

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年4月16日現在

機関番号：17301

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2010～2012

課題番号：22592091

研究課題名（和文） MR スペクトロスコピーと拡散強調イメージングを用いた腫瘍 hypoxia 診断確立

研究課題名（英文） Hypoxia diagnosis by MR spectroscopy and Diffusion Weighted Imaging

研究代表者

柴田 智 (EIDA SATO)

長崎大学・大学院医歯薬学総合研究科・助教

研究者番号：80325662

研究成果の概要（和文）：

本研究は、MRI を用いて悪性腫瘍内部の hypoxic area を捉えることを目的としていた。結果から、細胞膜が細胞の状態を決定する重要な因子であることが示唆された。このことは、hypoxia の過程を知るための手段となりえる。

研究成果の概要（英文）：

The purpose of this study was to detect hypoxic area in the malignant tumor by MRI. These results suggest that the plasma membranes are critical determinants of the diffusion characteristics on the cellular level. This can be used to monitor the hypoxia pathways.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2011年度	800,000	240,000	1,040,000
2012年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	2,900,000	870,000	3,770,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・病態科学系歯学・歯科放射線学

キーワード：hypoxia、MRI

1. 研究開始当初の背景

hypoxic areaでは不完全な血管構築による還流不全により酸素供給量が減少する。そのため細胞内でのミトコンドリアの酸素消費量が減少し、それに伴いATP生産も低下する。

ATP生産の低下により細胞膜イオンポンプの機能が障害を受けることになる。

ミトコンドリアは TCA 回路により産生された NADH が NAD⁺にかわる際に放出される H⁺をエネルギーとして ADP から ATP を産生する。ATP はミトコンドリアから細胞質へと出て、細胞の種々の活動に使われることにな

る。腫瘍内部の hypoxic area を探知するにあたり、本研究では hypoxic area で生じる ATP 代謝異常と細胞膜の変化に注目した。すなわち、hypoxia に伴う ATP 代謝異常は MR スペクトロスコピーにて、また細胞膜におこる変化は拡散強調 MR 画像にて解析、画像化することができると考えた。

MR スペクトロスコピーは非侵襲的に生体内の代謝情報を取り出すのに有用な方法であり、ケミカルシフトの異なる各化合物の分布を MR スペクトルプロファイルとして定量化することができる。加えて、拡散強調 MR イメージングによりみかけの拡散係数(ADC)を測定することで、細胞浮腫等の変化を定量することができる。すなわち細胞浮腫をおこすと、細胞内の水分子が増加し、さらに細胞膜の電位の変化で細胞膜周辺にトラップされる水分子の量が増加するため、hypoxic area では ADC が低下すると予想している。もし hypoxia が続いた結果、細胞死をまねくことがあれば、ADC にもさらに影響するであろう。

以上のように MR スペクトロスコピーや拡散強調 MR 画像を用いることで、早期にそして的確に hypoxia の状態を診断することができるようになると考えている。本研究では、この2つの MR 診断技術を利用して、腫瘍の悪性度やリンパ節をはじめとする遠隔転移の可能性を非侵襲的に診断し得るシステムを構築することを目的とした。

2. 研究の目的

腫瘍細胞の増殖とそれに伴って起こるべき血管新生との間のアンバランスによって生じた低酸素領域(hypoxic area)は、腫瘍の悪性度や遠隔器官への転移を助長し、このため患

者の予後を大きく左右しかねない要素だとされる。しかしこの hypoxic area を早期にそして的確に診断する手立ては非常に限られている。本研究では、いわゆる metabolic hypoxia とよばれる現象に伴って生じる ATP 生産の変動による、ATP 代謝の変化を MR スペクトロスコピーにて、さらに hypoxia に伴う細胞自体の変化を拡散強調 MR 画像にて解析することで悪性腫瘍内部の hypoxic area を早期にかつ正確に捉えるシステムを確立することを目的としている。

3. 研究の方法

【平成22、23年度】

MR スペクトロスコピー および拡散強調 MR イメージングを用いた hypoxia 検出技術の策定を目標に研究をすすめる。

① MR スペクトロスコピー

撮像は single voxel で行い、ケミカルシフトの異なる各化合物の分布を MR スペクトルファイルとして定量化する。

② 拡散強調 MR イメージング

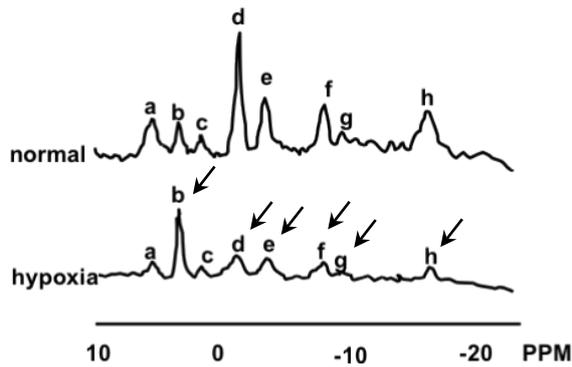
撮像により腫瘍の ADC 値を得る。

【平成24年度】

前年度までに開発、確立した方法を臨床研究に応用すべく①撮像条件②hypoxia の判定基準の確定に着手する。

4. 研究成果

MR スペクトロスコピーを用いた研究では、hypoxic area では、Pi の上昇 (b)、Phosphocreatine (d)、 γ -ATP/ β -ADP (e)、 α -ATP/ α -ADP (f)、 NAD^+ (g)、および β -ATP (h) の低下として観察できるはずである(次頁図中矢印)。さらには hypoxia が進んで細



胞壊死を起こした細胞内部では膜リン脂質の指標である PME (a) および PDE (c) の減少が認められると考えていた。

しかし、hypoxia に伴う ATP 代謝異常の解析・画像化が上手く行かず、予想した結果を得ることは出来なかった。

しかし一方で、拡散強調 MR イメージング用いた研究では予想以上の結果を得ることが出来た。

細胞膜におこる変化のうち細胞浮腫では、細胞内の水分子が増加し、さらに細胞膜の電位の変化で細胞膜周辺にトラップされる水分子の量が増加するため、hypoxic area では ADC が低下すると予想した。実際、結果はその通りであった (Fig. 1、2)。

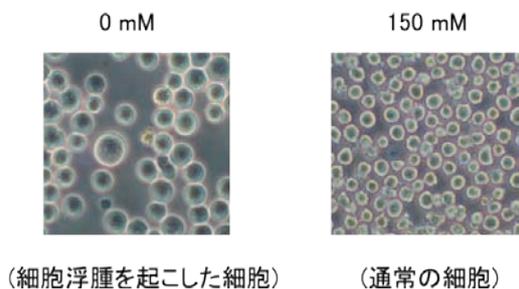


Figure 1

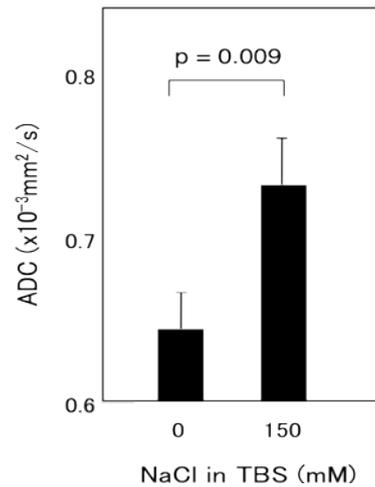


Figure 2

また、hypoxia が続くと、細胞死をまねくことがあると予想される。そこで経路の異なる細胞死、すなわちアポトーシスとネクローシスについて検討を行った。

アポトーシスでは、cell shrinkage や membrane blebbing を認めるが、cell swelling は認めない。一方、ネクローシスでは、cell swelling が認められた後、cell shrinkage や membrane breakage が見られる。アポトーシスとネクローシスの ADC の変化を示す (Fig. 3、4)。*, P<0.00

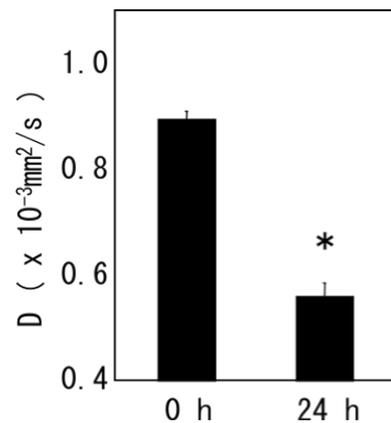


Figure 3

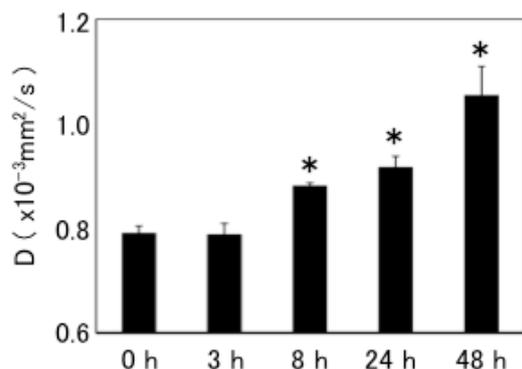


Figure 4

この結果から、ADCは細胞膜の存在や変化との関連が示唆される。組織内の拡散は、細胞膜の存在により運動を制限されると考えられているが、細胞膜の形態や構造、機能などのうち何が拡散に影響を与えているのかはまだよくわかっていない。ADCと細胞膜との関連を明らかにしていけば、悪性腫瘍内部の hypoxic area を早期にかつ正確に捉えるシステムを確立することに寄与するものと考ええる。

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0件)

[学会発表] (計2件)

榮田 智, 佛坂由可, 片山郁夫, 山田敏朗, 中村 卓: In vitro measurement of diffusion coefficient.
第52回日本歯科放射線学会総会・学術大会
第18回 国際歯顎顔面放射線学会併催(広島)プログラム・講演抄録集, P36, 2011 5/25-29

榮田 智, 佛坂由可, 片山郁夫, 山田敏朗, 中村 卓: 拡散強調を左右する細胞学的要因について
第53回日本歯科放射線学会総会・学術大会(岩手)プログラム・講演抄録集, P54, 2012 6/1-3

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

○取得状況 (計0件)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

榮田 智 (EIDA SATO)

長崎大学・大学院医歯薬学総合研究科・助教

研究者番号: 80325662

(2) 研究分担者

角 忠輝 (SUMI TADATERU)

長崎大学・大学院医歯薬学総合研究科・助教

研究者番号: 80284701

角 美佐 (SUMI MISA)

長崎大学・大学院医歯薬学総合研究科・准教授

研究者番号: 90284702

木村 泰男 (KIMURA YASUO)

長崎大学・大学院医歯薬学総合研究科・助教

研究者番号: 30253686

佛坂 由可 (HOTOKEZAKA YUKA)

長崎大学・大学病院・講師

研究者番号: 10244089

佐々木 美穂 (SASAKI MIHO)

長崎大学・大学病院・助教

研究者番号: 10437874

市川 陽子 (ICHIKAWA YOKO)

長崎大学・大学病院・助教

研究者番号: 90380857

中村 卓 (NAKAMURA TAKASHI)

長崎大学・大学院医歯薬学総合研究科・教授

研究者番号: 30172406