

Fig.4-2-02 UMA sample (正常 ddy mouse, 0.05 mmol/kg)

この造影剤は投与直後の血液の信号増強効果は極めて乏しい。



Fig.4-2-03 Sugiyama sample (正常 ddy mouse, 0.05 mmol/kg)

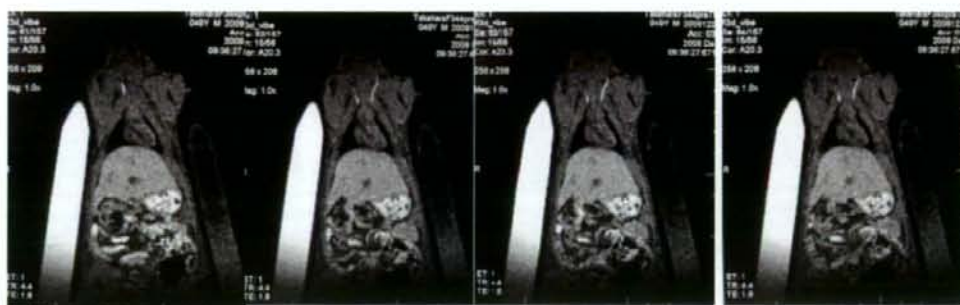
造影後の信号増強効果は乏しい。



pre 1st phase 2nd phase 3rd phase

Fig.4-2-04 A sample F344 10週齢 雄性、0.05mmol/kg

造影後の信号増強効果はほとんど認められない。(表示の pre、1st phase、2nd phase、3rd phase はそれぞれ投与前、投与 50 秒後、100 秒後、150 秒後である)



pre 1st phase 2nd phase 3rd phase

Fig.4-2-05 AA sample F344 10週齢 雄性、0.05mmol/kg

造影後の信号増強効果はほとんど認められない。(表示の pre、1st phase、2nd phase、3rd phase はそれぞれ投与前、投与 50 秒後、100 秒後、150 秒後である)

S1



Fig. 4-2-06 S1

造影後の信号増強効果をほとんど認められない。

S1 double-dose

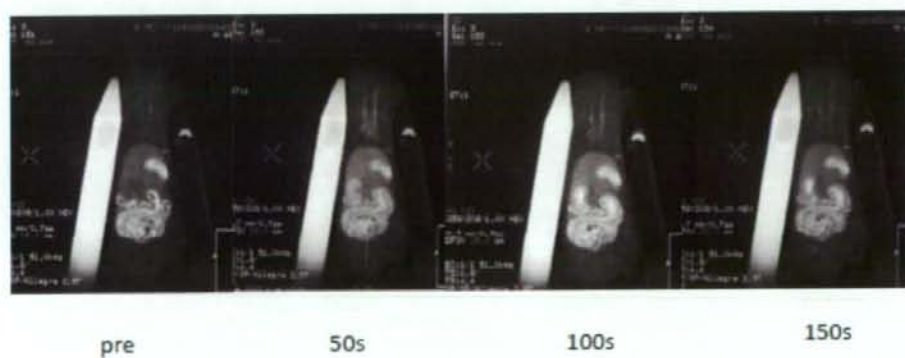


Fig. 4-2-07 S1

信号増強効果はほとんどみられない。

U1

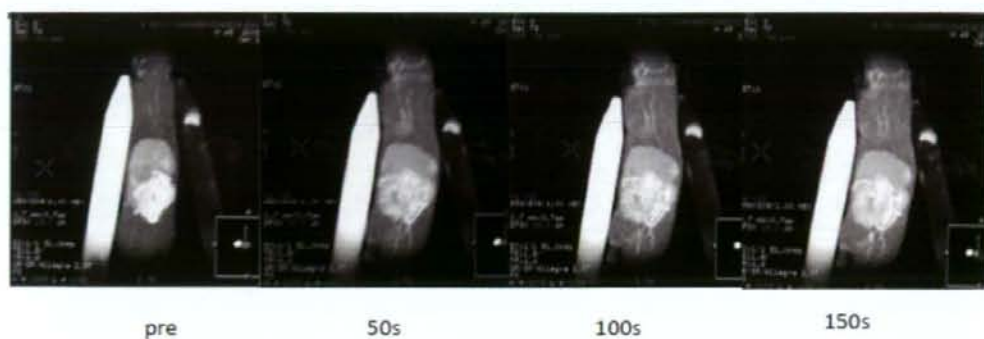


Fig. 4-2-08 U1

信号増強効果は存在するも極めて弱い。

U2 double-dose

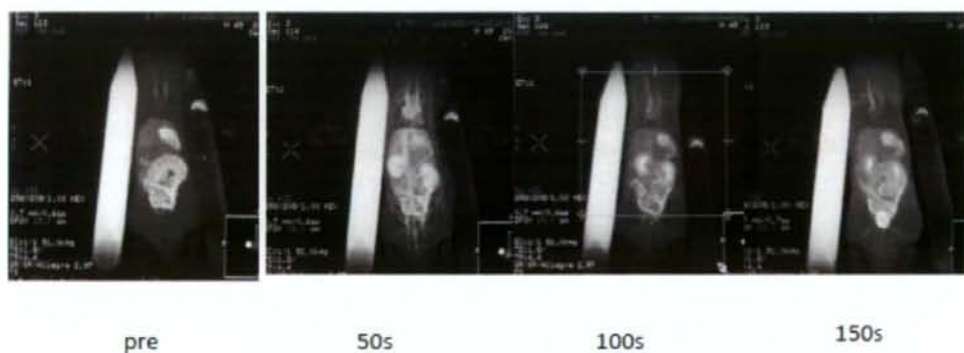


Fig. 4-2-09 U2

造影直後に血液の信号強度の上昇が見られるが静脈相ではすでに消失しているので信号増強の持続効果に乏しいといえる。

A14

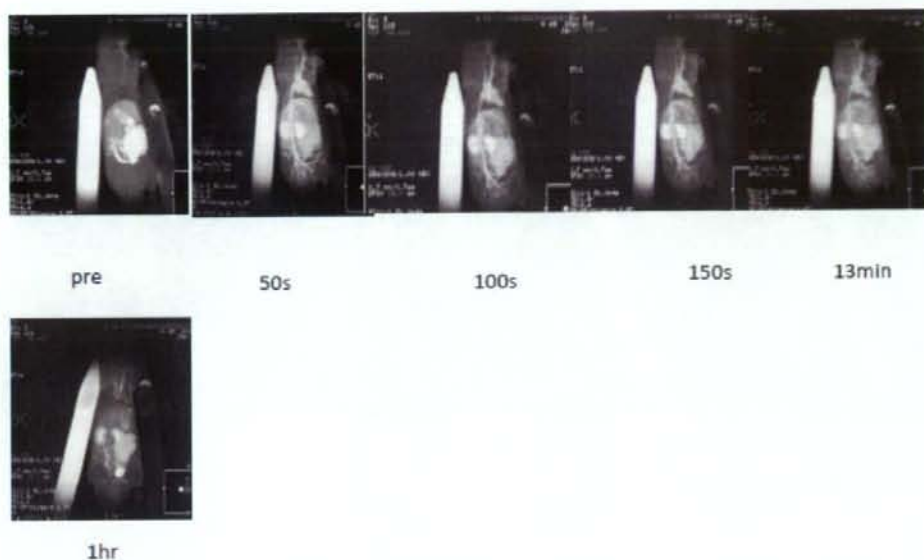


Fig. 4-2-10 A14

強い信号増強効果あり。比較的長時間にわたり（少なくとも13分間）まで持続する信号増強効果を認める。

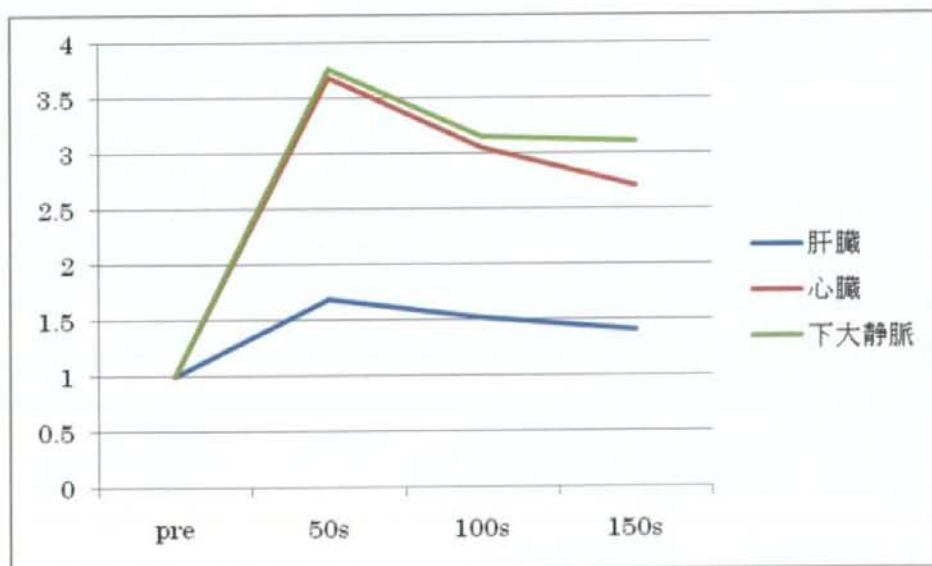


Fig. 4-2-11 A14 投与前後における肝臓、心臓、下大静脈のファントムに対する信号強度比の推移グラフ

A21

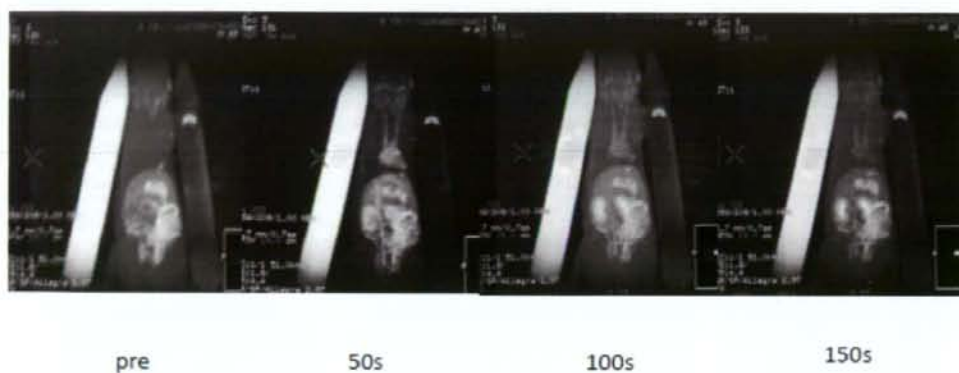


Fig. 4-2-12 A21

動脈相における信号増強効果を中等度に認められるが信号増強効果の持続性は乏しい。

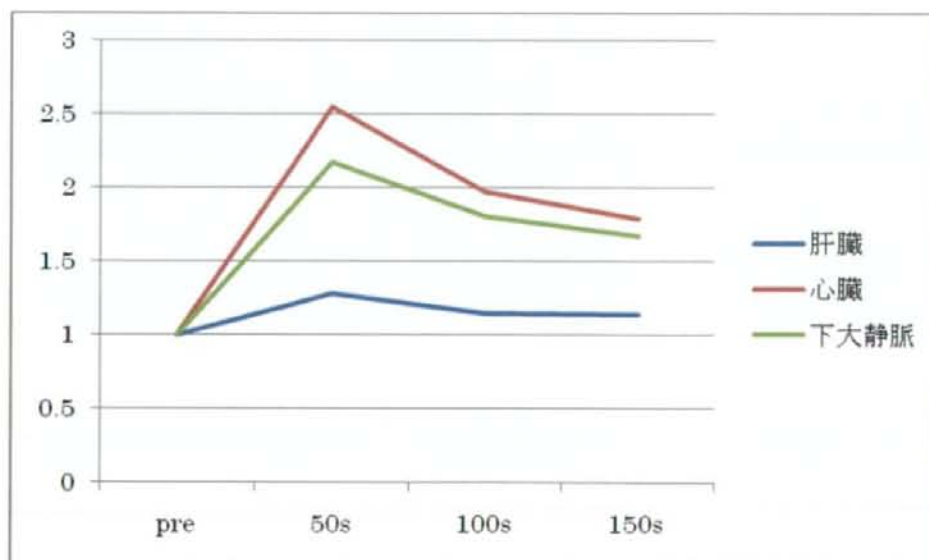


Fig. 4-2-13 A21 投与前後における肝臓、心臓、下大静脈のファントームに対する信号強度比の推移グラフ

信号増強効果の持続性はいまいつである。

A22

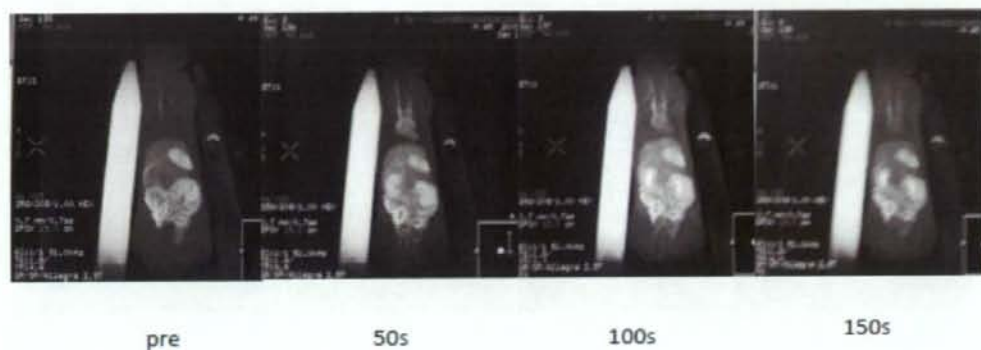


Fig. 4-2-14 A22

造影直後の信号増強効果も弱く、150秒後にはほとんどが尿路に排泄されている。

A23

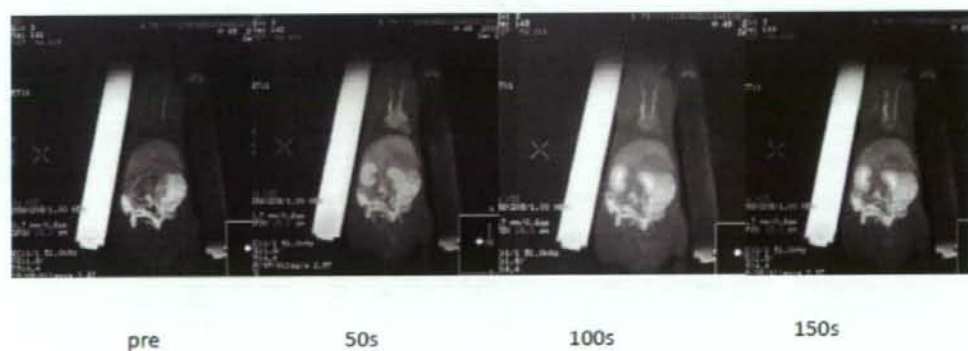


Fig. 4-2-15 A23

造影直後に弱い信号増強効果を確認するが、尿路への排泄が早い。

A24

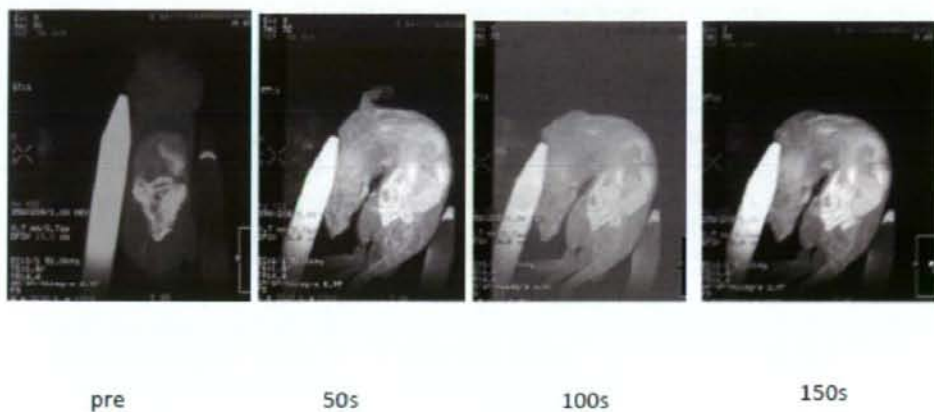


Fig. 4-2-16 A24

信号増強効果は極めて弱い。浅麻酔であったため、造影剤投与後動物が激しく動いてしまっているが、造影効果の確認は可能なため、掲載する。

A25

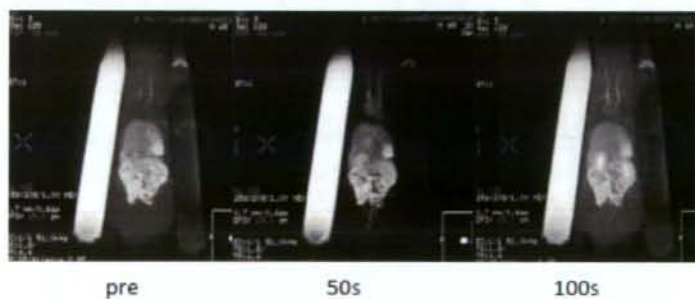


Fig. 4-2-17 A25

信号増強効果は弱い。

A26

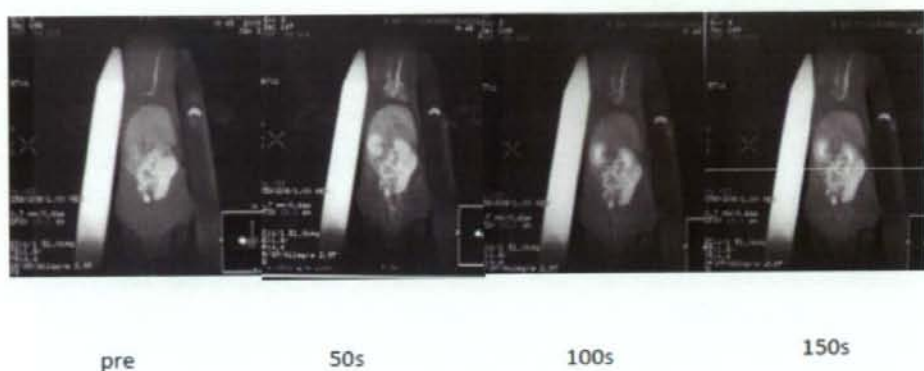


Fig. 4-2-18 A26

信号増強効果は極めて弱く、早期に腎から排泄されるため、増強効果の持続性もない。

A27

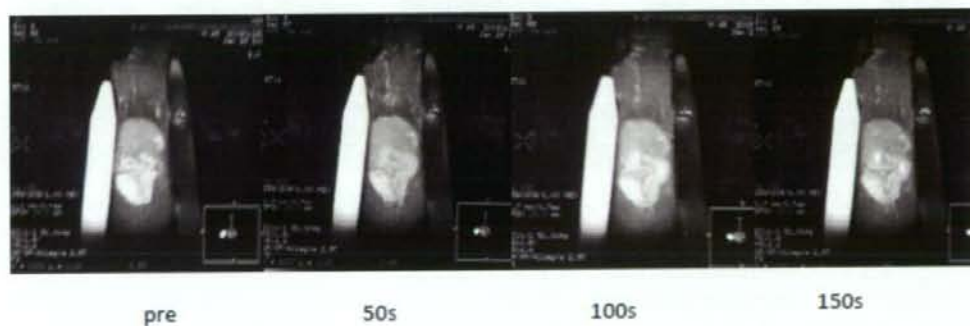


Fig. 4-2-19 A27

信号増強効果はきわめて弱い。

A28

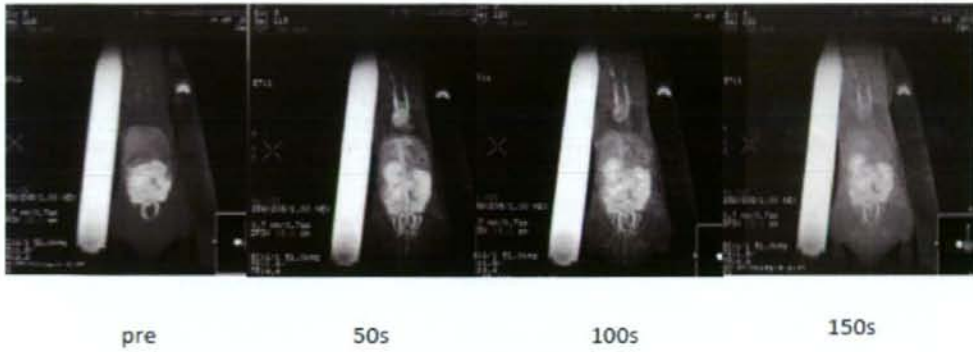


Fig. 4-2-20 A28

造影直後から血管内の信号増強効果があり、比較的長時間（150秒後まで）信号増強効果が持続する。

A29



Fig. 4-2-21 A29

造影剤投与直後の信号増強効果も高く、少なくとも150秒後まで信号増強効果が持続している。

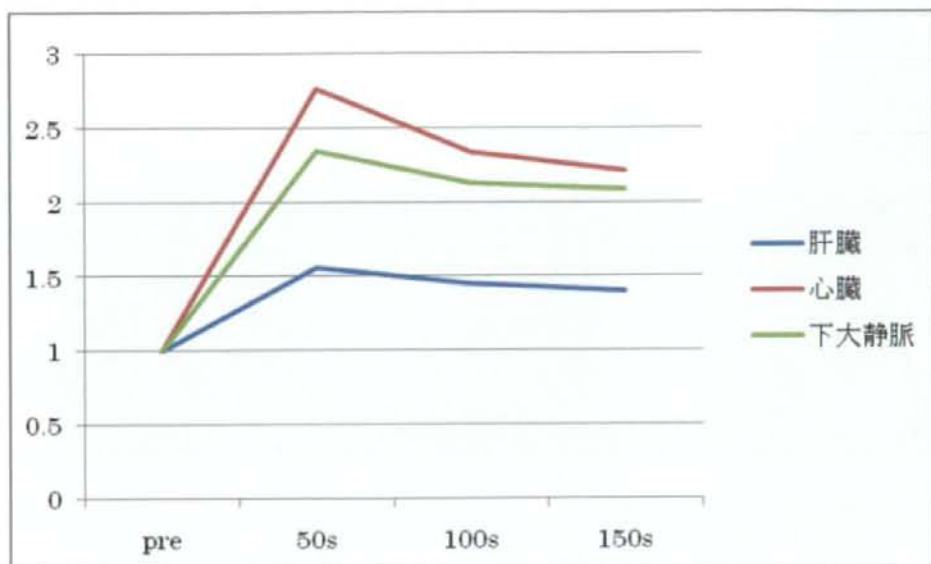


Fig. 4-2-22 A29 投与前後における肝臓、心臓、下大静脈のファントムに対する信号強度比の推移グラフ

組織特異性造影剤として期待の持てるリガンドである。

上記の正常ラットを用いた投与後早期の検討では、比較的造影効果の優れた造影剤はA14, A21, A26, A28, A29であった。次に、これらのうち、A14, A21, A26を用いて、坦がんラットモデルにおける信号増強効果を検討した。

A14

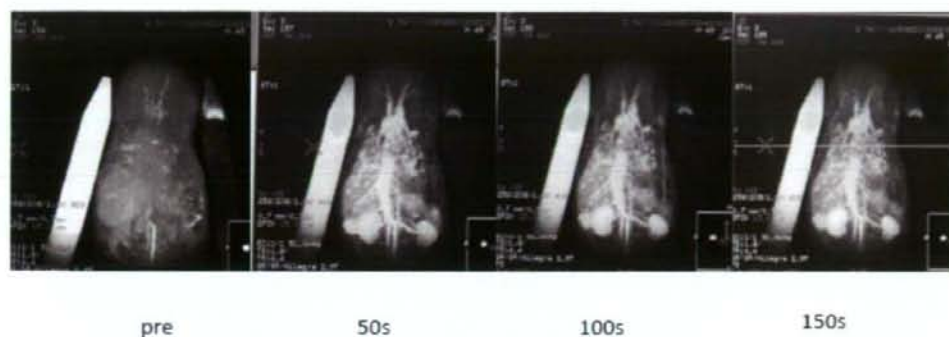


Fig. 4-2-23 A14

担がんラット。血管とともに腫瘍が染まっている。信号増強は少なくとも 150 秒後まで持続している。

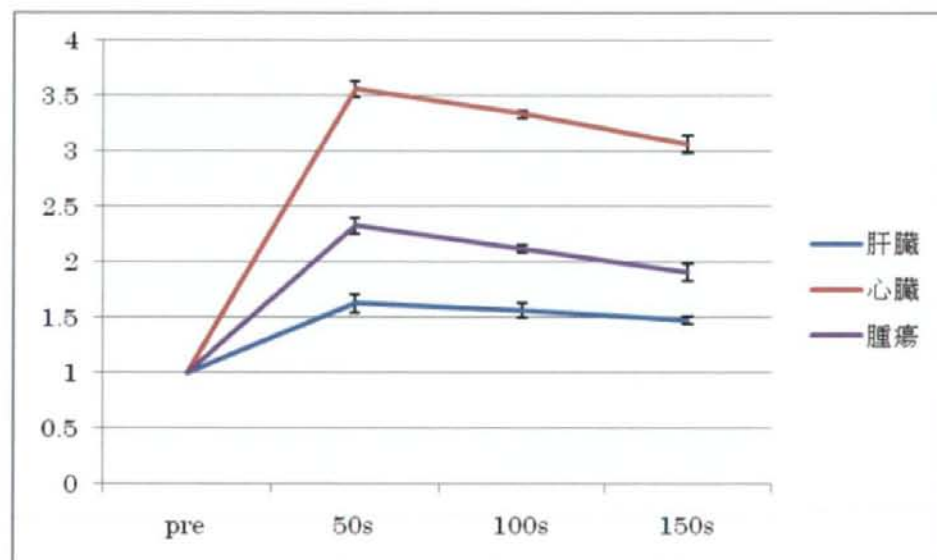


Fig. 4-2-24 A14 投与前後における肝臓、心臓、腫瘍のファントームに対する信号強度比の推移グラフ

腫瘍と肝臓との信号強度比には表記の全ての時相において有意差がある ($p < 0.05$)。

A21

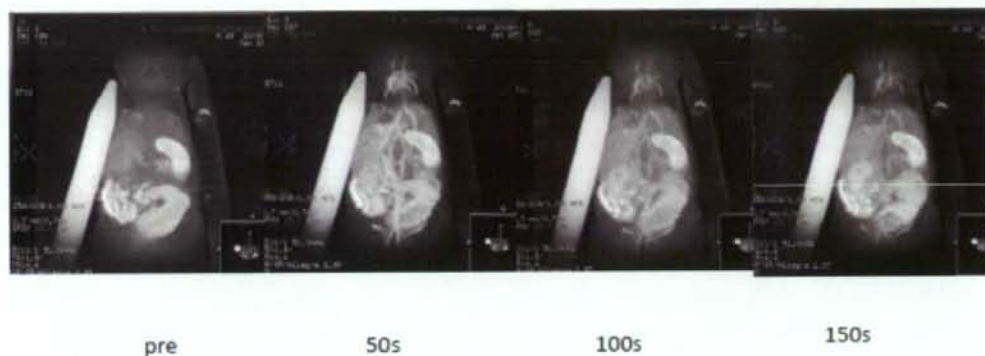


Fig. 4-2-5 A21 坦がんラット

造影剤投与後の血管腔内の信号増強効果は概ね良好。少なくとも 150 秒後まではコントラストが持続する。

A21

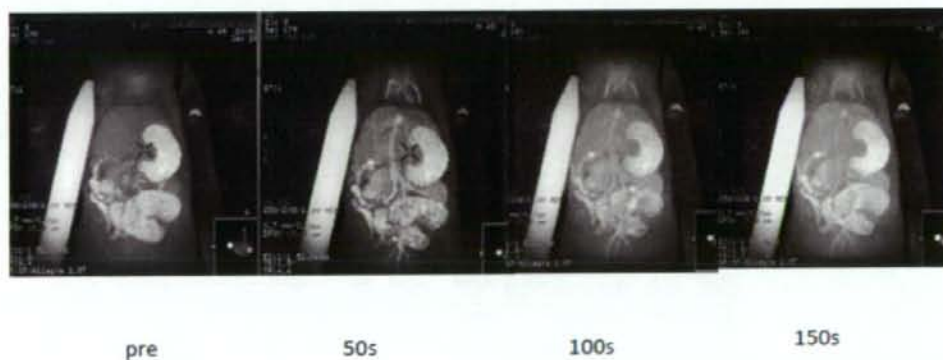


Fig. 4-2-26 A21 坦がんラットモデル

造影直後の信号増強効果は中等度であるがマグネビストよりは劣る印象である。

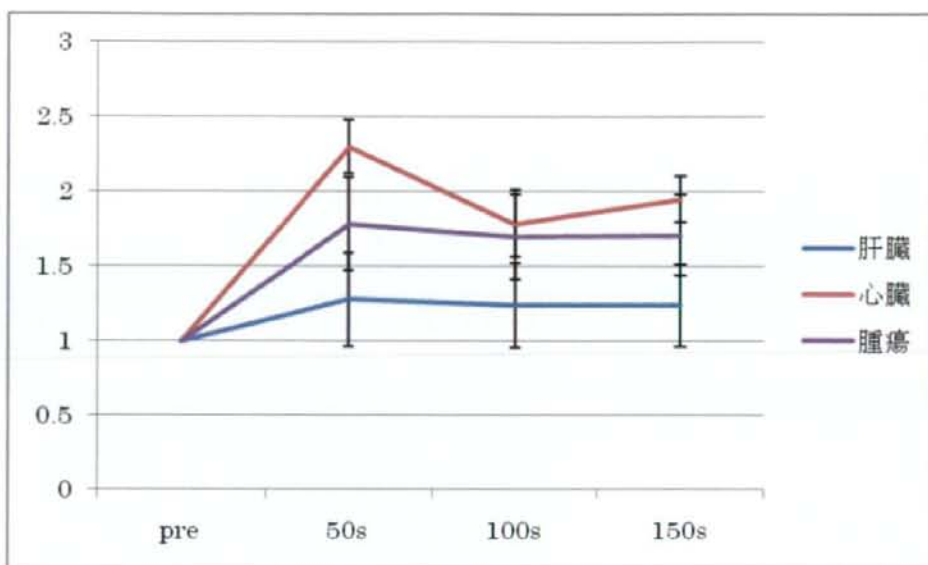


Fig. 4-2-27 A29 投与前後における肝臓、心臓、腫瘍のファントームに対する信号強度比の推移グラフ

腫瘍の信号強度比は肝臓のそれに対して高いが、有意差はみられなかった。

A26

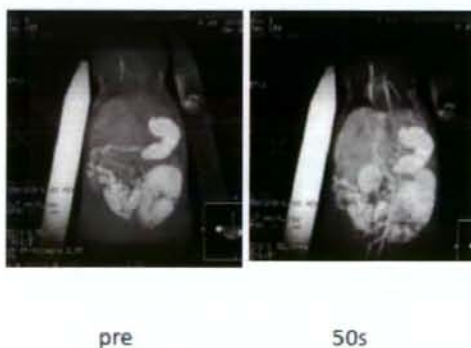


Fig. 4-2-28 A26 坦がんラットモデル

血液の信号増強効果がみられるもののその効果は弱い。

4-2-3 考察

今年度新たに合成された造影剤のうち、約半数は血液の造影効果の乏しいものであったが、約半数で血液プールの造影効果に優れるものがあり、そのまた半数程度が信号増強効果が比較的持続性のものであった。なかでも A14 と A29 に最も強い信号増強効果が見られ、造影効果の持続が見られたのみならず、非腫瘍部の肝実質に対する腫瘍の造影効果にも有意差があり、それが少なくとも 150 秒後まで持続した。この傾向は従来の非特異性造影剤ではあり得ない傾向であり、組織特異性を示唆する。今後は Gd-DTPA-D1-Glc(OH) に次ぐ組織特異性の可能性を持った造影剤として、本サンプルの分子構造や、血清タンパクへの結合について研究してゆく必要がある。

これら造影後のコントラストの持続性はイメージングウィンドウの拡大に結び付く。イメージングウィンドウを拡大することで、micro MR angiography への利用が考えられる。造影剤の血中停滞時間が長ければ、呼吸や拍動を制御した上で、冠状動脈のような細い重要な血管を時間をかけて高い SNR (信号雑音比) で描出する可能性が生じてくる。すなわち、冠状動脈のより詳細な評価が血液プール造影剤で施行できる可能性もでてくる。また、血管の健全性 (integrity) が損なわれている部位からの漏出を見ることで、血管の破綻 (出血) を捉えることができる可能性がある。これはまた、病変部の血管漏出性 (leakiness) とも関係してくるであろう (*1)。

本造影剤は坦がんラットにも投与され、A14 においては、多血性肝細胞がんモデルにおいても腫瘍濃染が持続しているのが確認できた。この多血性腫瘍において、血液プール造影剤 (血液中に滞留する造影剤) の効果は重要であり、その信号増強が腫瘍の血管誘導 (angiogenesis) と相関することが知られている (*2)。血管新生には、種々の分子や細胞のメカニズムによる、複雑なプロセスがある。もし仮に血管新生のシグナルが腫瘍細胞から来ている場合、血管新生のプロセスが腫瘍に新生血管を形成させ、その結果、腫瘍の増大や転移を促進してしまうことになる。悪性腫瘍やリウマチ様関節炎に血管新生の関連が報告されており、現在血管新生依存症疾患として、多数の疾病が確認されている。血管新生は血管腫、肥大性の癬痕、歯周病、強皮症、角膜移植片の血管新生、新生血管の緑内障などにおいても確認されている。血管新生はまた固形がん等の悪性腫瘍、関節炎等、乾癬、加齢性黄斑変性症の症状に密接な原因がある。この血管新生を妨げる薬剤による腫瘍や上記疾患の治療に結びつける戦略があり、近年注目されている (*3, *4)。非特異的造影剤では投与後速やかに血管外に漏出してしまうため、非特異性造影剤を用いた MRI で腫瘍血管の多寡を正確に評価することは難しい。血液プール造影剤ではこうした評価がより正確に行える可能性があり、こうした抗血管新生薬剤の適応を決定したり、薬剤による抗腫瘍効果を評価したりすることに利用できる可能性がある。血液プール造影剤は、加えて、大抵の場合、分子量が高いので、T1 緩和度が高く、造影効果自体も非特異性造影剤に比して高い。デンドリマーコアは大分子 (血漿蛋白) と結合することにより血液内での滞留性を獲得する可能性もある。これは見てきたように腫瘍の染まりの多寡から腫瘍の血管誘導を反映させることができる可能性があり、抗血管新生薬の適応決定や、治療効果の指標として使用できる可能性がある。折しも、悪性腫瘍の治療に抗血管誘導薬が試みられようとしている時期であり、もし、血液プール造影剤の利用が有効であれば、これら抗血管誘導薬による治療効果判定の可能性

も将来的には考慮に値すると思われる。

4-2-4 結論

Gd-DTPA-D1-Glc(OH)をはじめとするデンドリマーコアタイプの造影剤のいくつかは、組織特異性造影剤としての優れた効能を *in vivo* でも証明した。

4-2-5 参考文献

- [1] Lin SP, Brown JJ. MR contrast agents: physical and pharmacologic basics. *J Magn Reson Imaging*. 2007 May;25(5):884-99. Review.
- [2] Taouli B, Losada M, Holland A, Krinsky G. Magnetic resonance imaging of hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2004;127(5 SUPPL 1):S144-52.
- [3] Ribatti D, Vacca A, Nico B, Sansonno D, Dammacco F. Angiogenesis and anti-angiogenesis in hepatocellular carcinoma. *Cancer Treat Rev*. 2006 Oct;32(6):437-44. Epub 2006 Jul 25. Review.
- [4] Baillie CT, Winslet MC, Bradley NJ. Tumour vasculature—a potential therapeutic target. *Br J Cancer*. 1995 Aug;72(2):257-67. Review.

4-3 *in vivo* 評価(3)の目的とその評価方法

選択的に造影することのできる高感度で安全にがんの超早期発見を実現する MRI 造影剤の実用化を行なうためには、今回使用する実験移植腫瘍モデル動物の体内毒性と腫瘍組織親和性及び体内正常臓器における代謝動態を明らかにすることが先決である。そのためには、MRI による検証の前に、合成された造影剤ガドリニウム(Gd)誘導体の Gd 元素が目的の腫瘍組織内に取り込まれていなければ目的は達成したことにはならない。先ずスタンダード MRI 造影剤として臨床ですでに使用されているオムニスキャンとマグネピストの腫瘍内選択性を、MRI 以外の検出手段で検討することにした。

その評価方法として、腫瘍や正常臓器の組織内の微小部位の Gd 元素を走査電子顕微鏡と Energy Dispersion X-ray (EDX) の分析技術を駆使して以下のように調査した。

4-3-1 投与前のオムニスキャンとマグネピストの走査電顕(SEM)像と X 線元素分析(Energy Dispersion X-ray=EDX)及びその EDX マッピング像

- (1) SEM への EDX の導入装置：矢印で EDX の導入部位を以下に提示する。

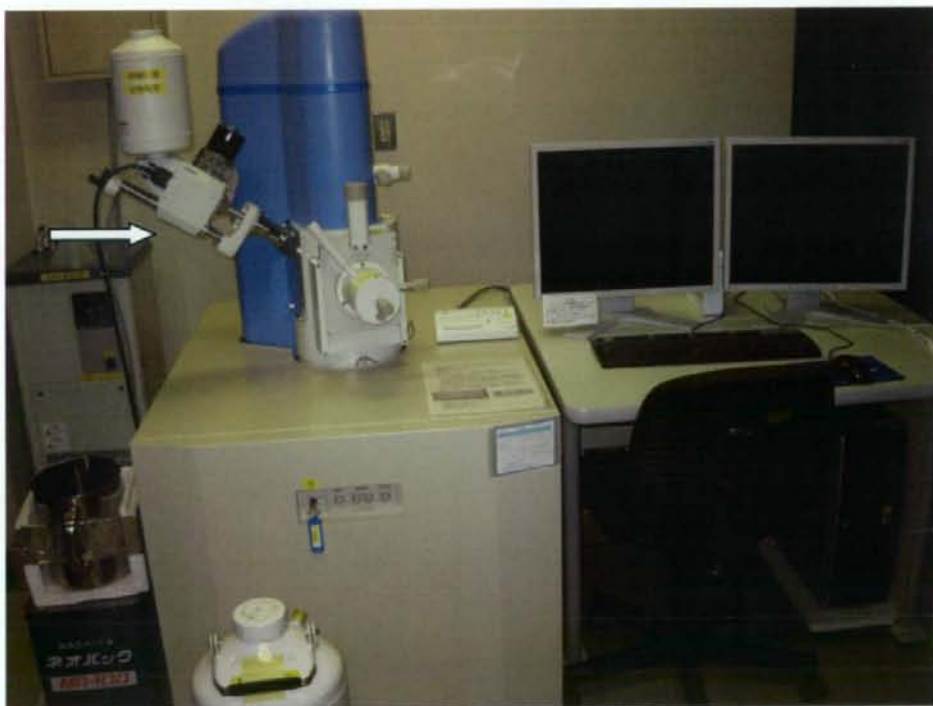


Fig. 4-3-01 SEM への EDX の導入装置

現在使用されている MRI 造影剤の投与前の溶液を、カーボンテープの上に垂らして乾燥させたものを、先ずその薬剤の組成を確認するために分析を行なった。その結果、次のページに示す如く、それぞれの薬剤に含まれる組成の定性的データとそれら組成のマッピング像を、オムニスキャンとマグネピストについて、提示する。

(2) 投与前の含有組成元素チャートと含有組成元素のマッピング像

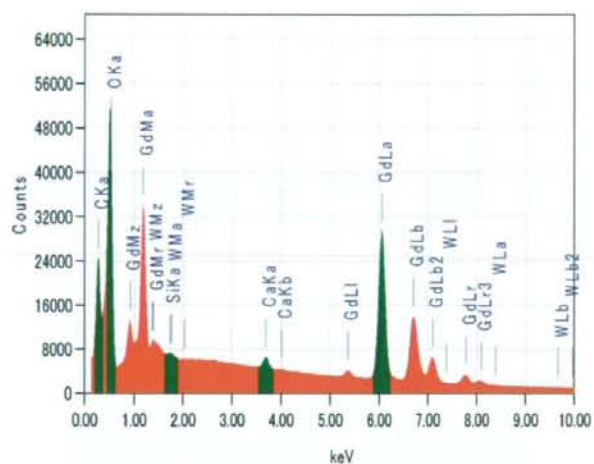
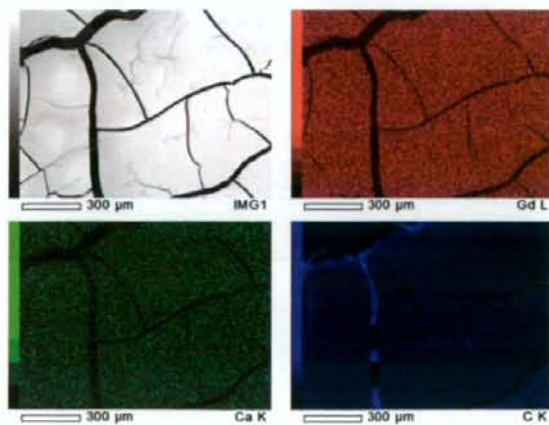
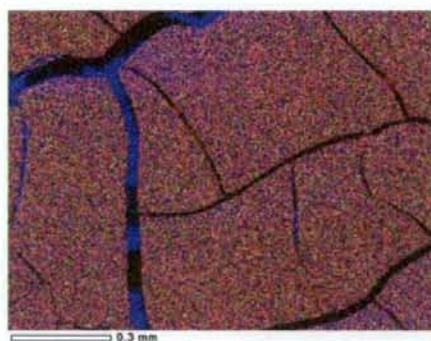


Fig. 4-3-02 オムニスキンの投与前の含有組成元素チャート

重複表示 - 視野007



JEDI

Fig. 4-3-03 オムニスキンの投与前含有組成元素のマッピング像

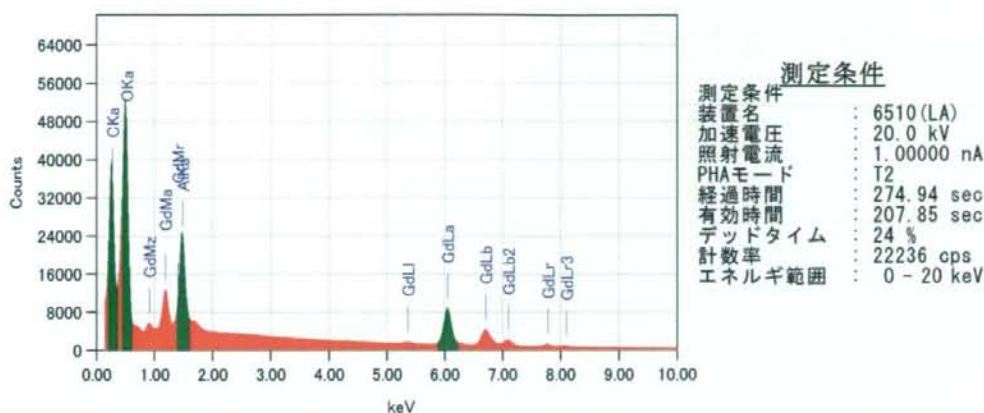


Fig. 4-3-04 マグネピストの計測条件と組成元素分析チャート

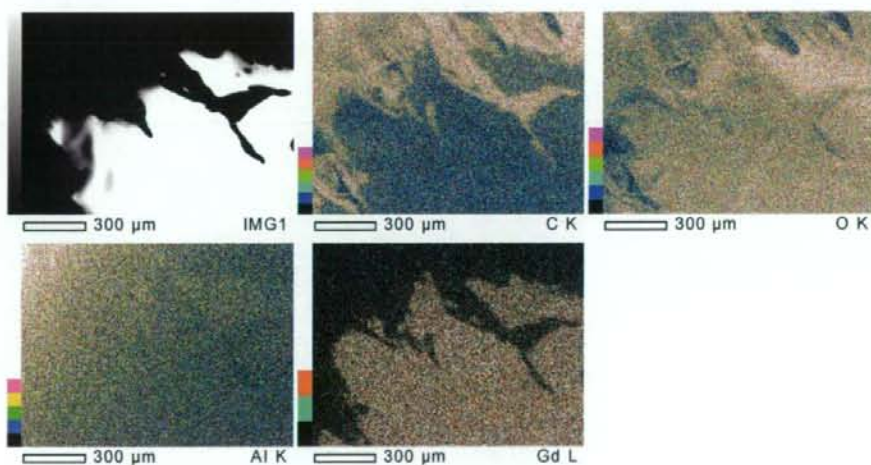


Fig. 4-3-05 マグネピストの投与前の組成元素マッピング像

オムニスキャンもマグネピストも投与前には Gd を主成分として存在し、その存在率は Fig. 4-3-04 と 4-3-05 より、オムニスキャンの方がマグネピストに比して大きいことが分かる。また、その双方も M 殻の α が L 殻の α よりも大きい、オムニスキャンの方が L 殻の α の割合が相対的に大きいことが判明した。これらの違いが、MRI で見る画像で、T1 と T2 緩和にどのように影響を及ぼすかは、今後の実際の MRI 画像による比較に委ねる。また、オムニスキャンには Ca と Si の元素も含有していることが判明した。今後、正常臓器への親和性の違いからも何らかの原因となるかも知れない。

4-3-2 投与後の腎臓内オムニスキャンとマグネシトの走査電顕(SEM)像とX線元素分析(Energy Dispersion X-ray=EDX)及びそのEDX マッピング像

(1) オムニスキャン投与後30分の腎臓組織内元素分析とEDX マッピング像：

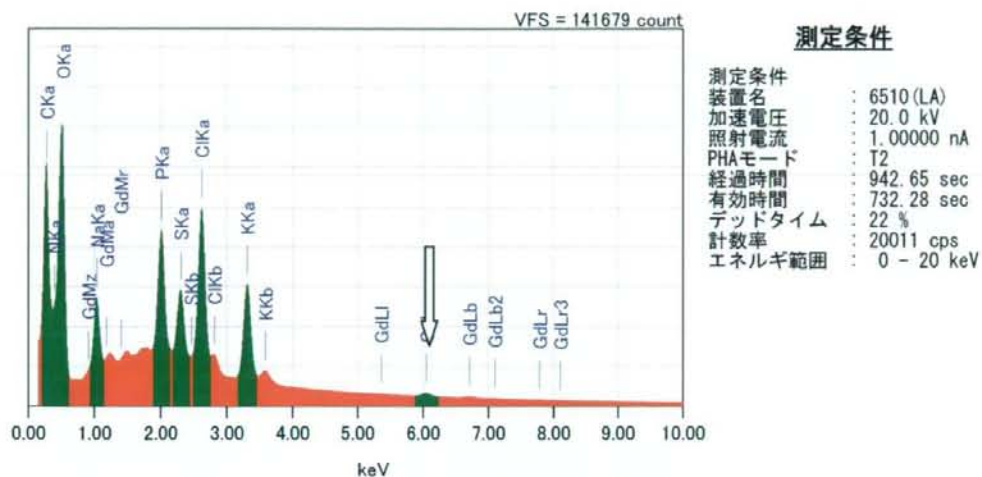


Fig. 4-3-06 オムニスキャンの腎臓組織内元素分析チャート

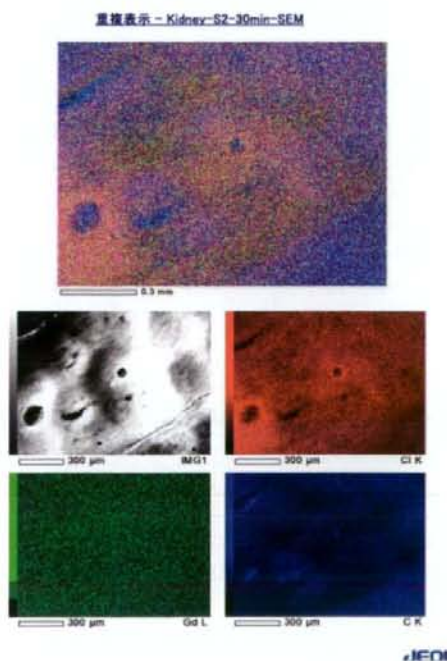


Fig. 4-3-07 オムニスキャンの腎臓組織内組成元素のEDX マッピング像