

核医学的手法による血管内不安定プラーク治療薬 開発支援システムの構築に関する研究

厚生労働科学研究費補助金
萌芽的先端医療技術推進研究事業

平成18年度 総括・分担研究報告書

平成19(2007)年 4月

主任研究者 小川 美香子

目 次

I. 総括研究報告

核医学的手法による血管内不安定プラーク治療薬開発支援システムの構築に関する研究 -- 1

小川 美香子

II. 分担研究報告

1. 動物PET, SPECTによる解析に関する研究 ----- 6

間賀田 泰寛

2. 動物PET, SPECTによるインビボ評価系の確立に関する研究 ----- 8

寺本 昇

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 ----- 10

IV. 研究成果の刊行物・別刷 ----- 11

厚生労働科学研究費補助金（萌芽的先端医療技術推進研究事業）
総括研究報告書
核医学的手法による血管内不安定プラーク治療薬開発支援システムの構築に関する研究

主任研究者 小川 美香子 浜松医科大学 助手

研究要旨

本研究は、脳梗塞や心筋梗塞といった動脈硬化性疾患の原因となる不安定プラークを、安定プラークと区別して画像化するシステムを構築し、治療薬開発支援を目指すものである。すなわち、プラークの不安定性には炎症反応が大きく関与しており、ナノレベルでの種々のタンパク機能変化が惹起されているため、これらの変化を核医学的手法を用いて画像化することにより、医薬品の治療効果判定システムを構築することとする。本年度は、 ^{18}F FDG-PET を用いて治療効果の追跡が可能か検討を行い、本法によりプラーク安定化の動的な過程を非侵襲的に追うことができることを示した。

分担研究者

- ・間賀田 泰寛
浜松医科大学 教授
- ・寺本 昇
国立循環器病センター研究所 室員

平成 18 年度は、動脈硬化治療薬であるプロブコールを用い、これによるプラーク安定化の過程を ^{18}F FDG-PET を用いて追跡可能か、動脈硬化モデル動物である WHHL ウサギを用いて検討した。

A. 研究目的

最近、動脈硬化を引き起こすマルチプルリスクファクター症候群として、『メタボリックシンドローム』が注目を集めており、我が国では一千万人以上の患者が見込まれている。この動脈硬化病変に認められる不安定プラークは、破綻、血栓形成、血管内腔の閉塞という一連の病態を引き起こし、心筋梗塞・脳梗塞発症の原因となる。よって、不安定プラークを早期に検出し治療を行うことがこれらの疾患の予防のために重要である。また、薬剤によるプラークの安定化効果には個人差があり、さらに、個々のプラークについて追跡する必要があると考えられるため、その治療効果をモニターすることが重要である。現在、動脈硬化の治療効果の指標として血中脂質濃度が用いられているが、これは、必ずしもプラークの安定化を表すものではなく、また、個々のプラークについて評価することはできない。本研究は、このような不安定プラークを、安定プラークと区別して画像化するシステムを構築し、治療薬開発支援を目指すものである。

B. 研究方法

1. 動物・餌

動物は動脈硬化モデル動物である WHHL ウサギ 9 匹を用いた。ウサギには 10 ヶ月齢まで通常餌を与えた。なお、薬剤投与前のコントロールとして、この 10 ヶ月齢のウサギ一匹を sodium pentobarbital 投与により屠殺し、動脈の病理標本作製した。他のウサギを 4 匹ずつの二つのグループに分け、一つのグループには 1%プロブコールを含む餌を一日 130g、6 ヶ月間与えた。もう一つのグループには通常食を一日 130g、6 ヶ月間与えた。給水は適時行った。薬剤投与前、1, 3, 6 ヶ月後に体重、血中 LDL, HDL, 総コレステロール濃度、triglyceride 濃度を測定した。

2. CT と PET による画像化

血糖値の変動による影響をなくすため、少なくとも ^{18}F FDG 投与 6 時間前から絶食とした。 ^{18}F FDG(37 から 185 MBq)を耳静脈よりボラス投与し、 ^{18}F FDG 投与 180 分後から 15 分間 PET 撮像を行い、その後、iohexol を造影剤として用い造影 CT の撮像を行った。両群とも、薬

剤投与前（10ヶ月齢）、薬剤投与1,3,6ヶ月後にPET, CT撮像をした。得られた画像の大動脈に関心領域を置き、放射エネルギーを測定した。値はstandard uptake value (SUV)で表した。

$$SUV = (\text{関心領域の放射能濃度(kBq/mL)}) / \{ (\text{投与した放射エネルギー(kBq)}) / (\text{ウサギの体重(g)}) \}$$

3. [¹⁸F]FDGの大動脈集積に関する検討

薬剤投与6ヶ月後におけるCT, PET撮像を行った翌日にウサギを麻酔し、[¹⁸F]FDG (370 MBq)を耳静脈よりボーラス投与した。投与3時間後にペントバルビタールの過量投与によって安楽死させ、PLP溶液（75 mM L(+)-lysine hydrochloride、4% paraformaldehydeを含む37.5 mMのリン酸バッファー(pH 7.4)）により灌流固定を行った。腹部、胸部大動脈を取り出し、周囲の脂肪組織や結合組織を除いた後、10 mmの小片に切断、重量測定後、直ちにPLP溶液により組織固定をしつつ放射能をγカウンターにて測定した。これらの結果はdifferential uptake ratio (DUR)で表した。

$$DUR = \{ (\text{動脈小片中の放射能(Bq)}) / (\text{動脈小片の重さ(g)}) \} / \{ (\text{投与した放射エネルギー(Bq)}) / (\text{ウサギの体重(g)}) \}$$

4. 大動脈組織の病理観察

採取・組織固定した血管小片をパラフィンで包埋したのち、4 μmの薄切切片を作成した。それぞれの部位における連続切片をAzan-Mallory染色またはマクロファージに対する特異抗体であるRAM-11抗体を用いた免疫染色に賦した。免疫染色の際には、核の同定のためヘマトキシリンにより共染した。内膜の断面積および血管断面積はAzan-Mallory染色を施した切片を用いて測定した。また、RAM-11にて陽性に染まった細胞の核の数を数えることにより、マクロファージの数を計測した。

5. 統計処理

有意差検定は群間比較にはMann-Whitney U-testを、群内比較にはpaired t-testを用いて行った。

（倫理面への配慮）

動物実験は浜松医科大学および国立循環器病センター実験動物委員会の承認を受けて行い、麻酔下にて実験を行い動物に苦痛を与えないよう配慮した。

C. 研究結果

1. 体重・血中脂質濃度

Table 1に体重、血中コレステロール濃度、triglyceride濃度の値を示す。体重については、群間・群内とも差は認められなかった。HDL, LDL, 総コレステロール、triglycerideについてもコントロール群とプロブコール投与群の間に有意な差はなかった。総コレステロールについては、両群とも6ヶ月の観察期間内に減少が認められたが、プロブコール群の3, 6ヶ月後においては有意差は認められなかった。

Table 1. Effect of probucol treatments on body weight, plasma levels of total, LDL, HDL cholesterol and triglycerides in WHHL rabbits.

	0 month (10 months old)		1 month		3 months		6 months	
	probucol	control	probucol	control	probucol	control	probucol	control
Body weight (kg)	3.7 ± 0.2	3.8 ± 0.1	3.8 ± 0.2	3.9 ± 0.2	4.0 ± 0.2	4.0 ± 0.3	3.9 ± 0.2	4.0 ± 0.3
Total cholesterol (mg/dl)	965 ± 138	967 ± 153	694 ± 71*	741 ± 73*	781 ± 48	716 ± 98*	685 ± 220	660 ± 36*
LDL (mg/dl)	675 ± 160	630 ± 16*	509 ± 88	614 ± 97	587 ± 67	529 ± 85	483 ± 185*	488 ± 50
HDL (mg/dl)	18 ± 3	14 ± 3	16 ± 3	14 ± 3	13 ± 2	14 ± 6	11 ± 3*	12 ± 2
Triglycerides (mg/dl)	453 ± 147	360 ± 183	721 ± 241	447 ± 16*	629 ± 154	526 ± 160*	602 ± 216	572 ± 401

Data are presented as the mean ± SD.

*P<0.05 vs. corresponding value at month 0 (paired t-test).

No significant difference was seen in all parameters between the probucol and control groups (Mann-Whitney U-test).

2. PET, CT実験

得られたPET, CTおよびこれらの重ね合わせの画像をFigure 2に示す。薬剤投与前（10ヶ月齢）ではすべての個体において血管が描出された。プロブコール投与群では、投与6ヶ月後には血管が描出されなくなったが、コントロール群では6ヶ月の間血管が描出された。また、個体毎に血管への集積量を測定した結果をFigure 1に示す。コントロール群では放射能の血管への集積はほぼ一定あるいはやや上昇していたが、プロブコール投与群ではすべての個体において放射能の集積が減少していた。群毎に比較すると、プロブコール群においては投与3ヶ月後以降、コントロール群および投与前に比較し有意に放射能の集積が減少していた(Figure 3)。

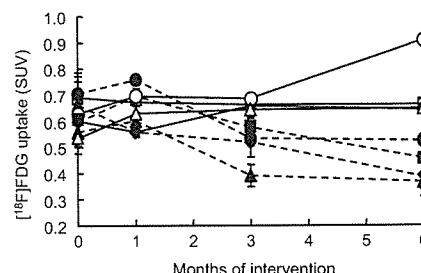


Figure 1. Course of [¹⁸F]FDG uptake (SUV) over the treatment period in WHHL rabbit thoracic aorta determined by PET.

The solid lines and open symbols represent data from each control rabbit (n=4) and the dotted lines and closed symbols represent data from each probucol treated rabbit (n=4).

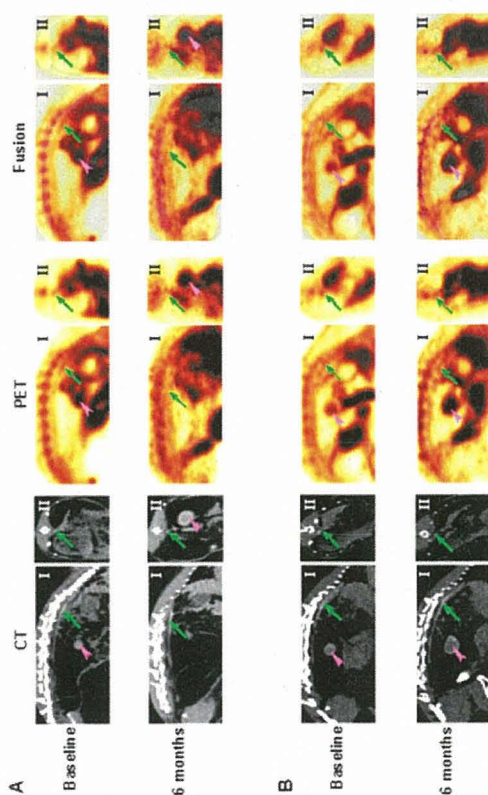


Figure 2. Typical PET, CT and superimposed PET/CT images in sagittal (I) and coronal (II) planes for probucol treated (A) or control (B) WHHL rabbits before intervention (baseline) and after 6 months of intervention. Green arrows and pink arrowheads indicate aortas and kidneys, respectively.

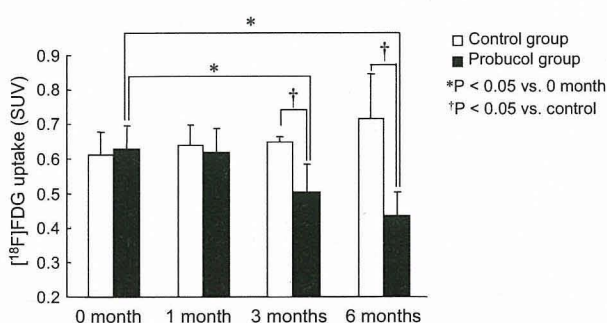


Figure 3. Sequential effect of probucol on $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ uptake in WHHL rabbit thoracic aorta. The data were obtained using PET. Each bar represents the summarized results for 4 rabbits per group.

3. $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ の大動脈への集積

$[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ 投与 3 時間後に大動脈を摘出して作製した小片の放射エネルギーを測定した結果、胸部大動脈への放射能の集積はプロブコール投与群に

においてコントロール群に比較し有意に減少していた (Figure 4)。腹部大動脈についても有意差は認められなかったものの、減少傾向であった。

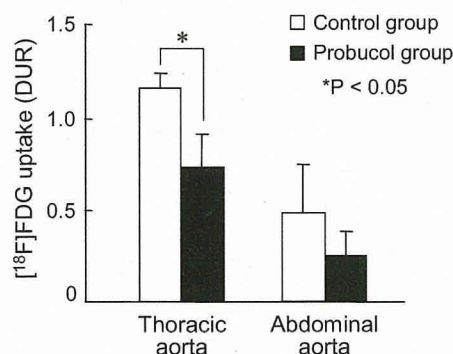


Figure 4. $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ uptake by aortic segments from WHHLMI rabbits in each group after 6 months of intervention. $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ uptake was measured using a gamma counter.

4. 大動脈の病理像および $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ 集積量との関係

Azan-Mallory 染色および免疫染色の結果を Figure 5 に、薬剤投与 6 ヶ月後におけるマクロファージの数および内膜/総血管面積比を Figure 6 に示す。薬剤投与前 (10 ヶ月齢) の WHHL ウサギの大動脈には多くのマクロファージの浸潤が認められた。プロブコール投与 6 ヶ月後では、マクロファージの浸潤量はコントロール群に比べ有意に減少していた。一方、内膜の肥厚度には差は認められなかった。また、血管への放射能の集積量はマクロファージ浸潤量と関連していた。

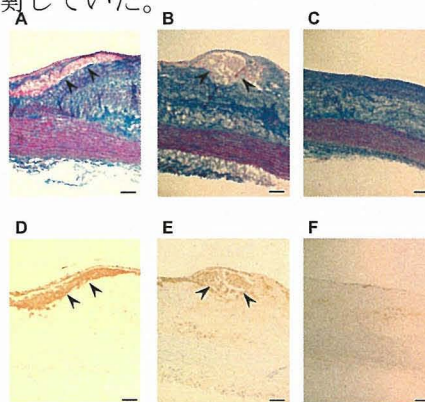


Figure 5. Photomicrographs of atherosclerotic lesions in thoracic aortas of pretreatment control 10-month-old WHHL (A, D), control (B, E), and probucol-treated (C, F) WHHLMI rabbits after 6 months of intervention. Azan-Mallory staining (A, B, C) and immunohistochemical staining with anti-macrophage monoclonal antibody RAM-11 (D, E, F) are shown. Macrophages can be seen (arrowheads) in each stained serial section from pretreatment control and control rabbits (A and D, B and E). Bars = 100 μm.

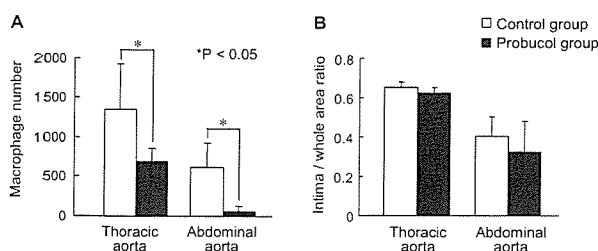


Figure 6. Effect of 6-month probucol treatment on macrophage number (A) and intima to whole cross section area ratio (B).

D. 考察

マクロファージの浸潤による炎症反応はプラーク破綻の主要原因であると言われている。よって、マクロファージが多く浸潤する不安定プラークを検出し、そのプラークについて治療効果を追跡しながら適切な治療を進めることが心筋梗塞や脳梗塞の予防に重要である。現在一般に、血中脂質濃度を評価対象として動脈硬化の治療が行われているが、脂質濃度の低下が必ずしもプラークの安定化を示すわけではない。例えば、ある種のスタチン化合物は血中コレステロール濃度を低下させるが、マクロファージの浸潤量は減少させないことが報告されている。すなわち、血中脂質濃度をモニタリングするだけでは、薬剤の治療効果を測るのに十分ではないと考えられる。

そこで、不安定プラークの治療効果評価に ^{18}F FDG-PET法が有効であるか検討を行った。プロブコールは血中脂質濃度に影響をほとんど与えないが、マクロファージの浸潤量を減少させプラークを安定化させることができると報告されている薬剤である。実際、本研究においても、プロブコールは血中脂質濃度に影響を及ぼさなかったが、マクロファージの浸潤量に関しては有意に減少させた。

今回検討に用いた10ヶ月齢のWHHLウサギの血管にはマクロファージが多く浸潤しており、 ^{18}F FDG-PETにより血管が明瞭に描出された。プロブコール投与群では血管への放射能の集積は投与開始3ヶ月後より減少し、6ヶ月後には血管が描出されなくなり、その治療効果を ^{18}F FDG-PETにより追跡することに成功した。マクロファージの浸潤量はプロブコール投与6ヶ月後において有意に減少していたが、内膜の肥厚度に関してはプロブコール投与群とコントロール群で差はなかったことから、この ^{18}F FDG集積量の減少はマクロファージ浸潤量

の減少、つまり、プラークの安定化を反映したものであると考えられる。なお、血中脂質レベルには両群に有意差は認められなかった。

したがって、本章での検討により、血中脂質レベルを評価することでは捉えられなかったプラーク安定化の過程を、 ^{18}F FDG-PETを用いて追跡することに成功し、 ^{18}F FDG-PETにより薬の治療効果を評価できることが示された。

E. 結論

本検討により、 ^{18}F FDG-PET法は不安定プラークにおけるマクロファージ浸潤量の動的変化の追跡が可能であること、またそれにより薬剤の治療効果を評価できることが示された。このことは、治療方針の決定や新しい治療薬の開発に大きく貢献すると考えられる。

今後、この結果を基盤に多角的な不安定プラークの画像化法・薬物による治療効果判定システムの開発を目指す。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Ogawa M, Magata Y, Kato T, Hatano K, Ishino S, Mukai T, Shiomi M, Ito K, Saji H.

Application of ^{18}F -FDG PET for monitoring the therapeutic effect of antiinflammatory drugs on stabilization of vulnerable atherosclerotic plaques.

J Nucl Med. 2006;47:1845-50.

2. 学会発表

Ogawa M, Magata Y, Kato T, Hatano K, Ito K, Ishino S, Mukai T, Shiomi M, Saji H.

Application of ^{18}F FDG-PET for monitoring the therapeutic effect of anti-inflammatory drug on stabilization of vulnerable atherosclerotic plaques.

53th Society of Nuclear Medicine Annual Meeting (San Diego), Jun 4-7, 2006

Ogawa M, Magata Y, Kato T, Hatano K, Ito K, Mukai T, Ishino S, Shiomi M, Saji H.

Application of Positron Emission Tomography (PET) for monitoring the therapeutic effect of vulnerable atherosclerotic plaques

第38回日本動脈硬化学会総会・学術集会(平成18年7月13日-14日、東京都、東京国際フォー

ラム) international session

小川 美香子、間賀田 泰寛、加藤 隆司、篠野 健太郎、伊藤 健吾、塩見 雅志、向 高弘、石野 誠悟、佐治 英郎

[¹⁸F]FDG-PET による不安定プラーク治療効果評価の試み

第 46 回日本核医学会総会 (平成 18 年 11 月 9 日-11 日、鹿児島市、かごしま県民交流センター)

小川 美香子

血管内不安定プラーク画像化の試み

PET サマーセミナー2006 (平成 18 年 8 月 21 日-23 日、名古屋市、ヒルトン名古屋)

小川 美香子

動脈硬化病変における不安定プラークの PET イメージング

NILS SEMINAR (平成 18 年 10 月 2 日、大府市、国立長寿医療センター研究所)

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生労働科学研究費補助金（萌芽的先端医療技術推進研究事業）
分担研究報告書
核医学的手法による血管内不安定プラーク治療薬開発支援システムの構築に関する研究
（動物 PET, SPECT による解析）

分担研究者 間賀田 泰寛 浜松医科大学 教授

研究要旨

脳梗塞や心筋梗塞の原因となる、動脈硬化性病変に生ずる不安定プラークを核医学的手法を用いて非侵襲的に画像化し、また、定量的に解析する方法を構築する。これにより、的確な治療薬効果判定を目指す。本年度は、 ^{18}F FDG-PET により、定量的な不安定性の評価および治療効果判定が可能であることを示した。

A. 研究目的

動脈硬化は血管内膜の肥厚を特徴とする病態である。動脈硬化病変に生じる不安定なプラークは突然破綻し、心筋梗塞や脳梗塞を引き起こす。したがって、これらの疾患の予防・治療のために、不安定プラークを選択的に検出し治療することが重要である。

これまで動脈硬化の診断には、血管の狭窄度を測定する血管造影が主に用いられてきたが、血管内腔体積はプラークの安定性に関連しないため、本手法ではプラークの安定性を判断できない。したがって、病変部位の機能変化に関する情報が得られる質的診断法の開発が期待されている。PET (positron emission tomography) をはじめとする核医学的診断法によれば用いる放射性薬剤の性質に応じ、生体機能を *in vivo* で非侵襲的かつ定量的に画像化することができるため、選択的な不安定プラークの描出や、その集積量からプラークの質的診断が可能となると考えられる。そこで本研究では、まず、 ^{18}F FDG-PET により不安定プラークの治療効果を追跡するための解析法および放射能の集積量と不安定性との関連について検討を行った。

B. 研究方法

動脈硬化モデル動物である WHHL ウサギを用いて実験を行った。動物を二群に分け、治療効果追跡のため、一方には動脈硬化治療薬プロブコールを 6 ヶ月間投与した。動物実験は浜松医科大学および国立循環器病センター実験動物委員会の承認を受けて行った。

^{18}F FDG(37 から 185 MBq)を耳静脈よりボー

ラス投与し、 ^{18}F FDG 投与 180 分後から 15 分間 PET 撮像を行い、その後、造影 CT の撮像を行った。CT の造影剤は iohexole を用いた。得られた CT および PET 画像は AIR (automatic image registration) ソフトウェアを用いて自動的に位置合わせを行った。得られた画像の大動脈に関心領域を置き、放射エネルギーを測定した。

また、CT, PET 撮像を行った翌日に、 ^{18}F FDG (370 MBq) を耳静脈よりボーラス投与し、3 時間後に屠殺した。大動脈を取り出し小片に分け、放射能を γ カウンターにて測定した。さらに、得られた血管の病理標本作製し、内膜の肥厚度およびマクロファージの浸潤量を計測した。

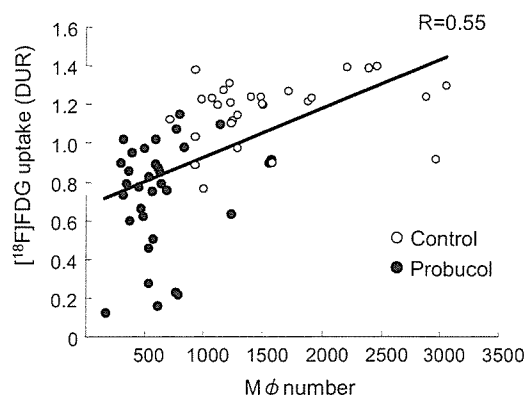
（倫理面への配慮）

動物実験は浜松医科大学および国立循環器病センター実験動物委員会の承認を受けて行い、麻酔下にて実験をし動物に苦痛を与えないよう配慮した。

C. 研究結果

CT と PET 画像を重ね合わせし、CT にて同定した血管へ関心領域をおくことにより、客観的に PET 画像上にて血管の放射能の集積量を求めることができた。なお、 ^{18}F FDG 投与量は 37MBq で明瞭に画像化できることがわかった。

血管への放射能の集積とマクロファージの浸潤量については、下図に示すように良好な相関関係が得られた。



D. 考察

PET 画像だけでは同定が困難な血管を、造影 CT 画像を用いて同定することにより、客観的な関心領域の設定が可能となった。これは、個体間、研究施行者間の誤差を減らすことにつながると考える。また、血管への放射能の集積量はマクロファージの浸潤量と関連し、PET によりプラークの安定化の過程を非侵襲的にとらえることができると示された。

E. 結論

本検討により、 ^{18}F FDG-PET と造影 CT を組み合わせることによって、プラークの安定化の過程を客観的に追跡可能であることが示された。これにより、定量的な不安定性の評価および的確な治療効果判定が可能となると考えられる。

G. 研究発表

1. 論文発表

Ogawa M, Magata Y, Kato T, Hatano K, Ishino S, Mukai T, Shiomi M, Ito K, Saji H.

Application of ^{18}F -FDG PET for monitoring the therapeutic effect of antiinflammatory drugs on stabilization of vulnerable atherosclerotic plaques.

J Nucl Med. 2006;47:1845-50.

間賀田 泰寛

『ライフサイエンスのためのアイソトープ測定機器 (第五シリーズ) “ライフサイエンスにおけるイメージング”』 I. PET 薬剤と動物用イメージング装置

RADIOISOTOPES 2006;55(7):405-418.

2. 学会発表

Ogawa M, Magata Y, Kato T, Hatano K, Ito K, Ishino S, Mukai T, Shiomi M, Saji H.

Application of ^{18}F FDG-PET for monitoring the

therapeutic effect of anti-inflammatory drug on stabilization of vulnerable atherosclerotic plaques.

53th Society of Nuclear Medicine Annual Meeting (San Diego), Jun 4-7, 2006

Ogawa M, Magata Y, Kato T, Hatano K, Ito K, Mukai T, Ishino S, Shiomi M, Saji H.

Application of Positron Emission Tomography (PET) for monitoring the therapeutic effect of vulnerable atherosclerotic plaques

第 38 回日本動脈硬化学会総会・学術集会 (平成 18 年 7 月 13 日-14 日、東京都、東京国際フォーラム) international session

小川 美香子、間賀田 泰寛、加藤 隆司、簗野 健太郎、伊藤 健吾、塩見 雅志、向 高弘、石野 誠悟、佐治 英郎

^{18}F FDG-PET による不安定プラーク治療効果評価の試み

第 46 回日本核医学会総会 (平成 18 年 11 月 9 日-11 日、鹿児島市、かごしま県民交流センター)

間賀田 泰寛

「核医学検査における放射性医薬品の基礎」

第 57 回静岡県核医学談話会 (平成 18 年 12 月 9 日、静岡市、静岡県男女共同参画センター)

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生労働科学研究費補助金（萌芽的先端医療技術推進研究事業）
分担研究報告書
核医学的手法による血管内不安定プラーク治療薬開発支援システムの構築に関する研究
（動物 PET, SPECT によるインビボ評価系の確立）

分担研究者 寺本 昇 国立循環器病センター研究所 室員

研究要旨

血管内不安定プラークの治療効果を、核医学的手法を用いて非侵襲的に評価するための、動物評価系を確立することを目的とする。本年度は、動脈硬化モデル動物である WHHL ウサギを用いた経時的な評価システムを確立した。

A. 研究目的

『メタボリックシンドローム』に特徴的な病態である動脈硬化病変に生じる不安定プラークは、心筋梗塞や脳梗塞などの疾患を引き起こす。よって、不安定プラークの検出・治療、さらには安定化を目的とした治療薬の開発が重要である。

これまで、治療薬の効果を経時的に追うためには、経過時間ごとに動物を屠殺し評価する必要があったため、個体間のばらつきや多くの動物を用いることによるコストが問題となっていた。これに対し、PET などの核医学画像化法を用いれば、一個体にて経時的に治療効果を判定することが可能となる。このことは、医薬品の効率的な in vivo スクリーニングの可能性を期待させる。すなわち、不安定プラーク構成成分の機能改善に着目した既存薬剤の有効性評価、あるいは新規薬剤の効率的な開発に大きく貢献することとなると考えられる。

そこで本研究では、不安定プラークの治療効果を、核医学的手法を用いて非侵襲的に評価するための、動物評価系を確立することを目的とし、まず、 ^{18}F FDG-PET を用いた評価系の構築を動脈硬化モデル動物である WHHL ウサギを用いて行った。

B. 研究方法

まず、PET、CT 間の位置ずれを防ぎ、また、数ヶ月の時間経過の後にも同じ体勢にて撮像するための検討を行った。ウサギへの負担を軽くするため紐などを用いた補綴を避け、また、PET 撮像時の放射線の吸収を低減するために、発泡ウレタンを用いることとした。ウサギを麻酔し、

ビニール袋にて保護をした後、発泡ウレタンを注ぐことにより一個体ごとに型取りをした。

また、血管の画像化のためには、血管・血液比が高いことが不可欠である。そこで、 ^{18}F FDG 投与後経時的にウサギを屠殺し、血管および血液を採取しその放射能を測定した。

（倫理面への配慮）

動物実験は国立循環器病センター実験動物委員会の承認を受けて行い、麻酔下で実験を行うにより動物に苦痛を与えないよう配慮した。

C. 研究結果

ウレタンフォームで個体ごとに型をとることにより、動物に負担の少ない姿勢で固定することができた。CT、PET 間でのずれもほとんど無く、血管の同定が容易であった。また、1, 3, 6 ヶ月後の PET、CT 撮像の際にも同姿勢にて固定することができた。

血管・血液比を検討した結果、表 1 に示すように、経時的に比が上昇した。しかしながら、血管への集積は 60 分以降、経時的に減少した。

表1 ^{18}F FDGの血管への集積および血管血液比

Time after injection	DUR	blood ratio
30 min	4.72 ± 1.21	1.28 ± 0.33
60 min	8.28 ± 0.69	2.43 ± 0.20
240 min	1.47 ± 0.90	3.18 ± 1.19

$$\text{DUR} = \frac{\text{tissue radioactivity (Bq)} / \text{tissue weight (kg)}}{\text{injected radioactivity (Bq)} / \text{animal body weight (kg)}}$$

D. 考察

ウレタンフォームを用いて動物を固定することにより、PET, CT 間の位置ずれを防ぐことができ、また、PET 画像上において 1, 3, 6 ヶ月後と同じ血管部位での測定が可能となった。これにより、個々のプラークの治療効果を追跡可能であると考えられた。

血管への放射能の集積量を PET 画像から測定するためには、高い血管血液比を示し、且つ、血管への十分な集積がある時点での計測が重要である。血液比は ^{18}F FDG 投与後、時間とともに上昇したが、血管への集積量は投与 60 分以降減少した。よって、 ^{18}F FDG 投与少なくとも 1 時間経過以降、4 時間までの時点での PET 撮像が適していると考えられる。

E. 結論

本検討により、同一個体において同一部位でのプラークの治療効果を PET にて追跡できることが示された。また、 ^{18}F FDG 投与後 1 時間以降 4 時間が PET 撮像に適した時間であると示唆された。

G. 研究発表

1. 論文発表

2. 学会発表

Teramoto Noboru, Watabe Hiroshi, Iida Hidehiro. Development of porcine model for old myocardial infarction and assessment system for therapeutic trials of myocardial regeneration medicine using positron emission tomography (PET).

第 53 回日本実験動物学会総会, 神戸市, 2006 11-13 May

合瀬 恭幸, 寺本 昇, 大田 洋一郎, 久富 信之, 渡部 浩司, 飯田 秀博.

ラット大腿動静脈シャントによる入力関数収集法の妥当性評価. 第 46 回 日本核医学会学術総会, Japan, Kagoshima., 2006 9-11 Nov

寺本 昇, 越野 一博, 大田 洋一郎, 久富信之, 林 拓也, 渡部 浩司, 横山郁夫, 宮川 繁, 澤芳樹, 飯田 秀博.

ブタ慢性心筋梗塞モデルにおける ^{15}O -標識水 PET を用いた心筋組織再生医療の評価. 第 46 回 日本核医学会学術総会, 鹿児島県民交流センター, 2006 9-11 Nov

朴 日淑, 林 拓也, 寺本 昇, 久富 信之, 大田 洋一郎, 渡部 浩司, 飯田 秀博.

サル急性脳塞栓モデルの作成と PET を用いた病態評価. 第 46 回 日本核医学会学術総会, Japan, Kagosima., 2006 9-11 Nov

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Ogawa M, Magata Y, Kato T, Hatano K, Ishino S, Mukai T, Shiomi M, Ito K, Saji H.	Application of ^{18}F -FDG PET for monitoring the therapeutic effect of antiinflammatory drugs on stabilization of vulnerable atherosclerotic plaques.	J Nucl Med.	47	1845-50	2006
間賀田 泰寛	『ライフサイエンスのためのアイソトープ測定機器（第五シリーズ）“ライフサイエンスにおけるイメージング”』 I. PET 薬剤と動物用イメージング装置	RADIOSOTOPES	55(7)	405-418	2006

Application of ^{18}F -FDG PET for Monitoring the Therapeutic Effect of Antiinflammatory Drugs on Stabilization of Vulnerable Atherosclerotic Plaques

Mikako Ogawa^{1,2}, Yasuhiro Magata¹, Takashi Kato², Kentaro Hatano², Seigo Ishino³, Takahiro Mukai⁴, Masashi Shiomi⁵, Kengo Ito², and Hideo Saji³

¹Laboratory of Genome Bio-Photonics Photon Medical Research Center, Hamamatsu University School of Medicine, Hamamatsu, Japan; ²Department of Brain Science and Molecular Imaging, National Institute for Longevity Sciences, National Center for Geriatrics and Gerontology, Obu, Japan; ³Department of Patho-Functional Bioanalysis, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Kyoto University, Kyoto, Japan; ⁴Department of Chemo-Pharmaceutical Sciences, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Kyushu University, Fukuoka, Japan; and ⁵Institute for Experimental Animals, Kobe University School of Medicine, Kobe, Japan

The rupture of atherosclerotic vulnerable plaques and subsequent formation of thrombi are the main factors responsible for myocardial and cerebral infarctions. Because macrophage infiltration plays an essential role in plaque rupturing, pharmacologic therapy that reduces macrophage infiltration is required to stabilize the vulnerable plaques. The monitoring of therapeutic effect is important in assessing the therapeutic effects of drugs for individual patients. We previously reported that ^{18}F -FDG accumulates in macrophage-rich plaques. The present study was undertaken to investigate the usefulness of ^{18}F -FDG PET for monitoring therapies that target vascular inflammation. **Methods:** Myocardial infarction-prone Watanabe heritable hyperlipidemic rabbits were used in this study. The antioxidant probucol was included in the diet fed to 4 rabbits starting at 10 mo of age (probuco group). In a control study, 4 rabbits received standard rabbit chow (control group). ^{18}F -FDG PET experiments were performed on both groups before the study and at 1, 3, and 6 mo after treatment. After the last imaging session, the rabbits were sacrificed at 3 h after injection of ^{18}F -FDG, and the aortas were removed. The accumulated radioactivity was then measured, and the number of macrophages was determined by examination of stained sections. **Results:** At the age of 10 mo, before the treatment, the aorta could be imaged by ^{18}F -FDG PET in all rabbits. The aorta could not be imaged after 6 mo of probuco treatment, whereas intense radioactivity was observed in the control rabbits throughout the investigation. The standardized uptake values (SUVs) of the aorta were decreased significantly in the probuco group after 3 mo of intervention as compared with the pretreatment period. The SUVs of the control group were increased gradually at 6 mo. Radioactivity in the aorta was significantly lower in the probuco group than that in the control group. Macrophages were already present at the be-

ginning of the study, and probuco treatment for 6 mo resulted in a significant reduction of macrophage infiltration. **Conclusion:** ^{18}F -FDG PET was able to image the reduction of inflammation by probuco. ^{18}F -FDG PET should be useful for evaluating the therapeutic effect of drugs clinically and for the development of new drugs that can stabilize vulnerable plaques. ^{18}F -FDG PET should be useful for evaluating the therapeutic effect of drugs clinically and for the development of new drugs that can reduce inflammation of vulnerable plaques.

Key Words: ^{18}F -FDG PET; atherosclerosis; vulnerable plaque; therapeutic effect; probuco

J Nucl Med 2006; 47:1845–1850

The rupture of atherosclerotic plaque and ensuing thrombus formation are primarily responsible for myocardial and cerebral infarctions (1–3). Atherosclerotic plaques are classified into 2 types, stable and vulnerable, with the latter having a high risk of rupture. Thus, the detection of atherosclerotic plaques prone to rupture is clinically important for risk stratification and to provide early treatment. Inflammation plays an essential role in plaque rupturing, and macrophage infiltration is characteristic of the vulnerable plaques (4). Recently, we and another group have shown that ^{18}F -FDG accumulates in macrophage-rich plaques, and ^{18}F -FDG PET has been suggested to be useful for the selective detection of vulnerable plaques (5–7).

Many drugs have been tested for their ability to stabilize plaque (8), and macrophages are one of the targets of these pharmacologic therapies (9). However, because drug effects vary among individuals, monitoring the therapeutic effect is important for selecting the appropriate drug for individual patients. The present study was undertaken to investigate the usefulness of ^{18}F -FDG PET for monitoring therapies

Received May 30, 2006; revision accepted Jul. 28, 2006.

For correspondence or reprints contact: Hideo Saji, PhD, Department of Patho-Functional Bioanalysis, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Kyoto University, Sakyo-ku, Kyoto 606-8501, Japan.

E-mail: hsaji@pharm.kyoto-u.ac.jp

COPYRIGHT © 2006 by the Society of Nuclear Medicine, Inc.

that target vascular inflammation. We used probucol in Watanabe heritable hyperlipidemic rabbits with myocardial infarction (WHHLMi rabbits) (10)—a widely used animal model of atherosclerosis (11,12)—because probucol is an antioxidant known to reduce the extent of macrophage infiltration in atherosclerotic lesions in these rabbits (13). The atherosclerotic plaque of WHHLMi rabbits does not rupture but its pathologic characteristics have been reported to resemble those of the human lesion (10,14,15).

MATERIALS AND METHODS

Animals and Diets

Pure probucol powder was kindly supplied by Daiichi Pharmaceutical Co. Ltd. WHHLMi rabbits bred at Kobe University were used in this study. The animals were fed standard rabbit chow (type RC4; Oriental Yeast Co., Ltd.) until the age of 10 mo. One rabbit was killed under anesthesia with sodium pentobarbital, and the aorta was removed at the beginning of the experiment to be used as a pretreatment control to investigate atherosclerotic lesions of the aorta. Other rabbits were divided into 2 groups. Four rabbits were fed chow (130 g/d) containing 1% (w/w) probucol for 6 mo (probucol group). We chose this dose according to previously published methods (16–19), although this dose is about 20 times higher than the recommended human dose. Four rabbits in the control group were given standard rabbit chow (130 g/d) for 6 mo. Water was available *ad libitum* for all rabbits. Before drug treatment and at 1, 3, and 6 mo after drug administration, body weight and plasma levels of total, low-density lipoprotein (LDL), and high-density lipoprotein (HDL) cholesterol and triglycerides were evaluated. The Animal Care and Use Committee of the Hamamatsu University School of Medicine approved all experiments.

PET and CT

The animals were fasted for at least 6 h before receiving ^{18}F -FDG. Before the imaging study, the individual body shape was taken with urethane hardening foam to maintain the stereotactic position. ^{18}F -FDG PET and CT experiments were performed at 10 mo of age and after 1, 3, and 6 mo of intervention in both groups according to a previously reported method with slight modification (5). Briefly, the rabbits were anesthetized and ^{18}F -FDG (37–185 MBq) was injected into a marginal ear vein. PET was performed for 15 min at 180 min after injection of ^{18}F -FDG using an ECAT EXACT HR PET scanner (Siemens AG). We chose this time point according to the method of Tawakol et al. (6). After the PET study, a CT angiogram was acquired with an X-force CT scanner (Toshiba Medical Corp.) using iohexol as a contrast agent. PET images were calibrated to the injected dose of ^{18}F -FDG. For measurement of radioactivity in the thoracic aorta, 4 circular regions of interests (ROIs) (3 mm² for each ROI) were drawn on the aorta. The analysis was undertaken with no knowledge of the animal group. The standardized uptake value (SUV) was calculated by dividing the tissue concentration (kBq/mL) by the injected dose per gram of body weight (kBq/g).

^{18}F -FDG Biodistribution Study

The biodistribution study was performed on the day after the CT and PET study, 6 mo after probucol administration. The rabbits were anesthetized and ^{18}F -FDG (370 MBq) was injected into a marginal ear vein. Three hours after the ^{18}F -FDG injection, the

animals were sacrificed with an overdose of sodium pentobarbital. Perfusion fixation was then performed using PLP solution (75 mmol/L L-(+)-lysine hydrochloride and 4% paraformaldehyde in 37.5 mmol/L phosphate buffer, pH 7.4). The thoracic and abdominal aortas were subsequently removed, cut into 10-mm segments, and weighed. The segments were immediately postfixed in PLP solution, and radioactivity was measured with a well-type γ -counter (COBRA; Packard Co. Ltd.). The results are expressed as the differential uptake ratio (DUR):

$$\text{DUR} = \frac{\text{tissue activity (Bq)/tissue weight (kg)}}{\text{injected RI activity (Bq)/animal body weight (kg)}}$$

Histology

Each arterial segment was embedded in paraffin after the radioactivity was measured. Consecutive 4- μm -thick sections were prepared from each segment and the sections were subjected to immunohistochemical staining or azan-Mallory staining. Immunohistochemistry was performed according to the method reported by Tsukada et al. using the rabbit macrophage-specific monoclonal antibody RAM-11 (Dako Corp.) (20). These slices were also costained with hematoxylin for identification of the nucleus. The number of macrophages was determined by counting the nuclei of RAM-11-positive cells in each slice. The intima and whole area were measured on an azan-Mallory-stained consecutive cross-section of RAM-11 staining.

Statistical Analysis

Data are presented as the mean \pm SD. Statistical analysis was performed using the Mann-Whitney *U* test or paired *t* test for comparisons between or within groups, respectively. Statistical significance was established at $P < 0.05$.

RESULTS

Body Weight and Lipid Profile

Body weight, plasma levels of cholesterol, and plasma levels of triglycerides in the probucol and control groups are given in Table 1. During the experiments, there was no statistically significant difference in body weight between or within the groups. No significant difference was seen in the plasma concentrations of total, LDL, and HDL cholesterol or triglycerides between the probucol and control groups. Total plasma cholesterol levels decreased over the 6 mo of intervention in both groups compared with the levels at the beginning of the study, although the differences were not significant at 3 and 6 mo in the probucol group.

PET Study

Figure 1 shows the CT, PET, and superimposed images of CT and PET of the WHHLMi rabbits. The arrows indicate the position of the aorta. At the age of 10 mo, the aorta could be imaged in all rabbits. In the probucol group, the aorta was not imaged after 6 mo of treatment. In contrast, intense radioactivity was observed in control rabbits throughout the 6-mo investigation. The time course of ^{18}F -FDG uptake over the treatment period of the thoracic aortas in individual rabbits is shown in Figure 2. The SUVs decreased in all probucol-treated rabbits after 3 mo of drug treatment.

TABLE 1
Effect of Probucol Treatments on Body Weight and on Plasma Levels of Total, LDL, and HDL Cholesterol and Triglycerides in WHHLM1 Rabbits

Parameter	0 mo (10 mo old)		1 mo		3 mo		6 mo	
	Probucol	Control	Probucol	Control	Probucol	Control	Probucol	Control
Body weight (kg)	3.7 ± 0.2	3.8 ± 0.1	3.8 ± 0.2	3.9 ± 0.2	4.0 ± 0.2	4.0 ± 0.3	3.9 ± 0.2	4.0 ± 0.3
Total cholesterol (mg/dL)	965 ± 138	967 ± 153	694 ± 71*	741 ± 73*	781 ± 48	716 ± 98*	685 ± 220	660 ± 36*
LDL (mg/dL)	675 ± 160	630 ± 167	509 ± 88	614 ± 97	587 ± 67	529 ± 85	483 ± 185*	488 ± 50
HDL (mg/dL)	18 ± 3	14 ± 3	16 ± 3	14 ± 3	13 ± 2	14 ± 6	11 ± 3*	12 ± 2
Triglycerides (mg/dL)	453 ± 147	366 ± 183	721 ± 241	447 ± 167	629 ± 154	526 ± 160*	602 ± 216	572 ± 401

* $P < 0.05$ vs. corresponding value at month 0 (paired t test).

Data are presented as mean ± SD. No significant difference was seen in all parameters between probucol and control groups (Mann-Whitney U test).

whereas the SUVs remained constant or increased in control rabbits. SUVs for the 4 rabbits in each group are shown in Figure 3. The SUVs decreased significantly in the probucol group after 3 mo of treatment compared with the pretreatment period and the control group. The SUVs of the control group increased gradually with time.

Accumulation of ^{18}F -FDG in Aortic Segments

DURs in the removed aortic segments after 6 mo of intervention are summarized in Figure 4. ^{18}F -FDG uptake in the thoracic aorta was significantly lower in the probucol-treated group than that in the control group. Uptake in the abdominal aorta was also lower in the probucol group than

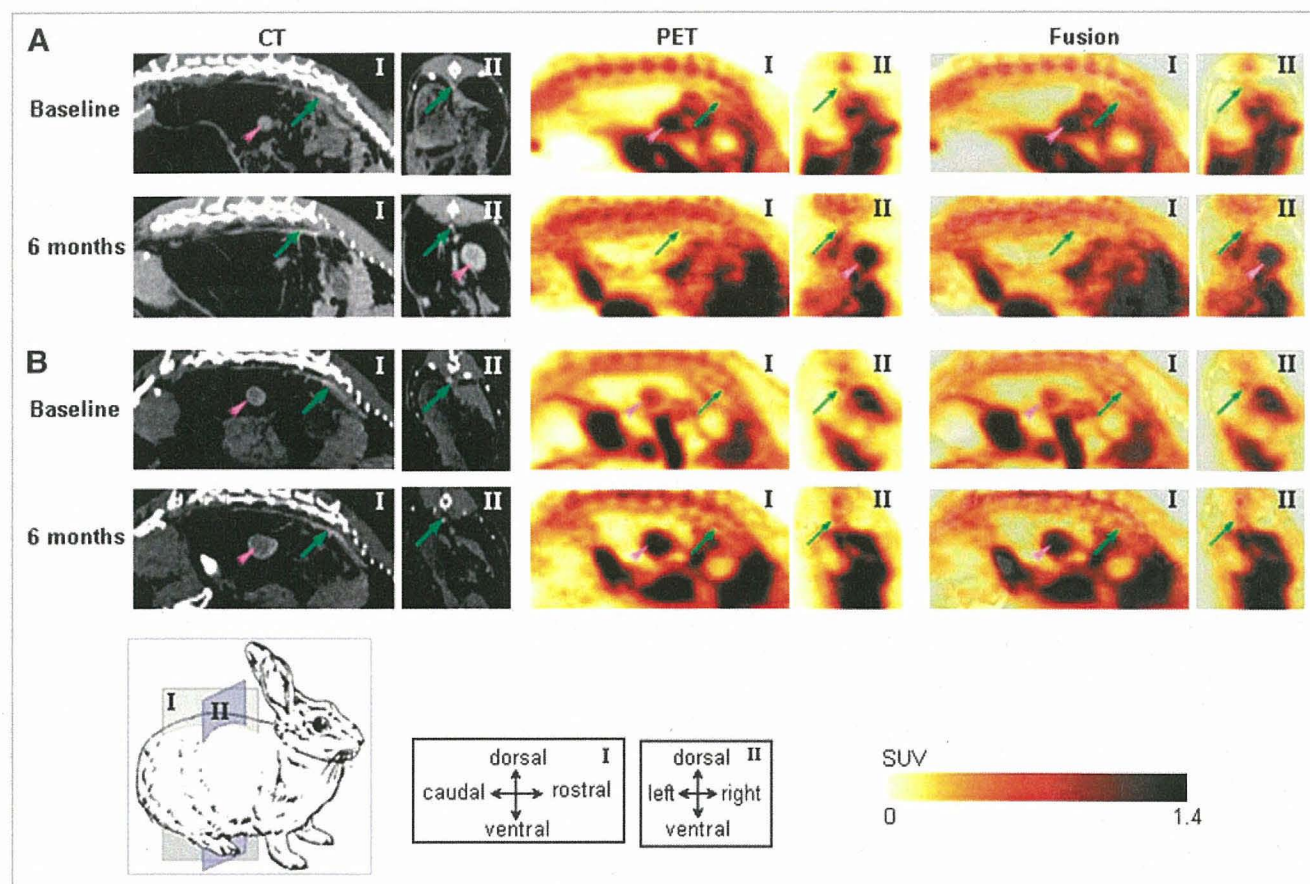


FIGURE 1. Typical PET, CT, and superimposed PET/CT images in sagittal (I) and coronal (II) planes for probucol-treated (A) or control (B) WHHLM1 rabbits before intervention (baseline) and after 6 mo of intervention. Green arrows and pink arrowheads indicate aortas and kidneys, respectively.

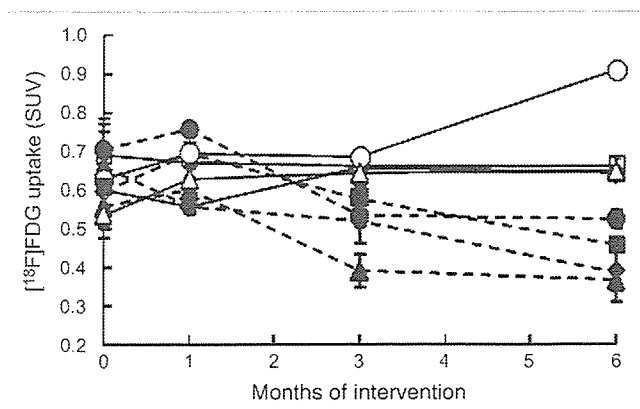


FIGURE 2. Course of ^{18}F -FDG uptake (SUV) over treatment period in WHHLM rabbit thoracic aorta determined by PET. Solid lines and open symbols represent data from each control rabbit ($n = 4$); dashed lines and closed symbols represent data from each probucol-treated rabbit ($n = 4$).

that in the control group, although the difference was not significant.

Histologic Analysis

Typical images of azan-Mallory-stained and immunohistochemically stained slices are shown in Figure 5. As expected, macrophages were already found at the beginning of the study—that is, at the age of 10 mo. Probucol treatment for 6 mo resulted in a reduction of macrophage infiltration. The number of infiltrated macrophages in the thoracic and abdominal aortas was significantly lower in the probucol-treated group than that in the control group at the end of the

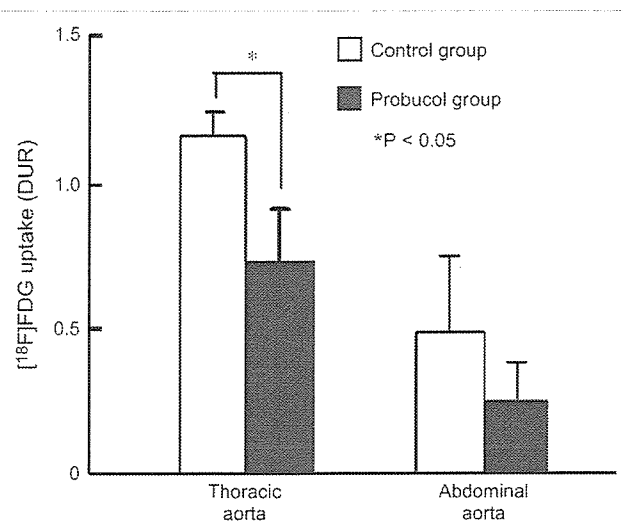


FIGURE 4. ^{18}F -FDG uptake by aortic segments from WHHLM rabbits in each group after 6 mo of intervention. ^{18}F -FDG uptake was measured using a γ -counter.

6-mo investigation (Fig. 6A). Intimal thickening was affected negligibly by probucol treatment (Fig. 6B).

The relationship between ^{18}F -FDG uptake and macrophage number in the thoracic segments is plotted in Figure 7. The segments from probucol-treated rabbits showed lower ^{18}F -FDG uptake and macrophage infiltration than that of the control group.

DISCUSSION

Macrophage infiltration has been identified as one of the leading causes of plaque disruption. We have recently shown that ^{18}F -FDG PET can detect macrophage-rich plaques (5). Once a vulnerable plaque is detected, a sequential follow-up of that plaque is important to ensure the effectiveness of drug therapy for the prevention of myocardial and cerebral infarctions. Lipid-lowering therapy does not always lead to stabilization of vulnerable plaques. Some statins can reduce plasma cholesterol, but they do not decrease macrophage infiltration (21,22). Thus, monitoring plasma lipids alone is not sufficient for determining the therapeutic effect of drugs.

In this study, we aimed to investigate whether ^{18}F -FDG PET can be used to monitor the effectiveness of therapies that target vascular inflammation. The lipid-lowering effect of probucol is moderate, and probucol did not decrease plasma cholesterol in some animal studies (13,23); however, probucol can reduce macrophage-rich, fatty-streak lesions even in advanced atherosclerosis (13). Thus, probucol was selected as a model therapeutic drug, because it is known to decrease macrophage infiltration, which can be imaged by ^{18}F -FDG PET. Although no difference in plasma cholesterol levels was shown between the probucol group and the control group in our investigation, macrophage

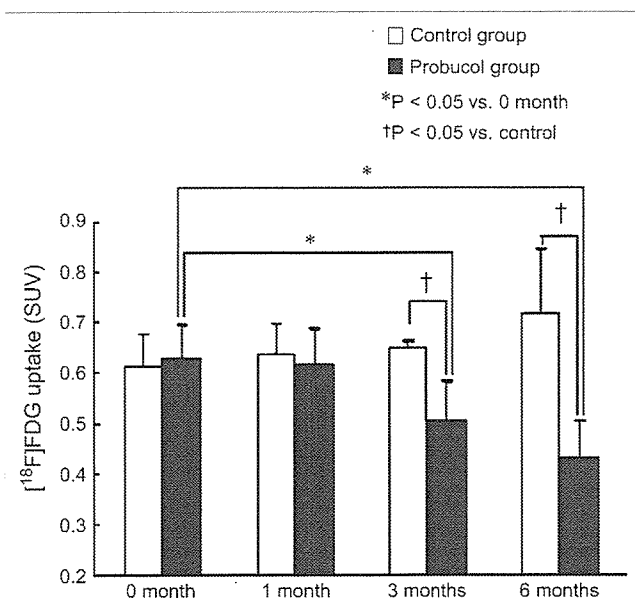


FIGURE 3. Sequential effect of probucol on ^{18}F -FDG uptake in WHHLM rabbit thoracic aorta. Data were obtained using PET. Each bar represents summed results for 4 rabbits per group.

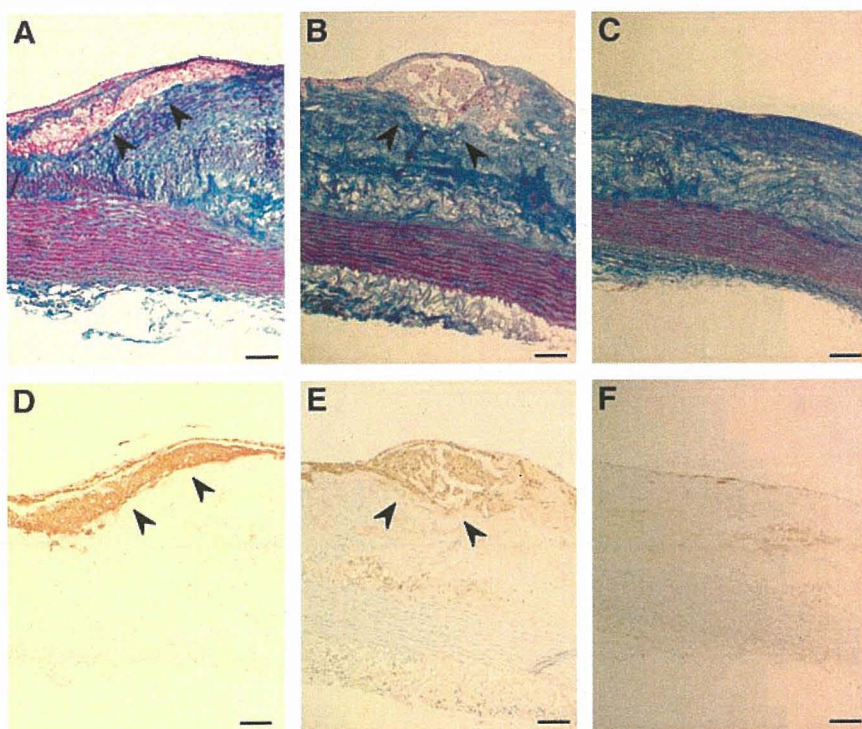


FIGURE 5. Photomicrographs of atherosclerotic lesions in thoracic aortas of pretreatment control 10-mo-old WHHLM rabbits (A and D), control WHHLM rabbits (B and E), and probucol-treated WHHLM rabbits (C and F) after 6 mo of intervention. Azan-Mallory staining (A–C) and immunohistochemical staining with antimacrophage monoclonal antibody RAM-11 (D–F) are shown. Macrophages can be seen (arrowheads) in each stained serial section from pretreatment control rabbits (A and D) and control rabbits (B and E). Bars = 100 μ m.

infiltration was decreased in the probucol-treated rabbits, in agreement with the earlier study (13).

Ten-month-old WHHLM rabbits, which have established atherosclerotic lesions with macrophage infiltration, were used in this study. The aorta could be imaged at the beginning of the study by ^{18}F -FDG PET. The accumulation of radioactivity decreased over the course of probucol treatment and we were able to monitor the therapeutic outcome using ^{18}F -FDG PET. These results were supported by the measurement of radioactivity in aortic segments with a well-type γ -counter. No difference in blood glucose level was observed between groups during the PET studies throughout the experimental period. Our previous report showed that macrophages are responsible for ^{18}F -FDG accumulation in atherosclerotic lesions but not intimal thickening (5). Because the ratio of the intima to the whole cross-section area was unaffected by probucol treatment, the decrease in ^{18}F -FDG uptake likely resulted from the decrease in the

number of infiltrated macrophages. Thus, ^{18}F -FDG PET enabled us to image the reduction of inflammation that is responsible for plaque rupture.

Monitoring of coronary plaques is important for the prevention of cardiovascular disease. Because coronary plaques are small and the spatial resolution of PET is low, it may be difficult to detect these small plaques. However, Johnson et al. recently demonstrated the usefulness of $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -annexin V SPECT for identifying plaque apoptosis in coronary vessels of swine (24). Therefore, ^{18}F -FDG PET would be available for evaluation of the drug effect in reducing inflammation on coronary plaque.

CONCLUSION

This study has shown the usefulness of ^{18}F -FDG PET for monitoring the reduction of inflammation in plaque. Because the stabilization of vulnerable plaques is important for atherosclerosis therapy, clinical application of this

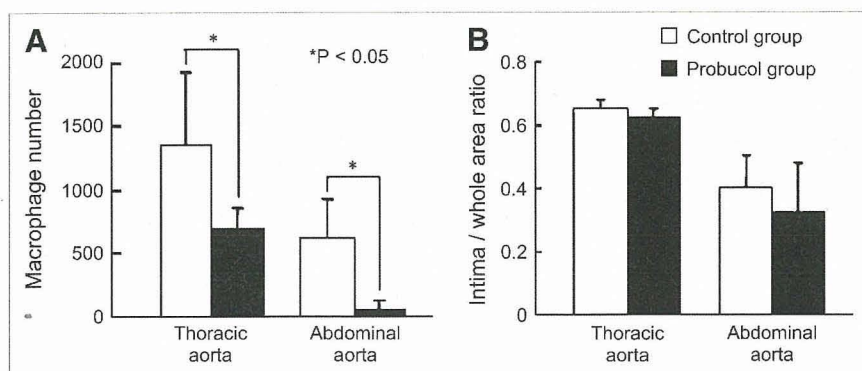


FIGURE 6. Effect of 6-mo probucol treatment on macrophage number (A) and ratio of intima to whole cross-section area (B).

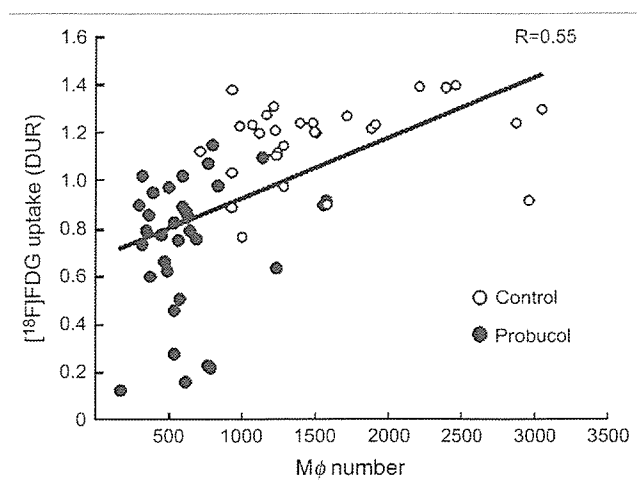


FIGURE 7. Correlation between ^{18}F -FDG uptake and macrophage (Mφ) number in thoracic aortic segments from WHHLMI rabbits.

imaging system would be efficient for assessing the therapeutic effect of drugs. In addition, this method would also be useful for developing new drugs that can reduce inflammation in atherosclerotic plaque independently of lowering the level of cholesterol.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank Eri Mikata (Hamamatsu University School of Medicine) and Kumiko Yoshimura (National Center for Geriatrics and Gerontology) for technical assistance. We also thank Junichiro Abe (National Center for Geriatrics and Gerontology) for cyclotron operation and ^{18}F -FDG synthesis. This study was supported by Health and Labor Sciences Research Grants, Research on Advanced Medical Technology. This study was also supported in part by a Grant in Aid for the Center of Excellence at Hamamatsu University School of Medicine (Medical Photonics) from the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology of Japan.

REFERENCES

1. Lendon C, Born GV, Davies MJ, Richardson PD. Plaque fissure: the link between atherosclerosis and thrombosis. *Nouv Rev Fr Hematol*. 1992;34:27–29.
2. Fuster V, Lewis A. Conner Memorial Lecture: mechanisms leading to myocardial infarction—insights from studies of vascular biology. *Circulation*. 1994;90:2126–2146.
3. Schroeder AP, Falk E. Vulnerable and dangerous coronary plaques. *Atherosclerosis*. 1995;118:S141–S149.

4. Libby P. What have we learned about the biology of atherosclerosis? The role of inflammation. *Am J Cardiol*. 2001;88:33–61.
5. Ogawa M, Ishino S, Mukai T, et al. ^{18}F -FDG accumulation in atherosclerotic plaques: immunohistochemical and PET imaging study. *J Nucl Med*. 2004;45:1245–1250.
6. Tawakol A, Migrino RQ, Hoffmann U, et al. Noninvasive in vivo measurement of vascular inflammation with F-18 fluorodeoxyglucose positron emission tomography. *J Nucl Cardiol*. 2005;12:294–301.
7. Rudd JH, Warburton EA, Fryer TD, et al. Imaging atherosclerotic plaque inflammation with [^{18}F]-fluorodeoxyglucose positron emission tomography. *Circulation*. 2002;105:2708–2711.
8. Monroe VS, Kerensky RA, Rivera E, Smith KM, Pepine CJ. Pharmacologic plaque passivation for the reduction of recurrent cardiac events in acute coronary syndromes. *J Am Coll Cardiol*. 2003;41(4 suppl S):235–30S.
9. Li AC, Glass CK. The macrophage foam cell as a target for therapeutic intervention. *Nat Med*. 2002;8:1235–1242.
10. Shiomi M, Ito T, Yamada S, Kawashima S, Fan J. Development of an animal model for spontaneous myocardial infarction (WHHLMI rabbit). *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2003;23:1239–1244.
11. Watanabe Y. Serial inbreeding of rabbits with hereditary hyperlipidemia (WHHL-rabbit). *Atherosclerosis*. 1980;36:261–268.
12. Shiomi M, Ito T, Shiraisi M, Watanabe Y. Inheritability of atherosclerosis and the role of lipoproteins as risk factors in the development of atherosclerosis in WHHL rabbits: risk factors related to coronary atherosclerosis are different from those related to aortic atherosclerosis. *Atherosclerosis*. 1992;96:43–52.
13. Steinberg D, Parthasarathy S, Carew TE. In vivo inhibition of foam cell development by probucol in Watanabe rabbits. *Am J Cardiol*. 1988;62:6B–12B.
14. Buja LM, Kita T, Goldstein JL, Watanabe Y, Brown MS. Cellular pathology of progressive atherosclerosis in the WHHL rabbit: an animal model of familial hypercholesterolemia. *Arteriosclerosis*. 1983;3:87–101.
15. Shiomi M, Ito T, Tsukada T, Yata T, Ueda M. Cell compositions of coronary and aortic atherosclerotic lesions in WHHL rabbits differ: an immunohistochemical study. *Arterioscler Thromb*. 1994;14:931–937.
16. Carew TE, Schwenke DC, Steinberg D. Antiatherogenic effect of probucol unrelated to its hypocholesterolemic effect: evidence that antioxidants in vivo can selectively inhibit low density lipoprotein degradation in macrophage-rich fatty streaks and slow the progression of atherosclerosis in the Watanabe heritable hyperlipidemic rabbit. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1987;84:7725–7729.
17. O'Brien K, Nagano Y, Gown A, Kita T, Chait A. Probucol treatment affects the cellular composition but not anti-oxidized low density lipoprotein immunoreactivity of plaques from Watanabe heritable hyperlipidemic rabbits. *Arterioscler Thromb*. 1991;11:751–759.
18. Braesen JH, Beisiegel U, Niendorf A. Probucol inhibits not only the progression of atherosclerotic disease, but causes a different composition of atherosclerotic lesions in WHHL-rabbits. *Virchows Arch*. 1995;426:179–188.
19. Brasen JH, Harsch M, Niendorf A. Survival and cardiovascular pathology of heterozygous Watanabe heritable hyperlipidaemic rabbits treated with pravastatin and probucol on a low-cholesterol (0.03%)-enriched diet. *Virchows Arch*. 1998;432:557–562.
20. Tsukada T, Rosenfeld M, Ross R, Gown AM. Immunocytochemical analysis of cellular components in atherosclerotic lesions: use of monoclonal antibodies with the Watanabe and fat-fed rabbit. *Arteriosclerosis*. 1986;6:601–613.
21. Shiomi M, Ito T, Hirouchi Y, Enomoto M. Fibromuscular cap composition is important for the stability of established atherosclerotic plaques in mature WHHL rabbits treated with statins. *Atherosclerosis*. 2001;157:75–84.
22. Fukumoto Y, Libby P, Rabkin E, et al. Statins alter smooth muscle cell accumulation and collagen content in established atheroma of watanabe heritable hyperlipidemic rabbits. *Circulation*. 2001;103:993–999.
23. Daugherty A, Zweifel BS, Schonfeld G. The effects of probucol on the progression of atherosclerosis in mature Watanabe heritable hyperlipidaemic rabbits. *Br J Pharmacol*. 1991;103:1013–1018.
24. Johnson LL, Schofield L, Donahay T, Narula N, Narula J. ^{99m}Tc -Annexin V imaging for in vivo detection of atherosclerotic lesions in porcine coronary arteries. *J Nucl Med*. 2005;46:1186–1193.

I. PET 薬剤と動物用イメージング装置†

浜松医科大学 光量子医学研究センター
431-3192 静岡県浜松市半田山 1-20-1

1. はじめに

325 型 (図 1) が設置され、その翌年に全身用 PET 装置が設置された。この頃にはまだ PET 用の放射性薬剤を合成する自動合成装置も、自動というより、「遠隔」合成装置と呼ぶのがふさわしい状況であったが、徐々に種々の PET 薬剤の合成が可能となっていく。また、1990 年には浜松ホトニクス社製の動物用 PET 装置、SHR2000 の第 1 号機 (図 2) が試験運用のために設置され、動物用 PET 装置を用いる小動物での機能解析をスタートした。現在は動物用 PET 装置も各社から多くの装置が発売され、目的に合致したものを選択できるようになってきた。本シリーズは「ライフサイエンスにおけるイメージング」がテーマであり、薬剤合成や装置開発の詳細に関してはそれぞれ連載が予定されているので、本稿ではまず PET 薬剤、特に動物 PET 研究では脳機能イメージングが多く実施されていることから脳機能イメージング用 PET 薬剤を中心に心筋機能及び腫瘍イメージング薬剤について触れると共に、動物用イメージング装置に関する概略を述べてみたい。

2・1 PET 薬剤の基本的性質

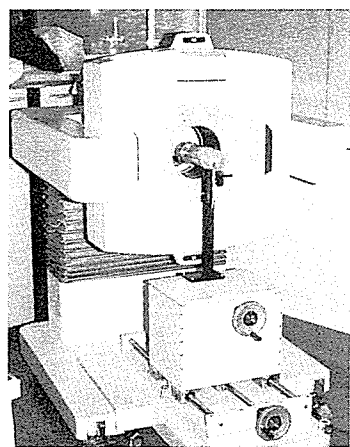
† Instruments for Radiation Measurement in Life Sciences(5). "Development of Imaging Technology in Life Sciences". I. PET Radiopharmaceuticals and Animal Imaging Devices.

Yasuhiro MAGATA : Photon Medical Research Center, Hamamatsu University School of Medicine, 1-20-1, Handayama, Hamamatsu-shi, Shizuoka Pref. 431-3192, Japan.



1982年京都大学
医学部附属病院
に設置された。

図1 住友重機械工業製超小型サイクロトロン CYP-RIS325 型



1990年、第一号機が試験
運用と物理試験データ収集
のため京都大学に設置さ
れた。ラットが麻酔下固定
されている写真。

図2 浜松ホトニクス製動物用PET装置SHR2000型

る物質との相互作用の有無や程度によって、標的部位における周辺部位との放射能分布量の差を画像化する技術であると言える。そのため、放射性薬剤の有用性は、標的部位への特異的な分布性により決定され、これを達成するためにその分子設計においては様々な工夫がなされている。すなわち、物理学的性質（放射性同位元素の放射能の性質）、化学的性質（標識化合物の放射化学的あるいは物理化学的性質）、生物学的性質（生理活性や体内挙動に関する性質）の三つの性質を満足するように放射性薬剤は開発されている。一般の化合物と比較して放射性薬剤が有する特徴として、

- ・薬剤の有効期間は物理的半減期に依存し、一般的に短い

表1 PET用放射性医薬品に使用される主な放射性核種

小型サイクロトロンによる製造核種

放射性核種	半減期(分)	核反応
^{15}O	2.04	$^{14}\text{N}(\text{d}, \text{n})^{15}\text{O}$ $^{15}\text{N}(\text{p}, \text{n})^{15}\text{O}$
^{13}N	9.97	$^{16}\text{O}(\text{p}, \alpha)^{13}\text{N}$
^{11}C	20.4	$^{14}\text{N}(\text{p}, \alpha)^{11}\text{C}$
^{18}F	109.8	$^{18}\text{O}(\text{p}, \text{n})^{18}\text{F}$ $^{20}\text{Ne}(\text{d}, \alpha)^{18}\text{F}$

ジェネレータにより得られる核種

放射性核種	半減期(分)	親核種
^{62}Cu	9.7	^{62}Zn
^{68}Ga	68.3	^{68}Ge
^{82}Rb	1.25	^{82}Sr

- ・自己の持つ放射線エネルギーにより、自己分解が惹起されることがある
- ・化学量としては極微量であるため、薬理作用を発現しない

等、物理的、化学的、生物学的にそれぞれ特徴的な性質を有する。

PET用放射性薬剤に用いられる放射性同位元素を表1にまとめた。これらの核種はポジトロン（陽電子、 β^+ ）崩壊するため、ポジトロン放出核種と呼ばれる。物理的半減期は表の通り、分単位のものがほとんどであり、このため実際のPET用薬剤合成の現場は自動合成装置がその作業を担っているというものの、せわしなさを感じるし、これを用いた動物実験も時間に追われて大変な作業となる。特に臨床検査と異なり、一度の実験でできるだけ多くの情報量を得ようとし、作業量が膨大となることと、一般的には麻酔下で行うのでその管理があるためであるが、反面、半減期が短いため、麻酔維持を行いながら放射能の減衰を待つことが可能となり、動物一個体で極めて同一性の高い条件下で多種類のパラメータ計測が可能となる。

2・2 脳機能イメージング薬剤

脳は神経細胞とグリア細胞とからなる。神経細胞は神経情報の伝達に参与し、グリア細胞は神経細胞への栄養補給及びそこからの老廃物の