

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 20 日現在

機関番号：34419

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24591805

研究課題名(和文) マウスPET定量分子イメージングへの μ L自動採血・代謝物分析・雑音低減法の開発研究課題名(英文) Development of automated blood sampling in μ L order, metabolite analysis, and an algorithm for noise reduction for quantitative PET molecular imaging using PET

研究代表者

木村 裕一 (KIMURA, Yuichi)

近畿大学・生物理工学部・教授

研究者番号：60205002

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、マウスを用いた定量PET撮像において必要となる、自動採血手法、代謝物分析法、PETデータの雑音低減法の開発を目的とした。採血については、マウスの生理状態への影響が無い量である数 μ Lでの自動採血、血漿分離、体積及び放射能測定を行うシステムを開発した。またこの下で、代謝物分析の実施が可能であることを示した。更に、統計モデルを導入することで、小動物由来のPETデータ特有の劣悪な雑音特性の改善が可能なアルゴリズムを提案した。本成果により、人や大型動物に対して既に確立している定量PET撮像法をマウスに対しても適用可能となったことから、今後の医学生理学研究への適用が期待できる。

研究成果の概要(英文)：This project aimed at developing methods for blood sampling, metabolite analysis, and noise deduction for quantitative functional molecular imaging using PET and mice. The blood sampling system can be operated automatically, and it can separate the plasma and measure the volume and an amount of radioactivity using a few micro-litter of sampled blood that does not affect mice physiological condition. Direct metabolite analysis is also archived with the sampling system. And, a statistical model for noise in measured data can reduce the noise. These achievements can be applied mice to fully quantitative PET functional imaging to mice.

研究分野：PET定量解析

キーワード：分子イメージング PET 核医学 動物実験

1. 研究開始当初の背景

陽電子撮像法(Positron Emission Tomography; PET)は、生体と親和性を有する物質を放射性同位体を用いて合成し、これを投与した後の体内での分布を、そこから放射される γ 線を測定することで、各種の生体機能の定量的な画像を撮像する医用画像手法であり、臨床的に確立されている。

一方でマウスやラットといった小動物では、遺伝子改変や病態モデルが利用可能であることから、医学生理学研究に広く使用されている。

そこで、小動物に対するPET定量画像法の適用が可能となれば、医学研究全般に対する小動物の利便性が向上すると考えた。例えば、特定の神経受容体に作用する医薬品の候補物質をマウスに投与し、脳での結合の状態を *in vivo* 定量化することができれば、その結合能の実測を通して医薬品開発に寄与することができる。

しかし、特にマウスは体重が 30 g 程度と小さいことから、1 回に許容される採血量は僅か数 μL にしか過ぎない。PET 定量画像法では、全血及び血漿中の放射能濃度(Bq/ μL)が必要とされることから、採血された血液からの血漿分離、体積測定、放射能測定を数 μL の試料に対して実施しなければならない。また、マウス・ラットではその小さな体格故に血中の放射能濃度変化が速いことから、放射性薬剤投与直後で血中放射能濃度が急変する時相では、10 秒程度の間隔での測定が求められる。

先行する科研費(科学研究費補助金・基盤研究 B, “微量採血及び無採血化を含む PET によるマウス神経受容体定量画像解析手法の構築”, 2008–2010, ¥11,050,000)では、 μL の血液から血漿を分離し、その放射能濃度を測定するためのシステムを開発した(CD-Well, 島津製作所より販売)が、採血は手動であり、煩雑さが残るものであった。

そこで本研究では、その改善及び小動物に対する定量 PET を実現するための求められる他の技術要素の開発を目的とした。

2. 研究の目的

本研究の目的は以下の通りである。

- (1) μL オーダーでの自動採血システムの開発。
- (2) 開発システムを使用することで採血量を低減できるが、その結果生じた余剰分の代謝物分析への可用性の検討。
- (3) 小動物からの PET データに含まれる雑音低減アルゴリズムの開発。

3. 研究の方法

(1)では、開発を完了している CD-Well に、自動的に採血を事項するためのシステムを追加する。

特にマウスでは循環系の送血能力に余剰が少ないことから、穏やかに血液を引くことで安定した自動採血の実現を試みた。開発システムの安定性や可動性を検証するために、マウス、或は実験が容易であるラットを使用した実証実験を行った。

さて、全血液の概ね 10%程度までの出血であれば小動物の生理学的な状況には影響を与えないことが知られている。(1)の成果として定量 PET 撮像に伴う出血量は、この生理学的な限界を下回ることが予想されることから、余剰分を代謝物分析に供することが可能か検討した。代謝物分析は、血漿分離、除タンパクの後の血液試料を HPLC に掛ける必要が有ることから、30 ないし 40 μL 程度の採血量が必要であり、且つ PET 撮像期間中に 4 ないし 5 回程度の採血が求められる。従って従来法では PET の撮像対象とは別の個体を用意し、ここからの代謝物分析で代用していた。そこで、撮像する個体に対する代謝物分析を、自動採血システムによって採血量が低減した残余で可能か検討した。

PET では組織中及び血液中の放射能の時間変化に対して薬剤の体内での動態を記述するコンパートメントモデルを適用することで生体機能の定量化を図る。その際に、非線形回帰アルゴリズムを使用するが、一般に雑音に弱い。特に小動物では組織の寸法が小さいことから本質的に組織に含まれる放射能

は少なくなり、従って雑音特性は悪くなる。そこで(3)では、ノイズ低減のためのアルゴリズムを検討した。

4. 研究成果

1)では、血液をステップモーターを使用してシリンジの「引き」を精密に制御し、微量での引きを実現することで、自動採血が可能となった。採血された血液は、CD-Wellに滴下され、CD-Wellのシステムによって μL の血液の放射能濃度を測定する。

また、装置全体を小型化することで小動物から血液を導出するカテーテルによる死腔を最小化することで、出血量の最小化及び放射能濃度の急峻な変化を捉えることを可能とした。

マウス及びラット数匹に対して ^{18}F -FDGを用いた実証実験を実施した結果、确实自動採血が可能であることを確認できたことから、当所の目的を達成した。

(1)の結果、手術によるもの等、実験に付随する出血を加味しても、 $150\ \mu\text{L}$ 程度での採血でPET定量撮像が可能であることが分かった。通常の大サイズのマウスでは生理学的に許容される採血量は $250\ \mu\text{L}$ 程度となることから、残余の $100\ \mu\text{L}$ を代謝物分析に適用可能であることが明らかになった。しかし、 $100\ \mu\text{L}$ に対しては2ないし3回程度の代謝物分析のみが実施可能であり、目標回数に対して1ないし2回不足する。従って、実験プロトコル上3回の代謝物分析を許容するか、或はより少体積での代謝物分析法の新規開発が必要であることが明らかとなった。

(3)では、血液中の放射能濃度変化の波形に重畳している雑音を統計モデルとして記述し、最尤推定を適用することで雑音低減が可能であることが分かった。しかし、PET動態モデルの推定で使用する非線形回帰アルゴリズムに対する性能評価では、雑音除去性能の改善が示唆された。

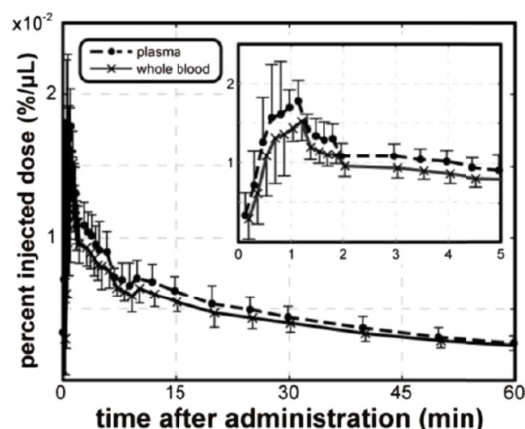


図 1 典型的なマウスの血中放射能濃度の変化 (Kimura, *Phy Med Biol*, Fig. 3)

図 1 に、マウスから得られた典型的な血中放射能濃度の波形を示す。時刻 0 で ^{18}F -FDGを尾静脈より急速に投与し、その後60分間の変化を測定したものである。横軸が時間軸、縦軸は投与した放射能に対する各時刻での血液 $1\ \mu\text{L}$ 当りの放射能濃度を%で表記したもので、血中放射能濃度を示している。

左上は投与後5分間の拡大図である。

放射性薬剤の投与によって血中の放射能が急増し、その後漸減していく典型的な傾向がよく測定されていることから、開発システムは十分な性能を有していることが分かる。

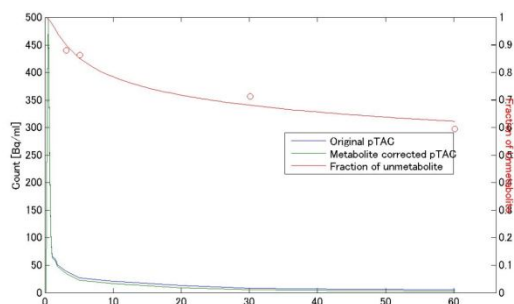


図 2 マウスからの代謝物分析の結果

図 2 は、マウスに対して ^{11}C -racloprideを投与した際の血中の未変化体の割合を示す。横軸が時間軸であり、投与後60分にわたっての測定結果である。

左側の y 軸は血液の放射能濃度であり、開発システムによる実測波形(青線)、代謝物補正後の波形(緑線)に対応する。

右側の y 軸は実測された未変化体の割合である。投与直後は代謝が未だ進行していないことから全てが未変化体のままであるが、時間の経過と共に代謝が進み、未変化体の割合が低下している様子が分かる。投与後 4 点について代謝物分析を実施し(赤のプロット)、これを補完したものが赤の実線となる。代謝の進行を合理的に示す結果となっている。

開発システムを用いて、片側の脳梗塞モデルのラットの糖代謝を ^{18}F -FDG を用いて測定したところ、局所糖代謝量は健常側で $1.23 \pm 0.14 \text{ mg/min/100g}$ であり、これは既報値に一致した。また、梗塞側では 1.10 ± 0.17 となり、健常側から有意に低下していたことから ($p < 0.01$)、梗塞を反映した変化を捉えることができた。

以上から、本研究によって小動物に対する生体機能の PET 定量画像化の具体的な手法が実現できた。

5. 主な発表論文等 〔雑誌論文〕(計 1 件)

Yuichi Kimura, Chie Seki, Nobuya Hashidume, Takashi Yamada, Hidekatsu Wakizaka, Takahiro Nishimoto, Kentaro Hatano, Keichi Kitamura, Hiroshi Toyama, and Iwao Kanno, “Novel System Using Microliter Order Sample Volume for Measuring Arterial Radioactivity Concentrations in Whole Blood and Plasma for Mouse PET Dynamic Study”, *Phys Med Biol*, 58, pp. 7889–7903, 2013. 査読あり

〔学会発表〕(計 3 件)

Yuichi Kimura, “Quantitative Imaging of Regional Cerebral Metabolic Rate of Glucose in Rodents Using ^{18}F -FDG Positron Emission Tomography and Direct Time Activity Curve Measurement in Arterial Plasma with Very Small Volume of Blood Sampling”, in Proceedings of 13th Polish

Japanese Seminar on Biomedical Engineering, 2014, Nov 2–5, Osaka, Japan.

Yuichi Kimura, Nobuya Hashidume, Takashi Yamada, Masaki Nomura, Seiichiro Ota, Keichi Kitamura, and Hiroshi Toyama, “Quantitative FDG PET Kinetic Analysis with Serial Arterial Blood Sampling and Radioactivity Measurement using CD-Well”, in Fukui2014, 2014, 2014.3.3–4, Fukui, Japan.

Nobuya Hashidume, Yuichi Kimura, Takashi Yamada, Hiroshi Ikenuma, Takahiro Nishimoto, Kentaro Hatano, Hiroshi Toyama, Keichi Kitamura, and Kengo Ito, “Micro-liter Order Automated Blood Sampling System for Small Animal PET Functional Imaging”, in World Molecular Imaging Congress 2012, pp. P148, 2013, 5–8, Sep., Dublin, Ireland.

〔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

木村 裕一 (KIMURA, Yuichi)
近畿大学・生物理工学部・教授
研究者番号: 60205002.

(2) 研究分担者

外山 宏 (TOYAMA, Hiroshi)
藤田保健衛生大学・医学部・教授
研究者番号: 90247643.

本谷 秀堅 (HONTANI, Hidekata)
名古屋工業大学・情報工学部・教授
研究者番号: 60282688.

旗野 健太郎 (HATANO, Kentaro)
国立長寿医療研究センター・認知症先進医療開発センター・室長

研究者番号: 50228475.

山田 貴史 (YAMADA, Takashi)

中部大学・応用生物学部・講師

研究者番号: 50532860.