

平成 21 年 4 月 30 日現在

研究種目：若手研究 (B)
 研究期間：2007～ 2008
 課題番号：19790814
 研究課題名 (和文) NMDA 受容体作動薬である Dセリンの認知機能改善の機序—サルを用いた PET 研究
 研究課題名 (英文) In vivo evaluation of $[^{11}\text{C}]\text{N}-(2\text{-chloro-5-thiomethylphenyl})-\text{N}'-(3\text{-methoxy-phenyl})-\text{N}'\text{-methylguanidine}$ ($[^{11}\text{C}]\text{GMOM}$) as a potential PET radiotracer for the NMDA receptor in conscious monkeys.
 研究代表者
 山本 茂幸 (YAMAMOTO SHIGEYUKI)
 浜松医科大学・子どものこころの発達研究センター・特任助教
 研究者番号：10382201

研究成果の概要：脳内 NMDA 受容体活性を in vivo で可視化・定量解析するために、NMDA 受容体のフェンサイクリジン(PCP)結合サイトに結合する放射性標識化合物 $^{11}\text{C}\text{-GMOM}$ を用いて PET 計測を行った。 $^{11}\text{C}\text{-GMOM}$ のコントロールスキャンを得た後、PCP 急性投与中の $^{11}\text{C}\text{-GMOM}$ の PET 計測を行い、各放射性標識化合物の結合能をコントロールスキャンと比較した。さらに、PCP の慢性投与(2 週間)が NMDA 受容体活性に与える影響を調べるために、慢性投与が終了した 2 日後ならびに 30 日後に PET 計測を行い、コントロールスキャンと比較した。

急性投与中の各標識化合物の結合能は、コントロールと比較して低下する傾向が観られた。慢性投与が終了した 2 日後では、コントロールと比較して結合能が増加する傾向が観られた。結合能の増加は、PCP の慢性投与が終了した 30 日後の時点の時点は観られず、ほとんどコントロールレベルに戻っていた。この結合能の増加は NMDA 受容体の一過性の発現増加を反映したものと考えられる。これらの結果は、 $^{11}\text{C}\text{-GMOM}$ が覚醒状態の脳内 NMDA 受容体を評価できる PET 用放射性標識化合物として有用であることを示唆する。

認知機能を評価するために、サルに遅延見合わせ課題を訓練した。各個体が正解を維持できる最大遅延時間を求め、それを認知機能の指標として用いた。各サルは、コントロール状態において 25 秒以上の最大遅延時間を示した。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	2,300,000	0	2,300,000
2008 年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,200,000	270,000	3,470,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・精神神経科学

キーワード：脳・神経、認知科学、サル、PET、NMDA 受容体

1. 研究開始当初の背景

NMDA 受容体は、興奮性神経伝達物質であるグルタミン酸の受容体の一つであり、学習記憶や統合失調症などの精神疾患と密接

に関わっている。PET による NMDA 受容体の可視化は、学習記憶の機序解明のみならず精神疾患の予防や治療効果の判定に貢献できることから、PET 用放射性標識化合物の開

発が行われてきた。現時点において、NMDA 受容体評価のための有力な PET 用放射性標識化合物は ^{11}C -GMOM であるが、 ^{11}C -GMOM は覚醒状態の動物を用いた PET 測定は行われておらず、覚醒状態の個体を用いた PET 評価が望まれている。

2. 研究の目的

本研究では、 ^{11}C -GMOM の覚醒ザル PET 計測を行った。さらに、NMDA 受容体阻害薬であるフェンサイクリジン (PCP) が ^{11}C -GMOM の結合におよぼす影響を調べた。PCP の急性投与は、シナプス間隙のグルタミン酸やドパミンの放出を促し、被験体に統合失調症の陽性症状を引き起こすことが報告されている。PCP の慢性投与は、NMDA 受容体の発現変化を引き起こし、統合失調症の陰性症状を露呈させることが知られている。従って、同一個体で PCP 急性投与中ならびに PCP 慢性投与後の NMDA 受容体を PET にて評価することは、放射性標識化合物の有用性を確認するだけでなく、統合失調症などの精神疾患の診断や治療効果への有用性も示すことになる。PCP 急性投与中の PET 計測では、放射性標識化合物の NMDA 受容体に対する結合が PCP による競合的阻害を受けるかを検討した。PCP 慢性投与後の PET 計測では、NMDA 受容体の発現変化を検出できるかを検討した。

また、PCP 慢性投与による認知機能障害を評価するために、サルに遅延見合わせ課題を訓練した。

3. 研究の方法

本研究は、浜松ホトニクス(株)中央研究所実験動物安全委員会の承認を得て行った。

(1) 実験動物

三頭の若齢雄性アカゲザルを用いた。予めサル頭部の MRI 撮影を実施して、解剖学的形態情報を得た。MRI 画像に関心領域 (ROI) を描き、ROI を各放射性標識化合物の Time Activity Curve (TAC) を得るために MRI 画像と位置合わせした PET 画像上にセットした。サルの頭蓋骨に頭部固定用プレートを装着して、PET 計測中に覚醒状態でモンキーチェアにストレス無く着座できるように、十分訓練を行った。

(2) PCP 投与

PCP 急性投与を行った後、30 日以上 of 断薬期間を置いて PCP 慢性投与を行った。急性投与：生理食塩水に溶かした PCP を、13:00 に 2 分間かけてサルに静脈投与 (0.3mg/kg) した後、引き続き 3 時間持続注入 (0.7mg/kg/h) した。静脈投与 60 分後に、PET 計測 (91 分間) を開始した。

慢性投与：PCP (0.3mg/kg) を 14 日間筋肉内投与した。

(3) PET 計測

PET 計測は、高分解能動物用 PET カメラ (SHR-7700、浜松ホトニクス(株)) を用いて enhanced 2D データ収集モードで実施した。300MBq/kg の ^{11}C -GMOM を、予め静脈に挿入されたカニューレから 20 秒間かけてボース投与すると同時に 91 分間の計測を開始した。

サルは、コントロール状態の PET 計測 (Con scan, 10:30~) の後、同じ日に PCP 急性投与中の PET 計測 (Acute PCP scan, 14:00~) を行った。30 日以上 of 断薬期間を経た後に PCP 慢性投与を行い、慢性投与が終了した 2 日後 (Chronic PCP scan1) ならびに 30 日後 (Chronic PCP scan2) に再び PET 計測を行った。

(4) PET 解析

代謝物補正した動脈インプットと TAC を用いて、Logan plot 法により各放射性標識化合物の結合能 V_t 値を算出した。

(5) 認知行動実験

モンキーチェアへの馴化訓練 (1 ヶ月間) 後、タッチパネル行動評価システムを用いて遅延見合わせ課題を行った。

モンキーチェアに固定されたスイッチを押すと、その 1 秒後にタッチパネル中央に図形が 0.5 秒間表示される。一定の遅延時間 (1~32 秒間) 待たされた後、はじめに表示された図形と新たな図形が対 (選択肢 2 つ)、もしくは 4 個、6 個、8 個のセット (それぞれ選択肢 2 つ、4 つ、6 つ) になって表示される。サルは、はじめに提示された図形をタッチすると報酬が得られる。一日に 4 セッション (1 セッション=32 試行) 行い、各個体が正解できる最大の遅延時間を記録した。

4. 研究成果

(1) PET 計測：PCP 投与が ^{11}C -GMOM の結合脳に及ぼす影響

Fig.1 に ^{11}C -GMOM の Con scan と Acute PCP scan の各 ROI の TAC (Cerebellum (Cb), Hippocampus (Hippo), Thalamus (Th), Putamen (Put), Prefrontal cortex (PFC)) を示す。Con scan (Fig.1A) では、 ^{11}C -GMOM の uptake は、PET 計測開始約 20 分後にピークに達し、徐々に減少していく。Acute PCP scan (Fig.1B) では、 ^{11}C -GMOM の uptake は約 10 分後にピークに達し、uptake のピーク値は全ての部位で Con scan と比較して 20% 以上増加した。Con scan での uptake が高い部位ほど増加率は高く、Thalamus では 45% の増加が観られた。ピークに達した各

ROI の TAC は、速やかに減少し 60 分後以降の uptake は Con scan と PCP 投与後で差がほとんど観られなくなった。スキャン直後の ^{11}C -GMOM の uptake が PCP 投与により大幅に増加するのは、末梢で ^{11}C -GMOM に非特異的に結合する血中タンパクが予め投与された PCP により占有されてしまうため、後から投与された ^{11}C -GMOM がより多く遊離状態のまま存在して、より多く BBB を透過して脳内に取り込まれたためだと考えられる。

Figure. 1

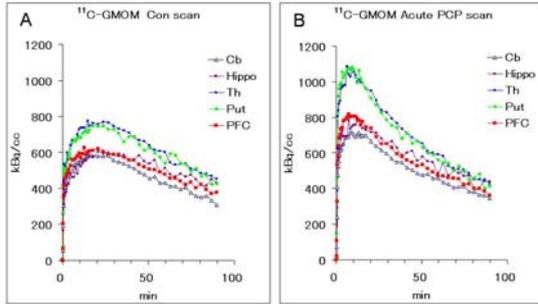


Fig. 2 に、PCP 慢性投与終了から 2 日後 (Chronic PCP scan1) ならびに 30 日後 (Chronic PCP scan2) の各 ROI の TAC を示す。Chronic PCP scan1 (Fig. 2A) ならびに Chronic PCP scan2 (Fig. 2B) の各 ROI の TAC は Con scan と似た形を示し、PET 計測開始約 20 分後にピークに達した後、徐々に減少した。

Figure. 2

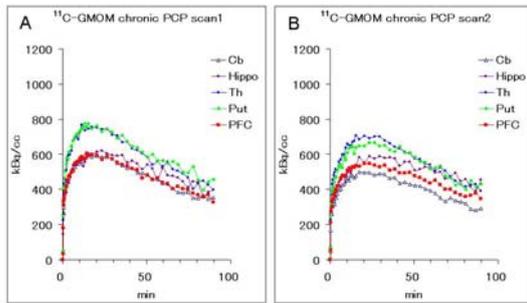


Fig. 3 に Con scan, Acute PCP scan, Chronic PCP scan1, Chronic PCP scan2 の PET 計測後半 30 分間 10 フレームの加算画像を示す。Uptake のレベルは TAC 同様に全ての scan で Thalamus, Putamen > Prefrontal cortex, Hippocampus > Cerebellum であった。Con scan (Fig. 3A) と比較して、Acute PCP scan (Fig. 3B), Chronic PCP scan1 (Fig. 3C), Chronic PCP scan2 (Fig. 3D) に大きな変化は観られな

った。

Figure. 3

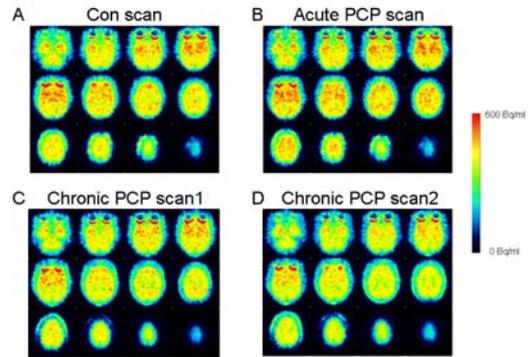


Fig. 4 に ^{11}C -GMOM の未代謝率 (Fig. 4A, Con scan, Acute PCP scan) ならびに代謝率補正を施した動脈インプット (Fig. 4B, Con scan, Acute PCP scan) を示す。90 分後の未代謝率は、Con scan で 20%、Acute PCP scan で 17% であり、Acute PCP scan の方が ^{11}C -GMOM の代謝が亢進する傾向が観られた。代謝率補正を施した動脈インプットは、Con scan 中も Acute PCP scan 中も PET 計測開始後約 20-30 秒後にピークに達し速やかに減少した。Acute PCP scan では ^{11}C -GMOM の代謝速度が Con scan と比べて亢進することより、PCP は ^{11}C -GMOM の代謝に関わる酵素以外のタンパクを占有すると考えられる。

^{11}C -GMOM の代謝率は Chronic PCP scan1 ではさらに亢進し、Chronic PCP scan2 で Con scan と同じレベルに戻った (Fig. 4C)。Fig. 4D に代謝率補正を施した Chronic PCP scan1 と 2 の動脈インプットを示す。Chronic PCP scan1 では Con scan と比較して動脈インプットが小さくなるが、Chronic PCP scan2 では Con scan と同じレベルに戻った。

Figure. 4

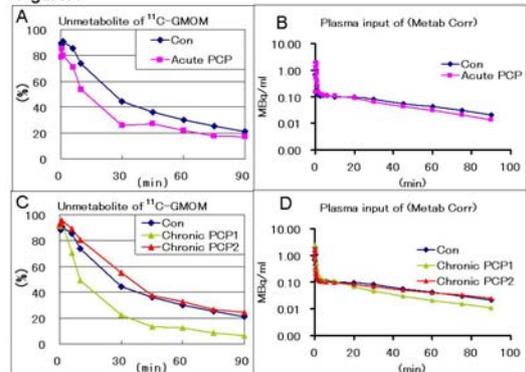
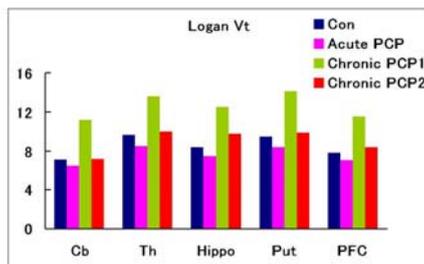


Fig. 5 に Logan plot 法の結果を示す。Con scan の V_t の脳内分布は、バブーンを用いた先行研究と概ね一致する。PCP 急性投与によって、全ての部位の V_t はコントロールを比

較して約 10%減少した。バブーンを用いた先行研究では、NMDA 受容体阻害薬である MK801 投与(0.5-1.0mg/kg)により 11C-GMOM の結合能が増加する。これは我々の結果と矛盾するようであるが、先行研究ではコントロールのスキャン前に 1mg/kg のケタミン投与と、スキャン中に 1.8%イソフルレン麻酔を施している事を考慮すると個体の測定状態の違いを反映しているものとして解釈できる。一方、Chronic PCP scan1 の結合能は亢進したが、これは 11C-GMOM の脳内への uptake が上がるからではなく、11C-GMOM の代謝率が亢進し動脈インプットが小さくなったためである。Chronic PCP scan2 では、11C-GMOM の代謝率ならびに結合能はコントロールと同じレベルに戻った。

Figure.5



(2)認知行動実験

各個体が安定して遅延見合わせ課題を遂行できる条件は、選択肢 4 つであった。各個体の最大遅延時間は 25~30 秒であった。

サルが安定して遅延見合わせ課題を遂行できる条件は、選択肢が 4 つ、セッション数が 4 セッション/日、用いる図形が 8 種 8 色で計 64 個の幾何学図形、報酬 (水) が 0.3ml/試行であった。この条件において、各サルの最大遅延時間は 25~30 秒間であった。

上記の条件を見出すのに時間を要し、研究期間内に PCP 投与が遅延見合わせ課題に与える影響を調べる実験に移行できなかった。

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 4 件)

Wakuda T, Matsuzaki H, Suzuki K, Iwata Y, Shinmura C, Suda S, Iwata K, Yamamoto S, Sugihara G, Tsuchiya KJ, Ueki T, Nakamura K, Nakahara D, Takei N, Mori N. Perinatal asphyxia reduces dentate granule cells and exacerbates

methamphetamine-induced hyperlocomotion in adulthood. *PLoS ONE*. 3:e3648, 2008.

Iwata Y, Suzuki K, Wakuda T, Seki N, Thanseem I, Matsuzaki H, Mamiya T, Ueki T, Mikawa S, Sasaki T, Suda S, Yamamoto S, Tsuchiya KJ, Sugihara G, Nakamura K, Sato K, Takei N, Hashimoto K, Mori N. Irradiation in adulthood as a new model of schizophrenia. *PLoS ONE*. 3:e2283, 2008.

Sekine Y, Ouchi Y, Sugihara G, Takei N, Yoshikawa E, Nakamura K, Iwata Y, Tsuchiya KJ, Suda S, Suzuki K, Kawai M, Takebayashi K, Yamamoto S, Matsuzaki H, Ueki T, Mori N, Gold MS, Cadet JL. Methamphetamine causes microglial activation in the brains of human abusers. *J Neurosci*. 28: 5756-5761, 2008.

Yamamoto S, Onoe H, Tsukada H, Watanabe Y. Effects of increased endogenous serotonin on the in vivo binding of [11C]DASB to serotonin transporters in conscious monkey brain. *Synapse*. 61:724-731, 2007

[学会発表] (計 1 件)

Yamamoto S, Tsukada H, Yokoyama C, Yukie M, Watanabe Y, Onoe H. Functional brain mapping in transverse patterning task; PET study with conscious monkeys. Society For Neuroscience 2008. 08.11.16. Washington DC.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山本 茂幸 (YAMAMOTO SHIGEYUKI)
 浜松医科大学・子どものこころの発達研究センター・特任助教
 研究者番号：10382201