

厚生労働科学研究費補助金（第三次対がん総合戦略研究事業）  
（分担）研究報告書

MRI による分子イメージングの開発  
研究代表者 石川 義弘 横浜市立大学教授

研究要旨 呼吸により動きのあるマウスにおいて高磁場 MRI を用いて磁性抗がん剤 NEBI を in vivo で定量的にマッピングする手法として、高空間分解能での緩和時間の定量マッピング精度を検証し、また呼吸同期法の最適化によって実用的な水準に高めた。

研究分担者 青木 伊知 男  
放射線医学総合研究所 分子イメージング  
研究センター チームリーダー

## A. 研究目的

磁性を持つ抗がん剤 NEBI は、抗がん剤そのものが、MRI において信号低下をもたらす陰性造影剤として作用し、一定の濃度範囲において、その組織内濃度は横緩和時間 ( $T_2$ ) に相関することが予想される。これは、*in vivo* MRI において、均一性が高く高精度の  $T_2$  定量マッピングを取得する事で、一定の濃度範囲内での抗がん剤の体内動態や濃度分布を推定可能である事を意味する。しかし、中皮腫は呼吸の動きがある肺野に隣接した領域に生じるため、取得中に撮像部位が動くことで、MRI 信号が欠損する可能性がある。

本研究では、中皮腫における NEBI 体内動態の追跡および濃度分布を推定したマッピングを行うために、マウス中皮腫同所移植モデルにおいて、空間分解能と信号雑音比の最適化、高周波パルス照射の空間的不均一性と、マルチエコー取得時に生じる誤差の検証、呼吸同期を含む実験動物の固定と撮像手法の改善を含めた撮像条件の最適化を実施し、*in vivo* で実用的な精度での定量的  $T_2$  マッピングを得ることを目的とする。

## B. 研究方法

BALB/c nude マウスに中皮腫 (211H、 $1.0 \times 10^7$  cells/50  $\mu$ L) を同所移植し、13日後に、高磁場7T MRI (Biospec, AVANCE-III, Bruker BioSpin社製) およびマウス体幹用8chフェイズドアレイ・コイル (Bruker BioSpin) にて、T1強調画像、T2強調画像、および $T_2$ 定量マップを撮像した。定量撮像は、マルチエコー・スピンエコー法 (TR/TE = 3000/10-100 ms、FOV =  $3.2 \times 3.2$  mm<sup>2</sup>、matrix = 256 $\times$ 256、スライス厚 = 1 mm) を用いて、脂肪抑制法を併用した呼吸同期法を使用した。マウスは、3% イソフルランで麻酔導入し、気管挿管を行い、人工呼吸器 (CWE社製、MRI-1) に接続し、筋弛緩剤を投与、呼吸器

から同期信号を出して、MRI撮像を同期させた。

(倫理面への配慮) 本研究は、独立行政法人放射線医学総合研究所、動物実験委員会にて承認され、麻酔薬により苦痛を最小化された。

## C. 研究結果

マウス撮像用のマルチチャンネル・コイルを用いて、固定装置および呼吸同期法を改良することにより、中皮腫マウスモデルの体幹部肺野においてアーティファクトの少ないT2強調画像を150  $\mu$ mの空間分解能での撮像に成功した (図1)。高周波パルス照射にボリューム送信コイルを使用することで、空間的不均一性に関して、送受信コイルと比較して改善され、感度との両立を図ることが出来た。

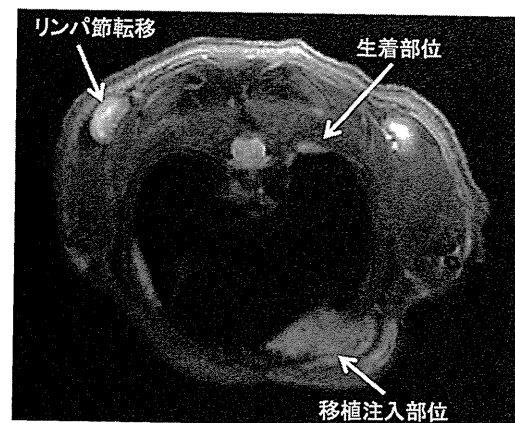


図1 中皮腫モデルマウスの肺野付近のT2強調画像 生着した腫瘍が確認できた。

自発呼吸による撮像では、麻酔感受性によって、同じ麻酔濃度でも呼吸頻度が変化することで、MRIにおけるTRが変動することで、 $T_2$ 定量値に不安定性が生じた。一方、気管挿管による呼吸同期法では、TRを同一化できた。呼吸で動きがある瞬間にマルチエコーを取得すると、信号にバラツキが生じたため、呼吸同期の信号からの遅延時間を調節することで、呼吸休止期にエコーを取得する事で、マウス中皮腫モデルにおいて、アーティファクトの少ない $T_2$ 定量値が得られた(図2)。

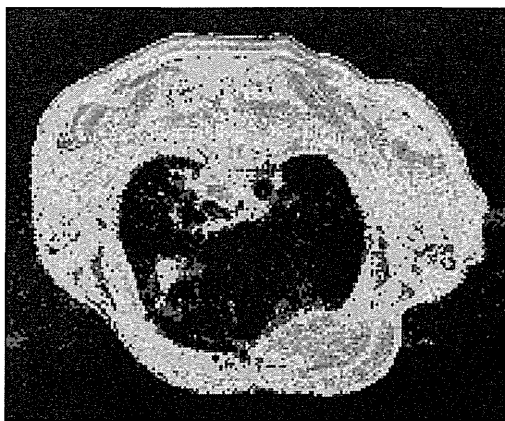


図2 中皮腫モデルマウスにおける肺野付近の  $T_2$  定量マップ 暖色系が長い横緩和時間を示す。呼吸同期法の最適化により動きによるアーティファクトが低減できた。

#### D. 考察

実験動物では、息どめ撮像が出来ないため、肺野付近の撮像とりわけ定量値の精度が低下するが、筋弛緩剤と人工呼吸器を併用し、固定法を改善することで、中皮腫マウスモデルにおいて実用的な精度で $T_2$ 定量値の計測が可能となった。今後、磁性を持つ抗がん剤NEBIを投与した際、中皮腫部位での集積を定量的に評価することが可能となった。

#### E. 結論

マウス中皮腫の同所移植モデルにおいて、*in vivo*での $T_2$ 定量マッピング法が一定の精度で確立され、磁性を持つ抗がん剤 NEBI 投与後の、中皮腫部位での集積を定量的に評価する基盤技術が確立され

た。

#### F. 健康危険情報

該当無し

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Tanimoto E, Karasawan S, Ueki S, Nitta N, Aoki I, Koga N. Unexpectedly large water-proton relaxivity of TEMPO incorporated into micelle-Oligonucleotide, RSC Adv. 2013, 3: 3531- 3534.
2. Kershaw J, Leuze C, Aoki I, Obata T, Kanno I, Ito H, Yamaguchi Y, Handa H. Systematic changes to the apparent diffusion tensor of *in vivo* rat brain measured with an oscillating-gradient spin-echo sequence. Neuroimage. 2012. Accepted
3. Zhelev Z, Aoki I, Gadjeva V, Nikolova B, Bakalova R, Saga T. Tissue redox activity as a sensing platform for imaging of cancer based on nitroxide redox cycle. Eur J Cancer. 2012 Accepted
4. Nishimura Y, Natsume A, Ito M, Hara M, Motomura K, Fukuyama R, Sumiyoshi N, Aoki I, Saga T, Lee HJ, Wakabayashi T, Kim SU. Interferon- $\beta$  delivery via human neural stem cell abates glial scar formation in spinal cord injury. Cell Transplant. 2012 Accepted
5. Mi P, Cabral H, Kokuryo D, Rafi M, Terada Y, Aoki I, Saga T, Takehiko I, Nishiyama N, Kataoka K. Gd-DTPA-loaded polymer-metal complex micelles with high relaxivity for MR cancer imaging. Biomaterials. 2013 Jan;34(2):492-500
6. Hadjidekov G, Hadjidekova S, Tonchev Z, Bakalova R, Aoki I. Assessing renal function in children with hydronephrosis - additional feature of MR urography. Radiol Oncol. 2011 Dec;45(4):248-58
7. Jo JI, Lin X, Nakahara T, Aoki I, Saga T, Tabata Y. Preparation of Polymer-Based Magnetic Resonance Imaging Contrast Agent to Visualize Therapeutic Angiogenesis. Tissue Eng Part A. 2013 Jan;19(1-2):30-9

8. Zhelev Z, Gadjeva V, Aoki I, Bakalova R, Saga T. Cell-penetrating nitroxides as molecular sensors for imaging of cancer in vivo, based on tissue redox activity. *Mol Biosyst.* 2012 Aug 28;8(10):2733-40.
9. Toyota T, Ohguri N, Maruyama K, Fujinami M, Saga T, Aoki I\*. Giant Vesicles Containing Superparamagnetic Iron Oxide as Biodegradable Cell-Tracking MRI Probes. *Anal Chem.* 2012 May 1;84(9):3952-7
2. 学会発表
  1. (招待講演) 青木伊知男, げっ歯類の高磁場 MRI, 包括型脳 MRI 画像チュートリアル, 包括型脳科学研究推進支援ネットワーク, 名古屋大学, Sep 17, 2012
  2. (招待講演) 青木伊知男, 高磁場 MRI と機能性プローブによる分子イメージングへの取り組み, よこはま NMR 構造生物学研究会 第 45 回ワークショップ「イメージングと創薬」, 横浜, 理化学研究所横浜研究所, July 11, 2012
  3. (招待講演) 青木伊知男, ナノ粒子造影剤の可能性〜高磁場 MRI による前臨床研究から〜, 第 68 回日本放射線技術学会総会学術大会・シンポジウム 2 「Spectral CT imaging の夜明け」, 横浜, April 14, 2012
  4. SPIO-containing unilamellar polyion complex vesicles (PICsome) for in vivo tumor detection using MRI, Daisuke Kokuryo, Yasutaka Anraku, Akirio Kishimura, Mitsunobu R Kano, Sayaka Tanaka, Tsuneo Saga, Kazunori Kataoka, Ichio Aoki, 2012 World Molecular Imaging Congress, Dublin, Ireland, P421, Sep 5-8, 2012.
  5. Noninvasive detection of early pathophysiological changes of irradiated bone marrow in mouse radiation carcinogenesis by diffusion-weighted imaging, Hasegawa S, Morokoshi Y, Furukawa T, Aoki I, Saga T, 2012 World Molecular Imaging Congress, Dublin, 2012 年 9 月 5-8 日
  6. Tissue Redox Activity as a Sensing Platform for Magnetic Resonance Imaging of Cancer: Diagnostic and Therapeutic Aspects, Rumiana Bakalova, Zhivko Zhelev, Daisuke Kokuryo, Ichio Aoki, Veselina Gadjeva, Tsuneo Saga: 2012 World Molecular Imaging Congress, Dublin, Ireland, P096, Sep 5-8, 2012.
7. Visualization of therapeutic angiogenesis with a polymer-based magnetic resonance imaging contrast agent, Jun-ichiro Jo, Lin Xue, Teppei Nakahara, Ichio Aoki, Tsuneo Saga, Yasuhiko Tabata, 2012 World Molecular Imaging Congress, Dublin, Sep 5-8, 2012
8. Evaluation of lung metastatic tumor using Dextran-DTPA-Mn nanoprobe with ultra-short echo-time imaging, Daisuke Kokuryo, Jun-ichiro Jo, Tsuneo Saga, Ichio Aoki, 20th ISMRM Scientific Meeting and Exhibition, Melbourne, 1656, May 5-11, 2012
9. Effect of Cell Membrane Water Permeability on Diffusion-Weighted MR signal: a Study using Expression-controlled Aquaporin4 Cells, Obata T, Kershaw Jeff, Kuroiwa D, Shibata S, Aoki I et al. ISMRM 20th Annual Meeting & Exhibition,メルボルン、2012 年 5 月 05-12 日
10. Comparison of Blood-Brain-Barrier Permeable Nitroxyl Contrast Agents for Magnetic Resonance Brain RedOx Imaging, Matsumoto K, Ueno E, Nakanishi K, Yamada K, Aoki I. SFRBM's 19th Annual Meeting, San Diego, 2012 年 11 月 14-18 日
11. 脳のレドックスイメージングとマウス脳への X 線照射の影響、松本謙一郎、上野恵美、中西邦夫、関田愛子、柴田さやか、新田展大、青木伊知男、山田健一、第 51 回電子スピンスイエンス学会年会、札幌、2012 年 11 月 01-03 日
12. Carbamoyl-PROXYL-enhanced MRI detects very small disruptions in brain vascular permeability induced by dietary cholesterol in mice. Tomizawa A., Ishii I., Bakalova R., Zhelev Z., Aoki I., Kitada K. 第 85 回日本薬理学会, March 14-16, 2012, Kyoto, Japan.
13. 高分子造影剤を用いた血管新生治療の磁気共鳴イメージング、城潤一郎、林雪、中原鉄平、青木伊知男、佐賀恒夫、田畑泰彦、第 7 回日本分子イメージング学会学術集会、浜松、2012 年 5 月 24-25 日

14. 異なる磁場強度での MR イメージングによる組織造影能の比較, 國領大介, 河野健司, 佐賀恒夫, 青木伊知男, 第 7 回日本分子イメージング学会, 浜松, P59, 2012 年 5 月 24-25 日
15. Cell-penetrating nitroxides, but not non-penetrating, are molecular sensors for imaging of cancer in vivo based on tissue redox activity, Rumiana Bakalova, Zhivko Zhelev, Veselina Gadjeva, Iicho Aoki, Daisuke Kokuryo, Tsuneo Saga, 第 7 回日本分子イメージング学会, 浜松, P60, 2012 年 5 月 24-25 日
16. マンガン造影 MRI による脳下垂体の活性化とホルモン分泌の研究, 平金真, 國領大介, 寺沢宏明, 青木伊知男, 第 51 回 NMR 討論会, 愛知, 2012 年 11 月 8-10 日
17. マンガン造影 MRI 法による中枢神経障害モデルにおける炎症反応の検出, 岩本成人, 寺沢宏明, 青木伊知男, 第 51 回 NMR 討論会, 愛知, P134, 2012 年 11 月 8-10 日
18. 携帯型強磁場警報機による前臨床 MRI 実験エリアの安全管理, 尾澤芳和, 國領大介, 佐賀恒夫, 青木伊知男, 第 40 回日本磁気共鳴医学会大会, 京都, P-1-40, 2012 年 9 月 6-8 日
19. マンガン造影 MRI による脳下垂体の活性化とホルモン分泌の解析, 平金真, 國領大介, 寺沢宏明, 青木伊知男, 第 40 回日本磁気共鳴医学会大会, 京都, P-2-134, 2012 年 9 月 6-8 日
20. 異なる磁場高度における低分子および高分子造影剤の比較, 國領大介, 河野健司, 佐賀恒夫, 青木伊知男, 第 40 回日本磁気共鳴医学会大会, 京都, P-2-128, 2012 年 9 月 6-8 日
21. 7.0T-MRI とクライオプローブを用いた SWI による腫瘍組織の細胞の微細構造の描出: 病理組織との対比, 新田展大, 柴田さやか, 関田愛子, 尾澤芳和, 佐賀恒夫, 青木伊知男, 第 40 回日本磁気共鳴医学会大会, 京都, 2012 年 9 月 6-8 日
22. In-Vivo Tracking Of Transplanted Peripheral Mononuclear Cells Labeled With Manganese Using Magnetic Resonance Imaging, 小高謙一, 青木伊知男, 田所裕之, 森谷純治, 黒岩大悟, 館野馨, 南野徹, 菊池達矢, 小室一成, 小島隆行, 小林欣夫, 佐賀恒夫, 張明榮, 第 40 回日本磁気共鳴医学会大会, 京都, 2012 年 9 月 6-8 日
23. Is it possible to quantify tissue microstructure with oscillating gradient spin-echo DTI?, Kershaw Jeffery, ロイツェクリストフ, 小島 隆行, 柴田 さやか, 青木 伊知男, 伊藤 浩, 第 40 回日本磁気共鳴医学会大会, 京都, 2012 年 9 月 6-8 日
24. 超常磁性酸化鉄微粒子を内包したポリイオンコンプレックス型中空ナノ粒子 PICsome を用いた in vivo MR イメージング, 國領大介, 安楽泰孝, 岸村顕広, 田中さやか, 狩野光伸, 佐賀恒夫, 片岡一則, 青木伊知男, 第 28 回日本 DDS 学会学術集会, 札幌, 2-C-18, 2012 年 7 月 4-5 日
25. 粒径の制御された高分子ベシクル PICsome の体内動態と生体内イメージング応用, 岸村顕広, 安楽泰孝, 三浦裕, 赤井淳, 田中さやか, 狩野光伸, 國領大介, 青木伊知男, 小山博之, 片岡一則, 第 28 回日本 DDS 学会学術集会, 札幌, 2-C-14, 2012 年 7 月 4-5 日
26. 温度応答・MR 可視化多重機能リポソーム: トランスフェリンの導入の効果, 河野健司, 尾崎文則, 國領大介, 青木伊知男, 弓場英司, 原田敦史, 下元浩晃, 青島貞人, 第 28 回日本 DDS 学会学術集会, 札幌, 2-C-04, 2012 年 7 月 4-5 日
27. がん免疫治療の効果増強のための DDS 型 Find me シグナルの作製, 城 潤一郎, 青木伊知男, 佐賀 恒夫, 第 28 回日本 DDS 学会学術集会, 札幌, 2012 年 7 月 4-5 日
28. がん免疫治療の効果増強を目指した DDS 型 Find me シグナルの作製, 城 潤一郎, 青木伊知男, 佐賀 恒夫, 日本バイオマテリアル学会シンポジウム, 仙台, 2012 年 11 月 26-27 日
29. 高分子造影剤による組織再生の磁気共鳴イメージング, 城潤一郎, 青木伊知男, 山本雅哉, 佐賀恒夫, 田畑康彦, 第 12 回日本再生医療学会, 横浜, 2013 年 3 月 21-23 日
30. Evaluation of highly sensitive and stealth-capable MRI nano-agents "SPIO-Cy5-PICsomes", D. Kokuryo, Y. Anraku, A. Kishimura, S. Tanaka, M. R. Kano, N. Nishiyama, T. Saga, I. Aoki, et.al, ナノバイオファースト国際シンポジウム, 東京, 2013 年 3 月 5 日
31. MRI を用いたマンガン標識末梢血単核球移植の評価: 脳や心臓の虚血疾患モデルを用いて, 小高謙一, 青木伊知男, 岡田真希, 由井謙二,

謝琳、岡村敏充、菊池達矢、小島隆行、佐賀恒夫、その他、第 1258 回千葉医学会例会、千葉、2012 年 12 月 9 日

32. 定量的マンガン造影 MRI による抗がん剤に対する腫瘍細胞 viability の評価, 関田愛子、長谷川純崇、佐賀恒夫、青木伊知男, 第 6 回バイオ関連化学シンポジウム, 札幌、2012 年 9 月 6-8 日
33. In-Vivo Tracking Of Transplanted Peripheral Mononuclear Cells Labeled With Manganese Using Magnetic Resonance Imaging, 小高謙一、青木伊知男、伊藤康一、森谷純治、舘野馨、南野徹、田所裕之、下山一郎、小室一成、佐賀恒夫、福村利光、第 10 回国際幹細胞学会総会、横浜、2012 年 6 月 13-16 日

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 「核酸類ハイドロゲル状態変更方法、放射線分解ハイドロゲル、物質内包放射線分解ハイドロゲル、および放射線応答ハイドロゲルキット」城潤一郎・青木伊知男・佐賀恒夫, 独立行政法人放射線医学総合研究所、日本、2012.11.28, 特願2012-259393

## A. 研究目的

第一原理解析法による悪性中皮腫に対する治療薬として有効なペメトレキセド誘導体についての磁性スクリーニングを行なう。

## B. 研究方法

悪性中皮腫に有効な化合物に使用する磁性スクリーニング方法、量子力学に基づいて磁性をもつ新規物質の探索を行う方法（特願 2005-251190・薬、薬の誘導装置および薬の設計法）を用いる。最初に磁性スクリーニングに用いた評価法について述べる。

図1は、磁性化合物スクリーニングのアルゴリズムを示すフローチャートである。なお、以下で説明する処理は、第一原理計算に基づくコンピュータ・シミュレーション上で行われる。

本磁性スクリーニングの方法は、フォルスコリン誘導体をもちいてアルゴリズムの開発を行ったので、解析例としフォルスコリン誘導体を上げて説明する。最初に評価対象とするフォルスコリン誘導体を選定し、その化学式をコンピュータ・シミュレーションに入力する（ステップS1）。

続いて、フォルスコリン誘導体Aの化学式に基づいて上向きのスピン（スピニアップ）波動関数 $\Phi \uparrow (r)$ 、下向きのスピン（スピンドアウン）波動関数 $\Phi \downarrow (r)$ 、スピニアップ有効ポテンシャル $V \uparrow (r)$ 、スピンドアウン有効ポテンシャル $V \downarrow (r)$ 、スピニアップ電荷密度 $\rho \uparrow (r)$ 及びスピンドアウン電荷密度 $\rho \downarrow (r)$ の初期値を設定する（ステップS2）。なお、 $r$ は3次元空間上の座標を示す変数である。

スピニアップ波動関数 $\Phi \uparrow (r)$ の初期値は、フォルスコリン誘導体Aを構成する各原子が孤立原子として3次元空間上に存在する場合のスピニアップ波動関数 $\Phi \uparrow (r)$ を各原子毎に求め、こ

のように求めたスピニアップ波動関数 $\Phi \uparrow (r)$ を全て加算したものである。同様に、スピンドアウン波動関数 $\Phi \downarrow (r)$ の初期値は、各原子が孤立原子として3次元空間上に存在する場合のスピンドアウン波動関数 $\Phi \downarrow (r)$ を各原子毎に求め、全て加算したものである。また、スピニアップ有効ポテンシャル $V \uparrow (r)$ の初期値は、フォルスコリン誘導体Aを構成する各原子が孤立原子として3次元空間上に存在する場合のスピニアップ波動関数 $\Phi \uparrow (r)$ に基づいてスピニアップ有効ポテンシャル $V \uparrow (r)$ を各原子毎に求め、当該各原子毎に求めたスピニアップ有効ポテンシャル $V \uparrow (r)$ を全て加算したものである。同様に、有効ポテンシャル $V \downarrow (r)$ の初期値は、各原子が孤立原子として3次元空間上に存在する場合のスピンドアウン波動関数 $\Phi \downarrow (r)$ に基づいてスピンドアウン有効ポテンシャル $V \downarrow (r)$ を各原子について求め、当該各原子毎に求めたスピンドアウン有効ポテンシャル $V \downarrow (r)$ を全て加算したものである。また、スピニアップ電荷密度 $\rho \uparrow (r)$ の初期値は、上記のように各原子毎に求めたスピニアップ波動関数 $\Phi \uparrow (r)$ を下記演算式(1)に代入することによって求める。また、スピンドアウン電荷密度 $\rho \downarrow (r)$ の初期値は、各原子毎に求めたスピンドアウン波動関数 $\Phi \downarrow (r)$ を下記演算式(2)に代入することによって求める。なお、下記演算式(1)において、 $\Phi \uparrow * (r)$ は、スピニアップ波動関数 $\Phi \uparrow (r)$ の共役複素数であり、下記演算式(2)において、 $\Phi \downarrow * (r)$ は、スピンドアウン波動関数 $\Phi \downarrow (r)$ の共役複素数である。

$$\rho \uparrow (r) = \sum \Phi \uparrow * (r) \Phi \uparrow (r) \quad (1)$$

$$\rho \downarrow (r) = \sum \Phi \downarrow * (r) \Phi \downarrow (r) \quad (2)$$

次に、上記スピニアップ有効ポテンシャル $V \uparrow (r)$ 及びスピンドアウン有効ポテンシャル $V \downarrow (r)$ の初期値と、スピニアップ電荷密度 $\rho \uparrow (r)$ 及びスピンドアウン電荷密度 $\rho \downarrow (r)$ の初期値に基づいて下記Kohn Sham方程式(3)、(4)を解くことにより、フォルスコリン誘導体Aのスピニアップ波動関数 $\Phi \uparrow (r)$ 及びスピンドアウン波動関数 $\Phi \downarrow (r)$ と、スピニアップエネルギー固有値 $\varepsilon \uparrow$ 及びスピンドアウンエネルギー固有値 $\varepsilon \downarrow$ を算出する(ステップS3)。

$$\left[ -\frac{1}{2}\nabla^2 + V_{\uparrow}\{r, \rho_{\uparrow}(r)\} \right] \Phi_{\uparrow}(r) = \varepsilon_{\uparrow} \Phi_{\uparrow}(r) \quad (3)$$

$$\left[ -\frac{1}{2}\nabla^2 + V_{\downarrow}\{r, \rho_{\downarrow}(r)\} \right] \Phi_{\downarrow}(r) = \varepsilon_{\downarrow} \Phi_{\downarrow}(r) \quad (4)$$

そして、ステップS3で求めたフォルスコリン誘導体Aのスピニアップ波動関数 $\Phi \uparrow (r)$ 及びスピンドアウン波動関数 $\Phi \downarrow (r)$ に基づいてフォルスコリン誘導体Aのスピニアップ電荷密度 $\rho \uparrow (r)$ 及びスピンドアウン電荷密度 $\rho \downarrow (r)$ と、スピニアップ有効ポテンシャル $V \uparrow (r)$ 及びスピンドアウン有効ポテンシャル $V \downarrow (r)$ とを算出し(ステップS4)、このスピニアップ電荷密度 $\rho \uparrow (r)$ 及びスピンドアウン電荷密度 $\rho \downarrow (r)$ と当該スピニアップ電荷密度 $\rho \uparrow (r)$ 及びスピンドアウン電荷密度 $\rho \downarrow (r)$ の前回値、つまりここでは初期値が等しいか否かを判断する(ステップS5)。

このステップS5において、「NO」、すなわちスピニアップ電荷密度 $\rho \uparrow (r)$ 及びスピンドアウン電荷密度 $\rho \downarrow (r)$ の前回値(初期値)と、ステップS4で求めた今回値とが等しくないと判断さ

れた場合、ステップS4で求めたスピニアップ有効ポテンシャル $V \uparrow (r)$ 及びスピンドアウン有効ポテンシャル $V \downarrow (r)$ と、スピニアップ電荷密度 $\rho \uparrow (r)$ 及びスピンドアウン電荷密度 $\rho \downarrow (r)$ とを新たな初期値と設定し(ステップS6)、ステップS3に移行して、再度Kohn Sham方程式(3)、(4)を解くことにより、新たなスピニアップ波動関数 $\Phi \uparrow (r)$ 及びスピンドアウン波動関数 $\Phi \downarrow (r)$ と、スピニアップエネルギー固有値 $\varepsilon \uparrow$ 及びスピンドアウンエネルギー固有値 $\varepsilon \downarrow$ とを算出する。すなわち、ステップS5において、スピニアップ電荷密度 $\rho \uparrow (r)$ 及びスピンドアウン電荷密度 $\rho \downarrow (r)$ の前回値と今回値とが等しくなるまでステップS3～S6の処理を繰り返すことにより、Kohn Sham方程式(3)、(4)を満足するスピニアップ波動関数 $\Phi \uparrow (r)$ 及びスピンドアウン波動関数 $\Phi \downarrow (r)$ と、スピニアップエネルギー固有値 $\varepsilon \uparrow$ 及びスピンドアウンエネルギー固有値 $\varepsilon \downarrow$ とが求まる。一方、ステップS5において、「YES」、すなわちスピニアップ電荷密度 $\rho \uparrow (r)$ 及びスピンドアウン電荷密度 $\rho \downarrow (r)$ の前回値と今回値とが等しいと判断された場合、上記のようにKohn Sham方程式(3)、(4)を満足するスピニアップ波動関数 $\Phi \uparrow (r)$ 及びスピンドアウン波動関数 $\Phi \downarrow (r)$ と、スピニアップエネルギー固有値 $\varepsilon \uparrow$ 及びスピンドアウンエネルギー固有値 $\varepsilon \downarrow$ とに基づいて各原子に働く原子間力を算出すると共に、フォルスコリン誘導体Aの構造の最適化を行う(ステップS7)。つまり、ステップS3～S6の繰り返しによって求めたスピニアップ波動関数 $\Phi \uparrow (r)$ 及びスピンドアウン波動関数 $\Phi \downarrow (r)$ 等は、あくまで図2に示すような2次元平面上のモデルにおいて最適な値であって、実際には3次元空間上におけるフォルスコリン誘導体



Aの構造を考慮する必要がある。

具体的には、ステップS 7では、フォルスコリン誘導体Aを構成する各原子を、3次元空間上においてスピナップ波動関数 $\Phi \uparrow (r)$ 及びスピンドアウン波動関数 $\Phi \downarrow (r)$ から推測される最適な方向に所定の距離だけ移動させ、その時の各原子に働く原子間力を算出する。この時の原子間力が0になり、各原子が動かなくなった場合にフォルスコリン誘導体Aの構造が最適化されたと判断できる。よって、移動後の各原子に働く原子間力を算出し、該原子間力が0になったか否かを判断する(ステップS 8)。

このステップS 8において、「NO」、すなわち原子間力が0ではなく、構造が最適化されていない場合、各原子の移動後の構造におけるスピナップ波動関数 $\Phi \uparrow (r)$ 及びスピンドアウン波動関数 $\Phi \downarrow (r)$ を求めると共に、当該スピナップ波動関数 $\Phi \uparrow (r)$ 及びスピンドアウン波動関数 $\Phi \downarrow (r)$ から求めたスピナップ有効ポテンシャル $V \uparrow (r)$ 及びスピンドアウン有効ポテンシャル $V \downarrow (r)$ と、スピナップ電荷密度 $\rho \uparrow (r)$ 及びスピンドアウン電荷密度 $\rho \downarrow (r)$ とを新たな初期値と設定し(ステップS 9)、ステップS 3～S 8の処理を繰り返す。ここで、ステップS 3に戻るのは、各原子の移動後の構造変化によってスピナップ波動関数 $\Phi \uparrow (r)$ 及びスピンドアウン波動関数 $\Phi \downarrow (r)$ が変化するためである。また、各原子の移動後の構造は記憶されており、再度ステップS 7を行う時には、前回の構造から各原子を再び所定の距離だけ移動させることになる。

このようなフォルスコリン誘導体Aの構造を最適化する際に、図2に示すように、C 9に結合している酸素原子と、C 13に結合している炭素原子とを架橋させるように、強制的に3次元構造を変化させる。なお、このような架橋させるために選

択する原子は任意に変更可能である。

一方、このステップS 8において、「YES」、すなわち各原子に働く原子間力が0になり、フォルスコリン誘導体Aの構造が最適化された場合、その最適化された構造におけるスピナップ波動関数 $\Phi \uparrow (r)$ 及びスピンドアウン波動関数 $\Phi \downarrow (r)$ に基づいて、図3に示すようなスピン電荷密度分布を求める(ステップS 10)。

ここで、評価対象として選定したフォルスコリン誘導体によっては、図3に示す領域1～5のようなスピン電荷密度分布が生じない、若しくはスピン電荷密度分布は生じるが、そのスピン電荷密度の大きさ(つまり磁性の強度)が非常に小さいものが存在する。このようなフォルスコリン誘導体は、磁性を有するとは判定することができない。従って、スピン電荷密度分布に基づいて、まず評価対象として選定したフォルスコリン誘導体が磁性を有するか否かを判断する(ステップS 11)。ステップS 11において、「NO」、すなわち、評価対象として選定したフォルスコリン誘導体が磁性を有しない場合、ステップS 1に移行し、他のフォルスコリン誘導体を新たに選定して再度磁性評価を行う。一方、ステップS 11において、

「YES」、すなわち評価対象として選定したフォルスコリン誘導体が磁性を有する場合、スピン電荷密度分布に基づいて強磁性かフェリ磁性かを判断する(ステップS 12)。上述したように、スピン電荷密度分布は、スピナップ電荷密度とスピンドアウン電荷密度との分布を示すものであるので、これらスピナップ電荷密度及びスピンドアウン電荷密度が混在している場合は、フェリ磁性を有すると判断でき、スピナップ電荷密度またはスピンドアウン電荷密度のどちらか一方のみが存在する場合は、強磁性を有すると判断することができる。以上のように、本薬の設計方法によれば、様々な

原子または分子で側鎖を修飾し、さらに側鎖間を任意に架橋したフォルスコリン誘導体の磁性を判定することができ、磁性を有すると判定された分子モデルを基に化合物を設計することにより、磁性を有する薬を設計することができる。よって、従来のように磁性体からなる担体（キャリア）を用いることなく、薬自体が有する磁性を利用して体内の患部まで薬を誘導することができる。その結果、従来における、経口投与が困難なこと、担体分子が一般的に巨大であること、あるいは薬剤分子との結合強度、親和性に技術的な問題があること等を解決することができ、副作用が少ない、薬効効果が高いドラッグ・デリバリー・システムを実現することが可能である。

上記は有機化合物としてフォルスコリンを用いて説明したが、これに限らず、他の有機化合物を用いても可能である。本報告書では、上記アルゴリズムを用いて悪性中皮腫に有効なペメトレキセドの磁性化をおこなった。

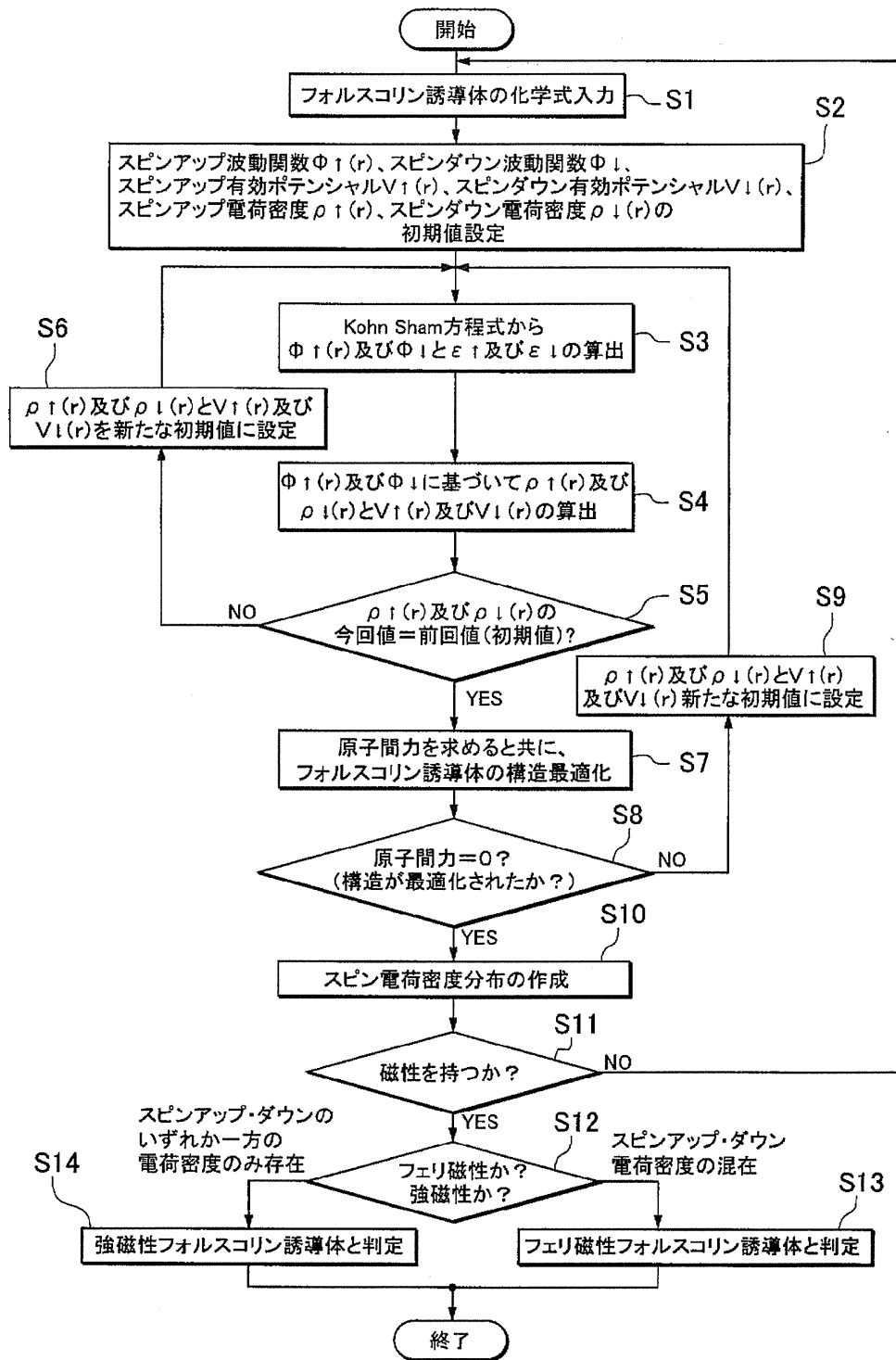


図1 磁性化合物スクリーニングのアルゴリズム

## C. 研究結果

上記のアルゴリズムを用いて悪性胸膜中皮腫および非小細胞肺癌に対する治療薬として使われるペメトレキセド (pemetrexed) の磁性化について検討した。ペメトレキセドは葉酸に分子構造が類似している葉酸代謝拮抗剤である。

ペメトレキセドはプリンおよびピリミジンの合成に使用される3つの酵素、すなわちチミジル酸生成酵素、ジヒドロフォレート還元酵素 (DHFR)、グリシンアミドリボヌクレオチド・ホルミル基転移酵素 (GARFT) を阻害することにより作用する。プリンおよびピリミジン・ヌクレオチド前駆体の合成を阻害することによって、正常な細胞および癌細胞の両方の成長および存続のために必要になるDNAとRNAの合成を阻害するとされている。PerkinElmer社製ソフトChemBioDrawを用い分子量、質量分析の結果を図2に示す。

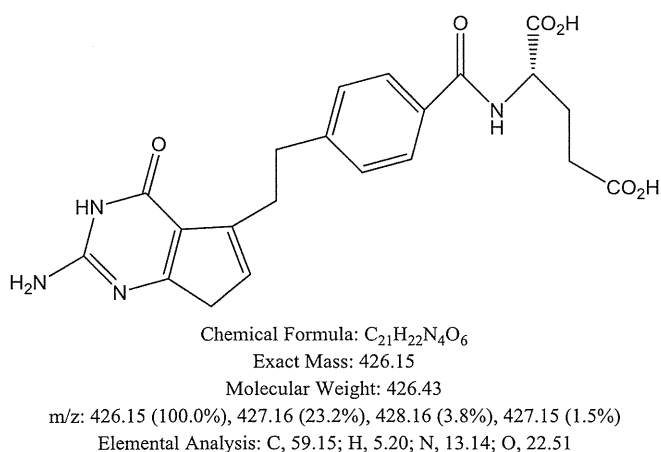


図2 ペメトレキセドの化学構造式、分子量、質量分析

第一にペメトレキセドを磁性化するにあたって、活性を落とさず磁性化可能な場所について調査をおこなった。

調査の結果、ペメトレキセドがグリシンからセリンを合成する酵素であるセリンヒドロキシメチルトランスフェラーゼ (serine hydroxymethyltransferase) をターゲットとしていることが論文(Frederick Daidone, Rita Florio, Serena Rinaldo, Roberto Contestabile, Martino L. di Salvo, Francesca Cutruzzola, Francesco Bossa, Alessandro Paiardini, “*In silico and in vitro validation of serine hydroxymethyltransferase as a chemotherapeutic target of the antifolate drug pemetrexed*”, European Journal of Medicinal Chemistry, 46 (2011) 1616-1621)に記載があった。論文中に *In silico* で行われたペメトレキセドと酵素タンパク質であるセリンヒドロキシメチルトランスフェラーゼのフィッティングモデルの解析を検討したところ、酵素タンパク質と結合しない箇所が明らかになった。磁性化の側鎖変更可能な場所を図3の赤丸で示す。

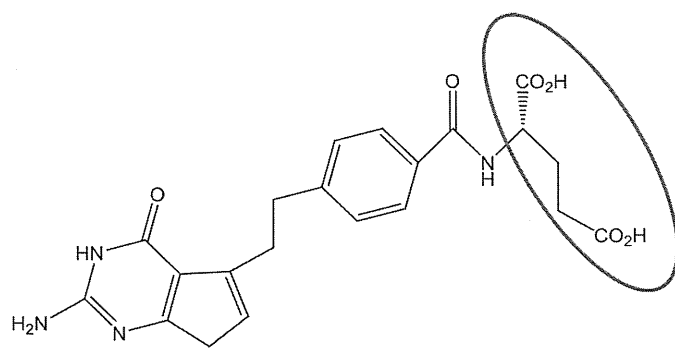


図3 ペメトレキセドの磁性化可能部位 (赤丸)

## D. 考察

酵素タンパク質であるヒドロキシメチルトランスフェラーゼ (hydroxymethyltransferase) はアミノ酸配列を一部改変した細胞シグナルに関する酵素タンパク質が数種類あり、今後は上記と同様な解析していく必要がある。

## E. 結論

上記の磁性スクリーニングの方法を用いてペメトレキセドを磁性化した。得られた化合物20化合物あり、今後は磁性強度が大きい化合物から実際に合成を行い、磁気特性と薬理活性（抗がん作用）の実験を順次行っていく予定である。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) 石川義弘、江口晴樹、切らずに治すがん治療薬の開発、化学工業, 4, 3-5 (2013)

### 2. 学会発表

- 1) 江口晴樹、「第一原理計算による有機磁性抗がん剤の開発」、アクセルリス・ジャパン・ユーザー・グループ・ミーティング 2012、東京、2012年6月
- 2) Yoshihiro Ishikawa, Haruki Eguchi, "Magnetic anti-cancer compound in hyperthermic therapy", The 11<sup>th</sup> International Congress of hyperthermic Oncology, Kyoto, Aug. 2012
- 3) Feng X, Fukumura H. Sato I, Eguchi H, Ishikawa Y, "A new cancer treatment strategy with magnetic anti-cancer compound with hyperthermia", The 11<sup>th</sup> International Congress of hyperthermic Oncology, Kyoto, Aug. 2012
- 4) Itaru Sato, Kenji Misudo, Jun-ichi Baba, Masaki Iida, Hideyuki Nakashima, Toshiyuki Koizumi, Mitomu Kioi, Haruki Eguchi, Yoshihiro Ishikawa and Iwai Tohnai, "Development of oral cancer treatment using a new magnetic anticancer drug", The 11<sup>th</sup> International Congress of hyperthermic Oncology, Kyoto, Aug. 2012
- 5) Hitoshi Iizuka, Masanari Umemura, Itaru Satou, X, Feng, Haruki Eguchi, Yoshihiro Ishikawa,

"Chemotherapeutic and drug delivery system with a novel nano-magnetic particle, EI236", 第90回日本生理学会、東京、2013年3月

- 6) X. Feng, M. Umemura, H. Fukumura, I. Sato, H. Eguchi and Y. Ishikawa, "New strategy of simultaneous hyperthermo-chemotherapy using a novel nano-magnetic anti-cancer drug", 第90回日本生理学会、東京、2013年3月
- 7) 江口晴樹、平田邦夫、黒谷玲子、福村英信、Singh DJ, 山本雅博、佐藤格、梅村将就、山本雅貴、佐藤衛、石川義弘、「強磁性ナノ粒子化合物を用いたドラッグ・デリバリー・システムとMRI造影剤の研究」、第86回日本薬理学会年会、福岡、2013年3月
- 8) 江口晴樹、平田邦夫、黒谷玲子、福村英信、SINGH David J、山本雅博、佐藤格、梅村将就、山本雅貴、佐藤衛、石川義弘、「抗がん作用を有する有機強磁性体を用いた化学療法、ドラッグ・デリバリー・システム」、日本薬学会第133年会、日本薬学学会、2013年3月
- 9) Haruki Eguchi, Kunio Hirata, Reiko Kurotani, Hidenobu Fukumura, David J. Singh, Masahiro Yamamoto, Itaru Sato, Masanori Umemura, Masaki Yamamoto, Yoji Nagashima, Yoshihiro Ishikawa, "Targeted drug delivery system and magnetic resonance imaging with intrinsic ferromagnetic nano-particle compound", American Association for Cancer Research Annual Meeting 2013, Washington DC, U.S.A., April 2013
- 10) Umemura M, Fukumura H, Sato I, Feng X, Hitoshi Iizuka, Eguchi H, Ishikawa Y, "Application of a novel nano-magnetic anti-cancer drug to hyperthermia", American Association for Cancer Research

Annual Meeting 2013, Washington  
DC, U.S.A., April 2013

- 11) Itaru Sato, Kenji Mitsudo,  
Masanori Umemura, Xianfeng  
Feng, Jun-ichi Baba, Hideyuki  
Nakashima, Mitomu Kioi, Haruki  
Eguchi, Yoshihiro Ishikawa and  
Iwai Tohnai, “Novel  
thermo-chemotherapy using a new  
magnetic anti-cancer drug”,  
American Association for Cancer  
Research Annual Meeting 2013,  
Washington DC, U.S.A., April 2013

知的財産権の出願・登録状況

	発明の名称	出願番号 (出願年月日)	発明者	登録番号
1	薬、薬の誘導装置及び薬の設計方法	2005-251190 (2005/08/31)	江口晴樹、 石川義弘	
2	評価対象化合物の活性度評価方法	2005-251189 (2005/08/31)	江口晴樹、 石川義弘	特許 4216277 号
3	薬、薬の誘導装置、磁気検出装置 及び薬の設計方法 (抗がん薬)	2006-177971 (2006/06/28)	江口晴樹、 石川義弘	特許 5167481 号
4	薬、薬の誘導装置、体内動態検知 器及び薬の設計方法	2006-301564 (2006/11/07)	江口晴樹、 石川義弘 谷垣勝己	
5	磁性材料、磁性材料の誘導装置及 び磁性材料の設計方法	2006-300604 (2006/11/06)	江口晴樹、 石川義弘 谷垣勝己	特許 4774536 号
6	薬、薬の誘導装置、磁気検出装置 及び薬の設計方法	2007-056624 (2007/03/07)	江口晴樹、 石川義弘	
7	MRI システム	2007-316941 (2007/12/07)	江口晴樹、 石川義弘	特許 4279335 号 (スーパー早期審査を 経て特許登録済)
8	鉄サレン錯体	2007-338928 (2007/12/28)	江口晴樹、 石川義弘	
9	磁性を有する薬剤、薬剤の誘導シ ステム、並びに磁気検出装置	2008-038502 (2008/02/20)	江口晴樹、 石川義弘	
10	磁性を有する薬剤、薬剤の誘導シ ステム、並びに磁気検出装置	2008-038458 (2008/02/20)	江口晴樹、 石川義弘	
11	磁性を有する薬剤、薬剤の誘導シ ステム、並びに磁気検出装置	2008-038476 (2008/02/20)	江口晴樹、 石川義弘	
12	磁性を有する薬剤、薬剤の誘導シ ステム、並びに磁気検出装置	2008-105917 (2008/04/15)	江口晴樹、 石川義弘	
13	磁性を有する薬剤、薬剤の誘導シ ステム、並びに磁気検出装置	2008-105912 (2008/04/15)	江口晴樹、 石川義弘	
14	磁性体化合物のスクリーニング 方法	2008-137885 (2008/5/27)	江口晴樹、 石川義弘	

15	抗体又は抗原の定量方法	2008-137888 (2008/5/27)	江口晴樹、 石川義弘	
16	スイッチング素子	2008-137895 (2008/5/27)	江口晴樹、 石川義弘	
17	鉄サレン錯体、磁性を有する薬 剤、薬剤の誘導システム、並びに 磁気検出装置	2008-125202 (2008/05/12)	江口晴樹、 石川義弘	
18	薬の誘導装置、磁気検出装置	2008-160794 (2008/6/19)	江口晴樹、 石川義弘	
19	局所麻酔剤、局所麻酔剤の誘導装 置とその設計方法	2008-297065 (2008/11/20)	江口晴樹、 石川義弘	
20	鉄サレン錯体化合物、又はその誘 導	2008-299482 (2008/11/25)	江口晴樹、 石川義弘	
21	鉄サレン錯体	2008-298128 (2008/11/21)	江口晴樹、 石川義弘	特許 4446489 号 (早期審査を経て特許登 録済)
22	薬、薬の誘導装置、磁気検出装置 および薬の設計方法	2008-280773 (2008/10/31)	江口晴樹、 石川義弘	
23	DRUG, DRUG GUIDANCE SYSTEM, MAGNETIC DETECTION SYSTEM, AND DRUG DESIGN METHOD	PCT/JP2006/ 317027 (2006/08/23)	江口晴樹、 石川義弘	ヨーロッパ(イギリス、フラン ス、ドイツ、スイス)特許 登録予定(2010/10/19 ミ ュンヘンにあるヨーロッパ 特許庁で oral proceedings を行い特許 査定の判決) EU 特許登録番号 EP1920370B1
24	ACTIVITY EVALUATION METHOD FOR EVALUATION TARGET COMPOUND	US11/442,478 (2006/05/26)	江口晴樹、 石川義弘	米国特許登録 US7,337,073B2
25	薬、薬の誘導装置、磁気検出装置 及び薬の設計方法	PCT/JP2007/ 63011 (2007/06/28)	江口晴樹、 石川義弘	米国特許庁直接説明す ることで登録 米国特許登録番号 US8246975B2
26	IRON-SALEN COMPLEX	US12/146,624 (2008/7/17)	江口晴樹、 石川義弘	
27	演算装置及び局所治療薬	2007-170909 (2007.6.28)	江口晴樹、 石川義弘	特許 4279330 号 (スーパー早期審査を 経て特許登録済)
28	自己磁性金属サレン錯体化合物	2009-177112 (2009/7/29)	江口晴樹、 石川義弘	



29	鉄サレン錯体	2008-297048 (2008/11/21)	江口晴樹、 石川義弘	
30	自己磁性金属サレン錯体化合物	2009-177112 (2009/7/29)	江口晴樹 石川義弘	
31	鉄サレン錯体	2009-264213 (2009/11/19)	江口晴樹、 石川義弘	
32	磁石及び磁石を用いたドラッグ デリバリー制御装置	2009-294451 (2009/12/25)	江口晴樹 石川義弘	
33	自己磁性金属サレン錯体化合物	PCTIB2009/007 525 (2009/11/19)	江口晴樹 石川義弘	
34	金属サレン錯体誘導体およびそ の製造方法	2010-088113 (2010/4/26)	江口晴樹、 石川義弘	
35	抗脳腫瘍薬剤	2010-102897 (2010/4/28)	江口晴樹、 石川義弘	
36	磁石及び磁石を用いたドラッグ デリバリー制御装置	2010-126021 (2010/06/01)	江口晴樹、 原正一、 石川義弘	
37	金属サレン錯体誘導体及びその 製造方法	2010-285075 (2010/12/21)	江口晴樹、 石川義弘	
38	磁石および磁石を用いたドラッ グデリバリー制御装置	PCT/JP2010/00 7516 (2010/12/24)	江口晴樹、 原正一 石川義弘	
39	自己磁性金属サレン錯体化合物	2011-030056 (2011/02/15)	江口晴樹、 石川義弘	
40	金属サレン錯体化合物	2011-040233 (2011/02/25)	江口晴樹、 石川義弘	
41	金属サレン錯体誘導体及びその 製造方法	PCT/JP2011/00 2056 (2011/4/6)	江口晴樹、 石川義弘	
42	金属サレン錯体誘導体、局所麻酔 薬剤、及び抗悪性腫瘍薬剤	2011-131239 (2011/6/13)	江口晴樹 石川義弘	
43	自己磁性金属サレン錯体化合物	2010-539038 (2011/6/8)	江口晴樹 石川義弘	
44	新規な金属サレン錯体化合物	2011-163621 (2011/7/26)	江口晴樹 石川義弘	

45	温熱治療用材料および温熱治療システム	2011-193270 (2011/9/5)	江口晴樹 石川義弘	
46	金属サレン錯体化合物応答性薬剤	2011-220449 (2011/10/4)	江口晴樹 石川義弘	
47	ドラッグデリバリー用のキャリア化合物、当該キャリア化合物が薬剤を内包する脂質膜に結合した薬剤、及び、当該薬剤を用いたドラッグデリバリーシステム	2011-203497 (2011/9/16)	江口晴樹 石川義弘	
48	磁性組成物及びその製造方法	2011-222354 (2011/10/6)	江口晴樹 石川義弘	
49	ラジカル生成抑制剤	2011-236486 (2011/10/27)	江口晴樹 石川義弘	
50	紫外線吸収剤及びこれを用いた化粧品	2012-0253318 (2012/2/8)	江口晴樹 石川義弘	
51	抗脳腫瘍剤	PCT/JP2011/00 2118 (2011/4/11)	江口晴樹 石川義弘	
52	蛍光色素材料およびその使用方法	PCT/JP2011/00 2651 (2011/5/12)	江口晴樹 石川義弘	
53	無機化合物、無機化合物を含む薬剤、薬剤の誘導システム、及び磁気検出装置、並びにがん温熱治療法装置	2012-033960 (2012/2/20)	江口晴樹 石川義弘	
54	自己磁性金属サレン錯体化合物	PCT/JP2012/06 2301 (2012/5/14)	江口晴樹 石川義弘	
55	磁石および磁石を用いたドラッグデリバリー制御装置	2011-547329 (2012/6/22)	江口晴樹 石川義弘	PCT/JP2010/007516 の 分割出願
56	金属サレン錯体誘導体及びその製造方法	2012-509317 (2012/8/6)	江口晴樹 石川義弘	PCT/JP2011/002056 の 分割出願
57	抗脳腫瘍薬剤	2012-512639 (2012/8/13)	江口晴樹 石川義弘	
58	蛍光色素材料及びその使用方法	2012-518218 (2012/8/13)	江口晴樹 石川義弘	
59	薬、薬の誘導装置、体内動態検知器及び薬の設計方法	2012-185940 (2012/8/24)	江口晴樹 石川義弘	

60	温熱治療用発熱半導体	PCT/JP2012/07 2612 (2012/9/5)	江口晴樹 石川義弘	
61	自己磁性金属サレン錯体	PCT/JP2012/07 2794 (2012/9/6)	江口晴樹 石川義弘	
62	新規抗がん剤解毒剤	PCT/JP2012/07 3900 (2012/9/19)	江口晴樹 石川義弘	
63	ラジカル生成抑制剤	PCT/JP2012/07 4938 (2012/9/19)	江口晴樹 石川義弘	
64	磁性体、及び磁性体の製造方法	2012-273951 (2012/12/14)	江口晴樹 石川義弘	
65	薬、薬の誘導装置、体内動態検知器及び薬の設計方法	2012-246307 (2012/12/13)	江口晴樹 石川義弘	
66	磁性薬の適正投与形態提供システム	2012-285824 (2012/12/27)	江口晴樹 石川義弘	

厚生労働科学研究費補助金（第三次対がん総合戦略研究事業）  
（分担）研究報告書

悪性中皮腫に対する単剤多機能抗がん治療薬の開発に関する研究  
（臨床試験の検討）

研究代表者 石川 義弘 横浜市立大学

研究要旨 新薬の臨床試験については、実施体制のみならず開発支援は重要であり、我が国の開発支援体制について検討を行った。我が国の新薬開発支援の状況を把握し、革新的な抗がん剤の開発に際して、どのような活用が期待できるか支援体制を考察した。

研究分担者 浦野 勉  
横浜市立大学・大学院医学研究科  
客員教授