

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 16 日現在

機関番号：12102

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2015

課題番号：25871237

研究課題名(和文)脳虚血性病態理解のための非侵襲的小動物0-15ガスPET検査システムの構築

研究課題名(英文)Development of noninvasive PET system with 150 labeled gas tracers in small animals for understanding cerebral ischemic disease

研究代表者

森口 哲朗(Moriguchi, Tetsuaki)

筑波大学・数理物質系・助教

研究者番号：10635890

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、低侵襲で同一個体による繰り返しイメージングを可能とする小動物150標識ガスPET検査システムの構築を行った。侵襲性の低い投与方法としてラットの自己吸入に着目し、これに特化したフェイスマスクと固定ホルダーを作成した。これにより、固定ホルダー内のラットを動かすことなく同じ固定状態でPET/MRI撮像が可能になった。本システムを用いて低酸素性虚血性脳症モデルラットを対象としたPET/MRI撮像を実施し、同一個体に対しモデル作成当日から42日目までの病態の経時的な変化を観察することができた。また、脳循環代謝パラメータの無採血定量化の改良を行い、動脈採血を含む従来法との比較を行った。

研究成果の概要(英文)：We have developed the noninvasive PET system with 150 labeled gas tracers in small animals for repeated imaging of disease-model animal. The facemask and the animal holder were made originally for an 150-gas administration due to spontaneous respiration of rats. These allow us to perform sequential PET and MRI scanning without changing the position of rats. With the present system, the hybrid PET/MR imaging was performed in the rats prepared for cerebral hypoxic-ischemic injury. It was possible to observe the progress of brain damage from the day when the model rat was prepared to 42 days after the preparation by PET/MR imaging repeatedly for each rat. The way to deduce cerebral blood flow parameter was also improved for noninvasive quantification of the 150-gas PET imaging in the present study.

研究分野：核医学

キーワード：小動物 PET 標準酸素 非侵襲 定量化 脳虚血 脳血流量 酸素代謝量

## 1. 研究開始当初の背景

ポジトロン断層法 (Positron emission tomography, PET) は放射性薬剤を用いた核医学検査の一つであり、癌の早期発見や臓器の機能診断に広く利用されている。特に、<sup>150</sup>標識ガス PET 検査は脳血流量 (CBF)、脳酸素摂取率 (OEF)、脳酸素代謝量 (CMRO<sub>2</sub>) 等の脳循環代謝画像を定量化できる有効な方法であり、脳血管障害疾患の重症度評価や適切な治療法の選択において大きな貢献を果たしている。その一方で、実験小動物を対象にした非侵襲的な脳循環代謝のイメージング計測においては必ずしも確立した手法が存在するわけではない。<sup>150</sup>標識ガスを用いた計測においても種々の技術的制約があり、現時点では実施困難な技術とされる。その一つは、高濃度放射性ガスを吸入する際、偶発同時計数や不感時間の増加による画質や定量精度の劣化が挙げられる。この問題を解決するために、<sup>150</sup>標識水や<sup>150</sup>標識酸化ヘモグロビン、ヘモグロビン小胞体を静脈投与する方法が提案された。また、ラットの気道を切開し直接<sup>150</sup>標識ガスを投与する方法も報告されている。これらの方法は血管確保に基づく侵襲性に加えて、投与溶液の液量が大であるために小動物に対する負担が無視できなかった。

## 2. 研究の目的

近年、遺伝子改変マウスを含む多くの循環器疾患モデル動物の開発がなされ、小動物の機能イメージングのニーズが高まるなかで、もっとも基本情報となる循環代謝量を安定して計測する技術開発は極めて本質的である。さらに、循環代謝量に加えて種々の分子イメージング技術計測を実施することで、新しい次元で病態理解と新規治療法の有効性評価が可能になる。その一つが同一個体による経過観察である。脳虚血性疾患モデル動物においては、個体ごとに梗塞サイズや虚血の程度が異なるため、循環代謝量を正確に理解した上で経過観察を行うことで正確にその有効性評価が可能になる。また、同一個体による経過観察は統計の信頼性を大きく高めることにも繋がる。このように、本研究では低侵襲で同一個体による繰り返しイメージングを可能とする小動物<sup>150</sup>標識ガスPET検査システムの構築を目的とする。

## 3. 研究の方法

### (1) 小動物<sup>150</sup>標識ガスPET検査システム

本研究で構築する小動物<sup>150</sup>標識ガスPET検査システムでは、以下の二点が要求される。

#### 検査の低侵襲化

これまで小動物にとって侵襲性の高かった<sup>150</sup>標識ガスPET検査を低侵襲化するために、本研究では、<sup>150</sup>標識ガスの投与方法として、小動物の自己吸入を採用した。ラットの呼吸量はヒトに比べ小さいため、供給する<sup>150</sup>標識ガスの多くはラットに投与され

ず、偶発同時計数や不感時間の増加による画質や定量精度の劣化を引き起こす。本研究では、ラットに<sup>150</sup>標識ガスを効率良く吸入させるためのフェイスマスクと、画質の劣化に繋がる不要な<sup>150</sup>標識ガスを排気するための固定ホルダーを作成した。

#### PET撮像とMRI撮像のハイブリッド化

<sup>150</sup>標識ガスPET検査は脳循環代謝画像の定量化に有効であるが、脳の解剖学的構造や血管構造についての詳細な情報を得ることはできない。磁気共鳴画像 (Magnetic resonance imaging, MRI) はPET撮像では知ることができない解剖学的情報を画像化することができる。これらPETとMRIの画像を融合することで、より詳細に病態を理解することができる。近年、PETとMRIの一体型装置は臨床用や小動物用共に注目されているが、多くの場合、PET撮像とMRI撮像を別々に行い、後で両者の画像が融合される。そのため、両撮像における小動物の体位の変化は融合画像に影響を与える。そこで、ラットを動かすことなく同じ状態でPET撮像とMRI撮像ができるよう、本研究で作成した固定ホルダーはMRI装置にそのまま固定できるよう工夫した。これによって、ラットを固定ホルダーから取り出すことなく、同じ状態でPET撮像とMRI撮像を行うことができる。

### (2) PET/MRI撮像による低酸素性虚血性脳症モデルラットの経過観察

本研究で構築した<sup>150</sup>標識ガスPET検査システムを用いて低酸素性虚血性脳症モデルラットの経過観察を行った。

#### モデルラットの作成

3週齢のWistarラット(N=9)の左総頸動脈を結紮後、80分間低酸素処置(O<sub>2</sub>:8%, N<sub>2</sub>:92%)を行うことで、低酸素性虚血性脳症モデルラットを作成した[M. Ohshima et al., Experimental Neurology 2012, 233, 481-489]。

#### PET/MRI撮像

PET装置は、小動物用の「micro PET Focus120 (Siemens社)」を使用した。三種類の<sup>150</sup>標識ガス(C<sup>150</sup>O<sub>2</sub>, <sup>150</sup>O<sub>2</sub>, C<sup>150</sup>O)を用いたPET撮像を行った。はじめにC<sup>150</sup>O<sub>2</sub> (1200 MBq/min)を15分間供給し、供給中の15分間を撮像した。次に<sup>150</sup>O<sub>2</sub> (2100 MBq/min)を15分間供給し、供給中の15分間を撮像した。最後にC<sup>150</sup>O (1800 MBq/min)を4分間供給し、供給開始から11分間を撮像した。合成装置から送られるガスのほとんどの成分は加速器によって<sup>150</sup>を生成するために使用する窒素であるため、酸素を追加し供給ガス中の酸素濃度が20%になるよう調整した。また、供給ガスに麻酔薬として1-2%のイソフルランを混合させた。供給ガスの流量は300 mL/minに設定し、排気ラインによって固定ホルダー内を10 L/minで換気した。PET撮像後すぐに、固定ホルダーを移動させMRI

装置に取り付けた。MRI 装置は、小動物用 7T の「BioSpec 70/30USR (Bruker BioSpin 社)」を使用し、T2 強調画像 (T2WI) と拡散テンソル画像 (ADC, FA) を撮影した。MRI 撮像中、ラットには麻酔薬として 1-2% イソフルランを吸入させた。

#### 経過観察

上記の PET/MRI 撮像を各個体に対して、モデル作成当日 (Day1)、1 日後 (Day2)、2 日後 (Day3)、7 日後 (Day8)、41 日後 (Day42) の計 5 回行い、低酸素性虚血性脳症の経過観察を行った。Day1 の撮像は、モデル作成後 1~3 時間以内に行った。

#### 脳循環代謝パラメータの導出

$C^{15}O_2$ ,  $^{15}O_2$ ,  $C^{15}O$  画像と数学的な薬物動態モデルを組み合わせることで、脳血流量、脳酸素代謝量、脳酸素摂取率、脳血液量の脳循環代謝パラメータを導出した。これらの導出に必要な血中放射能濃度の時間変化は、左心室の放射能濃度の時間変化から推定した [H. Iida et al., J Nucl Med 1998, 39, 1789]。

### (3) 非侵襲的機能パラメータ導出法の検討

本研究では、新たな非侵襲的機能パラメータの導出法として、「規格化 Steady State 法 (SS 法)」の検討を行った。従来の SS 法は、 $C^{15}O_2$  ガスを持続吸入し、定常状態での脳組織と動脈血中の放射能濃度から脳血流量を求める方法である。そのため、従来の手法では定常状態における動脈採血を必要とする。一方、規格化 SS 法は動脈血中と心臓の時間放射能曲線 (TAC) の形が同じという仮定によって、動脈採血をすることなく脳血流量を求める方法である。PET 装置で定常状態での脳組織と心臓の放射能濃度を測定し、これらを 1 に規格化することによって、原理的には脳組織の TAC の形から脳血流量を決めることができる。本研究では持続動脈採血を用いた PET 撮像を行い、本手法と従来法を比較した。健常ラットに  $C^{15}O_2$  ガスを持続吸入させ、吸入中のラットの脳を PET で撮像した。

## 4. 研究成果

### (1) 小動物 $^{15}O$ 標識ガス PET 検査システム

図 1 (a) は、本研究で作成した自己吸入のためのフェイスマスクとラット固定ホルダーである。図 1(a) の 1 は、不織布製のフェイスマスクである。開口部はラットの鼻を覆うよう調整されており、供給ガスはこのフェイスマスクを通じてラットに供給される。フェイスマスクの内部にはスポンジが入っており、供給ガスによる鼻の乾燥を抑えている。図 1(a) の 2 は、ラットの固定部である。ここにうつ伏せにラットを置く。図 1(a) の 3 は、固定ホルダーのふたである。これはフェイスマスク近傍の  $^{15}O$  標識ガスがホルダー外部へ飛散するのを防ぐためのものである。図 1(a) の 4 は、ホルダーの開口部を示しており、撮像中のラットに取り付けられる心拍計や直

腸温計などのケーブルをホルダー内部から外部へ通すことができる。図 1(a) の 5 は、ホルダーの末端を示しており、MRI 装置に取り付け可能な形状になっている。図 1(b) は、PET 撮像におけるラットと固定ホルダーの様子である。固定ホルダーの前方には二本のチューブが取り付けられている。赤矢印は合成装置から供給される  $^{15}O$  標識ガスを示しており、フェイスマスクに繋がっている。緑矢印は排気ラインを示しており、ホルダー内の不要な  $^{15}O$  標識ガスをポンプによって積極的に排気し、ホルダー内を換気している。図 1(a) の 4 の開口部からホルダー内部へ入った空気はフェイスマスクの方向へと流れ、最終的に回収タンクに貯められる。黒矢印はフェイスマスクを示しており、ラットの鼻がフェイスマスクによって覆われている。図 2 は作成した固定ホルダーを PET 装置と MRI 装置にセッティングしたときの様子である。このように、ホルダー内のラットを動かすことなく、ホルダーの移動のみで PET 撮像と MRI 撮像を行えるようになった。

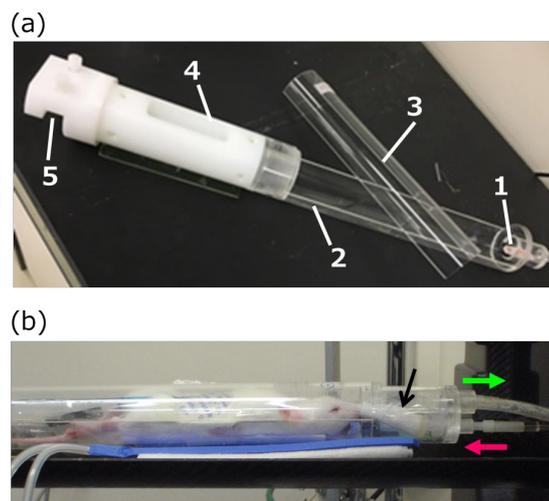


図 1: (a)作成したフェイスマスクと固定ホルダー。詳細は本文を参照。(b)PET 撮像におけるラットと固定ホルダー。赤矢印は供給ガスライン、緑矢印は排気ライン、黒矢印はフェイスマスクを示す。

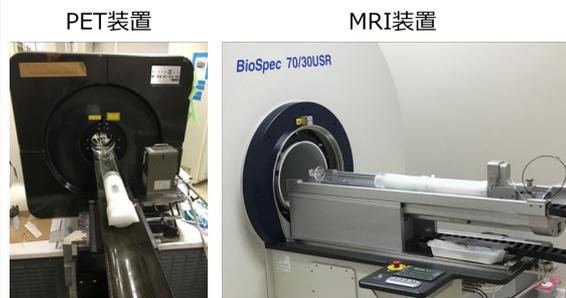


図 2: PET 装置と MRI 装置にセッティングした固定ホルダー。

(2) PET/MRI 撮像による低酸素性虚血性脳症モデルラットの経過観察

図3は、1個体に対するDay1からDay42までのPET/MRI撮像の代表的な画像である。図3の $C^{15}O_2$ と $^{15}O_2$ はガス供給開始から8分間の加算画像、また、 $C^{15}O$ はガス供給開始から6分間の加算画像である。脳の左側が患側、右側が健側である。図3のように、本研究で構築したPET/MRI撮像システムによって、同一個体による繰り返しイメージングを行うことが可能になった。図4は、現状の解析によって得られている脳の患側と健側にそれぞれ関心領域を設定した時の脳循環代謝パラメータである。脳血流量の変化は患側と健側で大きな違いは見られなかった。脳血流量は、Day1で一時的に低下するが、その後回復し、Day42で再び低下した。脳酸素摂取率は、脳血流量の低下を補うかのようにDay1で上昇し、その後徐々に低下した。脳酸素代謝量は、Day3まで患側と健側で有意な差はなかったが、Day8以降、患側が大きく低下した。この傾向はMRI画像(図3)とも一致し、Day8以降、T2WIとADCの患側に高信号が見られることから、細胞壊死が進行していることが示唆され、脳障害が進行する様子を観察できたと考えられる。

(3) 非侵襲的機能パラメータ導出法の検討

従来のSS法で得られた脳血流量は1.034 mL/g/minだったのに対して、規格化SS法で得られた脳血流量は1.310 mL/g/minだった。報告されている健常ラットの正常値は、実験条件の違いもあるため、0.3-0.6 mL/g/minであり、中心値を0.45 mL/g/minとすると±30%程度のばらつきがある。これと比較すると、今回得た脳血流量の絶対値は報告値よりも大きかったが、規格化SS法と従来法の相対的な違いは約30%であり、上記の報告値のばらつきと同程度だった。本手法の妥当性については、検査手技の見直しを含め、さらに検討する必要がある。

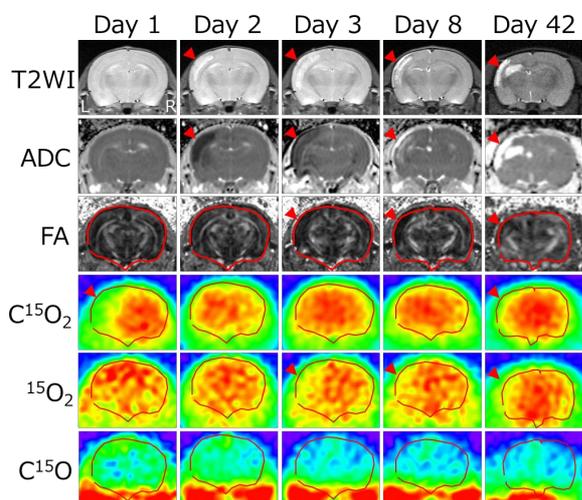


図3: 1個体に対するDay1からDay42までのPET/MRI撮像の代表的な画像。

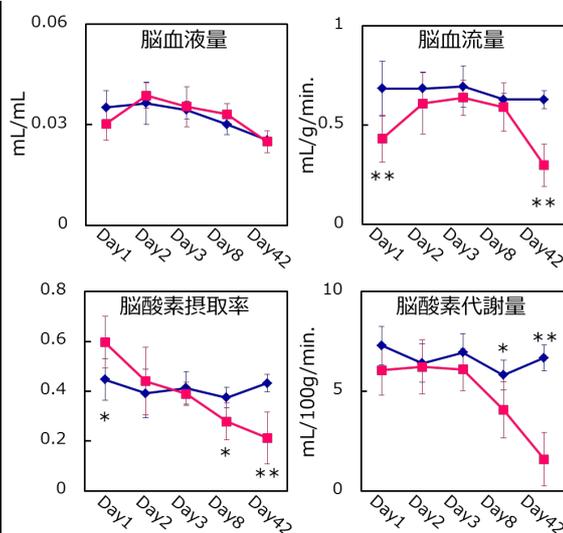


図4: 健側(青)と患側(赤)に関心領域を設定した時の脳循環代謝パラメータの時間変化。(\* p<0.05, \*\* p<0.01)

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3件)

T. Temma, K. Koshino, T. Moriguchi, J. Enmi, H. Iida, PET quantification of cerebral oxygen metabolism in small animals, *The Scientific World Journal*, 査読有, 2014, 159103 (7 pages)

Y. Hori, Y. Hirano, K. Koshino, T. Moriguchi, S. Iguchi, A. Yamamoto, J. Enmi, H. Kawashima, T. Zeniya, N. Morita, J. Nakagawara, M. Casey, H. Iida, Validity of using a 3-dimensional PET scanner during inhalation of  $^{15}O$ -labeled oxygen for quantitative assessment of regional metabolic rate of oxygen in man, *Physics in Medicine and Biology*, 査読有, 59, 2014, 5593-5609

H. Iida, S. Iguchi, N. Teramoto, K. Koshino, T. Zeniya, A. Yamamoto, N. Kudomi, T. Moriguchi, Y. Hori, J. Enmi, H. Kawashima, N. J. Shah, J. Nakagawara, Adequacy of a compartment model for  $CMRO_2$  quantitation using  $^{15}O$ -labeled oxygen and PET - A clearance measurement of  $^{15}O$ -radioactivity following intra-carotid bolus injection of  $^{15}O$ -labeled oxy-hemoglobin on *Macaca fascicularis*, *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 査読有, 34, 2014, 1434-1439

〔学会発表〕(計 11 件)

飯田秀博、150 ガス PET における新規供給・吸入システムの開発と有用性の評価、第 55 回日本核医学会学術総会、2015 年 11 月 5 日 - 7 日、ハイアットリージェンシー(東京都新宿区)

井口智史、150 ガス PET における無採血入力関数推定法の開発、第 55 回日本核医学会学術総会、2015 年 11 月 5 日 - 7 日、ハイアットリージェンシー(東京都新宿区)

M. Tsuji, Magnetic resonance imaging and positron emission tomography in immature rats with hypoxic ischemic brain injury, Neuroscience Meeting 2015, 2015 年 10 月 17 日 - 21 日, Chicago(USA)

山崎真、低酸素虚血性脳症ラットモデルを用いた非観血的脳循環代謝パラメータの計測について、第 10 回日本分子イメージング学会、2015 年 5 月 20 日 - 21 日, タワーホール船堀(東京都江戸川区)

J. Enmi, In vivo imaging-supported development of an intraluminal suture-based technique, World Molecular Imaging Congress 2014, 2014 年 9 月 17 日 - 20 日, Soul(Korea)

辻雅弘、ハイブリッド MR/PET イメージングによる小児低酸素性虚血性脳症ラットモデルの経時的解析、第 37 回日本神経科学大会、2014 年 9 月 11 日 - 13 日、パシフィコ横浜(神奈川県)

M. Ohshima, The hybrid PET and MR imaging of cerebral hemodynamics in rats with hypoxic-ischemic brain injury, XIII Turku PET Symposium, 2014 年 5 月 24 日 - 27 日、Turk PET Center(Finland)

大島麻妃子、ハイブリッド PET/MR システムによるラット脳梗塞巣に集積する貪食細胞のイメージング、第 9 回分子イメージング学会、2014 年 5 月 22 日 - 23 日、千里ライフサイエンスセンター(大阪府)

大島麻妃子、新生児脳症モデルマウス/ラットにおける脳循環動態、第 17 回日本心血管内分泌代謝学会学術総会、2013 年 11 月 21 日 - 22 日、横浜市開港記念会館(神奈川県)

J. Enmi, The value of hybrid PET and MR imaging with sequential inhalation of O-15-labeled gaseous tracers on rat model of cerebrovascular diseases, The 6th Korean-Japan Joint Stroke Conference, 2013 年 10 月 5 日 - 6 日, Knowledge Capital コングレコンベンションセンター(大阪)

圓見純一郎、ハイブリッド高磁場 MRI・150 標識ガス PET による急性期脳梗塞ラットの多角的イメージング解析、第 8 回日本分子イメージング学会、2013 年 5 月

30 日 - 31 日、横浜赤レンガ倉庫 1 号館(神奈川県)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

森口 哲朗 (MORIGUCHI TETSUAKI)  
筑波大学・数理物質系・助教  
研究者番号：10635890

### (2) 連携研究者

飯田 秀博 (IIDA HIDEHIRO)  
国立研究開発法人国立循環器病研究センター・画像診断医学部・部長  
研究者番号：30322720

圓見 純一郎 (ENMI JUN-ICHIRO)  
国立研究開発法人国立循環器病研究センター・画像診断医学部・上級研究員  
研究者番号：80393205

越野 一博 (KOSHINO KAZUHIRO)  
国立研究開発法人国立循環器病研究センター・画像診断医学部・室長  
研究者番号：90393206

天満 敬 (TEMMA TAKASHI)  
国立研究開発法人国立循環器病研究センター・画像診断医学部・室長  
研究者番号：90378787

寺本 昇 (TERAMOTO NOBORU)  
国立研究開発法人国立循環器病研究センター・画像診断医学部・研修生  
研究者番号：40372114

銭谷 勉 (ZENIYA TSUTOMU)  
国立研究開発法人国立循環器病研究センター・画像診断医学部・室長  
研究者番号：50443487

河嶋 秀和 (KAWASHIMA HIDEKAZU)  
京都薬科大学・放射性同位元素研究センター・准教授  
研究者番号：70359438

山崎 真 (YAMAZAKI MAKOTO)  
国立研究開発法人国立循環器病研究センター・画像診断医学部・流動研究員  
研究者番号：00734683

堀 祐樹 (HORI YUKI)  
国立研究開発法人国立精神・神経医療研究センター・脳病態統合イメージングセンター・研究員  
研究者番号：60635887

井口 智史 (IGUCHI SATOSHI)  
国立研究開発法人国立循環器病研究センター・画像診断医学部・特任研究員  
研究者番号：60635928

辻 雅弘 (TSUJI MASAHIRO)  
国立研究開発法人国立循環器病研究センター・再生医療部・室長  
研究者番号：80579467

大島 麻妃子 (OHSHIMA MAKIKO)  
国立研究開発法人国立循環器病研究センター・再生医療部・流動研究員  
研究者番号：50637527