

平成 30 年 5 月 28 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K19787

研究課題名(和文) Alzheimer病の発症過程におけるアストロサイトのPETイメージング

研究課題名(英文) PET imaging of astrocytes during the development of Alzheimer's disease

研究代表者

渡部 直史 (Watabe, Tadashi)

大阪大学・医学系研究科・助教

研究者番号：90648932

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：APP遺伝子knock-inによるアルツハイマー病モデルで当初は実験を行っていたが、期待していた早期からのアミロイドの沈着が得られなかった。そこで、アストロサイト障害モデルによる脳循環代謝計測を行った。ラットのフルオロクエン酸(FC)脳内注入モデルを用いて、O-15ガスによる脳循環代謝測定、ならびにC-14 Acetateオートラジオグラフィ(AR)を行い、アストロサイトの代謝評価を行った。その結果、FC注入によるアストロサイトの代謝障害時においても局所脳血流量ならびに脳酸素消費量は維持されていることが明らかになった。

研究成果の概要(英文)：Fluorocitrate (FC) is a metabolic inhibitor of tricarboxylic acid (TCA) cycle specifically in astrocyte and acetate uptake is a marker of astrocytic TCA cycle activity in brain. Oxygen-15 (15O) PET is the reference standard for quantitative assessment of cerebral blood flow (CBF) and cerebral metabolic rate of oxygen (CMRO2). The primary purpose of this study was to evaluate whether the inhibition of astrocytic TCA cycle metabolism by FC will affect the oxygen metabolism in the rat brain. There were no significant differences between the ipsilateral and contralateral striatum in each parameter using the 15O-gas PET. In 14C-acetate autoradiography results, there is significant inhibition in the astrocyte metabolism after FC injection in the ipsilateral striatum. Regional cerebral oxygen consumption as well as hemodynamic parameters was maintained against the inhibition of astrocytic TCA cycle metabolism in the rat brain.

研究分野：PET分子イメージング

キーワード：アストロサイト PET

1. 研究開始当初の背景

Alzheimer 病(AD)は代表的な認知症の原因疾患であり、年々増加傾向にあるが、早期発見の手段や根本的な治療法は確立されていない。AD 発症の過程においては、脳内にアミロイド β (以下、アミロイド)が沈着するが、この段階では多くの方が無症状あるいは軽度認知機能障害(MCI)の段階であり、最終的にタウ蛋白の沈着による神経原線維変化を来し、AD を発症するとされている。

Positron Emission Tomography(PET)は非侵襲的な脳イメージング手法として注目されており、 ^{11}C -PIB(Pittsburgh compound B)などを用いた PET により、脳へのアミロイド沈着が診断可能となっている。しかし、アミロイド PET を用いても、健常高齢者や MCI とのオーバーラップが大きく、また他の認知症との鑑別や AD の発症や進行を予測することは困難である。そこで、アミロイド沈着過程におけるグリア細胞の変化に注目が集まっている。

グリア細胞のイメージングとして

TSPO(translocator protein)をターゲットにした PET イメージングがこれまで行われてきた。TSPO は活性化したグリア細胞での発現が増加することが知られており、神経炎症のマーカーとして用いられる。

一方、Acetate(酢酸)はアストロサイトの特異的基質として、 ^{11}C あるいは ^{14}C 標識体が脳研究に用いられてきた。ブドウ糖標識体の ^{18}F -FDG PET がニューロンとアストロサイトの両者への取り込みを評価するのに対して、 ^{11}C -Acetate PET ではアストロサイトの代謝のみを評価することができる。しかしながら、Acetate を用いた研究報告は限られており、アストロサイト障害時に脳循環代謝がどう変化するかはこれまで十分に評価されていない。

2. 研究の目的

(1) アミロイド β 沈着の過程でアストロサイトやミクログリアなどのグリア細胞の活性化がどのように生じるかについて、AD モデルを用いた PET イメージングにより明らかにする。

(2) アストロサイトの代謝障害モデルを用いて、 ^{15}O -gas PET による定量評価を行うことで、Acetate の取り込みと脳血流・脳酸素消費量の関係を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) AD マウスにおけるアミロイド β の沈着とグリア細胞の活性化

Amyloid precursor protein 遺伝子改変マウス(APP-Tg マウス)を用いて、同一個体での経時的変化の評価を行う。以下の4群に対して、C-11 PIB-PET(アミロイドの蓄積を評価)、F-18 DPA714-PET(グリア細胞の活性化を評価)を3ヶ月おきに同一個体で繰り返し実施した(各群 n=3)。

1) APP-KI(HF) : AD モデル、高脂肪食
2) APP-KI(ND) : AD モデル、普通食
3) WT(HF) : 野生型、高脂肪食
4) WT(ND) : 野生型、普通食
定量画像解析:高機能画像解析ソフト PMOD(Version 3.4) を用いて、画像解析を行った。SUV 値(Standardized uptake value)、対小脳 SUV 比、脳領域毎の集積の違いを比較した。

(2) アストロサイト障害モデルにおける脳循環代謝の評価

Wistar ラット (体重: 198 \pm 20g, n=9) を用いて、Fluorocitrate (FC) の片側線条体への脳内定位注入を行った。0.33nmol/ μL (低用量、n=3) と 1.0nmol / μL (高用量、n=6) の2群で実施した。同じ容量の生理食塩水溶液を対側線条体に注入し、コントロールとした。

脳内 FC 注入4時間後、 ^{15}O 標識ガス PET を実施し、脳血流量(CBF)、脳酸素消費量(CMRO₂)、脳酸素摂取率(OEF)、および脳血液量(CBV)の定量測定を行った。

PET スキャンの後(FC 注射の約6時間後)、 ^{14}C 標識 Acetate を静脈内投与し、5分後にラットを安楽死させて、脳を摘出し、クライオスタットを用いて脳切片を作成し、オートラジオグラフィを行った。

定量画像作成ソフト OPM および PMOD3.6 ソフトウェアを用いて、FC 注入側とコントロール側における CBF、CMRO₂、OEF および CBV の定量値を比較した。オートラジオグラフィ画像については、コントロール - 病変比について Image J ソフトウェアを用いて解析を行った。

尚、本研究は全て大阪大学動物実験施設倫理委員会の承認の下で、関係法令やガイドラインを遵守し、大阪大学大学院医学系研究科附属未来医療イメージングセンターにおいて実施された。

4. 研究成果

(1) PIB-PET では、月齢21ヶ月の時点でも APP-KI マウスにアミロイドの有意な蓄積を認めず、TSPO-PET での指標では、海馬において APP-KI(HF) > APP-KI(ND) > WT(HF) > WT(ND) の順で軽度のグリア細胞の活性化を示唆する結果が得られた。すなわち APP 遺伝子ならびに高脂肪食負荷によって神経炎症が起こりやすい可能性が示唆された。

しかしながら、21ヶ月齢の病理組織像(アミロイド染色)においても明瞭なアミロイド沈着が確認できず、アミロイド沈着過程のグリア細胞の変化を捉えることはできなかった(図1・2)。

今回の結果からは高脂肪食負荷が神経炎症を増悪させる傾向にあること、APP-KI マウスでは野生型に比べて、アミロイド β 沈着前であっても、グリア細胞が軽度活性化状態にある可能性が示唆された。

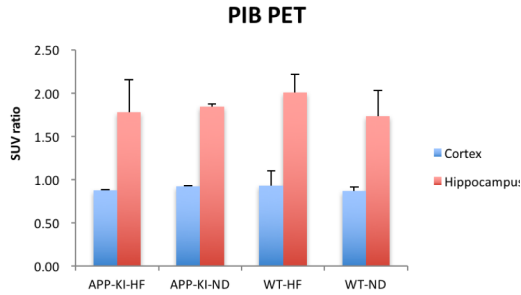


図1. アミロイドPETによる4群の比較

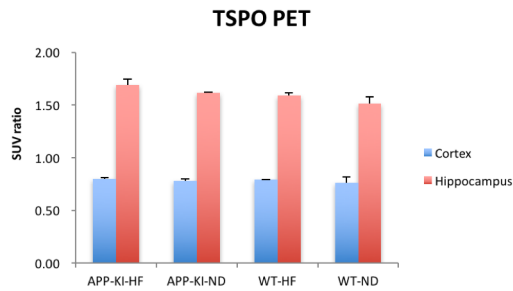


図2. ¹⁸F-DPA-714 PETによる4群の比較

(2) ¹⁵O-ガス PET を用いた各パラメータにおける同側および対側線条体間に有意差はなかった。高線量群の結果は次のとおりである：[FC注入側 vs 対側]：CBF (54.4±8.8 vs 55.3±11.6 mL/100mL/min)、CMRO₂ (7.0±0.9 vs 7.1±1.2 mL/100mL/min)、OEF (72.0±8.9 vs 70.8±8.2%) およびCBV (4.1±0.8 vs 4.2±0.9 mL/100mL) (図3、4)。¹⁴C-Acetate オートラジオグラフィの結果では、同側線条体へのFC注入後のアストロサイト代謝の有意な阻害を認めた(図5)。低用量および高用量の acetate 集積の減少率は、それぞれ 17.5±2.0%および 38.6±7.2%であった。

ラットの脳におけるアストロサイトのTCAサイクル代謝の阻害に対して、局所的な脳酸素消費量および血行動態パラメータは維持されていた。アストロサイトの代謝障害に伴うグルタミン酸の増加により、脳内ニューロンが活性化状態となり、ブドウ糖取り込みが増加することが報告されている(引用文献1, 2)。すなわちアストロサイトでの酸素消費量の低下に対して、ニューロンの酸素代謝増加が生じ、トータルの結果として¹⁵OガスPETによる定量値としての酸素消費量に有意な影響が出なかったものと推察された。

<引用文献>

- 1) Hirose S, et al. Neurosci Lett, 2007
- 2) Ridrfguez Diaz, et al. Glia, 2005

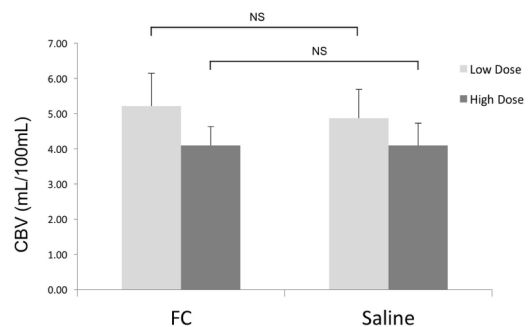
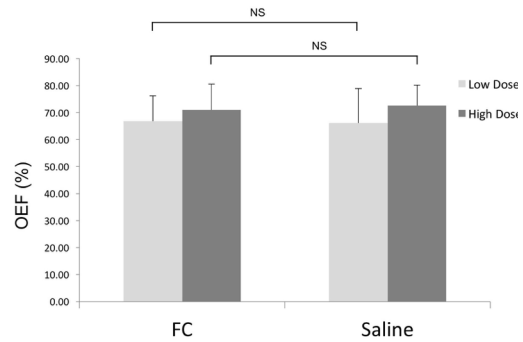
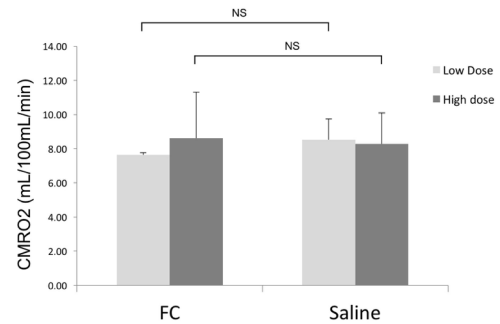
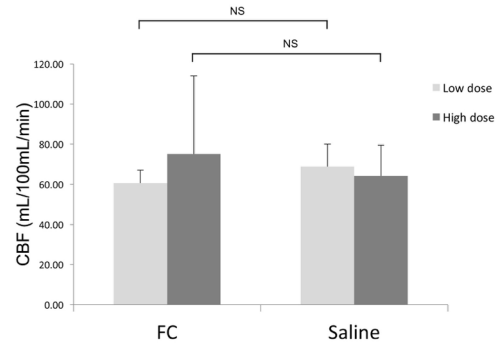


図3. ¹⁵OガスPETにおける脳循環代謝定量値(CBF、CMRO₂、OEF、CBV)の比較

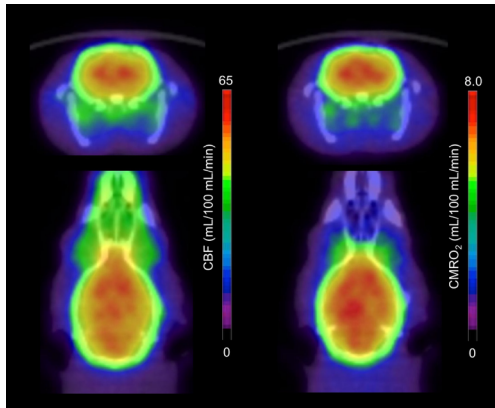


図4. PET画像 (脳血流・脳酸素消費量)

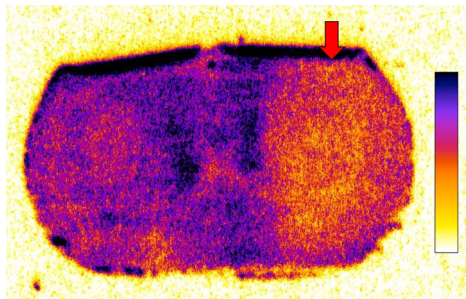


図5. ¹⁴C-Acetate オートラジオグラフィ画像

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 0 件)
(投稿準備中)

[学会発表] (計 4 件)
(国際学会)

- ① Carla Mari Macaïsa; Tadashi Watabe; Yuwei Liu; Victor Romanov; Yasukazu Kanai; Genki Horitsugi; Hiroki Kato; Eku Shimosegawa; Jun Hatazawa, Preserved Cerebral Oxygen Metabolism against Astrocytic Dysfunction: A Combination Study of 0-15 Gas PET with C-14 Acetate Autoradiography, The Society of Nuclear Medicine and Molecular Imaging 2018 Annual Meeting (SNMMI 2018). June 23-26, 2018, Philadelphia, U.S.A.
(International Best Abstract Award 受賞研究)

(国内学会・研究会)

- ① Tadashi Watabe; Carla Mari Macaïsa; Yuwei Liu; Victor Romanov; Yasukazu Kanai; Genki Horitsugi; Hiroki Kato;

Ekū Shimosegawa; Jun Hatazawa, Preserved cerebral oxygen metabolism against astrocytic dysfunction: a combination study of ¹⁵O-gas PET with ¹⁴C-acetate autoradiography, 日本分子イメージング学会第13回学術総会、2018年5月、東京

- ② Tadashi Watabe; Carla Mari Macaïsa; Yuwei Liu; Victor Romanov; Yasukazu Kanai; Genki Horitsugi; Hiroki Kato; Eku Shimosegawa; Jun Hatazawa, Preserved cerebral oxygen metabolism against astrocytic dysfunction: a combination study of ¹⁵O-gas PET with ¹⁴C-acetate autoradiography, 第13回小動物インビボイメージング研究会、2018年7月、長崎
- ③ Tadashi Watabe; Carla Mari Macaïsa; Yuwei Liu; Victor Romanov; Yasukazu Kanai; Genki Horitsugi; Hiroki Kato; Eku Shimosegawa; Jun Hatazawa, Preserved cerebral oxygen metabolism against astrocytic dysfunction: 0-15 gas PET study, 第58回日本核医学会学術総会、2018年11月、沖縄

[図書] (計 2 件)

- ① 渡部直史:【特集:老化とアルツハイマー型認知症】アルツハイマー病におけるグリア細胞のPETイメージング、BIO Clinica 2017年7月臨時増刊号
- ② 渡部直史:【特集:脳タンパク質老化と認知症制御】アルツハイマー病におけるグリア細胞のPETイメージング、月刊「細胞」2018年5月臨時増刊号

[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

(大阪大学大学院医学系研究科核医学)

[http://www.med.osaka-](http://www.med.osaka-u.ac.jp/pub/tracer/index-jp.htm)

[u.ac.jp/pub/tracer/index-jp.htm](http://www.med.osaka-u.ac.jp/pub/tracer/index-jp.htm)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

渡部 直史 (WATABE, Tadashi)

大阪大学大学院医学系研究科・助教

研究者番号: 90648932