

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 13 日現在

機関番号：13401

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2013

課題番号：24659560

研究課題名(和文) 18F 標識酢酸誘導体を用いたグリア細胞エネルギー代謝機能測定への挑戦

研究課題名(英文) Evaluation of F-18 labeled fluoroacetate as an imaging probe for glial function

研究代表者

清野 泰 (Kiyono, Yasushi)

福井大学・高エネルギー医学研究センター・教授

研究者番号：50305603

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000 円、(間接経費) 870,000 円

研究成果の概要(和文)：中枢神経変性疾患の変性過程で、グリア細胞の異常な活性化が起こることが報告され、グリア細胞機能をイメージングするプローブの開発が期待されている。そこで、グリア細胞のエネルギー基質である酢酸の 18F 標識誘導体がグリア細胞のエネルギー代謝を測定可能か検討した。培養細胞を用いた検討で、18F 標識フルオロ酢酸がアストロサイトに集積することを明らかとした。ラットを用いた PET イメージング実験を行った結果、18F 標識フルオロ酢酸は投与早期から脳内に集積し、その後滞留することが認められた。このことより 18F 標識フルオロ酢酸を用いて、脳内グリア細胞のエネルギー代謝を測定できる可能性が示された。

研究成果の概要(英文)：It is expected to develop imaging probes for glial function. Therefore, in this study, F-18 labeled acetic acid derivative, F-18 labeled fluoroacetate was evaluated as an imaging probe for glial function. In in vitro cell uptake experiments, it was observed that F-18 labeled fluoroacetate was uptaken into astrocytes. On the other hand, F-18 labeled fluoroacetate was not uptaken into microglia. In PET imaging experiments, the accumulation of F-18 labeled fluoroacetate in the brain was peaked at 3 min post injection, and then the radioactivity was maintained in the same level. These results suggest that F-18 labeled fluoroacetate has the possibility to image the glial function and to measure the energetic metabolism in the glia.

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：放射線 放射性医薬遺品 グリア PET

1. 研究開始当初の背景

(1) 脳内のエネルギー代謝はこれまで、グルコース代謝、酸素代謝の計測を通して行われてきたが、ほぼ好氣的にグルコースを消費しているとされる神経細胞機能を主に反映したエネルギー代謝の計測しか行われておらず、グリア細胞のエネルギー代謝を計測することは不可能であった。

(2) 中枢神経系の傷害や炎症によりグリア細胞、特にマイクログリアとアストロサイトが活性化し、そこから放出される種々の物質により、様々な神経系の疾患を引き起こすことに注目が集まっている (Glass et al. Cell, 2010)。

(3) そのため、グリア細胞の活動をイメージングすることが出来れば、神経系の疾患あるいは疾患に対する治療効果の有効な指標となることが期待されている。

(4) このため、神経炎症時に活性化する 18kDa translocator protein (TSPO)に着目して幾つかの PET イメージングプローブが開発されているが、未だ広く臨床応用されているプローブは存在しないのが現状である。

(5) Muir 等は³H]酢酸と³H]フルオロ酢酸を用いたラット脳の autoradiography (ARG) 実験にて、酢酸誘導体がグリア細胞エネルギー代謝のマーカーになる可能性を示した (Brain Research 1986)。

(6) 臨床的展開を視野に入れると、C-11 よりも半減期の長い F-18 で標識されたプローブがより適当であると考えられる。

(7) 酢酸のフッ素誘導体である ¹⁸F 標識フルオロ酢酸 (¹⁸F]FA) のグリア代謝に関する研究はほとんど行われていない。

2. 研究の目的

(1) グリア細胞のエネルギー基質である酢酸の ¹⁸F 標識誘導体、¹⁸F 標識フルオロ酢酸 (¹⁸F]FA) がグリア細胞のエネルギー代謝を測定可能か検討することを目的とする。

(2) ラット脳の初代培養細胞で¹⁸F]FA が、アストロサイトとマイクログリアのどちらの細胞に集積するかを明らかにする。

(3) ¹⁸F]FA を用いた小動物 PET イメージング研究に展開し、小動物 PET を用いたグリア細胞のエネルギー代謝の測定方法を確立する。

3. 研究の方法

(1) ラット脳の初代培養細胞で¹⁸F]FA がアストロサイト、マイクログリアのどの細胞に集積するかを明らかにすることを目的として、

アストロサイトおよびマイクログリアの初代培養を行った。

アストロサイトは、DS ファーマバイオメディカルより SD ラットの脳皮質アストロサイトを購入し、10%FBS 入りの IMDM 培地にて培養を行い、培養 1 週間後に細胞集積実験に用いた。マイクログリアも、DS ファーマバイオメディカルより正常ラットマイクログリアを購入し、ラットマイクログリア培養用培地にて培養を行い、培養 1 週間後に細胞集積実験を行った。

[¹⁸F]FA は福井大学高エネルギー医学研究センターで実験当日に合成を行ったものを用いた。

74kBq/200 μ l の [¹⁸F]FA を細胞に添加し、60 分後に氷冷 PBS にて 3 回細胞を洗浄し、0.1N NaOH を 100 μ l を加え細胞を溶解した。70 μ l はオートウェル型ガンマカウンタにて放射能の測定に用い、20 μ l はタンパク質量に用いた。細胞への集積量はタンパク質量で補正した % injected dose/mg protein で評価した。

(2) [¹⁸F]FA を用いた小動物 PET イメージング実験を行い、脳内グリア機能イメージングの可能性を検討した。

9 週齢のラットをガス麻酔下で鼠経部大腿動静脈を露出させ、静脈注入用 (PE-50、外径 0.965 mm, 長さ約 30 cm, Becton Dickinson 社) と動脈採血用 (PE-60、外径 1.22 mm, 長さ約 20 cm, Becton Dickinson 社) のチューブを挿入した。

その後 PET 装置に固定し、生理食塩水で 1 ml に調整した 18.5MBq の [¹⁸F]FA をシリンジにセットし、2 分間かけて静脈チューブから注入した。

注入と同時に 90 分間の経時的 PET 撮像および採血を開始した。採血は 10 秒間隔の採血からスタートして 2 分後から 30 秒間隔、5 分後から 1 分間隔、10 分後から 5 分間隔、50 分後からは最後の 90 分まで 10 分間隔と時間間隔を漸増しながら各点 200 μ l の動脈血をマイクロチューブに採血した。

卓上遠心分離器を用いてマイクロチューブに採血した血液を 3 分間 9000 回転で血漿を分離した。分離した血漿をマイクロシリンジで約 75 μ l 取り出しガラスチューブに移し、血漿中放射能および重さをオートウェル型ガンマカウンタで計測して血漿中放射能濃度を得た。

4. 研究成果

(1) 細胞集積実験の結果、¹⁸F]FA のアストロサイトへの集積量は、 4.15 ± 1.14 % injected dose/mg protein となり、アストロサイトへ集積が観察された。一方、マイクログリアへの集積量は、非常にわずかであり正確な集積量を算出することが困難であった。またリポポリサッカライドを用いてマイクログリアを活性化した後に、同様に細胞集積実験

を行ったが、こちらも全く集積が認められなかった。以上の結果より、 ^{18}F FA はミクログリアではなくアストロサイトへ集積することが示唆された。

(2) 静脈より投与した ^{18}F FA は急速に体内を循環して血漿中放射能濃度は急激に上昇していくが、 ^{18}F FA の投与終了時間である2分を過ぎると急激に濃度が下降した(下図参照)。これは血漿中の ^{18}F FA が血中から体中に拡散しているためである。また血漿中放射能濃度は急激な低下をした後もゆっくりと濃度を下げていくが、それに対し脳組織放射能濃度は ^{18}F FA 投与後急激に増加した後はほとんど変化せず、滞留傾向を示した。

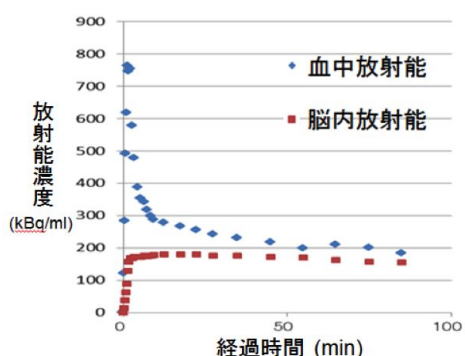


図. 血漿中放射能濃度および脳組織放射能濃

これは Marik らの研究(2009)と同様の結果であり、通常のラットには休眠中のグリア細胞が活性中のグリア細胞より多く、その酢酸代謝速度が小さいためと思われる。以上の結果より、 ^{18}F FA を用いた脳内グリア機能イメージングが可能であることが示唆された。さらに詳細にコンパートメント解析することにより、グリア細胞のエネルギー代謝の測定が可能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0件)

[学会発表](計4件)

T.Mori, T.Takaki, Y.Fujibayashi, T.Asai, H.Okazawa, Y.Kiyono. Development of a flexible synthesis module system for F-18 labeled PET tracer. International Workshop on Molecular Functional Imaging for Brain and Gynecologic Oncology, 2014.03.3-4, Fukui, Japan.

T.Mori, R.Arai, D.Blampain, T.Kosuga, T.Asai, Y.Fujibayashi, H.Okazawa, Y.Kiyono. Fully automated production of

^{18}F fluoroacetate on a compact FDG synthesizer. International Workshop on Molecular Functional Imaging for Brain and Gynecologic Oncology, 2014.03.3-4, Fukui, Japan

森 哲也, 高木 健志, 藤林 靖久, 岡沢 秀彦, 清野 泰. 汎用型 PET 薬剤自動合成システムの開発と実用性試験. 第 53 回日本核医学会学術総会, 2013.11.8-10, 福岡

T.Mori, R.Arai, D.Blampain, C.Gameiro-Paris, T.Kosuga, T.Asai, Y.Fujibayashi, H.Okazawa, Y.Kiyono. Fully automated production of ^{18}F fluoroacetate on IBA Synthera platform. 20th International Symposium on Radiopharmaceutical Sciences, 2013.05. 12-17, Jeju, Korea.

[図書](計0件)

[産業財産権]
出願状況(計0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

取得状況(計0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

[その他]
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

清野 泰 (KIYONO, Yasushi)

福井大学・高エネルギー医学研究センター・教授

研究者番号: 50305603

(2) 研究分担者

森 哲也 (MORI, Tetsuya)

福井大学・高エネルギー医学研究センター・助教

研究者番号: 40397287

(3) 連携研究者

()

研究者番号：