

生理機能及び代謝イメージングによるがん治療効果の予測

松元 慎吾

Prediction of Cancer Treatment Response by Physiologic and Metabolic Imaging

Shingo Matsumoto

*Graduate School of Information Science and Technology, Hokkaido University;
North 14, West 9, Kita-ku, Sapporo 060-0814, Japan.*

(Received August 21, 2015)

Tumors develop a characteristic microenvironment depending on their specific genetic mutations. The direct products of mutant genes and the resulting microenvironmental changes provoke metabolic changes in the tumor. If noninvasive imaging techniques including magnetic resonance imaging (MRI) could be used to detect such microenvironmental and metabolic changes in tumors, we might be able to provide more effective treatment strategies for individual tumors in patients. In addition to conventional imaging techniques, this review article introduces quantitative 3D oxygen imaging using electron paramagnetic resonance imaging (EPRI) and hyperpolarized ^{13}C metabolic MRI and shows how these imaging techniques can help to monitor and predict tumor response to various treatments including radiation therapy and antiangiogenic agents. Hyperpolarization is a method for enhancing the MRI signal of ^{13}C in a molecule by 10000-fold, which makes it possible to trace the metabolic reaction of externally administered molecules in the body noninvasively. For example, a precise cancer diagnosis can be made in a 3-min scan with a $[1-^{13}\text{C}]$ pyruvate as a metabolic tracer. The first clinical trial on the use of hyperpolarized ^{13}C MRI in patients with prostate cancer was conducted at the University of California San Francisco (UCSF), and we plan to start the second clinical trial on this technique in the near future.

Key words—magnetic resonance imaging; hyperpolarization; metabolism; microenvironment; tumor hypoxia

1. はじめに

磁気共鳴画像 magnetic resonance imaging (MRI) を始めとする画像診断法は、正確ながんの診断や治療効果の評価に不可欠なものとなっている。解剖画像からは腫瘍の位置や形状、大きさの情報が得られ、治療に対する腫瘍サイズの変化からがん治療の効果が評価される。しかしながら、特定の治療の有効性が腫瘍サイズの変化として現れるには数週間から数ヶ月掛かることが多く、より早い段階で治療効果を評価する、あるいは逆に、治療を始める前にその治療法の有効性を判断できる画像診断法の確立が望まれている。そのような臨床の需要に応える形で、近年、酸素濃度や pH、血流量、代謝、細胞密度などの腫瘍の微小環境や生理的機能を可視化する

技術の開発が進んでいる。本稿では、磁気共鳴による 2 つの新しい画像診断技術、¹⁾ 電子常磁性共鳴画像 electron paramagnetic resonance imaging (EPRI) による定量的酸素濃度イメージング、²⁾ 超偏極 ^{13}C MRI による代謝イメージング、について最近の知見を紹介する。

2. 電子常磁性共鳴画像による酸素イメージング

腫瘍組織において、細胞は本来生体が持つ制御を超えて増殖する。この異常な細胞増殖に必要な栄養素や酸素の供給を維持するため、腫瘍細胞は血管内皮細胞増殖因子 (vascular endothelial growth factor; VEGF) 等の成長因子を放出し、血管新生を促す。血管新生の促進因子と抑制因子のバランスの崩壊により、未成熟で、形状的にも機能的にも異常な腫瘍血管が作られる。この腫瘍血管の機能的欠陥と異常な細胞密度により、十分に酸素が行き渡らない低酸素領域が腫瘍内に形成される。

腫瘍内の低酸素はその形成機序により、慢性低酸素 Chronic Hypoxia と間欠性低酸素 Cycling

北海道大学大学院情報科学研究科磁気共鳴工学研究室
(〒060-0814 札幌市北区北 14 条西 9 丁目)

e-mail: smatsumoto@ist.hokudai.ac.jp

本総説は、日本薬学会第 135 年会シンポジウム S17 で発表した内容を中心に記述したものである。

Hypoxia の 2 つに大別される。¹⁾ 慢性低酸素は酸素の単純拡散距離の減少により生じる低酸素であり、Diffusion-Limited Hypoxia と呼ばれる。腫瘍血管においては、動脈が中心から末梢へと向かうにつれ、血管内の酸素濃度が著しく低下する縦方向の酸素濃度勾配 Longitudinal Oxygen Gradients として知られる現象がみられる。²⁾ この血管内の酸素濃度の低下と、過剰な細胞密度による酸素消費量の増加が合わさって、腫瘍組織においては、血管からの距離が 100 μm と比較的血管に近い領域においても永続的に酸素が十分に供給されない慢性低酸素領域が形成される。慢性低酸素領域の中心では、広範囲なネクローシス領域がしばしば観察される。一方、間欠性低酸素とは比較的血管に近い領域において、一過性に酸素供給が滞ることにより生じる低酸素領域であり、急性低酸素 Acute Hypoxia, Intermittent Hypoxia と呼ばれる。この一過性の酸素供給の低下は、異常な機能を持った腫瘍血管において、赤血球の流れが一時的に滞るために生じると考えられている。最近の研究では、一過性の低酸素に繰り返し暴露されることにより、腫瘍細胞では低酸素誘導因子 hypoxia inducible factor (HIF) の発現が強く誘導されるようになり、浸潤性、転移性、治療耐性が増すより悪質な形質へと転換することを示す多くの報告がなされている。

放射線による DNA 傷害の固定化には酸素が必要であり、低酸素下にある腫瘍細胞は放射線治療に対し抵抗性を示す。また、抗がん剤も低酸素領域まで十分に拡散されないため、低酸素腫瘍は多くの化学療法に対しても抵抗性を示す。したがって、腫瘍内に存在する低酸素領域の検出・可視化はがん治療の方針を決める上で極めて重要である。現在までに開発されている低酸素のイメージング技術の多くは、低酸素下において腫瘍細胞がより還元的になる性質又は転写因子である HIF 及びその下流にあるシグナルを標的として、低酸素を検出している。これらの低酸素イメージング法に共通する問題は、低酸素かつ“生きている”細胞だけが検出される点にある。実際には、厳しい低酸素あるいは無酸素下にある多くの腫瘍組織では腫瘍細胞は壊死又は“瀕死”の状態にあり、そのような細胞では還元力が失われ、HIF の発現や下流のシグナルも消失している (Fig. 1)。結果として、これらの厳しい低酸素下にある腫

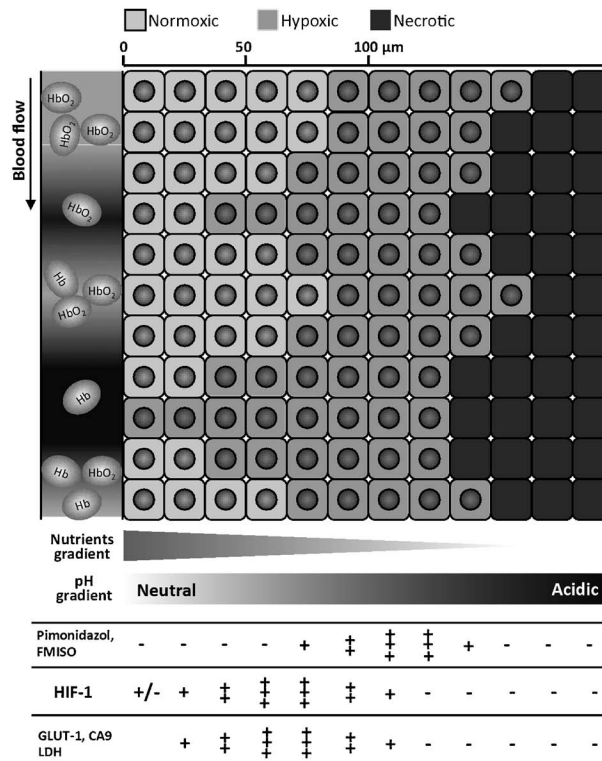


Fig. 1. Tumor Hypoxia and Hypoxia Markers

Structurally and functionally aberrant tumor blood vessels generate sharp gradients in nutrients, pH, and oxygen concentration that depend on the distance from blood vessels. Expression of both the endogenous hypoxia marker HIF-1 and downstream signaling and exogenously administered hypoxia markers are elevated in the hypoxic tumor region of living cells, but disappear in severely hypoxic and necrotic tumor regions.

瘍領域は低酸素イメージングにおいてしばしば偽陰性を示す。また、低酸素細胞の還元力や HIF に依存した低酸素の検出は定性的な評価法であり、異なる施設間で得られたデータの比較検討は困難である。

電子常時性共鳴画像 (EPRI) は、細胞の生死に依存せず、定量的な酸素濃度の 3 次元イメージングが可能であり、早期の臨床応用が期待されている。臨床現場で広く用いられている核磁気共鳴画像 MRI がプラスに荷電した核スピンを検出するのに対し、EPRI ではマイナスに荷電した電子のうち、不對電子を持つフリーラジカル種を検出対象とする。外来的に投与された安定なフリーラジカルの電子スピン緩和速度は、同じく不對電子を持つ酸素分子との双極子相互作用により、酸素濃度に比例して変化する。この酸素濃度依存性の磁気緩和を画像化することにより、EPRI は非侵襲的に組織の定量的な酸素濃度画像を与える。³⁾ Figure 2 にマウス後肢に移植した SCCVII 腫瘍における EPR 酸素イメージを示す。最新の EPRI 装置では撮像の高速化が進

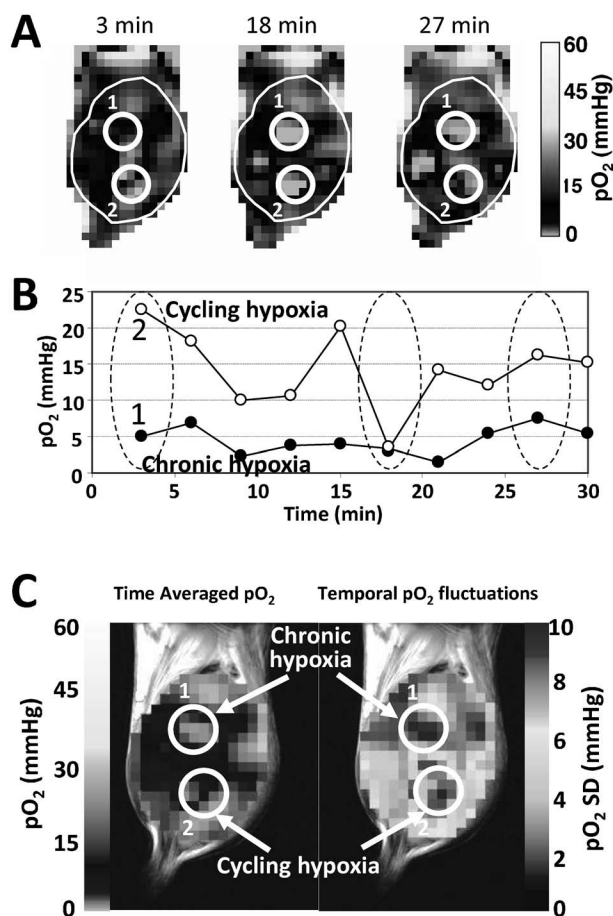


Fig. 2. EPR Oxygen Imaging of Chronic and Cycling Tumor Hypoxia

A) EPRi can provide dynamic and quantitative 3D oxygen maps. B) Time-dependent changes in tumor pO_2 at particular ROIs show two types of hypoxia, a chronic and a cycling hypoxia, which are also known as diffusion-limited hypoxia and acute/intermittent hypoxia, respectively. C) Standard deviation maps of pO_2 over a 30-min time period, which are calculated from pO_2 images obtained dynamically every 3 min, can be used to visualize the locations of chronic and cycling hypoxia.

み、2-3分おきに3Dの定量的酸素イメージを得ることが可能となっている。腫瘍の酸素濃度を経時的に観察することにより、慢性低酸素と間欠性低酸素の領域を区別することができる。^{1,4)} また、EPRiによる酸素イメージは、抗がん剤の治療効果の酸素依存性の評価に有用である (Fig. 3)。酸素イメージを撮像後、抗がん剤を投与する。一定時間経過した後で、酸素イメージに基づいて異なる酸素濃度を持つ腫瘍組織の生検を採取し、*ex vivo* でコロニー形成試験を行うことで、その抗がん剤の酸素依存性を評価できる。⁵⁾

3. 超偏極 ^{13}C 核磁気共鳴画像による代謝イメージング

個々の腫瘍細胞の性質や、周囲の微小環境の違いは代謝変化となって現れる。超偏極 ^{13}C MRI は炭

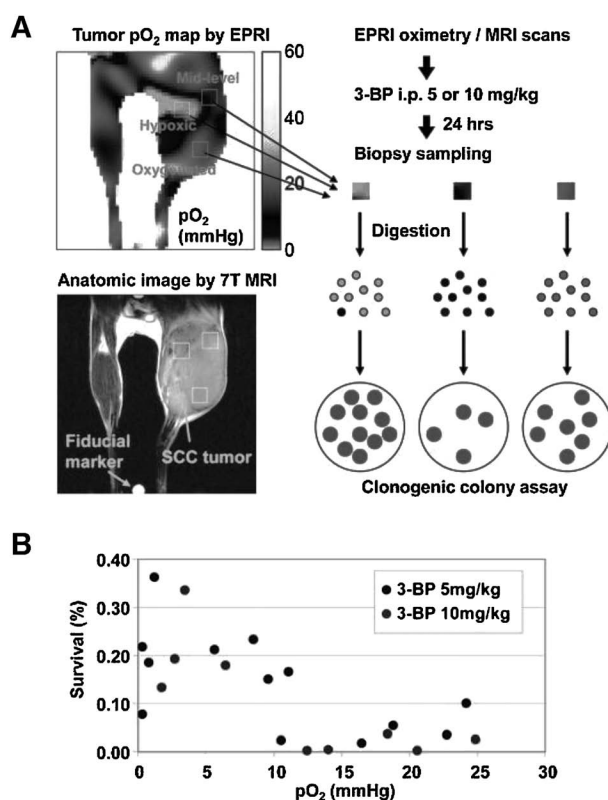


Fig. 3. EPRi Demonstrates the Oxygen-dependency of the Effects of Anti-tumor Drugs

A) Scheme of the combination of EPR oxygen imaging and a clonogenic cell survival assay to evaluate oxygen-dependency of the effects of an anti-tumor drug. B) Tumor pO_2 vs. clonogenic cell survival plot for the glycolytic inhibitor 3-bromopyruvate (3-BP) reveals that the anti-tumor effect of 3-BP is reduced in hypoxic tumor regions.

素 ^{13}C 核の NMR 信号を数万倍に増幅することで、 ^{13}C 標識した任意の化合物の生体内における代謝反応をリアルタイムにイメージングすることが可能な MRI の最新技術である。^{6,7)} 例えば、ピルビン酸は正常組織ではミトコンドリアにおける酸化的リン酸化により主に水と二酸化炭素に代謝されるのに対し、がん組織では主として解糖系により乳酸へと代謝される。ピルビン酸の 1 位の炭素を ^{13}C 標識して、代謝の違いを超偏極 ^{13}C MRI によりリアルタイムに可視化することにより、わずか 3 分の撮像で腫瘍の正確な診断が可能である。この ^{13}C 標識したピルビン酸によるがんの診断は、既に University of California, San Francisco (UCSF) において最初の臨床試験が行われ、その有用性が前立腺患者において実証されている。現在、世界 10 ヶ所ほどの施設で UCSF に続く超偏極 ^{13}C MRI の臨床試験が計画されているが、日本国内においては、筆者が知る限り全臨床レベルにおいても超偏極 ^{13}C MRI 代謝イ

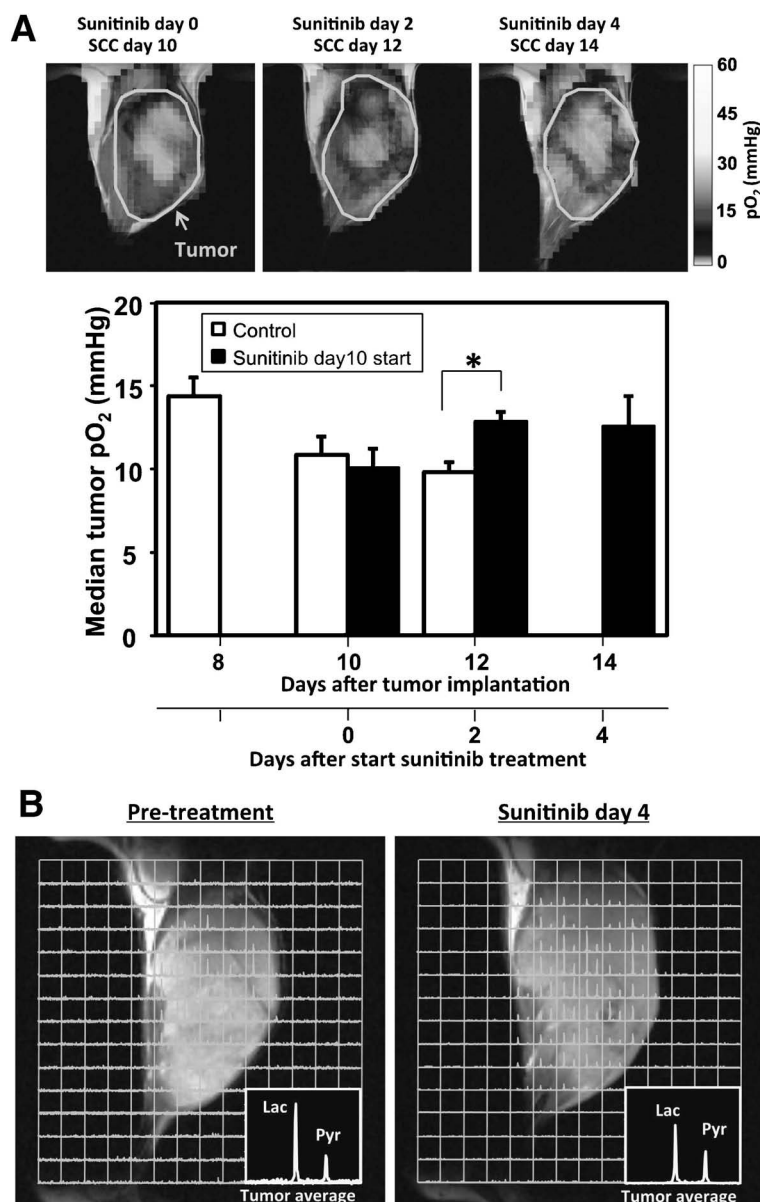


Fig. 4. Tumor Oxygen and Metabolic Changes during Vascular Normalization Window in Anti-angiogenic Therapy

A) EPRI exhibits an increase in tumor oxygenation during the time window of vascular normalization, typically 2–4 d after anti-angiogenic treatment. * $p < 0.05$. B) Hyperpolarized ^{13}C MRI of $[1-^{13}\text{C}]$ pyruvate shows an oxidative shift in energy metabolism during the vascular normalization window.

メーキングに成功した報告はなされていない。

超偏極 ^{13}C MRI による代謝イメージングはがん治療の評価において非常に有用なツールなり得る。Figure 4 では血管新生阻害剤である sunitinib の治療効果が代謝変化として捉えられている。血管新生阻害による血管の減少により腫瘍が“兵糧攻め”される前に、異常な腫瘍血管の機能が一過性に正常化するいわゆる“Vascular Normalization Window”と呼ばれる期間が存在することが知られている。この期間においては、一時的に腫瘍内の血流が増加し、低酸素状態が軽減される結果、腫瘍のピルビン

酸代謝の酸化的シフトが起こり、乳酸産生が低下している。⁸⁾ また腫瘍の放射線治療においては (Fig. 5), 治療開始初期に一過性の乳酸産生の増加がみられた後、治療の継続とともに乳酸の産生速度の減少がみられる。⁹⁾ このように、超偏極 ^{13}C MRI による代謝イメージングでは、解剖画像による腫瘍サイズの変化が観察できるよりもはるかに早い段階で、治療効果を確認することができ、今後のがん治療において大きな役割を果たしていくことが期待される。

4. おわりに

日本はアメリカ合衆国につぐ世界第2位の MRI

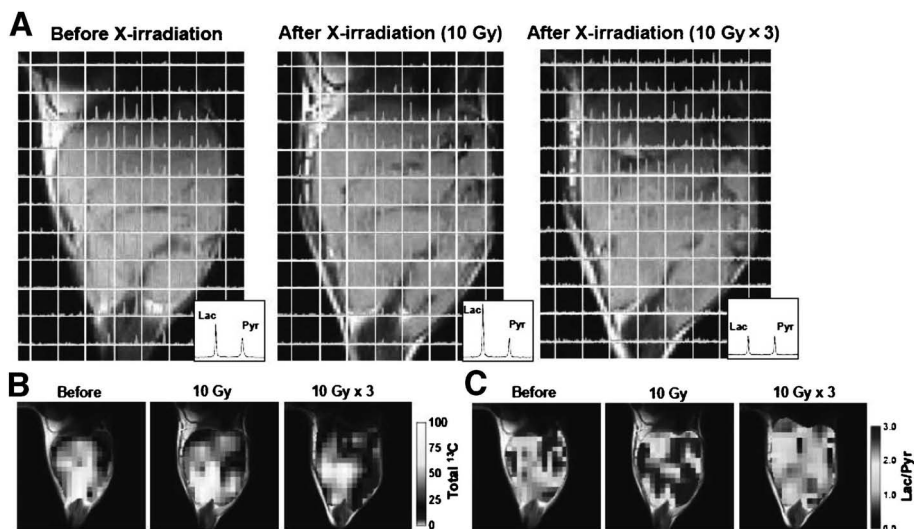


Fig. 5. Effect of Radiation Therapy on Pyruvate Metabolism in Tumor

A) Hyperpolarized ^{13}C MRI of pyruvate metabolism before and after radiation therapy shows a transient increase and a subsequent decrease in lactate production from pyruvate during a course of fractionated X-ray irradiation. B) Total ^{13}C images, which reflect tumor perfusion, do not significantly change during the radiation therapy. C) The lactate-to-pyruvate ratio increases a day after a 10 Gy irradiation and decreases with 3 rounds of 10 Gy irradiation.

保有数を誇る磁気共鳴大国であるにもかかわらず、新技術の開発において他の先進諸国に大きく後塵を拝している。一因として、国内のMRI装置のほとんどは臨床専用機であり、リスクを伴う新技術の開発・試験をいきなりヒトで行うのは困難なため、非効率的であることが挙げられている。今後の画像診断において、日本初の革新的新技術を生み出し、それらを用いて新薬の開発へとつなげていくためには、わが国における前臨床用のMRI施設の充実を図り、前臨床から臨床へと一貫して滞りなく開発できる環境を整えることが重要であると考えられる。

利益相反 開示すべき利益相反はない。

REFERENCES

- 1) Matsumoto S., Yasui H., Mitchell J. B., Krishna M. C., *Cancer Res.*, **70**, 10019–10023 (2010).
- 2) Erickson K., Braun R. D., Yu D., Lanzen J., Wilson D., Brizel D. M., Secomb T. W., Biaglow J. E., Dewhirst M. W., *Cancer Res.*, **63**, 4705–4712 (2003).
- 3) Matsumoto S., Hyodo F., Subramanian S., Devasahayam N., Munasinghe J., Hyodo E., Gadiseti C., Cook J. A., Mitchell J. B., Krishna M. C., *J. Clin. Invest.*, **118**, 1965–1973 (2008).
- 4) Yasui H., Matsumoto S., Devasahayam N., Munasinghe J. P., Choudhuri R., Saito K., Subramanian S., Mitchell J. B., Krishna M. C., *Cancer Res.*, **70**, 6427–6436 (2010).
- 5) Matsumoto S., Saito K., Yasui H., Morris H. D., Munasinghe J. P., Lizak M., Merkle H., Ardenkjaer-Larsen J. H., Choudhuri R., Devasahayam N., Subramanian S., Koretsky A. P., Mitchell J. B., Krishna M. C., *Magn. Reson. Med.*, **69**, 1443–1450 (2013).
- 6) Golman K., Olsson L. E., Axelsson O., Mansson S., Karlsson M., Petersson J. S., *Br. J. Radiol.*, **76** (Suppl. 2), S118–S127 (2003).
- 7) Ardenkjaer-Larsen J. H., Fridlund B., Gram A., Hansson G., Hansson L., Lerche M. H., Servin R., Thaning M., Golman K., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **100**, 10158–10163 (2003).
- 8) Matsumoto S., Saito K., Takakusagi Y., Matsuo M., Munasinghe J. P., Morris H. D., Lizak M. J., Merkle H., Yasukawa K., Devasahayam N., Subramanian S., Mitchell J. B., Krishna M. C., *Antioxid. Redox Signal.*, **21**, 1145–1155 (2014).
- 9) Saito K., Matsumoto S., Takakusagi Y., Matsuo M., Morris H. D., Lizak M. J., Munasinghe J. P., Devasahayam N., Subramanian S., Mitchell J. B., Krishna M. C., *Clin. Cancer Res.*, **21**, 5073–5081 (2015).