

論 文 内 容 要 旨

題目 Intratumoral evaluation of 3D microvasculature and nanoparticle distribution using a gadolinium-dendron modified nano-liposomal contrast agent with magnetic resonance micro-imaging

(MR マイクロイメージングとガドリニウム-デンドロン修飾ナノリポソーム造影剤を用いた 3D 微小血管およびナノ粒子分布の腫瘍内評価)

著者 Nobuhiro Nitta, Yoichi Takakusagi, Daisuke Kokuryo, Sayaka Shibata, Akihiro Tomita, Tatsuya Higashi, Ichio Aoki, Masafumi Harada

平成 30 年発行 Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine に掲載予定

内容要旨

腫瘍内血管は正常組織の血管とは異なる不規則な構築を持ち、薬剤送達性の不均一や離れた細胞への酸素供給不足を引き起こす。酸素供給不足から引き起こされる低酸素領域は放射線治療法への耐性の原因となり、腫瘍の難治性との関連が報告されている。腫瘍血管構造を観測することは、薬剤送達性の予測、および低酸素領域の予想を行う上で重要な要素となりうることを示唆される。今回我々は、MRI におけるマイクロイメージングを行い、異なる腫瘍における血管構造の違いを高分解能で可視化するとともに、治療過程におけるナノ粒子の漏出を評価することを目的とした。

測定機器は、Bruker BioSpin 社製の前臨床 7T-MRI および高感度冷却コイルを用いた。腫瘍内血管を可視化するために、血中滞留性の長い Gadolisome™ を使い、Time of flight 法による MR micro angiography を  $50\mu\text{m}^3$  の高解像度で撮像した。免疫疾患マウス (BALB/c nu/nu, および NOG™) の臀部に、マウス大腸ガン細胞である Colon26、およびヒト由来リンパ腫である SU-DHL6 を移植した。撮像プロトコルは FLASH シークエンスを用い、以下のパラメータにて施行した: TR / TE = 15/2.5 ms, FOV =  $12.8\text{ mm}^3$ , matrix size =  $256 \times 256 \times 256$ , slice 厚 = 0.75 mm, flip 角 =  $20^\circ$ , 積算回数 = 3, 撮像時間 = 36 分 51 秒。MR 撮像後、腫瘍を摘出しパラホルムアルデヒドによって固定を行い、新生血管を染色する CD31 染色を施し、組織切片との比較を行った。

## 様式(8)

加えて、血管新生阻害薬である Sunitinib による治療効果の評価を行うために、腫瘍サイズを経時的に測定した。腫瘍の成長速度に差があるため、Colon26 は 14 日間、SU-DHL6 は 30 日間経過を観察した。その内 1 例の Colon26 を、MRI を用いて経時的に測定を行った。測定は治療前、治療 7 日後、治療 10 日後である。

結果として、Colon26 および SU-DHL6 における血管構築の違いを明確に可視化することができた。得られた MRmA 画像を詳細に解析することにより、腫瘍内血管体積や領域における血管分布の差、血管の太さ等に優位な差を見出すことができた。SU-DHL6 は Colon26 よりも太い血管を有し、密度の高い血管を有することを絶対的に評価することができた。その結果は組織学的染色と相関する結果を示した。

一方で、Sunitinib による治療効果の評価した実験では、Colon26 よりも SU-DHL6 に対する治療効果が見られた。このことから、血管依存的に薬剤が効果を示したのではないかと考えられた。また、経過観察した Colon26 モデルマウスの結果からは、非侵襲的に治療過程を追跡することができるように、造影剤の漏出を経時的に観察することで、本手法の有用性を提示した。

この手法は、今後、さらに多種多様な腫瘍を評価することにより、腫瘍のキャラクタライゼーションや、多様性に富む MRI の撮像手法を組み合わせたマルチパラメトリック撮像、再生医療、薬剤送達性を評価する Drug delivery system や、造影剤と治療効果を併せ持つ Theranostics probe の評価へ応用できることが期待される。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

報告番号	甲医第 <b>1375</b> 号	氏 名	新田 展大
審査委員	主査 高山哲治 副査 勢井宏義 副査 石澤啓介		

題目 Intratumoral evaluation of 3D microvasculature and nanoparticle distribution using a gadolinium-dendron modified nano-liposomal contrast agent with magnetic resonance micro-imaging

(MR マイクロイメージングとガドリニウム-デンドロン修飾ナノリポソーム造影剤を用いた 3D 微小血管およびナノ粒子分布の腫瘍内評価)

著者 Nobuhiro Nitta, Yoichi Takakusagi, Daisuke Kokuryo, Sayaka Shibata, Akihiro Tomita, Tatsuya Higashi, Ichio Aoki, Masafumi Harada

平成 30 年発行 Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine に掲載予定

(主任教授 原田雅史)

要旨 腫瘍内血管は正常組織の血管とは異なる不規則な構築を有することから、血管構造を評価することにより薬剤送達性や低酸素領域の予想に関する重要な情報が得られる。申請者らは、MRI におけるマイクロイメージングを用いて、2種類の xenograft 腫瘍における血管構造の違いを高分解能で可視化するとともに、治療過程におけるナノ粒子の漏出を評価することで本手法の有用性を評価した。免疫不全マウスにマウス大腸癌細胞株 Colon26 あるいはヒトリンパ腫細胞株 SU-DHL6 を接種し、動物用 7T-MRI および高感

度冷却コイルを用いて高解像度の MR micro angiography を撮像した。造影剤には血管滞留性の高い新規リポソーム造影剤である Gadolisome™ を用いた。

得られた結果は以下の通りである。

- 1) Colon26 腫瘍では、主に腫瘍辺縁部にのみ細い血管を認めたのに対し、SU-DHL6 腫瘍では、腫瘍中心部に分枝を有する太い血管を多数認めた。
- 2) 3D 画像および 2 値化画像を用いて血管新生パターンを確認したところ、Colon26 腫瘍では主に腫瘍表層にのみ血管を認めたのに対し、SU-DHL6 腫瘍では腫瘍全体に血管を認めた。
- 3) 腫瘍内血管の体積および直径の定量化が可能であり、SU-DHL6 腫瘍では、Colon26 に比べていずれも有意に大きかった。
- 4) マウスに sunitinib を投与したところ、腫瘍血管の減少を認めるとともに、新規造影剤であるナノ粒子の血管外漏出を示唆する所見が得られた。

以上より、新規造影剤を用いた MR microangiography は従来の MRI では困難であった細かい腫瘍血管の評価や治療効果の評価に有用であることが示された。本研究は、画像診断学へ寄与するところが大きく学位授与に値すると考えた。