
多核種磁気共鳴分析法を用いた
in vivo 抗癌剤治療モニター法
の開発に関する研究

(04670720)

平成4年度科学研究費補助金[一般研究(C)]研究報告書

平成6年3月

研究代表者 棟方 隆

(旭川医科大学医学部講師)

I. はしがき

1) 研究の目的と意義

癌に対する治療法には、手術療法、抗癌剤療法、放射線療法及び免疫療法などがある。早期癌に対しては、手術療法が主体となり、その治療成績は向上してきた。しかし手術の適応とならない進行癌や術後の補助療法が必要な場合は、抗癌剤療法が主体となり、現在様々な投与スケジュールが検討されている。抗癌剤療法が有効に作用するためには、投与した抗癌剤が標的腫瘍に確実に分布し、そこで明らかな抗腫瘍作用を発揮する必要がある。しかしこれらを明確に把握することは容易ではなく、現段階では標的部位における抗癌剤の腫瘍内濃度や抗癌剤の活性に関与する諸酵素活性を測定するにとどまっている。もし *in vivo* でこのようなモニターが可能であれば、各々の症例について最

も効果のある投与薬剤、投与方法及び投与量が決定でき、より効果的な抗癌剤療法が可能となる。

一方、核磁気共鳴スペクトロスコピー(MRS)は非侵襲的かつ経時的に生体の代謝情報を得られることから、新しい代謝研究手段として様々な臓器、組織で応用されつつある。さらに最近では超伝導画像装置を利用したヒトを対象としたMRSも試みられている。生体に応用可能な核種としては ^{31}P (リン)、 ^1H (プロトン)、 ^{19}F (フッ素)、 ^{13}C (炭素)などがある。この中で ^{19}F はこれまで生体系への応用は非常に少ないが、感度が高く、化学シフト値も広く、MRSに適した核種である。また現在広く用いられる抗癌剤である5FU(5-fluorouracil)はリン酸化されたFdUMP(5-fluoro-2'-deoxyurine-5'-monophosphate)やFUTP(5-fluorouridine 5'-monophosphate)となって初めて抗癌性を発揮するが、 ^{19}F -MRSによればこれら

5FUの代謝産物をモニターできる可能性がある。さらに、これまで生体系に応用が盛んな ^{31}P -MRSは生体のエネルギー代謝の把握が可能なことから、悪性腫瘍に対する治療効果を判定に応用することが可能である。本研究では ^{19}F -MRS測定に関する基礎的検討を行い、それらをもとにして灌流ラット肝の5-fluorouracilの代謝過程を明らかにし、さらに実際の患者測定を考慮したin vivo 測定法の開発を及び ^{31}P -MRSによる抗腫瘍効果の判定を目的とする。本研究はこの両核種を用いたMRSによる抗癌剤療法モニターの有用性を確立し、将来の臨床応用への基盤を築くことにその意義を有する。

2) 研究組織

研究代表者：棟方 隆（旭川医科大学医学部講師）

研究分担者：葛西眞一（旭川医科大学医学部助教授）

研究分担者：坂田博美（旭川医科大学医学部助手）

（平成4年度のみ）

3) 研究経費

平成4年度 1,000千円

平成5年度 980千円

計 1,980千円

4) 研究発表

ア. 学会誌等

1) T.Muankata, R.D.Griffiths, P.A.Martin,
S.A.Jenkins, R.Shields and R.H.T.Edwards.
An in vivo ^{31}P MRS Study of Patients With
Liver Cirrhosis: Progress towards a Non-
invasive Assessment of Disease Severity. NMR
in Biomedicine. Vol.6, 168-172, 1993.

2) 棟方 隆. MRSと肝・膵疾患 ^{31}P MR スペクト
ロスコピーの臨床応用 肝・胆・膵 28巻, 233-
239, 1994.

イ. 口頭発表

1) 棟方 隆、R.D.Griffiths, S.A.Jenkins,

P.A.Martin, R.Shields and R.H.T.Edwards.

長時間作用型SOMATOSTATIN(OCTREOTIDE)の

肝内エネルギー代謝に及ぼす影響 ー肝硬変患者を対象

としたin vivo ³¹P MRSによる検討ー

第93回日本外科学会総会 1993年4月

2) 棟方 隆、R.D.Griffiths, S.A.Jenkins,

P.A.Martin,R.Shields and R.H.T.Edwards.

長時間作用型ソマトスタチン(オクトレオタイド)の肝

内リンエネルギー代謝に及ぼす影響 ー肝硬変患者おけ

る vivo ³¹P MRSによる検討ー

第29回日本肝臓学会総会 1993年7月

3)T.Munakata, R.D.Griffiths, P.A.Martin,

R.Shields, R.H.T.Edwards and S.A.Jenkins.

**The Effects of Octreotide on Hepatic Energy
Metabolism in Portal Hypertension.**

第2回ヨーロッパ消化器病週間 1993年6月

4) K. Tanaka, Y. Nishida, M. Kusakabe,
T. Munakata, S. Kasai.

**Evaluation of Functional Recovery of
Remnant Liver After Partial Hepatectomy
Using ^{31}P NMR.**

第12回磁気共鳴医学会 1993年8月

II 研究成果

1. ^{19}F MRスペクトル測定に関する基礎的諸条件の検討

当大学機器センターに既存する超伝導NMR装置（日本電子製GX-270 WB FT-NMR）【写真-1】及び新たに設置された ^{19}F 用プローブを用い、50mg/mlの濃度のフルオロウラシルを含有したファントムから ^{19}F MRスペクトルを測定する際の基礎的測定条件の検討を行った。

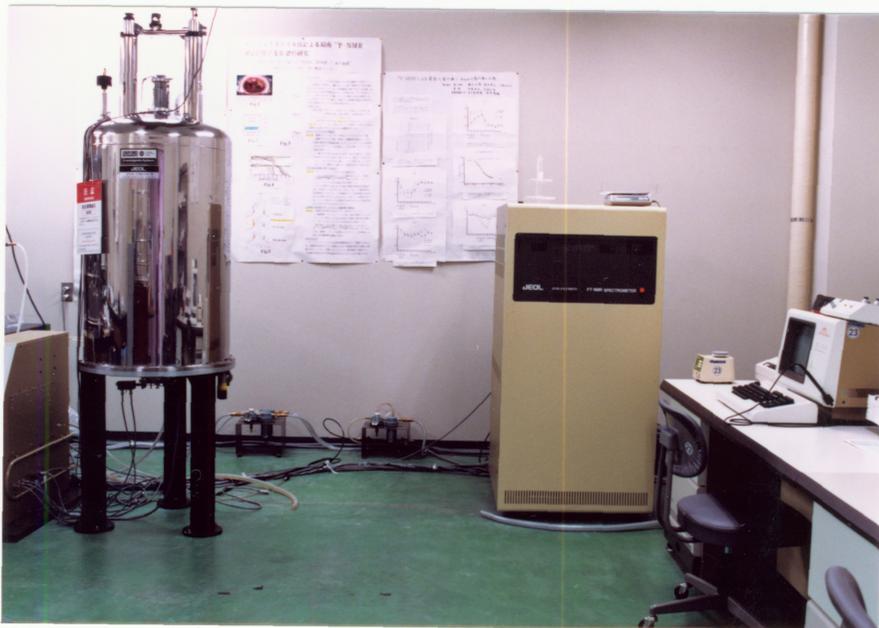


写真-1 GX-270 WB FT-NMR（日本電子製）

その結果、本濃度では、フッ素共鳴周波数254.05MHz、測定観測幅100kHz、積算回数1回、測定時間1秒という測定条件で良好なS/N比のローレンツ波形の ^{19}F -NMRスペクトル【図-1】が得られた。この結果は ^{19}F は極めて感度及び分解能が良く、今後の生体系における低濃度の測定にも十分期待を持たせるものであった。

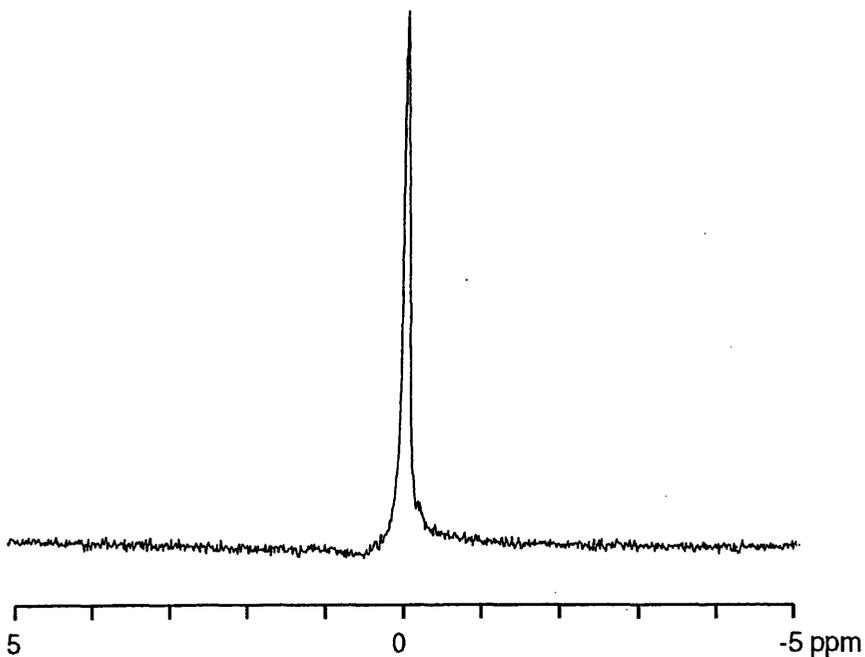


図-1 ^{19}F -NMRスペクトル

2. 5FU含有灌流液を用いた肝内5FU代謝過程の観察

5-fluorouracilは【図-2】のような代謝経路を有し、5FUの代謝産物であるFdUMP (5-fluoro-2'-deoxyurine-5'-monophosphate)がDNA合成阻害を、また FUTP(5-fluorouridine 5'-monophosphate)がRNA合成阻害をすることによってその抗癌作用を発揮する。また異化作用を受け、FUPA(α -fluoro- β -propionic acid)及びFBAL(α -fluoro- β -alanine)となる。

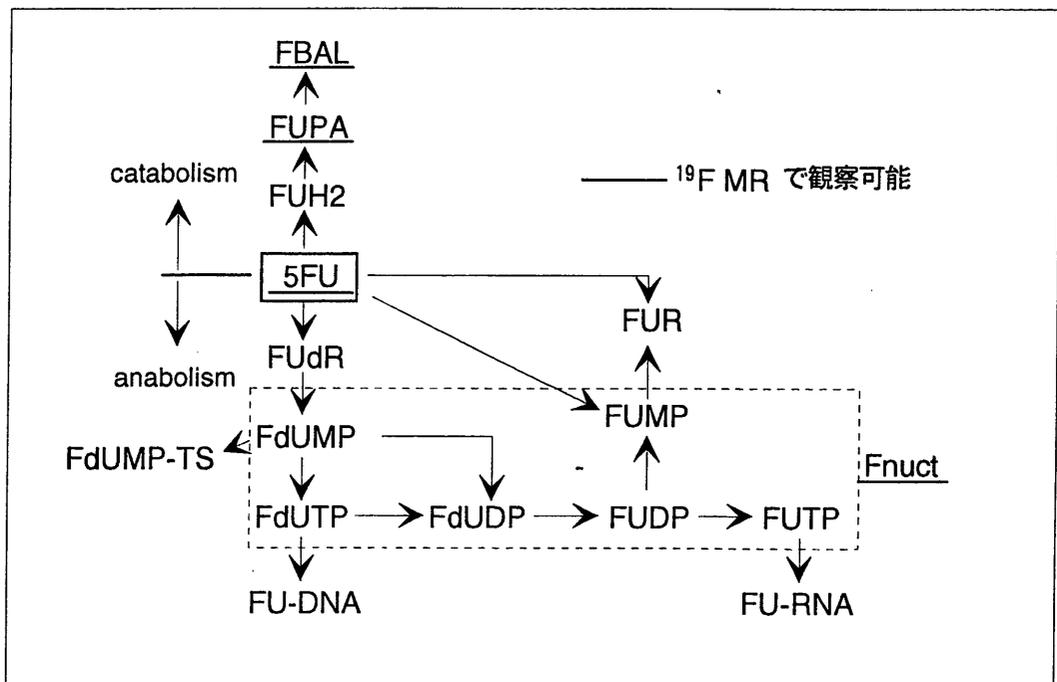


図-2 5FUの代謝経路

^{19}F -NMRでは5FU、Fnucl (FdUMP、FUTP等)、FUPA及びFBAL等が観察可能である。ラット肝の灌流は、従来の方法と同様である。【図-3】に摘出灌流肝及び灌流肝測定システムを示す。

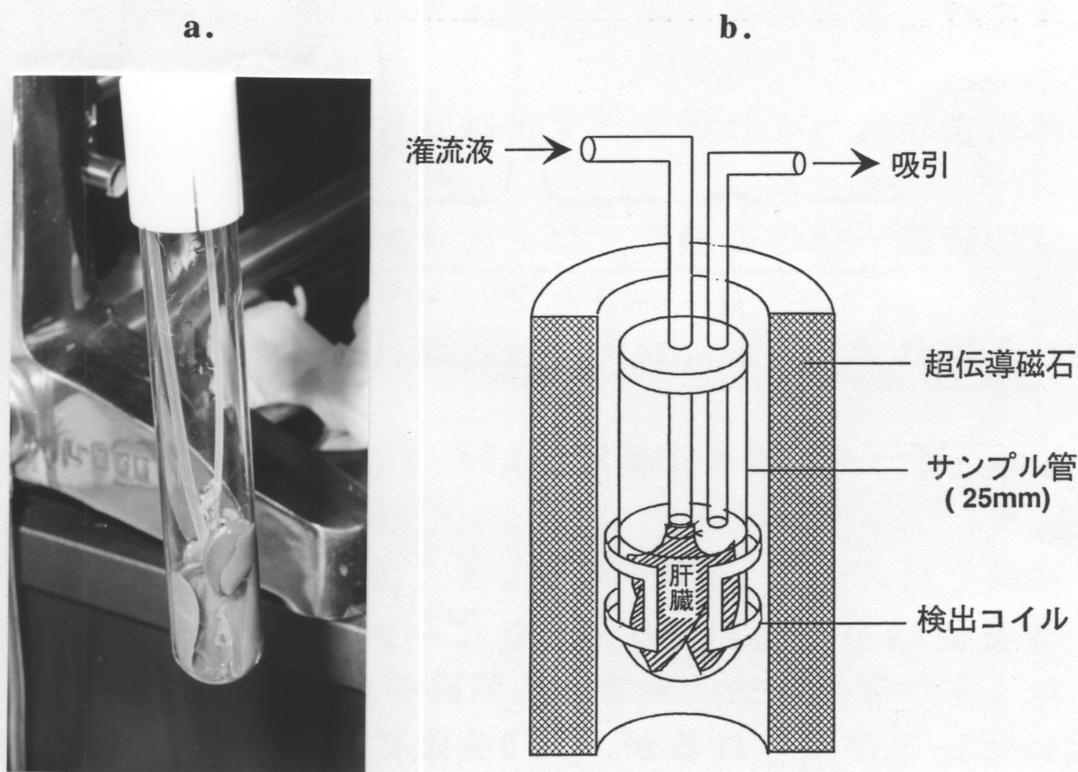


図-3 a. ラット灌流肝
b. 灌流肝測定システム

この灌流肝をNMRプローベに挿入し、経時的に ^{19}F -NMRスペクトルを測定した。【図-4】に灌流後30分及び120分

後のスペクトルを示す。

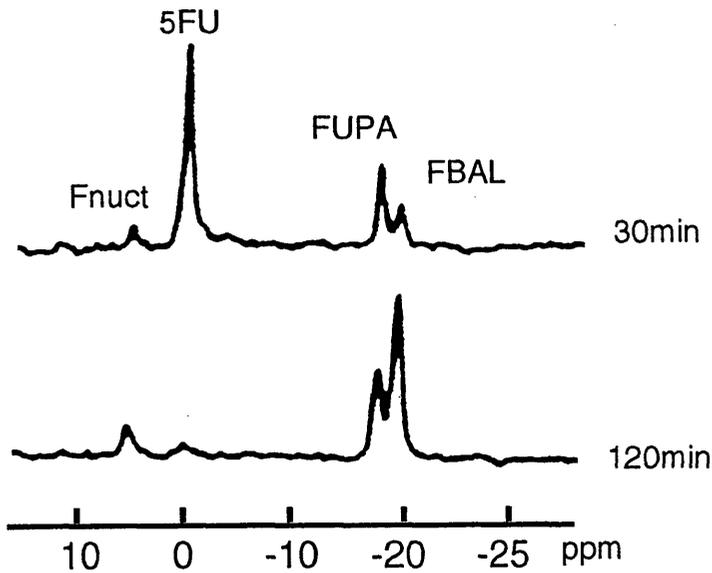


図-4 摘出灌流肝の ^{19}F NMRスペクトル

灌流後30分では5FUの大きなピーク及びFUPA、FBALの低いピークが見られるが、120分後には、5FUピークはほとんど消失し、Fnuct及びFUPA、FBALが増加した。このような ^{19}F MRスペクトルの変化は5FUの代謝過程を反映していた。

3. in vivo 測定における介在組織の検討

in vivo での測定のため、サーフェスコイルによる測定に関する介在組織の影響を検討した。この検討に関しては、信号強度や、サンプル取扱いの問題からリンを核種として行った。ラット肝の解剖学的位置を想定したファントムを用い、肝の位置に相当する無機リンの信号を観測しながら最高分解能を得るように、静磁場の均一調整のためのシムコイル調整を行なった。次に、無機リンを封入した微小サンプル(1.0mmφ)を用い、サーフェスコイル下での信号強度分布を測定した。【図-5】に最大信号強度を100%として信号強度等高図として表した結果を示す。コイル表面から4.0-6.0mmの領域が50%以上の信号を与えており、またこの部位はラット肝領域にほぼ対応する深度である。なおコイル端部方向では、コイル表面に近い領域からの信号が含まれざるを得ない。

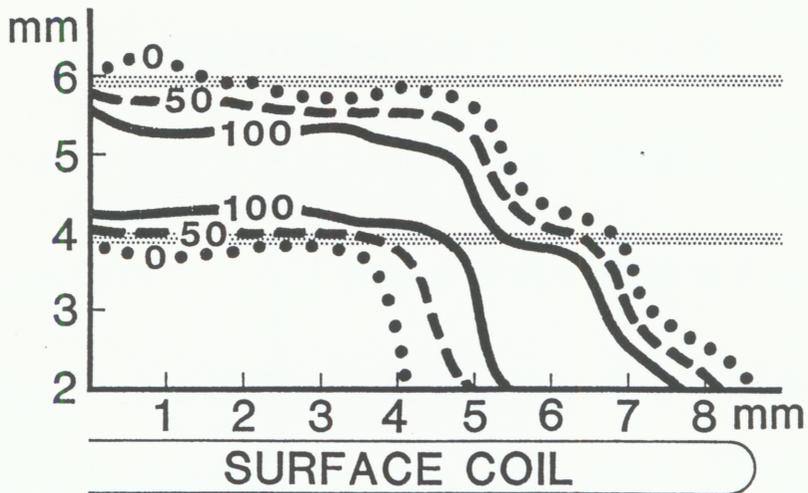


図-5 信号強度分布等高図

そこでサーフェイスコイルと肝との間に介在する体組織が肝のスペクトルにどの程度影響を及ぼしているか検討を行った。【写真-2】は前期同様の条件下で、*in vivo*測定用プローブに固定したラットを示す。

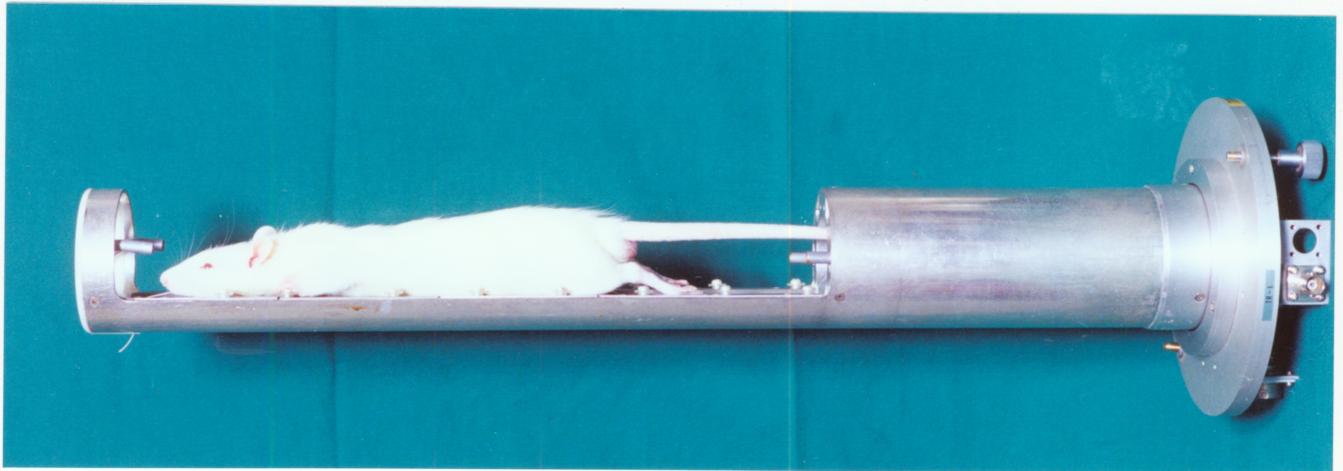
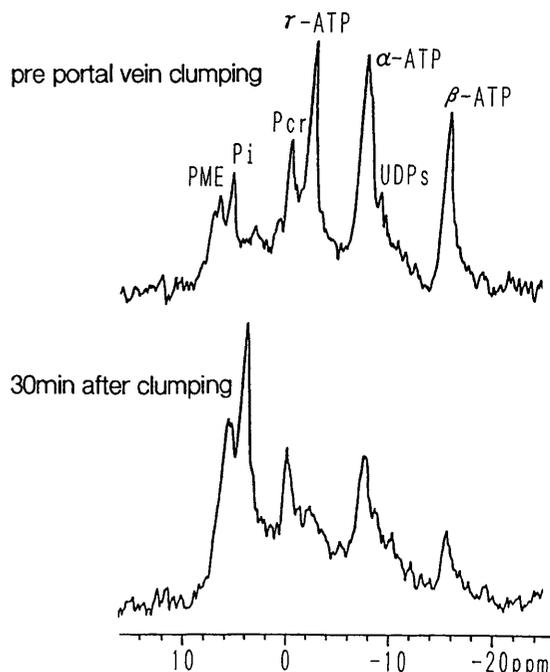


写真-2 19F測定用プローブに固定したラット

また、【図-6】は同一ラットにおいて、コントロールスペクトル及びプローブ外からの操作によって門脈遮断を行ない30分経過後のスペクトルを示す。各スペクトルの面積比から前記条件下での表面コイル法によって肝領域の測定を行なう場合、



約20%が介在組織からの信号と 図-6 in vivo肝スペクトル
みなされる。また130mg/kgの5FUを経静脈的に投与し、
上記条件下で測定すると、灌流肝とほぼ同様な5FUの代謝
過程が観察できた。

III 考察と今後の展望

近年、癌に対する治療法は従来の手術療法主体から放射線療法、化学療法、免疫療法及び遺伝子治療等の組み合わせた多面的な療法が行われるようになった。特に抗癌剤療法が有効に作用するためには、抗癌剤が標的とする悪性腫瘍に十分に到達し、抗癌性を発揮し、さらに悪性腫瘍には代謝変化が起こり、腫瘍が壊死に陥るという過程が必須である。本研究ではこの抗癌剤療法の最も基本的な過程の、従来の方法では困難であった *in vivo* モニターを可能とし、より効果的な抗癌剤療法を確立することをめざした。まず第一に超伝導 NMR 装置を用い、50 mg/ml の 5FU を含むファントム測定の内容を検討した。この結果は諸家の報告と同様で、 ^{19}F はプロトンに次いで感度及び分解能が良好で、今まで生体系への応用が少ないが、今後の研究を進める上で非常に期待が持てるものであった。次に灌流肝における 5FU の代謝過程の検討を行った。初期の実験では信

号強度を上げるために、灌流液の5FU濃度を高くしたがこの場合には肝毒性が問題となった。結局 $25\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度が肝毒性及びS/N比の関係から適当と思われた。投与した5FUが代謝され抗癌作用を有するFnuctに代謝され、さらに異化産物であるFUPA、FBALとなる過程を観察できた。5FU含有灌流液を30分間投与し、その後の代謝変化をみると投与後30分では、5FUの大きなピークとFnuct及びFUPA、FBALの低いピークが見られるが、120分後では5FUはほとんど代謝され消失し、逆にこれら代謝産物が増加するというダイナミックな変化をとられることができた。これは将来の臨床を考えると個々の症例において、抗癌剤投与中にその代謝過程を変化させ効果の増強を図ることができると示している。第二段階としてin vivo 測定に向けて、サーフェイスクイルと肝臓の間に介在する組織のスペクトルに与える影響を検討した。臨床での測定を考慮すれば必ずしも単純なサーフェイスクイル法が最良な方法とはいえないが、ラットを用いた小ボアの測定装置では、複雑な局在法は物理的に非常に困難であるため、この検討

は必須である。無機リンを封入した微小サンプルを用いた検討では、ラット肝の位置に相当するコイル表面から4.0-6.0mmの領域が約80%の信号を与えるが、約20%は介在組織からの信号であった。しかし代謝過程の追跡には十分応用可能で、この条件下で5FUのin vivo測定ができた。過去における ^{31}P -NMRの結果と今回の ^{19}F -NMRを組み合わせることによって抗癌剤の代謝過程と抗癌剤が腫瘍及び肝臓のエネルギー代謝に及ぼす影響をモニターできることが明らかとなった。

以上、2年間にわたる本研究の目標はおおむね達成されたが、今後さらに実際の臨床での治療を踏まえた検討が必要であろう。