

200812021A

厚生労働科学研究費補助金
医療機器開発推進研究事業

非侵襲的生体膵島イメージングによる
糖尿病の超早期診断法の
開発に関する研究

平成20年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 稲垣暢也

平成21（2009）年4月

厚生労働科学研究費補助金
医療機器開発推進研究事業

非侵襲的生体膵島イメージングによる
糖尿病の超早期診断法の開発に関する研究

平成 20 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 稲垣暢也

平成 21(2009)年 4 月

目 次

I. 総括研究報告	1
非侵襲的生体膵島イメージングによる 糖尿病の超早期診断法の開発に関する研究 稲垣 暢也	
II. 分担研究報告	
1. 非侵襲的生体膵島イメージングに必要な膵島定量モデル 動物実験系の構築 豊田 健太郎	5
2. 非侵襲的生体膵島イメージングプローブの <i>in vivo</i> 評価に 必要な大動物膵島移植系の確立 興津 輝	8
3. 非侵襲的生体膵島イメージングに必要なプローブの設計 佐治 英郎	10
4. 非侵襲的生体膵島イメージングに必要なプローブ標識法の開発 天満 敬	12
5. 非侵襲的生体膵島イメージング用プローブの <i>in vivo</i> 評価 - ^{18}F 標識 exendin-(9-39)を用いた検討 - 河嶋 秀和	14
6. 非侵襲的生体膵島イメージングプローブを用いた小動物用 高分解能 PET 撮像の検討 上田 真史	16
7. MRI を用いた非侵襲的生体イメージングによる糖尿病の 超早期診断法の開発 富樫 かおり	18
8. 非侵襲的生体膵島イメージングに必要な超高磁場 MRI による膵島撮像法の開発 松田 哲也	19
9. 非侵襲的生体膵島イメージングのためのグルコース誘導体の開発 斉藤 美佳子	21
10. 非侵襲的生体膵島イメージングに必要なプローブの作製 平尾 佳	23
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	25
IV. 研究成果の刊行物・別刷	31

厚生労働科学研究費補助金（医療機器開発推進研究事業）

総括研究報告書

「非侵襲的生体膵島イメージングによる糖尿病の超早期診断法の開発」

研究代表者 稲垣 暢也 所属 京都大学 糖尿病・栄養内科学

研究要旨：糖尿病の発症過程では、膵島量が耐糖能異常に先行して減少する。この知見に基づき、本研究では糖尿病超早期診断を目的とした、膵島量を測定する非侵襲的画像診断技術の開発を目標とする。生体内の直径 50～500 μ m の膵島を定量化するためには、膵島特異的に集積して周囲組織とのコントラストを発生させるプローブが必要である。昨年度には、 β 細胞特異的な機能タンパクを中心分子プローブを選定して作製した。平成 20 年度は、作製したプローブの標識化実験、プローブの基礎評価を行った。Exendin(9-39)の¹⁸F 標識化合物 A, E を用いて PET 撮像までを行い、膵臓への集積を確認した。本成績をもとに特許申請中である。同時に、プローブ評価のための膵島定量系の構築を行った。ルシフェラーゼ発現マウスにおける *in vivo* モデル、OPTscan を用いたモデルでの定量が可能となった。また MRI による膵島の可視化については、昨年度に非プローブ下における撮像条件の検討を超高磁場 MRI を用いて開始し、初期の検討で膵島の描出の可能性が示唆されたが、平成 20 年度に検討を重ねた結果、安定した描出が得られないことが判明し、プローブを用いた撮像検討に移行した。以上のように、平成 20 年度は、各分担研究者らとともにプローブの作製、標識化、そして基礎評価を行った。平成 21 年度には、プローブの有効性を評価する予定である。

分担研究者

豊田 健太郎	京都大学医学研究科 糖尿病・栄養内科学 助教	上田 真史	京都大学医学研究科 放射性医薬品学 助教
興津 輝	京都大学医学部附属病院 臓器移植医療部 助教	富樫 かおり	京都大学医学研究科 放線診断学 教授
佐治 英郎	京都大学薬学研究科 病態機能分析学分野 教授	松田 哲也	京都大学情報学研究科 教授
天満 敬	京都大学薬学研究科 病態機能分析学分野 助教	斉藤 美佳子	東京農工大学共生科学技術 研究院 生命機能科学部門 准教授
河嶋 秀和	京都大学医学研究科 放射線診断学 助教	平尾 佳	アークレイ株式会社 研究開発本部第 5 チーム

A. 研究目的

平成 19 年度には糖尿病 880 万人、境界型 1050 万人で、平成 14 年度の調査に比べてさらに増加し続けており、これまでの耐糖能検査を基準とした糖尿病発症前の介入によっても十分な成果が得られていない。その原因として、機能異常が明らかとなる境界型糖尿病の段階では膵島の障害はすでに高度に進行しており、介入開始時期としては遅い可能性がある。よって、適切な時期の介入を行うための超早期診断の必要性が求められている。

本研究の目的は、糖尿病の超早期診断のために生体内の膵島量を非侵襲的な画像診断法を用いて定量化するための技術開発を行うことである。

B. 研究方法

非侵襲的膵島定量に必要な分子プローブの開発と画像診断法の検討のためには、以下の 5 つの手順が必要である。

1. 膵島イメージング標的分子

生体内の直径 50~500 μm の膵島を定量化するためには、膵島特異的に集積して周囲組織とのコントラストを発生させるプローブが必要である。 β 細胞研究を通して得た情報を元に、分担研究者の豊田とともに β 細胞特異的な機能タンパクの選定作業を行った。また GLUT2 の基質であるグルコース誘導体については、分担研究者の斉藤らとともに検討を行っている。

2. イメージング分子プローブの設計・開発

プローブとしての特性を最大限に発揮できる設計を分担研究者の佐治らとともにを行い、その設計に基づいて作製した。その際、結合能、安定性を考慮した設計を行い、それに基づいて、実際の作製をアークレイ社が行った。作製された化合物への RI などの標識法は分担研究者の天満らとともに開発を行った。

3. 標識分子プローブの基礎的評価 (*in vitro*~*ex vivo*まで)

(1).*in vitro*: 単離膵島での結合特性、機能変化(インスリン分泌)、毒性を評価は、豊田らにより行っている既に確立した方法である。

(2).*ex vivo*: 膵灌流モデルで(1)と同様の検討を行う。本法も、豊田らによって行う。

4. *In vivo*における分子プローブの有効性と画像撮像条件の検討

(1). *In vivo*でのプローブの選択性を評価する。具体的には、プローブを尾静注後経時的に臓器を摘出し RI カウンティングを行う。これは、分担研究者の河嶋らとともに行う。また、 β 細胞選択性については、膵 β 細胞特異的に GFP を発現するトランスジェニックマウスに標識プローブを尾静注後膵臓を摘出し、膵切片中の膵島と RI シグナルが重なるかどうかを検討した。(2). プローブの基礎評価後に、実際の撮像を microPET もしくは MRI で行い、至適撮像条件の検討を行う。microPET の撮像条件検討は、分担研究者の上田らとともに行う。(3). 膵島移植モデルを用いて、計数して膵島を移植してから、microPET もしくは MRI によって撮像し、得られるシグナルとの検量線を作成することによってプローブの有効性と撮像条件を確認する。膵島移植は、分担研究者の興津らとともに行う。なお、動物を用いた実験については、京都大学動物実験に関する指針に基づいて施行する。

5. 糖尿病モデル動物を用いた検討

発症前の膵島減少を検知できるかどうかを検討する。

C. 研究結果

平成 19 年度に以下の 1)~5) の標的に対するリガンドや抗体を選定し、作製した化合物について、平成 20 年度は標識化、基礎評価、そして PET 撮像の検討を行った。それぞれについて結果を示す。

1) グルコース輸送担体 2 (GLUT2) の基質: 毒性が無く膵 β 細胞に良好な集積性

を示す化合物の設計中であり、作製に至っていない。

2) K_{ATP} チャンネルのリガンド：ミチグリンドの標識化に成功した。結合実験による β 細胞への結合性評価も終了した。基礎評価を行った後、 ^{18}F 標識したプローブによる体内分布実験を施行中。同プローブによる PET 撮像を予定している。

3) 小胞モノアミントランスポーター (VMAT2) のリガンド：Dihydropyridazine (DTBZ) については、新規設計まで終了した。

4) Glucagon-like peptide-1 (GLP-1) 受容体のリガンド：これまでの研究より、Exendin-4 は腎臓に高く集積することが報告されており、これが撮像時の S/N 比を低下させる要因になり得ると予想されたことから、腎臓からのクリアランスを高める分子修飾を施した化合物設計を考慮し Exendin(9-39) 誘導体として、5 つの化合物を設計した。そのうち 3 化合物については ^{18}F 標識化に成功し、2 化合物については PET 撮像を行い、膵臓への集積を確認でき、特許申請を行った。

5) G 蛋白共役受容体(GPR40)のリガンド：GW9501, GW1100 を選定して設計し、GW9508 誘導体である 6 つの化合物、さらに

1 つの GW1100 誘導体を合成した。一部ではフッ素体の合成が終了し、残りも標識化検討、施行中であり、終了した標識体による基礎評価を行っている。

6) ペプチド受容体の抗体については設計まで終了している。抗 GIP 受容体抗体は作製したが、 β 細胞結合性が無く標識化には至らなかった。グレリン受容体は、臓器特異性に乏しいと判断し断念したが、新たに 3 つのペプチド受容体を選定し、その抗体の標識化を検討中である。

D. 考察

Exendin(9-39)の化合物で、PET 撮像実験まで進み、膵臓への集積を認めた。さらにプローブとしての有用性評価と改良を行っている。その他のプローブについても基礎評価終了後に PET 撮像を行い、*in vivo* 膵島量定量モデルを用いて、プローブの定量性の評価を行うことによって、目的である超早期診断を可能とするプローブの絞り込みを行った上で、糖尿病モデル動物での最終的評価の結果が待たれる。

E. 結論

Exendin(9-39)をはじめとして、 β 細胞選択性、プローブ特性を十分考慮して選定、作製したプローブを用いた評価が進み、予定通り、有用なプローブについては、*in vivo* 定量化の検討に入ることが可能と思われる。

F. 健康危険情報 特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

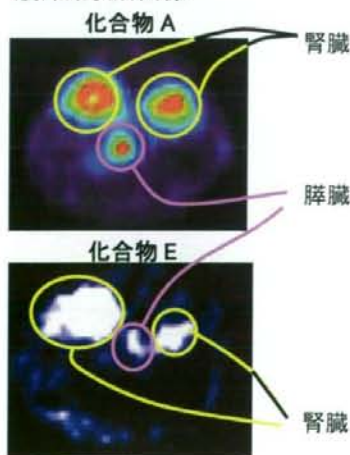
1. Toyoda K, Okitsu T, Yamane S, Uonaga T, Liu X, Harada N, Uemoto S, Seino Y, Inagaki N. GLP-1 receptor signaling protects pancreatic beta cells in intraportal islet transplant by inhibiting apoptosis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 367(4), 793-798, 2008.
2. Toyoda K, Fukushima M, Mitsui R, Harada N, Suzuki H, Takeda T, Taniguchi A, Nakai, Y, Kawakita T, Yamada Y, Inagaki N, Seino Y. Factors responsible for age-related elevation in fasting plasma glucose: a cross-sectional study in Japanese Men. *Metabolism* 57(2), 299-303, 2008

図：ddY マウス(6 週齢)

155 μ Ci の化合物尾静注後

撮像装置：ExploreVista(GE)

腹部環状断面像



3. Funakoshi S, Fujimoto S, Hamasaki A, Fujiwara H, Fujita Y, Ikeda K, Hamamoto Y, Hosokawa M, Seino Y and Inagaki N. Analysis of factors influencing pancreatic beta-cell function in Japanese patients with type 2 diabetes: association with body mass index and duration of diabetic exposure. **Diabetes Res Clin Pract.** 82(3): 353-8, 2008
 4. Naitoh R, Miyawaki K, Harada N, Mizunoya W, Toyoda K, Fushiki T, Yamada Y, Seino Y and Inagaki N. Inhibition of GIP signaling modulates adiponectin levels under high-fat diet in mice. **Biochem Biophys Res Commun.** 376(1): 21-5, 2008
 5. Harada N, Yamada Y, Tsukiyama K, Yamada C, Nakamura Y, Mukai E, Hamasaki A, Liu X, Toyoda K, Seino Y, Inagaki N. A novel gastric inhibitory polypeptide (GIP) receptor splice variant influences GIP sensitivity of pancreatic β -cells in obese mice. **Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.** 294(1), E61-8, 2008
 6. Matsumura Y, Ban N and Inagaki N. Aberrant catalytic cycle and impaired lipid transport into intracellular vesicles in ABCA3 mutants associated with nonfatal pediatric interstitial lung disease. **Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.** 295(4): L698-707, 2008
 7. Nakamura Y, Ogura M, Tanaka D, Inagaki N. Localization of mouse mitochondrial SIRT proteins: Shift of SIRT3 to nucleus by co-expression with SIRT5. **Biochem. Biophys. Res. Commun.** 366, 174-179, 2008.
 8. Harada N, Fukushima M, Toyoda K, Mitsui R, Izuka T, Taniguchi A, Nakai Y, Yamada Y, Seino Y and Inagaki N. Factors responsible for elevation of 1-h postchallenge plasma glucose levels in Japanese men. **Diabetes Res Clin Pract.** 81(3): 284-9, 2008
 9. Yamada, C., Yamada, Y., Tsukiyama, K., Yamada, K., Udagawa, N., Takahashi, N., Tanaka, K., Drucker, D. J., Seino, Y., and Inagaki, N. (2008) The murine GIP1r is essential for control of bone resorption. **Endocrinology.** 149(2): 574-9, 2008
 10. Kominato R, Fujimoto S, Mukai E, Nakamura Y, Nabe K, Shimodaira M, Nishi Y, Funakoshi S, Seino Y and Inagaki N. Src activation generates reactive oxygen species and impairs metabolism-secretion coupling in diabetic Goto-Kakizaki and ouabain-treated rat pancreatic islets. **Diabetologia.** 51(7): 1226-35, 2008
 11. Yamada C, Yamada Y, Tsukiyama K, Yamada K, Yamane S, Harada N, Miyawaki K, Seino Y, and Inagaki N. Genetic inactivation of GIP signaling reverses aging-associated insulin resistance through body composition changes. **Biochem. Biophys. Res. Commun.** 364: 175-180, 2007
 12. Yamada K, Saito M, Matsuoka H, and Inagaki N. Real-time imaging of glucose uptake in single, living mammalian cells. **Nat. Protocols.** 2: 753-762, 2007
 13. Mukai E, Fujimoto S, Sakurai F, Kawabata K, Yamashita M, Inagaki N, Mizuguchi H. Efficient gene transfer into murine pancreatic islets using adenovirus vectors. **J Controlled Release** 119: 136-141, 2007.
 14. Miyake A, Yamada K, Kosaka T, Miki T, Seino S, Inagaki N. Disruption of Kir6.2-containing ATP-sensitive potassium channels impairs maintenance of hypoxic gasping in mice. **Eur. J. Neuroscience** 25(8): 2349-63, 2007.
 15. Hamasaki A, Yamada Y, Kurose T, Ban N, Nagashima K, Takahashi A, Fujimoto S, Shimono D, Fujiwara M, Toyokuni S, Seino Y, and Inagaki N. Adult pancreatic islets require differential pax6 gene dosage. **Biochem. Biophys. Res. Commun.** 353: 40-46, 2007.
2. 学会発表 なし
- H. 知的財産権の出願・登録状況
1. 特許取得 特願 2008-241889
 膵島イメージング用分子プローブ前駆体及びその使用
 2. 実用新案登録 なし
 3. その他 なし

「非侵襲的生体膵島イメージングに必要な膵島定量モデル動物実験系の構築」

研究分担者 豊田 健太郎 所属 京都大学 糖尿病・栄養内科学

研究要旨：糖尿病の発症過程では、膵島量が耐糖能異常に先行して減少する。この知見に基づき、本研究では糖尿病超早期診断を目的とした、膵島量を測定する非侵襲的画像診断技術の開発を目標とする。生体内の直径 50~500 μm の膵島を定量化するためには、膵島特異的に集積して周囲組織とのコントラストを発生させるプローブが必要であり、 β 細胞特異的な機能タンパクを選定してプローブの設計を行い作製した化合物の基礎評価を行っている。膵 β 細胞特異性を認めたプローブは、*in vivo*における β 細胞の定量性を評価する必要があり、そのためのモデル動物実験系の構築を行った。

A. 研究目的

現在、我が国における 2 型糖尿病は平成 19 年度の統計で推定 880 万人を越え、平成 14 年度よりもさらに増加し続けている。この対策として耐糖能検査を基準とした糖尿病発症前の介入が行われているが、十分な成果が得られていない。その原因として、機能異常が明らかとなる境界型糖尿病の段階では膵島の障害はすでに高度に進行しており、介入開始時期としては遅い可能性がある。よって、適切な時期に介入を行うための超早期診断の必要性が求められている。

本研究の目的は、本開発研究事業で作製し基礎評価で有用性が示された膵 β 細胞特異的なプローブについて、*in vivo*における膵島定量性を評価するための実験系を構築することである。

B. 研究方法

1. プローブの生体内において膵島量を定量できているか評価するためには、膵島量が定量できるモデルの構築が必要である。

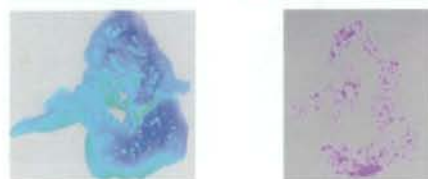
膵島の定量化のために、膵島定量法とモデル動物の構築を行う。膵島定量法は、OPT Scanner と IVIS システムの 2 種類を用いる。実験動物としては、膵 β 細胞特異的にルシフェラーゼを発現するトランスジェニックマウスを用い、実験系とし

ては部分膵摘モデル、膵島移植モデル、少量 STZ 投与による膵島減少モデルを選択した。

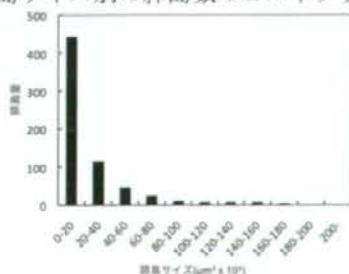
C. 研究結果

1. OPT Scanner：2 次元の断面情報から 3 次元画像を立体的に再構築できるスキャン。豊田らが行った図 1 のスキャン画像に示すように、膵臓内の膵島を 3 次元的に描出できるだけでなく定量が可能である。ただし生体での観察はできない。

図 1: 膵全体像 膵島だけの 3 次元像



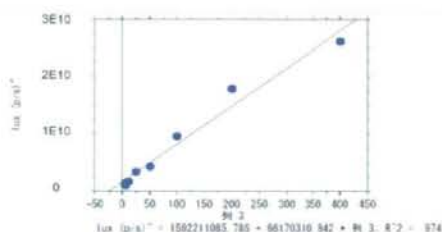
膵島サイズ別の膵島数のヒストグラム



2. IVIS システム：発光を高感度 CCD カメラで検知するシステムであり、本研究では膵 β 細胞特異的にルシフェラーゼを発

現するマウスを用いることによって生体のままで膵島量を計量できる。これを豊田が行う膵島移植モデルや少量 STZ 投与による膵島減少モデルで利用することによって生体のままで膵島量を計測し、プローブシグナルとの相関を検討する。実際に IVIS を用いて発光を定量できることを確認している (図 2)。

図 2 : 発光量と膵島量の相関(N=9)



3. 膵島移植モデルでは、IVIS システムにおいて個体間での測定条件を一定にできるよう、虹彩上への膵島移植を行う。豊田らは既に膵β細胞特異的に蛍光タンパクを発現するトランスジェニックマウスの膵島を用いた同移植法を確立している (図 3)。

図 3 : 明視野像



蛍光像



4. 少量 STZ マウスモデルは既報 (J. Clin. Invest. Vol. 48, 1969) にしたがって行う。

5. 部分膵摘モデル

興津と豊田らすでに確立しているモデルであり、膵島量を 50-100% で調整できる。50% 膵摘したモデルの耐糖能は問題ないことを確認している。膵島定量性のスクリーニングにも使用可能である。

D. 考察

膵β細胞特異的プローブの評価も進んでおり、その *in vivo* における定量性評価

を OPT Scanner と IVIS システムを用い、また様々なモデルで行う。その結果有用性を証明できたプローブを用いることによって、実際の糖尿病モデル動物で超早期診断の可能性について評価できると思われる。

E. 結論

in vivo におけるプローブの定量性の評価に必須の定量系モデルと測定計を構築した。これを用いて最終的に有用なプローブの選定が可能になると思われる。

F. 健康危険情報 特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. [Toyoda K](#), Okitsu T, Yamane S, Uonaga T, Liu X, Harada N, Uemoto S, Seino Y, Inagaki K.

GLP-1 receptor signaling protects pancreatic beta cells in intraportal islet transplant by inhibiting apoptosis. **Biochem. Biophys. Res. Commun.** 367(4), 793-8, 2008

2. [Toyoda K](#), Fukushima M, Mitsui R, Harada N, Suzuki H, Takeda T, Taniguchi A, Nakai, Y, Kawakita T, Yamada Y, Inagaki N, Seino Y.

Factors responsible for age-related elevation in fasting plasma glucose: a cross-sectional study in Japanese Men. **Metabolism** 57(2), 299-303, 2008

3. Harada N, Yamada Y, Tsukiyama K, Yamada C, Nakamura Y, Mukai E, Hamasaki A, Liu X,

[Toyoda K](#), Seino Y, Inagaki N. A novel gastric inhibitory polypeptide (GIP) receptor splice variant influences GIP sensitivity of pancreatic {beta}-cells in obese mice. **Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.** 294(1), E61-8, 2008

4. Fujiwara H, Hosokawa M, Zhou X, Fujimoto S, Fukuda K, [Toyoda K](#), Nishi Y, Fujita Y, Yamada K, Yamada Y, Seino Y, Inagaki N. Curcumin inhibits glucose production in isolated mice hepatocytes. **Diabetes Res. Clin. Pract.** 80; 185-91, 2008

5. Naitoh R, Miyawaki K, Harada N, Mizunoya W, [Toyoda K](#), Fushiki T, Yamada Y, Seino Y, Inagaki, N. Inhibition of GIP signaling modulates adiponectin levels under high-fat diet in mice.

Biochem. Biophys. Res. Commun. 376(1), 21-5, 2008

6. Harada, N., M. Fukushima, [Toyoda K](#), Mitsui R, Izuka T, Taniguchi A, Nakai Y, Yamada Y, Seino Y, Inagaki N. Factors responsible for

elevation of 1-h postchallenge plasma glucose levels in Japanese men. **Diabetes Res Clin Pract** 81(3): 284-9, 2008

7. Sassa, M., Y. Yamada, Hosokawa M, Fukuda K, Fujimoto S, Toyoda K, Tsukiyama K, Seino Y, Inagaki N. Glycemic instability in type 1 diabetic patients: Possible role of ketosis or ketoacidosis at onset of diabetes. **Diabetes Res Clin Pract** 81(2): 190-5, 2008

2. 学会発表

1. Toyoda K, et al. GLP-1 Receptor Signaling Protects Pancreatic Beta-Cells in the Intraportal Islet Transplant by Inhibiting Apoptosis. A 2008 **American Diabetes Association, 68th Scientific sessions**, June 6-10, SAN FRANCISCO, CA, in U.S.A.
2. Toyoda K, et al. Improved glucose metabolism by islet transplant at periportal site than intraportal site. A **European Association for the Study of Diabetes (EASD), 44th Annual Meeting 2008**, September 7-11, ROME, in ITALY
3. Toyoda K, et al. Non-invasive imaging of pancreatic islets targeting glucagon-like peptide-1 receptors. A **European Association for the Study of Diabetes (EASD), 44th Annual Meeting 2008**, September 7-11, Rome, in ITALY

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 特願 2008-241889
 膝島イメージング用分子プローブ前駆体及びその使用
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

「非侵襲的生体膵島イメージングプローブの *in vivo* 評価に必要な
大動物膵島移植系の確立」

研究分担者 興津 輝 所属 京都大学病院 臓器移植医療部

研究要旨：*In vivo*での非侵襲的膵島量検出技術を確立する補助手段として膵島移植技術の応用が有用である。中動物での実施を可能とするためビーグル犬を用いて、本研究にて既に確立しているイヌ膵島分離手技にて分離した膵島が生体で機能することを自家膵島移植によって検証した。

A. 研究目的

現在国民病として認識されている糖尿病に対して効果的に介入するためには現在の機能的評価によって判明する耐糖能異常の時期ではなく、より以前の膵内分泌細胞量が減少しはじめる時期を同定する必要がある。そのために、*in vivo*における非侵襲的な膵島量評価方法の開発を行うことが今回の研究提案であるが、その検証を行うためには、生体内に存在する膵島量をあらかじめ把握しておく必要がある。現在インスリン依存状態糖尿病に対して膵臓より膵内分泌細胞塊である膵島を分離して移植する膵島移植の手技が確立され臨床実施されている。この方法は膵島を一旦体外に取り出すことができるため、膵島量を体外であらかじめ評価することが可能となる。すなわち膵島移植を応用することで分離した膵島を対象として開発されるプローブの効果を *ex*

vivo、*in vivo*で評価するための効果的なモデルを提供できる。この膵島移植モデルを前臨床として中動物で実現するため、イヌの自家膵島移植技術の確立を行った。この際用いた膵島分離手技は本研究の成果として我々が確立したイヌ膵島分離技術を用いた。

B. 研究方法

1. 動物

体重 15kg 程度のビーグル犬（2歳～3歳）

2. 膵臓摘出

麻酔：ドルミカム、硫酸アトロピンを麻酔前投与、イソゾールにて麻酔を導入し、マスキュラックスにて筋弛緩後、挿管後セボフルレンによる吸入麻酔にて維持。膵臓摘出術：Cobb らの方法（J Surg Res 1984）に準じて膵臓全摘術を施行。すなわち、右胃大網動脈の反回十二指腸肢を温存し、第一膵十二指腸動脈弓を膵臓に沿って切除す

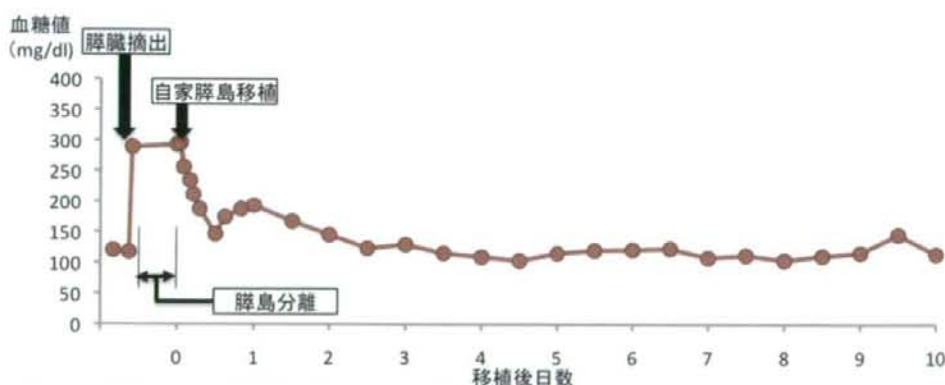


図 1. 膵臓摘出および自家膵島移植後の血糖値の推移(ビーグル犬)

ることで十二指腸を切除することなく膵臓を全摘した。

3. 膵島分離、膵島評価

膵管を同定し、体部と鉤部に向かってカテーテルを挿入。カテーテルから膵管保護の目的で保存液を注入し、二層法にて膵臓を保存。Liberase CI (0.5mg/ml)を膵管から注入し37℃にて膵臓消化。比重遠沈法にて膵島を純化した。

ディチゾンにて膵島を赤染後、検鏡にて膵島径を測定し、Ricordiらの方法(Acta Diabetol Lat 1990)に基づいて膵島量(径150 μ mの膵島を単位とする相当量)を算出した。また、AO/PI染色(acridine orange/propidium iodide)によってviabilityを評価した。

4. 膵島移植

膵全摘後から全身麻酔下にて管理しているビーグル犬の脾静脈より門脈本幹にカニューレーションを行い、それを通して分離した膵島を分離後直ちに門脈内移植した。

(倫理面への配慮)

この度の実験に関しては、施設の動物実験に関する指針に基づいて施行した。

C. 研究結果

2頭のビーグル犬を使用した。うち一例においては、総膵島量156,190IEQ、viability 95%の膵島を分離し移植(10,413IEQ/kg体重)した。膵臓摘出から膵島移植後10日までの血糖値の推移を図1に示す。3ヶ月以上正常血糖を維持することを確認している。

D. 考察

昨年確立したイヌ膵臓からの膵島分離技術によって得られる膵島が正常に機能することが確認された。このモデルを用いて生体膵島イメージングの膵島移植での実施が形態だけではなく機能とリンクさせて実施できる。

E. 結論

ビーグル犬を用いたイヌ自家膵島移植モデルを確立した。これにより、中動物での非侵襲的生体膵島イメージングの膵島移植モデルを確立することができた。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表

1. 論文発表

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

1. Toyoda K, Okitsu T, Yamane S, Uonaga T, Liu X, Harada N, Uemoto S, Seino Y, Inagaki K. GLP-1 receptor signaling protects pancreatic beta cells in intraportal islet transplant by inhibiting apoptosis. **Biochem Biophys Res Com** 2008, 367(4), 793-8.

2. Noguchi H, Yamada Y, Okitsu T, Iwanaga Y, Nagata H, Kobayashi N, Hayashi S, Matsumoto S. Secretory unit of islet in transplantation (SUIT) and engrafted islet rate (EIR) indexes are useful for evaluating single islet transplantation. **Cell Transplant**. 17(1-2):121-8. 2008

3. Liu X, Matsumoto S, Okitsu T, Iwanaga Y, Noguchi H, Yonekawa Y, Nagata H, Kamiya H, Ueda M, Hatanaka N, Miyakawa S, Kobayashi N, Song C. Analysis of donor- and isolation-related variables from non-heart-beating donors (NHBDs) using the Kyoto islet isolation method. **Cell Transplant**. 17(6):649-56, 2008

2. 学会発表

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

1. Okitsu T. Three Year Follow-Up after Clinical Islet Transplantation from Donation-After-Cardiac-Death (DCD) Donors to Type 1 Diabetic Patients. A 2008 **American Transplant Congress**, May 31-June 4, Toronto, CANADA

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)なし。

1. 特許取得 なし。

2. 実用新案登録 なし

厚生労働科学研究費補助金（医療機器開発推進研究事業）

分担研究報告書

「非侵襲的生体膵島イメージングに必要なプローブの設計」

研究分担者 佐治 英郎 所属 京都大学薬学研究科 病態機能分析学分野

研究要旨：本研究では糖尿病超早期診断を目的とした、膵島量を測定するための新規分子イメージング用分子プローブの設計を行うために、イメージの標的とする分子の探索を行い、その結果、有望と考えられる5つの標的を選択し、それぞれの標的分子について、特異的に認識する分子プローブを設計した。

A. 研究目的

本研究における分担業務の目的は、糖尿病の超早期診断のために生体内の膵島量を非侵襲的な画像診断法を用いて定量化するための、分子イメージング用分子プローブの設計を行うことである。

B. 研究方法

非侵襲的膵島定量化に必要な分子プローブの開発を目的とし、まず、膵島細胞における標的分子の探索から開始し、それらの特異的に認識する分子イメージング用分子プローブの設計を行なった。対象は、C-11/F-18 等を用いる PET、I-123 等を用いる SPECT 核種、Mn や Gd 等を用いる MRI とした。

1. 標的分子の探索

平成 19 年度に引き続き、糖尿病薬や、糖尿病時に変化する膵臓内に存在する標的分子を中心に探索を行ない、ターゲット分子を選択した。

2. イメージング用分子プローブの設計

プローブ作製において、リガンドや基質などに、分子イメージングが可能な C-11/F-18 等の PET 核種、I-123 等の SPECT 核種、MR 造影核種 (Mn や Gd など) などを導入するべく、分子設計を行なった。標識核種の導入に当たっては、合成の容易さ、標的分子への親和性と導入核種の安定保持を考慮した。また、抗体は、非標的組織からのクリアランスと高いコントラストを達成させるため、フラグメント化した抗体可変領域の使用も検討した。

C. 研究結果

平成 21 年 2 月現在の標的分子の探索、分子プローブの設計状況を以下に示す。

1. 標的分子の探索

生体内の直径 50~500 μ m の膵島を定量化するためには、膵島特異的に集積して周囲組織とのコントラストを発生させるプローブが必要であるため、 β 細胞特異的な機能タンパク質を中心に詳細に検討した。その結果、本研究では次の 5 つをターゲットとして選定した。

- 1) GLUT2: 膵 β 細胞に存在し、インスリン分泌に必要なグルコース取り込みに関与しているトランスポーター、
- 2) SUR1: 膵 β 細胞膜特異的に発現する KATP チャネルの構成成分、
- 3) VMAT2: 膵 β 細胞内の小胞に発現する小胞膜の機能タンパク質、
- 4) GLP-1R: 7 回膜貫通型 GPCR であり、膵 β 細胞に分布、
- 5) GPR40/120: 脂肪酸をリガンドとする、膵 β 細胞膜特異的に発現する受容体タンパク質。

2. イメージング用分子プローブの設計

上記 1)~5) のターゲットを、特異的に認識する分子プローブの母体化合物を選定し、それらにイメージング可能な元素の導入を考慮して分子設計を行なった。1) GLUT2: 糖鎖骨格を持つ低分子化合物を対象とした。2) SUR1: 医薬品として用いられている Mitiglinide を母体化合物に選択し、これに F-18 を導入可能な低分子化合物を設計した。3) VMAT2: 既に開発されている、C-11-DTBZ、F-18(+)-DTBZ を基に、新規プローブを設計した。4) GLP-1R: ペプチド性リガンドの

antagonistとして Exendin(9-39)を、agonistとして Exendin-4を母体化合物に選択し標識部位を探索した。Exendin(9-39)誘導体として、5つの化合物を設計した。また、これまでの研究より、Exendin-4は腎臓に高く集積することが報告されており、これが撮像時のS/N比を低下させる要因になり得ると予想されたことから、腎臓からのクリアランスを高める分子修飾を施した化合物を設計した。5) GPR40/120 : F-18、I-123を導入したGPR40/GPR120 agonist GW9508誘導体である6つの化合物を、さらにGPR40 antagonist GW1100誘導体である2つの化合物を設計した。

設計した化合物は共同研究者に提案し、合成検討を行った。

D. 考察

膵島特異的に集積して周囲組織とのコントラストを明瞭にするために、 β 細胞特異的な機能タンパクに結合する分子プローブの設計を行なった。平成20年度に合成し、標的への結合性の評価が終了した化合物もあり、今後はそれらの結果を基にさらに最適化を行なっていく。

E. 結論

本研究では、標的分子の探索を行い、有望と考えられる5つのターゲットを選択した。それぞれのターゲットについて、特異的に認識する分子イメージング用分子プローブを設計した。今後は最終年度に向けて、有効な分子プローブの選択と、最適化を行なって行く。

F. 健康危険情報 特になし。

G. 研究発表

1.論文発表

1. Kuge Y, Kume N, Ishino S, Takai N, Ogawa Y, Mukai T, Minami M, Shiomi M, Saji H. Prominent lectin-like oxidized low density lipoprotein (LDL) receptor-1 (LOX-1) expression in atherosclerotic lesions is associated with tissue factor expression and apoptosis in

hypercholesterolemic rabbits. **Biol Pharm Bull.** 31(8):1475-82, 2008.

2. Ishino S, Mukai T, Kuge Y, Kume N, Ogawa M, Takai N, Kamihashi J, Shiomi M, Minami M, Kita T, Saji H. Targeting of lectinlike oxidized low-density lipoprotein receptor 1 (LOX-1) with ^{99m}Tc -labeled anti-LOX-1 antibody: potential agent for imaging of vulnerable plaque. **J Nucl Med.** 49(10):1677-85, 2008

2.学会発表 なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

1.特許取得 特願 2008-241889

膵島イメージング用分子プローブ前駆体及びその使用

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（医療機器開発推進研究事業）

分担研究報告書

「非侵襲的生体膵島イメージングに必要なプローブ標識法の開発」

研究分担者 天満 敬 所属 京都大学薬学研究科 病態機能分析学分野

研究要旨：本研究では糖尿病超早期診断を目的とした、膵島量を測定するための新規分子イメージング用分子プローブの作製を行った。 β 細胞特異的な機能タンパクを認識する分子プローブとして、低分子化合物、ペプチド・抗体などの高分子化合物の作製を行い、それに、C-11/F-18等のPET核種、I-123等のSPECT核種、MR造影核種（MnやGdなど）などを導入するための、基礎的検討を行った。

A. 研究目的

本研究における分担業務の目的は、共同研究者らによって設計された、膵島量を測定するための新規分子イメージング用分子プローブの作製を行うことである。

B. 研究方法

設計を行なった低分子化合物、ペプチド・抗体などの高分子化合物の作製を行い、それに、C-11/F-18等のPET核種、I-123等のSPECT核種、MR造影核種（MnやGdなど）などを導入するための、基礎的検討を行った。

1. プローブの作製

1) GLUT2：糖鎖骨格を持つ低分子化合物、あるいは抗体などの合成ルートの作成、2) SUR1：設計したフッ素導入 Mitiglinide 誘導体の合成ルートの作成、少量スケールでの合成検討、3) VMAT2：C-11-DTBZ、F-18(+)-DTBZの標識化の確立、新規プローブの合成ルートの作成、4) GLP-1R：ペプチド性リガンドの antagonist として Exendin(9-39)を、agonist として Exendin-4を母体化合物に選択し、標識部位を設定した。F-18が導入可能な Exendin(9-39)の少量スケールでの合成検討、標識化の確立、5) GPR40/120：フッ素導入 GW9508 誘導体、フッ素導入GW1100誘導体の少量スケールで

の合成検討、標識化の確立。

2. 標識化の基礎的検討

プローブ作製において、リガンドや基質などに、C-11/F-18等のPET核種、I-123等のSPECT核種、MR造影核種（MnやGdなど）などの導入法の確立。特に、ペプチド化合物である Exendin(9-39)をF-18標識する為の標識試薬である、 $[^{18}\text{F}]\text{SFB}$ の合成法の確立。

C. 研究結果

平成21年2月現在のプローブの作製状況を以下に示す。

1. プローブの作製

1) GLUT2：糖鎖骨格を持つ低分子化合物の合成ルートの作成、合成検討開始、2) SUR1：設計したフッ素導入 Mitiglinide 誘導体のコールド体、標識前駆体の合成を終了、3) VMAT2：C-11-DTBZ、F-18(+)-DTBZの標識化の確立、新規プローブの合成ルートの作成、4) GLP-1R：ペプチド性リガンドの antagonist として Exendin(9-39)を、agonist として Exendin-4を母体化合物に選択し、標識部位を設定した。Exendin(9-39)の誘導体として、5つの化合物を合成した。5) GPR40/120：GW9508誘導体である6つの化合物、さらに1つのGW1100誘導体を合成した。

2. 標識化の基礎的検討

ペプチド化合物である Exendin(9-39)の3つの化合物の [^{18}F] 標識化に成功した。さらに Mitiglinide 誘導体の1つの化合物の [^{18}F] 標識化にも成功した。

D. 考察

β 細胞特異的な機能タンパクを認識する分子プローブとして、低分子化合物、ペプチド・抗体などの高分子化合物の作製を行い、一部化合物については合成、標識化を修了した。を検討中、2) SUR1: 設計したフッ素導入 Mitiglinide 誘導体の合成ルートを作成、少量スケールでの合成を行い、中間体までの合成に成功。引き続き最終化合物までの合成を継続中、3) VMAT2: C-11-DTBZ の標識化の確立、新規プローブの合成ルートを作成中、4) GLP-1R: 標識可能な Exendin(9-39)誘導体の合成修了、5) GPR40/120: フッ素導入 GW9508 誘導体、標識前駆体の合成修了、フッ素導入 GW1100 誘導体、標識前駆体の合成修了。

2. 標識化の基礎的検討

ペプチド化合物である Exendin(9-39)、Exendin-4 を ^{18}F 標識するための標識試薬である、 [^{18}F]SFB の合成法を検討した結果、放射化学的収率 30~40% 程度で目的の [^{18}F]SFB を得ることに成功した。

D. 考察

β 細胞特異的な機能タンパクを認識する分子プローブとして、低分子化合物、ペプチド・抗体などの高分子化合物の作製を行い、一部化合物については合成を修了した。計画的に合成は進んでいるものの、新規に設計中のプローブも含まれており、化合物の合成をさらに加速する必要がある。

E. 結論

本研究では、共同研究者らによって設計された、臍島量を測定するための新規分子イメージング用分子プローブの合成を行った。標識前体の合成が修了した、Exendin(9-39)誘導体、Mitiglinide 誘導体に関しては、標的分子との結合実験の結果を基に最適化を行っていく。GW9508 誘導体、GW1100 誘導体に関しては、標識化を検討中である。GLUT2、VMAT2 をターゲットにした分子プローブに関しては、設計段階のものも含まれており、今後重点的に加速する予定である。総じて、ほぼ計画通りにプローブの作製は行われていると考えられる。

F. 健康危険情報 特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Kuge Y, Takai N, Ishino S, Temma T, Shiomi M, Saji H. Distribution profiles of membrane Type-1 matrix metalloproteinase (MT1-MMP), matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) and cyclooxygenase-2 (COX-2) in rabbit atherosclerosis: comparison with plaque instability analysis. *Biol Pharm Bull.* 30(9): 1634-40, 2007
2. Zhao S, Kuge Y, Kohanawa M, Takahashi T, Kawashima H, Temma T, Takei T, Zhao Y, Seki K, Tamaki N. Extensive FDG uptake and its modification with corticosteroid in a granuloma rat model: an experimental study for differentiating granuloma from tumors. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 34(12): 2096-105, 2007
3. Aita K, Temma T, Kuge Y, Saji H. Development of a novel neodymium compound for in vivo fluorescence imaging. *Luminescence.* 22(5):455-61, 2007

2. 学会発表 なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

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（医療機器開発推進研究事業）

分担研究報告書

「非侵襲的生体膵島イメージング用プローブの *in vivo* 評価

— ^{18}F 標識 exendin-(9-39)の検討—

研究分担者 河嶋 秀和 所属 京都大学医学研究科 画像診断学・核医学

研究要旨：糖尿病の超早期診断を実現するための新規 PET プローブとして、膵臓ランゲルハンス島 β 細胞膜上の Glucagon-like peptide-1 (GLP-1) 受容体に結合するペプチド性リガンド、Exendin-(9-39)の F-18 標識体 (E1, E2) を合成した。両者を ddY マウスに投与し、その体内動態を基礎的に評価した結果、膵臓へは何れのプローブも最大で約 5% ID/g の集積を示した。

A. 研究目的

糖尿病の超早期診断を目標とし、当該分担研究分野では、膵臓ランゲルハンス島 β 細胞膜上の Glucagon-like peptide-1 (GLP-1) 受容体を標的として新たに開発した、PET プローブの基礎評価を試みた。すなわち、GLP-1 受容体に高い親和性を有するペプチド性リガンド、Exendin-(9-39)を母体とし、陽電子放出核種である F-18 を分子内の異なる位置に導入した 2 種の化合物、E1, E2 について、両者を ddY マウスに投与後の体内動態を測定した。これにより、本プローブによる β 細胞インビボイメージングに向けた可能性を検討した。

B. 研究方法

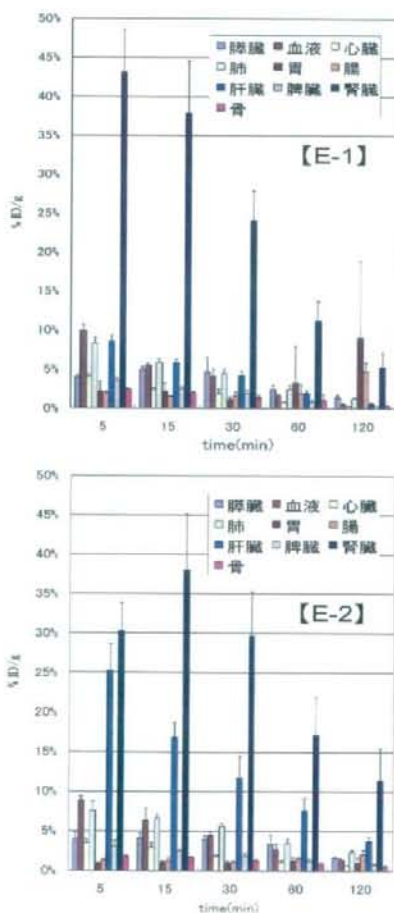
Exendin-(9-39)を F-18 にて標識した 2 種のプローブ、E1 と E2 を、それぞれ雄性 ddY マウス (6 週齢、29-31 g) に尾静脈より投与した。投与 5, 15, 30, 60, 120 分後に屠殺し (n=5)、血液と臓器を採取した。各臓器重量と放射能を測定し、単位重量あたりの放射能 (% ID/g) を算出した。

倫理面への配慮

動物実験は事前に研究実施機関の動物実験委員会の承認を受けた上で、各機関の動物実験指針に基づき、これを行った。

C. 研究結果

各臓器への放射能集積について、その経時変化をグラフに示す。



Exendin-(9-39)に F-18 を導入した 2 種のプローブ、E1 と E2 は何れも膵臓に集積し、投与 15~30 分後に約 5% ID/g と最大値を示した。また、骨への放射能集積をほとんど認めなかった。

一方、腎臓と肝臓への集積性にはプローブ間で相違を認めた。E1 は投与初期から腎臓に高く集積した後、経時的に減少したが、E2 は投与 15 分後に集積量が最大となり、消失も E1 より若干遅延する傾向にあった。また、肝臓への集積は E1 よりも E2 で高かった。

D. 考察

合成した F-18 標識 Exendin-(9-39)誘導体は、膵臓に集積、滞留する傾向を認めた。また、骨への放射能集積が低く、生体内で脱フッ素代謝を受けていないことが示唆され、これらは膵島β細胞のイメージングに適していると考えられる。

一方、腹部臓器に対する集積も明らかとなり、また、市販の I-125 標識 Exendin-(9-39)ほど高い膵臓集積性を示さなかった。今後は、さらに Exendin 分子に別の方法で F-18 を導入したプローブを作製し、標識部位が体内動態に及ぼす影響を比較、検討する必要がある。

E. 結論

Exendin-(9-39)については、引き続き分子修飾の最適化を施すことで、膵島β細胞の *in vivo* 定量評価が可能なプローブの作製を実現する。同時に、Exendin 以外の候補化合物についても同様の検討を行い、PET 撮像へと展開することで、糖尿病の超早期診断に結び付く基礎的知見を得られるものと確信している。

F. 健康危険情報 特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Ono M, Watanabe R, Kawashima H, Kawai T, Watanabe H, Haratake M, Saji H, Nakayama H. ¹⁸F-labeled flavones for *in vivo* imaging of beta-amyloid plaques in Alzheimer's brains.

Bioorg Med Chem. 2009 in press

2. Temma T, Kuge Y, Sano K, Kamihashi J, Obokata N, Kawashima H, Magata Y, Saji H. PET O-15 cerebral blood flow and metabolism after acute stroke in spontaneously hypertensive rats. **Brain Res.** 1212, 18-24, 2008

3. Kiyono Y, Sugita T, Ueda M, Kawashima H, Kanegawa N, Kuge Y, Fujibayashi Y, Saji H. Evaluation of radioiodinated (2S,αS)-2-(α-(2-iodophenoxy)benzyl)morpholine as a radioligand for imaging of norepinephrine transporter in the heart. **Nucl Med Biol.** 35, 213-8, 2008

4. Ueda M, Iida Y, Kitamura Y, Kawashima H, Ogawa M, Magata Y, Saji H. 5-Iodo-A-85380, a specific ligand for alpha 4 beta 2 nicotinic acetylcholine receptors, prevents glutamate neurotoxicity in rat cortical cultured neurons. **Brain Res.** 1199, 46-52, 2008

5. Mamede M, Ishizu K, Ueda M, Mukai T, Iida Y, Kawashima H, Fukuyama H, Togashi K, Saji H. Temporal change in human nicotinic acetylcholine receptor after smoking cessation: SIA SPECT study. **J Nucl Med.** 48, 1829-35, 2007

2. 学会発表

Kawashima H, Kawai T, Kuge Y, Saji H. A novel non-peptidergic tracer for PET imaging of BACE1 density in Alzheimer's disease brain. **World Molecular Imaging Congress 2008**, Nice

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

研究要旨：本研究では、非侵襲的イメージングによりインビボで膵島量を測定可能なプローブおよびその撮像法を開発し、糖尿病の超早期診断法を確立することを目指す。そのために今年度は、正常動物での PET 撮像の検討を行った。その結果、化合物 A および化合物 E により明瞭に膵臓が描出され、両化合物が膵島量の非侵襲的測定を可能とするプローブである可能性が示された。

A. 研究目的

本研究の目的は、糖尿病の超早期診断のために、生体内の膵島量を非侵襲的に定量化可能な分子プローブおよび画像診断法の開発を行うことである。当分担研究においては、PET 撮像法の確立を目指しており、今年度は他分担研究者により開発された分子プローブを用いた PET 撮像を行った。また、比較対照のための既存の膵島イメージングプローブの合成も試みた。

B. 研究方法

1. PET 撮像

GLP-1 受容体のリガンドである Exendin(9-39)を ^{18}F 標識した化合物 A、および同じく GLP-1 受容体を標的として新規に設計・合成・標識を行った化合物 E に関して、インビボ PET 撮像実験を行った。6 週齢 ddY マウスの尾静脈より 7.4 MBq の化合物 A あるいは化合物 E を投与し、GE 社製小動物用 PET 装置 (eXolore Vista) を用いて投与直後から経時的に撮像を行った。

2. 既存プローブの合成

比較対照用のプローブとして、膵島に存在する小胞性モノアミントランスポーターを標的とした ^{11}C 標識 dihydrotetrabenazine

(^{11}C -DTBZ) を選択し、その合成を試みた。前駆体であるデスメチル体と ^{11}C ヨウ化メチルを DMF 中で 10 分間加熱 (40 °C) し、HPLC にて精製を行った。

C. 研究結果

1. PET 撮像

化合物 A および化合物 E とともに膵臓への集積が認められ、インビボでの画像化に成功した。膵臓以外の臓器として、腎臓にも高集積を認めたが、本研究で使用する小動物用 PET 装置は高解像度であり、膵臓と腎臓を明確に判別することが可能であった。

2. 既存プローブの合成

DTBZ およびそのデスメチル体のコールド標品を用いて HPLC の保持時間を確認したところ、それぞれ 9 分と 7.5 分であった。 ^{11}C 標識後の反応溶液を HPLC で精製したところ、保持時間 7 分と 9 分に放射能ピークが認められ、その割合は 6 : 1 であった。

D. 考察

化合物 A および化合物 E によって膵臓イメージングが可能であったことから、両化合物の有用性が明らかとなった。今後、糖尿病動物モデルでの検討や膵島量と放射能

集積との相関を調べる必要はあるものの、本プロジェクトは順調に進行していると考えられる。一方、既存プローブの合成研究においては、 ^{11}C -DTBZ とと思われる放射能ピークは認められたものの、メインピークではなかったことから、反応条件の改善により収率の向上を目指す必要性が明らかとなった。

E. 結論

化合物 A および化合物 E を投与することで膵臓が明瞭に描出されたことから、両化合物の非侵襲的膵島イメージングプローブとしての可能性が示された。

G. 研究発表

1. 論文発表

1: Doue T, Ohtsuki K, Ogawa K, Ueda M, Azuma A, Saji H, Strauss HW, Matsubara H. Cardioprotective effects of erythropoietin in rats subjected to ischemia-reperfusion injury: assessment of infarct size with $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -annexin V. *J Nucl Med.* 49(10); 1694-700, 2008

2: Kiyono Y, Sugita T, Ueda M, Kawashima H, Kanegawa N, Kuge Y, Fujibayashi Y, Saji H. Evaluation of radioiodinated (2S,S)-2-(alpha-(2-iodophenoxy)benzyl)morpholine as a radioligand for imaging of norepinephrine transporter in the heart. *Nucl Med Biol.* 35(2) : 213-8, 2008

2. 学会発表

1: Ueda M, Konishi H, Kudo T, Kawashima H, Kuge Y, Saji H. Synthesis and biological evaluation of a novel ^{18}F -labeled biotin derivative for (strept)avidin-based pretargeted diagnosis. 55th SNM annual meeting, New Orleans, June 14-18, 2008.

2: 上田真史, 土井久子, 清野泰, 安部潤, 久下裕司, 佐治英郎, 経口投与された亜鉛-ジチオセミカルバゾン (Zn-DTS) 錯体の血糖降下作用に関する研究: 糖尿病モデルマウスでの検討. 第 19 回微量元素学会学術集会, 東京, 2008 年 7 月 3-4 日

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし