



Title	電子常磁性共鳴分光装置の高感度化と固形腫瘍pHイメージングへの応用 [全文の要約]
Author(s)	中岡, 梨々子
Description	この博士論文全文の閲覧方法については、以下のサイトをご参照ください。 https://www.lib.hokudai.ac.jp/dissertations/copy-guides/
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(工学)
Dissertation Number	甲第15075号
Issue Date	2022-03-24
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/85306
Type	doctoral thesis
File Information	Ririko_Nakaoka_summary.pdf



学位論文内容の要約

情報科学専攻 博士（工学） 氏名 中岡 梨々子

電子常磁性共鳴分光装置の高感度化と固形腫瘍 pH イメージングへの応用 Sensitivity enhancement of an electron paramagnetic resonance spectrometer and its application to pH mapping of solid tumors

がん治療の最適化のために、治療効果の早期判定方法が求められている。がん細胞で特異的に発現する炭酸脱水素酵素（CA）IX は pH 調節機能を担っていることから、近年、CAIX の阻害による化学療法が研究されている[1,2]。CAIX 阻害によりがん細胞の pH 調節機能が阻害されると、細胞内 pH が低下し、それに伴い細胞外 pH も変化すると考えられる。従って、CAIX 阻害による腫瘍モデルマウスの細胞外 pH の変化を検出することができれば、CAIX 阻害による治療効果を検出することができる。電子常磁性共鳴分（EPR）法では、腫瘍モデルマウスの細胞外 pH イメージングが可能である[3]。しかし、高精度な *in vivo* イメージングを実現するためには、EPR 分光装置の高感度化が求められる。

本研究では、チューナブル共振器と EPR 受信システムの高感度化により高精度 pH イメージングを実現し、細胞外 pH イメージングを用いて固形腫瘍における CAIX 阻害による治療効果の早期評価の実現可能性を示した。

高感度 pH イメージングの実現における課題は、EPR スペクトルの信号対雑音比（SNR）の最大化であった。EPR スペクトルの SNR を最大化するために、チューナブル共振器と EPR 受信システムの高感度化を行った。細胞外 pH イメージングを用いた CAIX 阻害治療効果の早期評価の実現には、CAIX 阻害によ

る細胞外 pH の変化を検出することが課題であった。腫瘍モデルマウスに CAIX 阻害剤を投与した前後で高精度細胞外 pH イメージングを行い、CAIX 阻害による細胞外 pH の変化を明らかにした。

第2章では、EPRスペクトルの信号強度を最大化するために、750 MHz チューナブル共振器のマイクロ波駆動効率の向上を図った。チューナブル共振器におけるインピーダンス整合に着目し、マイクロ波シュミレータを用いて、これまで明らかにされていない平衡伝送線路の特性インピーダンスと共振回路の高周波磁場発生効率の関係を明らかにした。共振回路の磁場発生効率を最大にする平衡伝送線路の特性インピーダンスと結合キャパシタの最適化を行った結果、先行研究[4]と比較して、高周波磁場発生効率を2.4~2.9倍増加させることに成功した。高い特性インピーダンスの平衡伝送線路を用いることで、得られた EPR スペクトルの信号強度は14%増加したが、同時に雑音が27%増加した。これらの結果から、チューナブル共振器における同軸線路の特性インピーダンスが EPR 信号検出の感度だけでなく、スペクトルのベースラインノイズにも影響することがわかり、チューナブル共振器において発生する雑音の分析とそれを考慮した最適設計の必要性が明らかになった。

第3章では、EPR スペクトルの雑音を減少させるために、750 MHz チューナブル共振器における雑音の分析を行った。これまで明らかにされていないチューナブル共振器における雑音の分析のために、(1)チューナブル共振器で発生する雑音、(2)外部環境からの雑音、(3)磁場変調による雑音、(4)チューナブル共振器を除いた EPR 分光装置の雑音について検証した。その結果、チューナブル共振器における支配的な雑音はチューナブル共振器のマッチング回路に用いているバラクタダイオードで発生している雑音であることが分かった。マッチング回路のバラクタダイオードをトリマコンデンサに置き換えることで、EPR スペ

クトルのベースライン雑音は 1/4.7 に減少し、SNR が 6.1 倍向上した。また、磁場変調コイルの構造を最適化することにより磁場変調による雑音を減少させ、EPR スペクトルの SNR を向上できる可能性が示された。従って、チューナブル共振器において、バラクタダイオードを使用する際はショット雑音について注意が必要であり、チューニング、マッチングの電氣的制御には BST コンデンサなどのショット雑音を持たない可変容量コンデンサを使用することで低雑音化を望める。

第 4 章では、EPR 受信システムの高感度化のために、EPR 分光装置の受信部にマルチハーモニック検波 (MHD) システムを導入した。従来の Lock-in アンプを用いた位相検波ではなく、受信信号を直接 PC で位相検波するデジタル位相検波システムの構築を行った。これまで取得していなかった磁場変調信号の高調波を含めて EPR スペクトルを MHD 再構成することで、EPR スペクトルの SNR 向上を図った。比較的高い磁場変調周波数 (80 kHz 程度) を使用したマルチハーモニック検波システムにおける課題として、高調波の次数が高くなることで生じる高周波ノイズや、高調波の次数が増えることで必要となる多大なメモリ使用がある。約 80 kHz の磁場変調周波数において、磁場変調率と MHD 再構成に含める変調信号の高調波次数の最適化を行った。先行研究[5]では磁場変調率 26 倍において変調信号の高調波を 100 次まで含めた再構成を行っていた。本研究では、磁場変調率 1 倍において高調波を 4 次まで含めた再構成により先行研究と同程度の高感度化を達成した。従来のシステムと比べて、新しく構築した MHD システムにより EPR スペクトルの SNR を 2 倍向上させた。また、pH 感受性プローブを用いた EPR イメージングを行い、従来システムと同様の pH 分解能での水溶液 pH イメージングを実現した。低い磁場変調周波数では、高周波ノイズを避けることができるが、マイクロ波発振器の位相ノイズの影響がある。両

者の影響が少ない磁場変調周波数を検証することにより、さらなる受信システムの高感度化が期待できる。

第5章では、高感度 EPR 分光装置による細胞外 pH イメージングを固形腫瘍の治療効果早期評価モデル実験に適用した。腫瘍モデルマウスの右後肢に作製した固形腫瘍の細胞外 pH イメージングを行い、pH 調節機能を阻害する CA IX 阻害剤 U-104 の投与による細胞外 pH の変化を検出した。U-104 を投与しない Vehicle 群における細胞外 pH の変化を検出し、U-104 投与モデルの細胞外 pH 変化との分析を行った。t 検定を行った結果、U-104 投与群と Vehicle 群どちらにおいても、投与前後の細胞外 pH に有意差があると結論づけることはできなかった。しかし、Vehicle 群に対して U-104 投与群では p 値が大幅に小さく、U-104 投与により pH が下がる傾向にあることがわかった。従って、細胞外 pH の変化がより大きいと予想される pH 調節因子を阻害すれば、EPR 法を用いた細胞外 pH イメージングによる細胞外 pH 変化を検出することができると考えられる。また、本研究では、U-104 投与前後の細胞外 pH の変化と腫瘍成長の遅れを実験的に明らかにしたことにより、細胞外 pH の変化を U-104 による治療効果の早期評価に適用する実現可能性を示した。細胞外 pH 検出による抗がん剤治療効果の早期測定方法を確立することができれば、最適な治療法の選択に役立つ技術となる。本研究で用いた CA IX 阻害剤 U-104 だけでなく、他の抗がん剤や放射線治療など様々な治療法の早期予測に応用できれば、がん研究に大きな技術的進展をもたらすと考えられる。

これを要するに、著者は、EPR 分光装置の高感度化の視点から、750 MHz チューナブル共振器の最適設計法を示すと共に、チューナブル共振器の主要な雑音源を明らかにした。さらに、腫瘍モデルマウスにおいて細胞の pH 調節機能を担うタンパク質を阻害した際の細胞外 pH 応答を可視化し、腫瘍の成長遅延との

関係を明らかにした。これらの成果は、EPR 分光技術を進展させたばかりでなく、細胞外 pH 計測技術が悪性腫瘍の治療効果予測にも貢献できることを示したものである。

- [1] P. C. McDonald, S. Chia, P. L. Bedard, Q. Chu, M. Lyle, L. Tang, M. Singh, Z. Zhang, C. T. Supuran, D. J. Renouf & S. Dedhar, A Phase 1 Study of SLC-0111, a Novel Inhibitor of Carbonic Anhydrase IX, in Patients With Advanced Solid Tumors, *American Journal of Clinical Oncology*, **43**, 484–490 (2020).
- [2] C. T. Supuran, V. Alterio, A. Di Fiore, K. D’Ambrosio, F. Carta, S. M. Monti, G. De Simone, Inhibition of carbonic anhydrase IX targets primary tumors, metastases, and cancer stem cells: Three for the price of one, *Medicinal Research Reviews*, **38**, 1799–1836 (2018).
- [3] D. A. Komarov, Y. Ichikawa, K. Yamamoto, N. J. Stewart, S. Matsumoto, H. Yasui, I. A. Kirilyuk, V. V. Khramtsov, O. Inanami & H. Hirata, In vivo extracellular pH mapping of tumors using electron paramagnetic resonance, *Analytical Chemistry*, **90**, 13938–13945 (2018).
- [4] T. Amida, R. Nakaoka, D. A. Komarov, K. Yamamoto, O. Inanami, S. Matsumoto & H. Hirata, A 750-MHz Electronically Tunable Resonator Using Microstrip Line Couplers for Electron Paramagnetic Resonance Imaging of a Mouse Tumor-Bearing Leg, *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, **65**, 1124–1132 (2018).
- [5] M. Gonet, M. Baranowski, T. Czechowski, M. Kucinska, A. Plewinski, P. Szczepanik, S. Jurga & M. Murias, Multiharmonic electron paramagnetic resonance imaging as an innovative approach for in vivo studies, *Free Radical Biology and Medicine*, **152**, 271–279 (2020).

