DNP-MRI を用いた放射線照射によるフリーラジカルの可視化 [大会長賞記録]

子安 憲一¹, 兵藤 文紀², 山口 尊弘¹, 岩崎 遼太³,
森 崇³, 松尾 政之¹

¹岐阜大学大学院医学系研究科放射線医学分野

²同先端画像開発講座

³同大応用生物科学部共同獣医学科

背景・目的

安全で正確な放射線治療を行うために人体に照射した放射線量や飛跡を可視化することが必要である。これまでに放射線を可視化するために、放射線照射によって生成されるフリーラジカルをニトロキシルラジカルと磁気共鳴法によって検出した報告や、陽子線治療後の照射領域の検証を Positron emission tomography and computed tomography (PET/CT) を用いた報告が行われている^{1),2)}。我々は、ニトロキシルラジカルを高感度に検出し、画像化が可能な Dynamic Nuclear Polarization-MRI (DNP-MRI) (Fig. 1) の研究を推進しており^{3)~7)}、本研究では放射線照射により産生するフリーラジカルを、ニトロキシルラジカルをプローブとして Electron Spin Resonance (ESR) を用いて検出し、DNP-MRI で可視化することを目的とする。

方 法

フリーラジカルの検出剤として 1-Oxyl-2,2,6,6-tetramethyl-4-hydroxypiperidine (Tempol) と Glutathione (GSH) 溶液の混合溶液を作製した。さらに 1% アガロース溶液を添加しガラスキャピラリーとゲルファントムを作製した。このガラスキャピラリーに 5, 10, 15, 20 Gy の X 線照射を行った後、ESR の計測を行った。ゲルファントムには、照射部位と

Fig. 1. (color online) Picture of *in vivo* DNP-MRI system

非照射部位ができるように 20 Gy の X 線照射を行った。X 線照射後、ゲルファントムの DNP-MRI の撮像を行った。

結 果

Tempol と GSH を含む混合溶液は Tempol 由来の 3 本線の ESR スペクトルを得た。また、Tempol ラジカルは GSH 添加のみでは安定であり、ラジカルの消失は認めなかった。一

キーワード DNP-MRI, ESR, hydroxyl radical, glutathione, nitroxide radical

Pre irradiation

Post irradiation

Fig. 2. Electron spin resonance (ESR) spectra of Tempol + GSH before and after irradiation

方、放射線照射後の ESR スペクトルと面積値は照射線量が増加することに低下した (Fig. 2)。また、面積値と照射線量との間に直線性の関係を認めた。1 Gy 当たり低下する ESR の面積値は 1.483 であった。ゲルファントムの X 線非照射部位は DNP 現象を反映した信号増強を認めた。一方、X 線照射部位は DNP 信号の低下を認め、X 線照射部位と非照射部位を明瞭に区別することができた。

考 察

X 線照射線量に依存して観測された ESR の面積値の低下は、X 線照射により発生したヒドロキシルラジカルが、Tempol を酸化し、オキソアンモニウムカチオンが生成され、このオキソアンモニウムカチオンが GSH によって 2 電子還元され、ラジカルを消失することにより低下したものと考えられる。DNP-MRI 画像ではこの現象を反映した照射部位の信号低下が起きていると考えられる。X 線照射によるフリーラジカルの減少量を DNP-MRI を用いて二次元的に評価することが可能だと考えられる。

結 論

X 線照射により発生するフリーラジカルを、ESR と DNP-MRI を用いてニトロキシルラジカルを検出することにより定量化し、可視化することが可能であることが示唆された。

文 献

- 1) Matsumoto K, Nagata K, Yamamoto H, Endo K, Anzai K, Aoki I : Visualization of free radical reactions in an aqueous sample irradiated by 290 MeV carbon beam. *Magn Reson Med* 2009 ; 61 : 1033-1039
- 2) Parodi K, Paganetti H, Shih HA, et al. : Patient study of in vivo verification of beam delivery and range, using positron emission tomography and computed tomography imaging after proton therapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2007 ; 68 : 920-934
- 3) Hyodo F, Naganuma T, Eto H, Murata M, Utsumi H, Matsuo M : In vivo melanoma imaging based on dynamic nuclear polarization enhancement in melanin pigment of living mice using in vivo dynamic nuclear polarization magnetic resonance imaging. *Free Radic Biol Med* 2019 ; 134 : 99-105
- 4) Hyodo F, Ito S, Yasukawa K, Kobayashi R, Utsumi H : Simultaneous and spectroscopic redox molecular imaging of multiple free radical intermediates using dynamic nuclear polarization-magnetic resonance imaging. *Anal Chem* 2014 ; 86 : 7234-7238
- 5) Shoda S, Hyodo F, Tachibana Y, Kiniwa M, Naganuma T, Eto H, Koyasu N, Murata M, Matsuo M : Imaging of Hydroxyl-radical generation using dynamic nuclear polarization-magnetic resonance imaging and a Spin-trapping agent. *Anal Chem* 2020 ; 92 : 14408-14414
- 6) Eto H, Hyodo F, Kosem N, Kobayashi R, Yasukawa K, Nakao M, Kiniwa M, Utsumi H : Redox imaging of skeletal muscle using in vivo DNP-MRI and its application to an animal model of local inflammation. *Free Radic Biol Med* 2015 ; 89 : 1097-1104

- 7) Nakata R, Hyodo F, Murata M, et al. : In vivo redox metabolic imaging of mitochondria assesses disease progression in non-alcoholic steatohepatitis. *Sci Rep* 2017 ; 7 : 17170

Visualization of Free Radical Generation Induced by Irradiation Using Dynamic Nuclear Polarization-MRI [Presidential Award Proceedings]

Norikazu KOYASU¹, Fuminori HYODO², Takahiro YAMAGUCHI¹,
Ryota IWASAKI³, Takashi MORI³, Masayuki MATSUO¹

¹*Department of Radiology, Graduate School of Medicine, Gifu University 1-1, Yanagido, Gifu-shi, Gifu 501-1194*

²*Department of Radiology Frontier Science for imaging, Graduate School of Medicine, Gifu University*

³*Department of Veterinary Medicine, Faculty of Applied Biological Sciences, Gifu University*

The purpose of this study was to detect free radical generation induced by X-ray irradiation using dynamic nuclear polarization (DNP)-MRI. The Electron Spin Resonance (ESR) signal intensity of the capillary, including that of Tempol and glutathione (GSH), decreased after X-ray radiation therapy. The reduction in the Tempol radical was dependent on the irradiation dose. The gel phantom, including Tempol, GSH, and 1% agarose, were clearly visualized radiation dose and trajectory using DNP-MRI. These results suggest that the DNP-MRI/Tempol gel method might be a useful technique for the visualization of X-ray irradiation.