

令和 6 年 6 月 1 日現在

機関番号：32624

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2023

課題番号：18K07731

研究課題名（和文）脳エネルギー代謝を指標とした多発性硬化症PET診断の可能性の検証研究

研究課題名（英文）Preclinical study on brain metabolism as a marker for PET imaging for multiple sclerosis

研究代表者

宿里 充穂（Shukuri, Miho）

昭和薬科大学・薬学部・講師

研究者番号：20525571

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：多発性硬化症（MS）における酢酸PETの診断的価値について基礎研究を行った。単相型MSモデルでは、酢酸の脳集積がアストロサイトのマーカーとして神経症状を反映する指標として有用である可能性を示した。さらに、単相型と再発寛解型とでは、脳内酢酸集積の増加の程度に差があったことから、進行型の違いを反映するバイオマーカーとしても期待し得ると考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

多発性硬化症は再発・寛解を繰り返した後に、さらに重篤な症状を示す進行型の経過へと転じることが多いことから、早期診断と継続的な病巣のモニタリングが重要となる。MSを確定するバイオマーカーは未だに確立されていない中で、<sup>11</sup>C-AcetateによるPET診断がMSの鑑別に期待されている。本研究では、実験モデル系において、アストロサイトのイメージング指標として酢酸の脳内集積が神経症状と関連してどのように変化するかを明らかにした。本研究により得られた知見は、MS診断技術および病態研究の礎として活かされるものである。

研究成果の概要（英文）：To clarify the diagnostic value of PET with <sup>11</sup>C-Acetate in multiple sclerosis (MS), we conducted experiments using model animals. In a shortest EAE model, we demonstrated that brain accumulation of radiolabeled acetic acid may be valuable as a marker of astrocytes which is well correlated to neurological symptoms. Furthermore, since there was a difference in the increased level of accumulated radioactivity in the brain between the shortest EAE model and the relapsing-remitting EAE model, it may be expected as a biomarker to reflect the difference in the progressive type.

研究分野：分子イメージング、核医学

キーワード：多発性硬化症 酢酸代謝 グリア細胞 アストロサイト イメージング

## 様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

中枢神経系の慢性炎症性脱髄疾患である多発性硬化症 multiple sclerosis (MS) は時間的・空間的に脳や脊髄において病変が多発することが特徴で、再発・寛解を繰り返した後に、さらに重篤な症状を示す進行型の経過へと転じることが多いことから、早期診断と継続的な病巣のモニタリングが重要となる。脱髄病変の時間的多発性および空間的多発性を証明するには画像診断が活用されており、MS の国際的な診断基準である McDonald の診断基準 (2010 年改訂) に MRI 検査が採用されている。一方で、MS を確定するバイオマーカーは未だに確立されておらず、適切な治療方針の決定のためには、その他の疾患の可能性を除外し、鑑別診断を行うことが重要であるとされている。

近年、病態メカニズムに関連する様々なバイオマーカーの描出を可能にする陽電子放射断層撮影法 (PET) が、MS 診断領域においても病態を反映した質的診断の技術として期待されている (Faria Dde P et al. *J Neuroimmune Pharmacol* 9, 468–482, 2014.)。MS における脱髄病巣の形成、進行のメカニズムには、グリア細胞による神経炎症が深く関与することが知られており、アストロサイト機能の評価に有用とされる  $^{11}\text{C}$ -Acetate の PET 臨床研究では、MS 患者の脳で  $^{11}\text{C}$ -Acetate 集積が亢進することが報告されている (Takata et al. *PLoS One*. 9(11):e111598, 2014.)。また、MS 患者における  $^{18}\text{F}$ -FDG PET に関しては、神経障害を反映して  $^{18}\text{F}$ -FDG 集積が低下するとの報告がある一方で、MS モデル動物の脊髄では炎症反応を検出して集積が上昇するとの報告もあり (Kindred et al. *Spinal Cord*. 52, S11-S13, 2014., Schiepers et al. *Mult Scler*. 3, 8-17, 1997.) FDG-PET 画像と病態と関係については明らかとなっていない点も多い。以上のように、MS の脱髄病変の形成過程に関与するグリア細胞と神経細胞の変化を、脳エネルギー代謝を指標として PET により評価することは、MS の診断技術としての応用や病態解明研究への活用が期待されるものの、研究報告例は国内外ともにそれほど多くなく、臨床応用にむけての基礎的検討は十分とは言えない。

### 2. 研究の目的

本研究では、MS モデル動物における脳エネルギー代謝の変化を明らかにし、PET による脳代謝イメージングを活用した MS 診断の可能性を考察することを目的とする。具体的には、MS モデル動物としてよく使用される実験的自己免疫性脳脊髄炎 (EAE) マウスおよびラットにおける各トレーサの脳内集積の変化と神経症状、病理学的変化との関係を明らかにし、MS 診断に際してバイオマーカーとなり得るか否かを評価する。

### 3. 研究の方法

#### (1) 単相型 EAE ラットを用いた評価

ミエリン塩基性タンパク質 (MBP) により単相型の EAE を惹起した Lewis 系雌性ラットを用い、EAE 神経症状の各段階における脳内  $^{14}\text{C}$ -Acetate 集積を ex vivo オートラジオグラフィ (ARG) 法を用いて評価した。さらに、MS 治療薬として報告のあるフィンゴリモドによる  $^{14}\text{C}$ -Acetate 集積の変化についても評価し、免疫組織化学染色法および  $^3\text{H}$ -PK11195 を用いた in vitro ARG 法により得られた結果との比較から、 $^{14}\text{C}$ -Acetate 集積が反映する細胞変化の同定を行った。

#### (2) 再発寛解型 EAE マウスを用いた評価

[Ser $^{140}$ ]-PLP $_{139-151}$  により再発寛解型の EAE を惹起した SJL 系雌性マウスを用い、(1) と同様に EAE 神経症状の各段階における脳内  $^{14}\text{C}$ -Acetate 集積を ex vivo オートラジオグラフィ (ARG) 法を用いて評価した。

### 4. 研究成果

#### (1) 単相型 EAE ラットにおける $^{14}\text{C}$ -Acetate 脳内集積の変化

MBP/CFA の投与により EAE を惹起した Lewis 系雌性ラットでは、MBP 感作 13-15 日目をピークとして EAE 神経症状の発現が見られた (図-A)。 $^{14}\text{C}$ -Acetate を用いた ex vivo オートラジオグラフィ実験を行った結果、神経症状が観察されるより前の MBP 感作 10 日後の時点では、CFA のみ処置を行った sham 群と比較して、Pons でのみ 1.6 倍と有意な  $^{14}\text{C}$ -Acetate 集積の増加を示し、その他の部位では約 1.2 倍 ~ 1.3 倍と有意ではないもののわずかな上昇傾向が認められた (図-B)。その後、神経症状が最も顕著に現れる MBP 感作 14 日後の群では、ほぼすべての脳領域において約 1.5 倍とさらに高い集積の増加がみられた。次に、MS 治療薬であるフィンゴリモドが  $^{14}\text{C}$ -Acetate 集積に及ぼす影響を検討した結果、フィンゴリモド投与を行った MBP 感作群では、EAE 神経症状の抑制効果が顕著に認められた一方で、脳内  $^{14}\text{C}$ -Acetate 集積率は、MBP 感作のみの群と比べて有意な変化を示さなかった。また、MBP 未処置の sham 群と比べて、フィンゴリモド投与を行った MBP 感作群での  $^{14}\text{C}$ -Acetate 集積率は高い傾向にあった ( $p < 0.05$ , Striatum and Thalamus)。フィンゴリモド投与群における細胞変化を免疫組織化学的染色法により評価した結果、活性化ミクログリアの減少は顕著であった一方、アストロサイト細胞の明らかな変化は認められなかった。さらに、 $^3\text{H}$ -PK11195 の in vitro ARG 実験の結果で

も、 $^3\text{H}$ -PK11195 の結合量はフィンゴリモド投与群で著明に低下したことから、フィンゴリモド投与群で  $^{14}\text{C}$ -Acetate 集積率の変化が確認されなかったのは、アストロサイトに影響がなかったことと一致した結果であると言える。

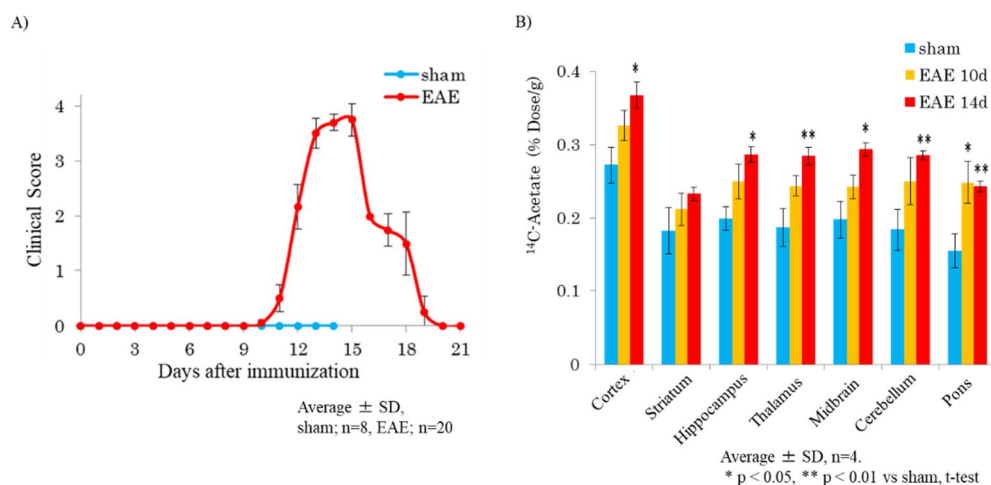


図. MBP 誘発 EAE ラットにおける神経症状 (A)と  $^{14}\text{C}$ -Acetate 脳内集積率 (B) の経時変化

### (2) 再発寛解型マウスにおける $^{14}\text{C}$ -Acetate 脳内集積の変化

[Ser $^{140}$ ]-PLP $_{139-151}$ /CFA の投与により EAE を惹起したマウスでは、感作 13-14 日目をピークとして初発の EAE 神経症状の発現が見られた。さらに、感作 23 - 28 日後にかけて再発の症状が認められたが、マウス個体ごとに発症のピークを示す時点およびスコアが異なり、 $^{14}\text{C}$ -Acetate ARG 実験を実施するのに適切な時点を判断することが困難であった。EAE 神経症状が発現する前の時点、初発神経症状がピークを示す時点、および再発が確認される時点として、それぞれ [Ser $^{140}$ ]-PLP $_{139-151}$  感作 10 日目、14 日目、および 26 日目に  $^{14}\text{C}$ -Acetate ARG 実験を実施した。その結果、[Ser $^{140}$ ]-PLP $_{139-151}$  感作 14 日目 (スコア 1.5-3.0) で、Pons でのみ sham 群と比較して有意に高い  $^{14}\text{C}$ -Acetate 集積を認めたのみで、感作 10 日目 (スコア 0) および 26 日目 (スコア 0-1.0) では明らかな変化は確認されなかった。本実験で [Ser $^{140}$ ]-PLP $_{139-151}$  により惹起された EAE 神経症状のスコアは、当初予測していたレベルよりも低く、特に再発時のスコアはより低いレベルであった。(1) で報告した MBP 誘発単相型 EAE ラットにおいて  $^{14}\text{C}$ -Acetate 集積の亢進が顕著に認められた時点では、後肢にも症状が認められたが、[Ser $^{140}$ ]-PLP $_{139-151}$  誘発の神経症状では尾にのみ症状が確認される個体が主であったことから、[Ser $^{140}$ ]-PLP $_{139-151}$  誘発再発寛解型マウスで  $^{14}\text{C}$ -Acetate の脳内集積に大きな変化が認められなかったのは、神経症状の重篤度が関与する可能性が考えられた。

本研究では、MBP 誘発単相型 EAE ラットおよび [Ser $^{140}$ ]-PLP $_{139-151}$  誘発再発寛解型マウスにおいて、EAE 神経症状と  $^{14}\text{C}$ -Acetate 脳内集積の経時変化を明らかにした。MBP 誘発単相型 EAE ラットにおける評価の結果、 $^{14}\text{C}$ -Acetate はアストロサイトのマーカーとして EAE 神経症状を反映する可能性が示唆された。一方で、[Ser $^{140}$ ]-PLP $_{139-151}$  誘発再発寛解型マウスにおいては初発 EAE 神経症状が生じた時点で Pons でのみ  $^{14}\text{C}$ -Acetate 集積の亢進が認められたものの、再発時の脳内集積に大きな変化は認められなかった。今回用いた単相型と再発寛解型のモデルでは、生じた神経症状の重篤度が異なることに加え、ラットとマウスとで  $^{14}\text{C}$ -Acetate の脳内集積に関わる代謝等種差の影響もあるため、両者における  $^{14}\text{C}$ -Acetate 集積変化の差異については、さらに詳細な検討が必要であると考えられる。しかし、[Ser $^{140}$ ]-PLP $_{139-151}$  感作 14 日目の初発神経症状発症時期で確認された Pons における  $^{14}\text{C}$ -Acetate 集積の亢進は、MBP 誘発単相型 EAE ラットでは神経症状が生じるよりも前の段階で確認されており、この差異は、MS 進行型の違いによる病態を反映するものである可能性があると考えられた。今後、MS 進行型や経過に関連した脳内酢酸代謝の変化をさらに明らかにすることで、酢酸代謝を指標としたアストロサイトの PET イメージングの MS 診断への応用が可能であると期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------