

平成 21 年 6 月 5 日現在

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2007～2008

課題番号：19790902

研究課題名 (和文) 活性化型ミクログリア画像化の研究

研究課題名 (英文) in-vivo imaging of activated microglia

研究代表者

工藤 元 (KUDO GEN)

藤田保健衛生大学・医学部・講師

研究者番号：20449466

研究成果の概要：我々はラット脳に対し定位的手術法を用いた線条体障害モデルを作製し、その障害の程度によって脳内ミクログリアが様々な程度に活性化することを種々の末梢性ベンゾジアゼピン受容体(PBR)製剤と小動物 PET で検討してきた。

PBR 製剤と小動物 PET によるラット活性化型ミクログリア生体内画像化実験の結果、健側と比べ、障害側線条体に 10～15%前後の有意な集積増加が認められた。

この PBR 集積増加と活性化ミクログリアの関係を基礎的に検討するために、免疫組織染色を用いた活性化ミクログリア集積の証明 (同時に炎症性マクロファージの除外)、更に RT-PCR を用いた種々の炎症性サイトカイン(TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ )発現 (遺伝子レベルでの毒性転換のマーカ)との関係について検討を行い、ミクログリア活性度 (集積程度) と炎症性サイトカイン (TNF $\alpha$ ) で強い正の相関が得られた。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	1,700,000	0	1,700,000
2008 年度	1,600,000	480,000	2,080,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	480,000	3,780,000

研究分野：脳科学

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：末梢性ベンゾジアゼピン受容体(PBR)製剤、ミクログリア、小動物 PET

## 1. 研究開始当初の背景

アルツハイマー病をはじめとする様々な神経変性疾患では、脳内で活性化ミクログリアが病変部に集積している。この活性化ミクログリアの一部が神経障害性を発現し病態形成に重要な役割を果たしていることが最近判ってきた。ミクログリアが脳内で休止型から活性化型になると PBR が発現し、PBR の発現とミクログリアの毒性転換に関連性が深いことが示唆されている。ポジトロン CT(PET)を用いて生体内で PBR の

発現をモニタリングできれば神経変性疾患の早期診断が可能となる。

## 2. 研究の目的

本研究では、ミクログリアの活性化の状態の違いが周囲の微小環境や細胞状態の情報によってコントロールされている事実に鑑み、それらのインターフェースとなるミクログリア細胞膜上の生体情報の授受に関わる分子である末梢性ベンゾジアゼピン受容体を PET イメージングすることによって種々

の脳疾患の新規な診断法を確立することを目的とする。

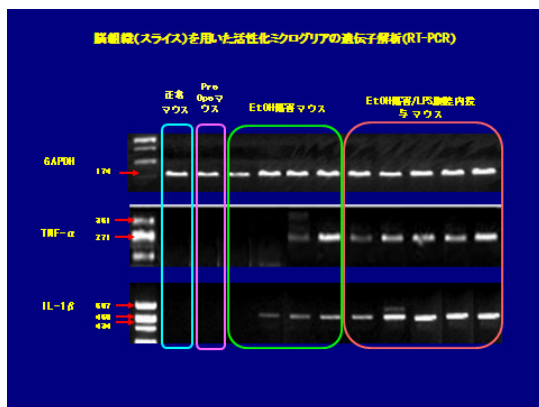
### 3. 研究の方法

今回我々は、より程度の強いラット脳活性化型ミクログリアモデルを作製する目的で以下の条件で pBZR 製剤 11C-PK11195 を用いたイメージングを行った。

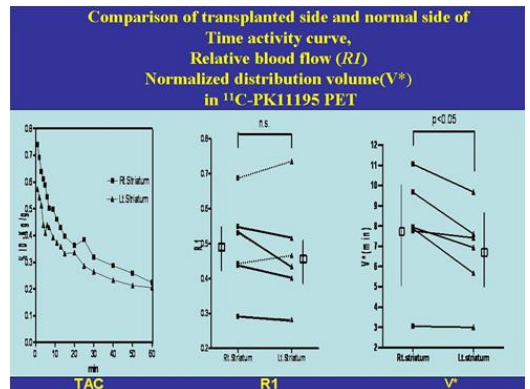
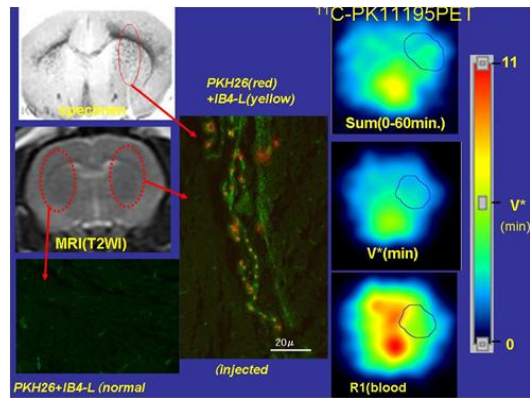
これまでのミクログリアイメージングにおいて有効性が確認できた一側線条体エタノール障害モデルラットを用いて、ミクログリア活性化試薬としてのリポポリサッカライド (LPS) の腹腔内投与を行い、①pBZR 製剤 11C-PK11195、②組織解析、③病理切片からマイクロディセクション顕微鏡を用いて活性化ミクログリアを単離して遺伝子プロファイリングを行って活性化状態の定性的判定を行った。

### 4. 研究成果

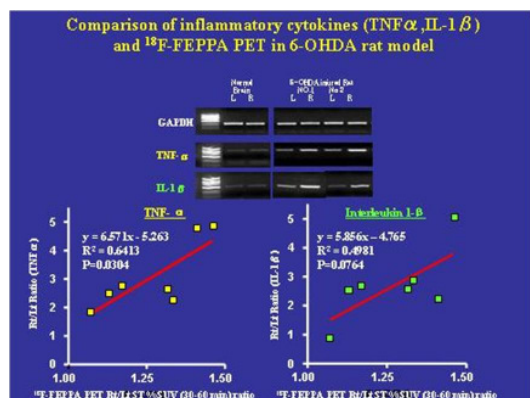
H19 年度の本研究では、エタノール傷害モデルラットの腹腔内に LPS を投与し、Mi の性状変化によって PBR の集積に変化が生じるかどうか検討した。LPS 投与群は非投与群と比べ PET で有意な集積増加を認めた。さらに、RT-PCR による遺伝子解析で、LPS 投与群の方が多くのラットにサイトカイン (TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ ) の発現を認め、発現を認めなかったラットは集積が低かった。LPS 非投与群はサイトカインの発現したラットは少なかった。LPS 投与群と非投与群は活性化型 Mi の数に有意差を認めなかった。これらの結果から、PBR の集積は、活性化型 Mi の発現の数よりも毒性転換との関連が高いことが示唆された。



培養下で活性化した外来性株化 Mi を直接ラットの脳内に注入したモデルでも、健側と比べ、注入側線条体に 10~15% 前後の有意な集積増加を認め、PET 撮像後の免疫組織染色で注入された活性化型株化 Mi を認めた。PET の集積と顕微鏡下で計測された活性化型株化 Mi の数は有意な正の相関を認めた。



更に H20 年度の研究では続いて、この PBR 集積増加と活性化ミクログリアの関係を基礎的に検討するために、免疫組織染色を用いた活性化ミクログリア集積の証明 (同時に炎症性マクロファージの除外)、更に RT-PCR を用いた種々の炎症性サイトカイン (TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ ) 発現 (遺伝子レベルでの毒性転換のマーカー) との関係について検討を行う事で PET 集積増加の意義の組織学的・遺伝子解析学的証明を行った。結果的に、活性化ミクログリアの集積と炎症性サイトカインでは特に TNF- $\alpha$  と正の強い相関を示した。



### 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)

[学会発表] (計 4 件)

- ① 第48回 日本核医学学会(平成20年10月25日,大宮) 小動物定量PETの現状—ラットモデルにおける組織学及びPCRとの検討、工藤元
- ② Neuroreceptor Mapping 2008 (2008/7/17, pittsburgh): In-vivo imaging of microglial activation using a novel peripheral benzodiazepine receptor ligand,  $^{18}\text{F}$ -FEPPA and animal PET following 6-OHDA injury of the rat striatum; A comparison with  $^{11}\text{C}$ -PK11195. GEN KUDO
- ③ 第3回 日本分子イメージング学会総会・学術集会(平成20年5月22日,大宮): 新規末梢性ベンゾジアゼピン受容体製剤 { $^{18}\text{F}$ } FEPPA PETとパーキンソンモデル病ラットを用いた活性型ミクログリアのイメージング、鈴木 弘美、工藤元
- ④ SNM 54<sup>th</sup> Annual Meeting (2007/6/1, Washington): In-vivo imaging of microglial activation using a peripheral benzodiazepine ligand,  $^{11}\text{C}$ -CB148 and animal PET following ethanol injury in rat striatum; A comparison with  $^{11}\text{C}$ -PK11195. GEN KUDO

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

工藤 元 (KUDO GEN)

藤田保健衛生大学・医学部・講師

研究者番号: 20449466

### (2) 研究分担者

なし

### (3) 連携研究者

なし