

平成22年2月22日現在

研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2008～2009
 課題番号：20790895
 研究課題名（和文） [C-11]ベンジルアセテートのグリア代謝マーカーとしての有用性の評価
 研究課題名（英文） Evaluation of [C-11]benzyl acetate as a marker of glial metabolism
 研究代表者
 桃崎 壮太郎（MOMOSAKI SOTARO）
 大阪大学・大学院医学系研究科・助教
 研究者番号：30379268

研究成果の概要（和文）：グリア代謝マーカーとしての新規 Positron Emission Tomography（PET）薬剤^[11C]benzyl acetate（^[11C]BA）を設計し、ポジトロン標識合成法の確立、ラットでのPET測定の実施及び定量解析法についての検討を行った。本研究では^[11C]BAがグリア代謝計測のためのPETプローブとして極めて有用であることが示された。

研究成果の概要（英文）：As a marker of glial metabolism, ^[11C]benzyl acetate (^[11C]BA) was synthesized and evaluated in living rat brain using positron emission tomography (PET). We succeeded the synthesis of ^[11C]BA, the measurement of distribution in the living rat brain and the kinetic analysis in this study. The results show that ^[11C]BA is a good candidate for the measurement of glial metabolism.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2009年度	1,700,000	510,000	2,210,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・放射線科学

キーワード：ベンジルアセテート、グリア代謝、脳内動態、PET、ラット

1. 研究開始当初の背景

(1) 脳虚血、アルツハイマー病、統合失調症等の病態・疾患においてグリア細胞の代謝異常が報告され、グリア代謝をインビボで計測する重要性が高まっている。

(2) 現在のところ、グリア代謝をインビボで測定する方法には^[13C]酢酸を用いたMagnetic Resonance Spectroscopy (MRS) と

^[11C]酢酸を用いたPETがあるが、酢酸の脳移行性が低いことが課題である。

(3) 研究代表者らが開発した^[14C]酢酸のエステル誘導体^[14C]benzyl acetate (^[14C]BA)は^[14C]酢酸の約23倍脳に取り込まれ、脳内で迅速に^[14C]酢酸に加水分解されてグリア細胞内TCAサイクルの代謝生成物である^[14C]グルタミン、^[14C]グルタミン酸に変換されるこ

とが判明している。さらに ^{14}C BAの取り込みはフルオロクエン酸(FC)投与によりグリア代謝を抑制すると顕著に低下することも判明している。

(4)以上の知見から ^{14}C BAはグリア代謝測定用プローブとして極めて高い可能性を有していると考えられ、臨床応用への展開が期待された。

2. 研究の目的

本研究では臨床応用への展開を図るためにまずBAのポジトロン核種(^{11}C)による標識合成法を確立する。続いてラット脳における ^{11}C BAの動態測定を行い、定量解析法を確立して臨床応用のための基礎的知見を蓄積する。また病態モデルラットを用いて ^{14}C BAの有用性の評価をさらに進めることを目的とする。

3. 研究の方法

(1) ^{11}C BAの標識合成

サイクロトロンより得られた ^{11}C CO₂から既知の方法で標識前駆体であるCH₃ ^{11}C OC1を合成した。原料であるベンジルアルコールと標識前駆体をDMF溶液中で3分間(50°C)反応させ、HPLCにより分離・精製して目的物を標識合成した。

(2) ^{11}C BAの脳内分布測定(正常ラット、グリア代謝抑制モデルラット)

標識合成した ^{11}C BAのラット脳内分布を動物用PETで計測した。 ^{11}C BAの投与量は約18.5 MB/ratに設定し、投与直後からPET撮像を開始してダイナミックデータを取得した。撮像終了後に画像再構成し、画像上に関心領域(ROI)を設定して各領域における動態曲線を算出した。

グリア代謝抑制モデルラットはグリア代謝抑制剤であるフルオロクエン酸(FC)をラット右側線条体に微量注入することで作成した。FC投与4時間後に ^{11}C BAを投与して、上記と同様の方法でPET撮像し脳内分布及び動態曲線を算出した。

(3) コンパートメントモデルを適用した ^{11}C BAの動態解析

本研究ではもっとも単純なコンパートメントモデル(図1)を適用し、脳内動態曲線から定量値 K_1 、 k_2 、 k_3 の算出を試みた。

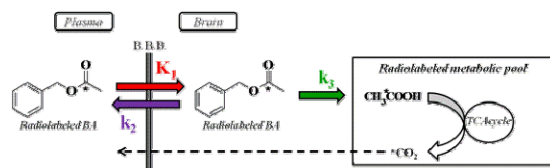


図1 ^{11}C BA動態解析のためのコンパートメントモデル

(4) 短時間脳虚血モデルラットを用いた ^{14}C BAの有用性の評価

所属研究室における先行研究の結果、ラット一過性中大脳動脈閉塞モデル(MCAOモデル)において、細胞死が検出されない極めて短時間の虚血-再灌流(5分虚血、5分再灌流)条件下でも ^{14}C 酢酸の取り込みが著明に低下することが判明している。そこで、本研究では病態モデルとしてこのMCAOモデルを選択し、10分間の虚血後に10分間再灌流したラットについて ^{14}C BAと ^{14}C 酢酸の脳内分布を比較検討した。

4. 研究成果

(1) ^{11}C BAの標識合成

合成収率4%、放射化学的純度99%以上で目的物の標識合成に成功した。

(2) ^{11}C BAの脳内分布測定(正常ラット、グリア代謝抑制モデルラット)

図2に正常ラットにおける ^{11}C BAの脳内分布、図3に脳内動態曲線を示す。 ^{11}C BAは極めて高濃度に脳へ取りこまれることが判明し(1-2% I.D./g tissue)、極めて明瞭なPET画像を得ることができた。また脳内動態については、 ^{11}C BAと同様に投与後、比較的長時間にわたり放射能が保持されており、 ^{11}C BAが加水分解されて ^{11}C 酢酸に変換されグリア細胞に取り込まれていることが示唆された。

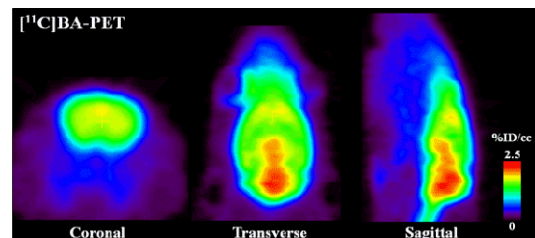


図2 正常ラットにおける ^{11}C BAの脳内分布(60分間の積算画像)

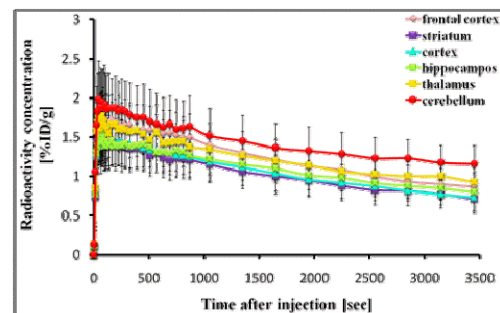


図3 正常ラットにおける ^{11}C BAの脳内動態

一方、グリア代謝抑制モデルラットにおいては、FC 投与側で $[^{14}\text{C}]$ BA の顕著な取り込みの低下を認め、 $[^{14}\text{C}]$ BA がグリア代謝の変化に対して極めて良好な反応性を有することが確認された (図 4、図 5)。

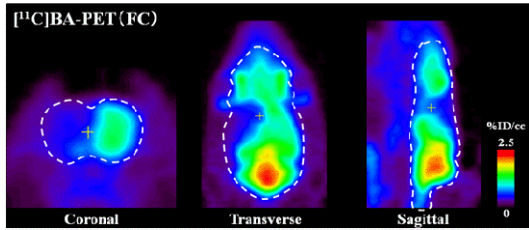


図 4 グリア代謝抑制モデルラットにおける $[^{14}\text{C}]$ BA の脳内分布 (60 分間の積算画像)

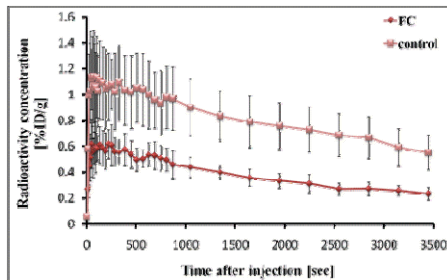


図 5 グリア代謝抑制モデルラット線条体における $[^{14}\text{C}]$ BA の脳内動態

(3) コンパートメントモデルを適用した $[^{14}\text{C}]$ BA の動態解析

動態解析の結果、 K_1 、 k_2 、 k_3 の各種パラメーターを算出することができた (表 1)。また、グリア代謝抑制モデルラット脳においては k_3 値が著しく減少していることが判明し、グリアの代謝変化を定量値 k_3 で示すことができた (表 2)。

表 1 正常ラット脳におけるコンパートメントモデル解析結果

	Striatum	Cortex	Thalamus	Cerebellum
K_1 (mL/ccm/min)	1.63	1.63	1.90	2.17
K_2 (1/min)	0.13	0.12	0.13	0.14
K_3 (1/min)	0.009	0.008	0.012	0.014

Values are mean of 5 animals

表 2 グリア代謝抑制モデルラット脳におけるコンパートメントモデル解析結果

	Striatum (Control)	Striatum (FC)
K_1 (mL/ccm/min)	1.20	0.62
K_2 (1/min)	0.12	0.11
K_3 (1/min)	0.008	0.002

Values are mean of 4 animals

(4) 短時間脳虚血モデルラットを用いた $[^{14}\text{C}]$ BA の有用性の評価

短時間脳虚血モデルラットにおける $[^{14}\text{C}]$ 酢酸と $[^{14}\text{C}]$ BA の脳内分布を図 6 に示す。

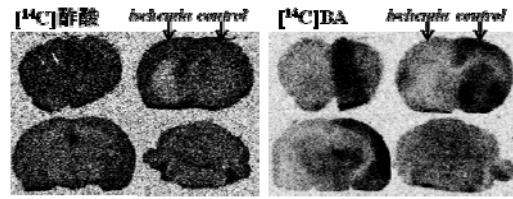


図 6 脳虚血モデルラットにおける $[^{14}\text{C}]$ 酢酸及び $[^{14}\text{C}]$ BA の脳内分布

本モデルの虚血中心 (ischemic core) である線条体の取り込みは正常側と比較して $[^{14}\text{C}]$ BA、 $[^{14}\text{C}]$ 酢酸ともに顕著に低下し、その低下度はほぼ同等であり (約 50%)、グリア代謝マーカーとしての $[^{14}\text{C}]$ BA の有用性が病態モデルにおいても確認された。一方、大脳皮質 (ischemic penumbra) における取り込みは $[^{14}\text{C}]$ 酢酸で変化を認めなかったのに対して $[^{14}\text{C}]$ BA では顕著に低下した。さらに $[^{14}\text{C}]$ BA の取り込みが低下した領域は脳の広範囲で認められた。このことは $[^{14}\text{C}]$ BA の取り込みがグリア代謝の変化のみならず、局所脳血流量の変化をも反映している可能性を示唆している。事実、同様の脳虚血モデルラットにおける $[^{14}\text{C}]$ IMP 法で計測した局所血流量の低下領域と $[^{14}\text{C}]$ BA の取り込み低下領域とは極めてよく一致していた。今後、 $[^{14}\text{C}]$ BA-PET データにおいて局所血流量の影響をどのように補正するかが重要な課題になると考えられる。

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)

- Hirose S, Momosaki S, Hosoi R, Abe K, Gee A, Inoue O. Role of NMDA receptor upon $[^{14}\text{C}]$ acetate uptake into intact rat brain. Ann Nucl Med. 査読有 23(2):143-7. (2009)
- Hirose S, Momosaki S, Sasaki K, Hosoi R, Abe K, Gee A, Inoue O. De-coupling of blood flow and metabolism in the rat brain induced by glutamate. Ann Nucl Med. 査読有 23(3):293-300. (2009)

[学会発表] (計 7 件)

- 桃崎壮太郎, 他、半導体 PET カメラ (Sumitomo MIP-100) によるマウス脳の糖代謝イメージング 第 49 回日本核医

- 学会学術総会（旭川）10/2、2009
- ② 桃崎壮太郎, 他、メチルエチルケトンによる痙攣発作抑制作用と糖代謝画像 第49回日本核医学会学術総会（旭川）10/2、2009
 - ③ Momosaki S et al. [F-18]FDG imaging of mice brain using a high resolution semiconductor PET camera (Sumitomo MIP-100). Society of Nuclear Medicine 56th Annual Meeting, Toronto, Canada, June 13-17, 2009.
 - ④ Takasawa M, Momosaki S et al. Quantitative assessment of regional glucose metabolism in normal rats using semiconductor animal PET. Society of Nuclear Medicine 56th Annual Meeting, Toronto, Canada, June 15, 2009.
 - ⑤ Yamazaki Y, Murase K, Momosaki S et al. Performance evaluation of a newly developed semiconductor small animal PET scanner Sumitomo MIP-100. Society of Nuclear Medicine 56th Annual Meeting, Toronto, Canada, June 15, 2009.
 - ⑥ 桃崎壮太郎, 他、グルタミン酸注入による神経障害時の脳循環・代謝に関する検討 日本薬学会第129年会（京都）3/27、2009
 - ⑦ 桃崎壮太郎, 他、病態モデルラット脳における¹⁴C]Benzyl acetateの取り込みに関する検討 第48回日本核医学会学術総会（千葉）10/25、2008

6. 研究組織

(1) 研究代表者

桃崎 壮太郎 (MOMOSAKI SOTARO)
大阪大学・大学院医学系研究科・助教
研究者番号：30379268

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし