

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 5 月 30 日現在

機関番号：34413

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K09912

研究課題名(和文)ニューロン-グリア-血管連関に基づく多発性硬化症の多変量PET解析基盤構築研究

研究課題名(英文)Basic research for multifaceted PET analysis of multiple sclerosis based on the neuronal-gliial-blood vessel linkage

研究代表者

天満 敬 (TEMMA, TAKASHI)

大阪薬科大学・薬学部・教授

研究者番号：90378787

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、原因不明の難病である多発性硬化症(MS)の病態を多角的に解析するためのPET解析基盤を構築することを目的とした。脳内乳酸および脳内炎症を解析するためのL-[3-11C]lactate、18F-PBR111の合成法を確立し、小動物を用いたPET解析を可能とした。実験的自己免疫性脳脊髄炎(EAE)マウスの脳エネルギー代謝解析のため、マウスに適用可能な150ガス自発吸入による脳酸素代謝評価法を開発した。さらに、EAEマウスを用いたPET/MRI解析を行いMS白質病変を高感度に検出可能な18F-PQ6を見出した。

研究成果の概要(英文)：This is a research aimed at obtaining a footing in multifaceted PET analysis of multiple sclerosis(MS) which is an intractable disease of uncertain etiology. We established a synthesis method of L-[3-11C]lactate and 18F-PBR111 for analyzing the brain lactate and inflammation, which enabled PET analysis in small animals. Also, for the brain energy metabolism analysis of experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) mouse, we developed an 150-PET method for in vivo measurement of cerebral oxygen metabolism which is applicable to mice with spontaneous respiration of 150-gas. Furthermore, we found by PET/MRI analysis in EAE mice that 18F-PQ6 is able to detect white matter lesions with high sensitivity.

研究分野：放射性薬品化学・分子イメージング学

キーワード：多発性硬化症 PET 脳エネルギー代謝

## 1. 研究開始当初の背景

多発性硬化症 (Multiple Sclerosis; MS) は脳、脊髄などに病変を生じる中枢性脱髄疾患の一つであり、わが国では近年罹患率の増加が認められ、特定疾患に指定される難病である。病変が中枢神経系のあちこちに生じる空間的な多発性と、症状が寛解と再発を繰り返す時間的な多発性、さらに、白質病変が癒痕化し硬化する病理的特徴を併せてその名がある。MS は自己免疫性の病態が関与しているとされ、また、最近では食の欧米化に伴う腸内細菌叢の変化と病態との関わりが示唆されているが、明確な原因は未だ不明である。

MS の診断には臨床医による神経学的スコア評価に加えて、白質病変の検出を目的とした磁気共鳴画像法 (MRI) が用いられている。具体的には、Gd 造影剤を用いた T1 強調 MRI および脳脊髄液信号を抑制する FLAIR MRI であり、これらは何れも有用な MS 診断法であるが、MS における白質病変という器質的变化を捉えるにとどまっておらず、MS の病態メカニズムを機能的な観点から捉えるには至っていない。ポジトロン断層撮像法 (PET) を用いる核医学診断法は、対象とする生体内機能分子あるいは微小環境の機能変化を体外から非侵襲的に捉えることのできる優れた質的診断法であるが、MS を対象とした PET 解析はこれまでにほとんど行われていない。そこで研究代表者らは、PET を用いて MS 病態を構成する脳機能の変化を多面的かつ定量的に捉えることが出来れば、MS の発症分子メカニズムの解明のみならず、新たな臨床診断法あるいは治療法の開発にも貢献し得るとの着想を得た。

すなわち、本研究は PET/MRI を用いた多面的インビボイメージングの手法による MS の本態解析を目的とする。具体的には、白質病変を標的とした PET 用分子プローブの開発と、MS モデル動物における脳機能の PET/MRI 多因子解析を行う。PET 脳機能解析の対象とするパラメータは、根幹的な脳機能パラメータである血流量・酸素代謝・グルコース代謝に加え、グリアマーカーとしての酢酸代謝、近年ニューロン-グリアの機能連関において多様かつ重要な活性が明らかとなってきた乳酸代謝、さらには、多くの脳疾患への関与が指摘されつつある脳炎症、である。さらに同一個体において 7T MRI を用いた各種 MRI 撮像を行うことで、MS 病態を構成する脳機能因子の変化を空間的・時間的に多面的かつ定量的に捉える。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、原因不明の難病である多発性硬化症 (MS) を対象に、重要な脳エネルギー基質であるグルコース・酸素・乳酸・酢酸の PET 代謝解析を行うことにより、ニューロン-グリア-血管連関の四次元変化をエネルギー代謝を基軸として定量的に捉え、MS 病態理解のための PET 解析基盤を構築

することにある。また、保有する脳疾患プローブライブラリのインビボスクリーニングにより MS 標的 PET プローブを効率的に開発し、これらを併せることで、MS 発症分子メカニズムの解明のみならず、MS の早期診断・予後予測・治療効果予測法の開発など新たな MS 臨床診断法の開発に貢献する。

## 3. 研究の方法

### (1) 各種 PET プローブの合成法検討

#### L-[3-<sup>11</sup>C]Lactate

既報に従い D,L-[3-<sup>11</sup>C]alanine を合成した後、酵素混合液と 45°C で 5 分間反応することにより L-[3-<sup>11</sup>C]lactate の合成を試みた。

#### <sup>18</sup>F-PBR111

合成中の被ばく低減のため、<sup>18</sup>F-FLT 自動合成シーケンスをもとに <sup>18</sup>F-PBR111 自動合成シーケンスの構築を試みた。

### (2) マウス脳酸素代謝評価法の構築

MS モデル動物としては実験的自己免疫性脳脊髄炎 (EAE) モデルマウスが有効であるが、これまでにマウスに適用可能な PET 脳酸素代謝評価法は報告されていない。そこで、マウスに適用可能で、非侵襲的かつ同一個体での長期追跡を可能とする脳酸素代謝評価法の開発を行った。

### (3) L-[3-<sup>11</sup>C]Lactate を用いた PET 法の開発

これまでに L-[3-<sup>11</sup>C]lactate を用いた脳 PET 解析は報告されていない。血中代謝物分析を伴う PET 実験を行うにはマウスは不適であることから、ラットを用いたインビボ PET 解析検討を行った。また、ラットへの L-[3-<sup>11</sup>C]lactate 尾静脈内投与後の血中化学形変化を HPLC 法を用いて調べた。

### (4) MS 標的 PET プローブの開発

MS は脳、脊髄の白質が硬く癒痕化する病理的特徴を有している。そこで保有する脳疾患プローブライブラリの中から脳内正常白質への高い集積性を有する <sup>18</sup>F-PQ6 に着目し、これを用いた MS 病態の PET/MRI 解析を試みた。MS 動物には EAE マウスを用い、7T MRI による磁化移動率 (MTR) 撮像および <sup>18</sup>F-PQ6 を用いた micro PET 撮像を連続的に施行した。

## 4. 研究成果

### (1) 各種 PET プローブの合成法検討

#### L-[3-<sup>11</sup>C]Lactate

酵素混合液の組成について、既報の alanine transaminase を安定性の高い alanine racemase に変更し合成を行った。その結果、所要時間 50 分、放射化学的収率 13.4%、放射化学的純度 95%以上、光学純度 99%以上で L-[3-<sup>11</sup>C]lactate を得た。

#### <sup>18</sup>F-PBR111

<sup>18</sup>F-FLT 自動合成シーケンスを基に <sup>18</sup>F-PBR111 自動合成シーケンスの構築を行い、さらに、HPLC 精製ユニットの後に固相抽出ユニットを導入することにより、高い放射化学的純度で合成可能な手法を構築した。

#### (2)マウス脳酸素代謝評価法の構築

<sup>15</sup>O 標識ガスと空気および酸素ガスとの混合ガスをマウスに自発吸入させながら同時に PET 撮像できる <sup>15</sup>O-PET システムを構築し、脳循環代謝障害モデルマウスを用いてその有効性を調べた。すなわち、両側総頸動脈狭窄マウスを用いて術後経時的に本システムを用いた PET を施行し、術後 28 日までの脳循環代謝パラメータの変化を調べた。その結果、術後早期の脳血流量低下と酸素摂取率上昇、および、術後後期にかけての緩やかな酸素代謝率低下を認めた。以上より、本システムを用いた <sup>15</sup>O-PET はマウスにも適用可能であることが示された。

#### (3)L-[3-<sup>11</sup>C]Lactate を用いた PET 法の開発

L-[3-<sup>11</sup>C]Lactate の尾静脈内投与後、血中放射能は速やかに消失し、投与 10 分後における血中放射能は約 10%が未変化体であり、主要代謝物は糖新生により生成したと考えられる [<sup>11</sup>C]glucose であった。投与 60 分後における血中放射能は 13%が [<sup>11</sup>C]CO<sub>2</sub> であった。L-[3-<sup>11</sup>C]Lactate 投与後早期の PET データを用いて血液画分を考慮したコンパートメント解析を実施したところ、絶食条件下において乳酸が脳に積極的に取り込まれる可能性が示された。

#### (4)MS 標的 PET プローブの開発

PET 画像と MRI 画像の位置合わせを行った後、MRI 画像にて関心領域を設定し、延髄、脊髄領域の MTR 値と放射能集積 (SUV) を調べた。その結果、EAE マウスは対照マウスに比べ同等の MTR 値を示した一方で有意な SUV の低下を認めた。以上より <sup>18</sup>F-PQ6 は高感度な MS 白質病変プローブとなり得る可能性が示された。

### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

#### [雑誌論文](計 2 件)

Kondo N, Temma T, Aita K, Shimochi S, Koshino K, Senda M, Iida H. Development of matrix metalloproteinase-targeted probes for lung inflammation detection with positron emission tomography. *Sci Rep*. 8(1):1347(2018) doi: 10.1038/s41598-018-19890-1. 査読有 Temma T, Yamazaki M, Miyahara J, Shirakawa H, Kondo N, Koshino K, Kaneko K, Iida H. Sequential PET

estimation of cerebral oxygen metabolism with spontaneous respiration of <sup>15</sup>O-gas in mice with bilateral common carotid artery stenosis. *J Cereb Blood Flow Metab*. 37(10):3334-3343(2017) doi: 10.1177/0271678X17692815. 査読有

#### [学会発表](計 8 件)

Temma T, Kawashima H, Kondo N, Yamazaki M, Koshino K, Iida H. Noninvasive metabolic analysis in rat brains using L-[3-<sup>11</sup>C]lactate with Positron Emission Tomography. 12<sup>th</sup> Congress of the World Federation of Nuclear Medicine and Biology. 2018 天満 敬, 河嶋秀和, 近藤直哉, 山崎 真, 越野一博, 飯田秀博, L-[3-<sup>11</sup>C]Lactate PET による乳酸のインビボ脳内動態解析, 第 60 回日本脳循環代謝学会学術集会, 2017 年 近藤直哉, 天満 敬, 相田一樹, 下地佐恵香, 越野一博, 千田道雄, 飯田秀博, 慢性閉塞性肺疾患のインビボ病態分析のための MMP 標的核医学分子イメージングプローブの開発, 第 15 回次世代を担う若手のためのフィジカル・ファーマフォーラム, 2017 年 天満 敬, 河嶋秀和, 近藤直哉, 山崎 真, 越野一博, 飯田秀博, 乳酸の脳内動態解析を目的とした L-[3-<sup>11</sup>C]lactate の合成とインビボ PET 画像解析, 日本薬学会第 137 年会, 2017 年 天満 敬, 圓見純一郎, 平瀬 僚, 白川久志, 吉村優志, 小野正博, 金子周司, 佐治英郎, 飯田秀博, 新規白質プローブ <sup>18</sup>F-PQ6 を用いた多発性硬化症モデルマウスのインビボ PET/MRI 病態解析, 第 56 回日本核医学会学術総会, 2016 年 Temma T, Yamazaki M, Miyahara J, Shirakawa H, Kondo N, Koshino K, Kaneko S, Iida H. PET CMRO<sub>2</sub> measurement in cerebrovascular disease mice with spontaneous respiration of <sup>15</sup>O-gas. Society of Nuclear Medicine and Molecular Imaging 63<sup>rd</sup> Annual Meeting. 2016 天満 敬, 山崎 真, 宮之原遵, 白川久志, 近藤直哉, 越野一博, 金子周司, 飯田秀博, マウスに適用可能な自発吸入 <sup>15</sup>O-gas PET 法の開発と脳循環疾患マウスを用いた有効性評価, 日本薬学会第 136 年会, 2016 年 天満 敬, 山崎 真, 宮之原遵, 白川久志, 國見昌子, 楯 昌司, 近藤直哉, 越野一博, 金子周司, 飯田秀博, <sup>15</sup>O 標識ガス自発吸入 PET 法による両側総頸動脈狭窄マウスの脳循環代謝評価検討, 第 27 回日本脳循環代謝学会学術集会, 2015 年

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等

なし

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

天満 敬 (TEMMA TAKASHI)

大阪薬科大学・薬学部・教授

研究者番号：90378787

### (2)研究分担者

飯田 秀博 (IIDA HIDEHIRO)

国立研究開発法人国立循環器病研究セン

ター・病院・非常勤研究員

研究者番号：30322720

小野 正博 (ONO MASAHIRO)

京都大学・薬学研究科・教授

研究者番号：80336180

### (3)連携研究者

圓見 純一郎 (ENMI JUNICHIRO)

大阪大学・生命機能研究科・特任講師(常

勤)

研究者番号：80393205

### (4)研究協力者

近藤 直哉 (KONDO NAOYA)

大阪薬科大学・薬学部・助教

研究者番号：80756172