減衰速度を算出し評価した。まず、抗癌剤投与前の膵癌マウスの膵癌付近を DNP-MRI を撮像した。膵癌組織周辺に優れたニトロキシラジカルのシグナルが観察され、癌組織の輪郭が示された。またニトロキシラジカルの減衰も確認され、膵癌におけるレドックス代謝が観察された。特に癌組織であるため、通常の組織より減衰速度が速いことがわかり、以前の癌組織の代謝イメージングと一致した結果が得られた(図3)。次に抗癌剤ゲムシタピンを投与した後の DNP-MRI 画像を取得した。ゲムシタピンの効果により、若干ではあるが腫瘍の小さく、輪郭が狭くなった(図4)。

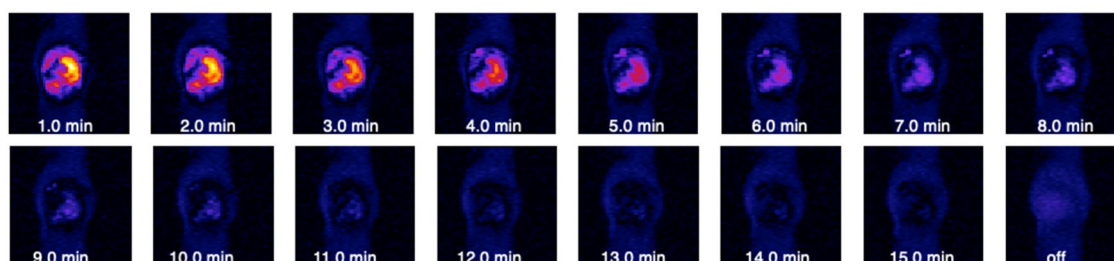


図3 癌組織の DNP-MRI 画像とその経時変化

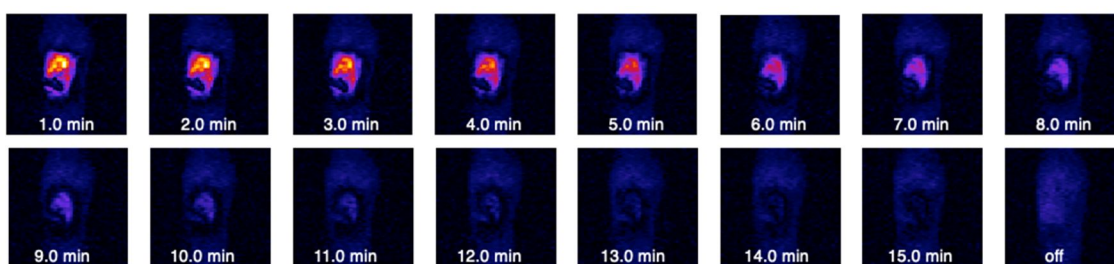


図4 抗癌剤投与後の癌組織の DNP-MRI 画像とその経時変化

減衰速度をゲムシタピン投与前後でそれぞれプロットを行った(図5)。減衰速度を比較すると、ニトロキシラジカルの減衰速度は、投与後において明確に減少していることがわかった。これは抗癌剤によって、腫瘍組織が減少した、もしくは癌細胞の代謝が落ちたことを示し、ゲムシタピンの治療効果を表していると考えられる。DNP-MRI によって、単なる形態観察ではなく膵癌組織の代謝イメージングが非侵襲的に可能であり、また、創薬開発における病態評価の有用性を示した。

申請者はこれまでに MRI や近赤外イメージングにより病変部位の検出を行ってきた。今回新たに癌の代謝イメージングとして DNP-MRI を用いることによって、超早期画像診断の実現や、こ

れまで組織レベルまで拡大進行した病変しか検出できなかった画像診断を、細胞から分子レベルの病変で見いだすことが可能となる。体内のあらゆる臓器・組織に適用できる「イメージングによる病理診断技術」としての実用化が期待され、患者の重症化を回避する非侵襲の機能診断へと、MRI 画像診断の役割を飛躍的に発展させる可能性を秘めている。これにより、悪性度の高い癌組織を、高い解像度で得られ、今後、癌の性質を見極める高度な診断や、治療前の効果の予測や治療後の迅速効果判定にも応用できる新しい医療の形成が期待できる。

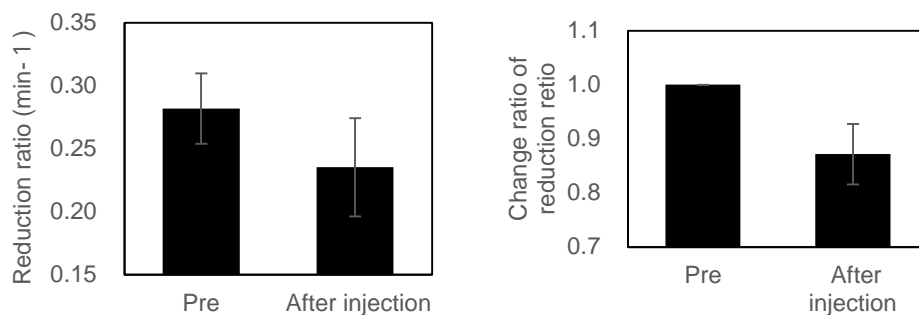


図5 抗癌剤投与前後の減衰速度

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 10件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Kawano Takahito, Inokuchi Junichi, Eto Masatoshi, Murata Masaharu, Kang Jeong-Hun	4. 巻 14
2. 論文標題 Protein Kinase C (PKC) Isozymes as Diagnostic and Prognostic Biomarkers and Therapeutic Targets for Cancer	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cancers	6. 最初と最後の頁 5425 ~ 5425
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cancers14215425	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Ito Mamoru, Nakano Michitaka, Ariyama Hiroshi, Yamaguchi Kyoko, Tanaka Risa, Semba Yuichiro, Sugio Takeshi, Miyawaki Kohta, Kikushige Yoshikane, Mizuno Shinichi, Isobe Taichi, Tanoue Kenro, Taguchi Ryosuke, Ueno Shohei, Kawano Takahito, Murata Masaharu, Baba Eishi, Akashi Koichi	4. 巻 532
2. 論文標題 Macrophages are primed to transdifferentiate into fibroblasts in malignant ascites and pleural effusions	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cancer Letters	6. 最初と最後の頁 215597 ~ 215597
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.canlet.2022.215597	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 Inokuchi Junichi, Murata Masaharu, Kawano Takahito, Kang Jeong-Hun, Kinoshita Fumio, Matsumoto Takashi, Monji Keisuke, Kashiwagi Eiji, Takeuchi Ario, Shiota Masaki, Eto Masatoshi	4. 巻 40
2. 論文標題 Activated protein kinase C-alpha as a simple test for urothelial cancer screening.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Oncology	6. 最初と最後の頁 e16552 ~ e16552
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1200/JCO.2022.40.16_suppl.e16552	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 Takagishi Soh, Arimura Koichi, Murata Masaharu, Iwaki Katsuma, Okuda Tomohiro, Ido Keisuke, Nishimura Ataru, Narahara Sayoko, Kawano Takahito, Iihara Koji	4. 巻 8
2. 論文標題 Protein Nanoparticles Modified with PDGF-B as a Novel Therapy After Acute Cerebral Infarction	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 eneuro	6. 最初と最後の頁 0098 ~ 21
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1523/ENEURO.0098-21.2021	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 Kawano Takahito, Tachibana Yoko, Inokuchi Junichi, Kang Jeong-Hun, Murata Masaharu, Eto Masatoshi	4. 巻 22
2. 論文標題 Identification of Activated Protein Kinase C (PKC) in the Urine of Orthotopic Bladder Cancer Xenograft Model as a Potential Biomarker for the Diagnosis of Bladder Cancer	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 9276 ~ 9276
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms22179276	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kawano Takahito, Inokuchi Junichi, Eto Masatoshi, Murata Masaharu, Kang Jeong-Hun	4. 巻 13
2. 論文標題 Activators and Inhibitors of Protein Kinase C (PKC): Their Applications in Clinical Trials	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Pharmaceutics	6. 最初と最後の頁 1748 ~ 1748
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/pharmaceutics13111748	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Chiba Toru, Murata Masaharu, Kawano Takahito, Hashizume Makoto, Akahoshi Tomohiko	4. 巻 13
2. 論文標題 Reflectance spectra analysis for mucous assessment	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 World Journal of Gastrointestinal Oncology	6. 最初と最後の頁 822 ~ 834
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.4251/wjgo.v13.i8.822	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 Toita Riki, Kawano Takahito, Murata Masaharu, Kang Jeong-Hun	4. 巻 131
2. 論文標題 Bioinspired macrophage-targeted anti-inflammatory nanomedicine: A therapeutic option for the treatment of myocarditis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Materials Science and Engineering: C	6. 最初と最後の頁 112492 ~ 112492
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.msec.2021.112492	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 Guo Jie, Akahoshi Tomohiko, Mizuta Yukie, Murata Masaharu, Narahara Sayoko, Kawano Takahito, Nagao Yoshihiro, Zhang Shuo, Tomikawa Morimasa, Kawanaka Hirofumi, Hashizume Makoto	4. 巻 27
2. 論文標題 Histidine Rich Glycoprotein Alleviates Liver Ischemia/Reperfusion Injury in Mice With Nonalcoholic Steatohepatitis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Liver Transplantation	6. 最初と最後の頁 840 ~ 853
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/lt.25960	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 Kidoaki Satoru, Ebata Hiroyuki, Moriyama Kosuke, Kuboki Thasaneeya, Tsuji Yukie, Sawada Rumi, Sasaki Saori, Okuda Tatsuya, Hamano Kosuke, Kawano Takahito, Yamamoto Aki, Kono Ken, Tanaka Kazusa	4. 巻 -
2. 論文標題 Nuclear activation in dual-durotaxing cells on a matrix with cell-scale stiffness-heterogeneity	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 bioRxiv	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1101/2021.10.30.466554	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2件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 河野 喬仁・戸井田力・榎原佐由子・兵藤文紀・赤星朋比古・姜貞勲・村田正治
2. 発表標題 PSリボソームによるマクロファージ機能変換と炎症性疾患の治療
3. 学会等名 第39回日本DDS学会学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 河野 喬仁・戸井田力・榎原佐由子・兵藤文紀・赤星朋比古・姜貞勲・村田正治
2. 発表標題 マクロファージ表現型制御リボソームの開発と炎症性疾患に対する治療
3. 学会等名 生体医工学シンポジウム2023
4. 発表年 2023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
--	---------------------------	-----------------------	----

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