

一つは、ある種のガスを封入した μ -TPC (Micro Time Projection Chamber?) とよばれる放射線検出器とシンチレーション検出器^{*11}を組み合わせた電子飛跡検出型コンプトンカメラ (E……T……Compton Camera?, ETCC) の開発をおこなっている⁷⁾ (図5)。 μ -TPCは、入射 γ 線のコンプトン散乱の際に弾き飛ばされる電子の飛跡を検出可能であり、通常のコンプトンカメラでは円錐状にしか定まらない γ 線の到来方向をさらに円錐の一部の領域に絞り込むことができ、バックグラウンドの除去能力に優れている。また、広視野の装置が比較的安価に構築できるという利点があるため、複数検出ヘッドの装置開発なども率先しておこなわれており、全身撮像用コンプトンカメラの実現が期待される。 μ -TPCのようなガス充填型検出器は、半導体コンプトンカメラに比べるとエネルギー分解能が劣るためRIの識別能力は見劣りするが、3種類程度のRIの同時撮像には成功しており、複数分子同時イメージングも可能であろうと期待される。

ここに紹介した三つの研究グループは、医療用コンプトンカメラ開発に関するオールジャパンコンソーシアムの中心的役割を担っていくことが期待されている。今後により連携体制を強化し、欧米諸国に対する日本のリーダーシップを維持していきたいと考えている。

新たな創薬・疾患診断法の創出に向けた課題

これまで複数分子同時イメージングの機器開発に関する話題を中心に述べ

てきたが、この手法が成功するためには、ある疾患の発症機序や病態をもっとも顕著に特徴づける複数の因子を探し出す必要がある。PET用の分子プローブはそのままGREIでも撮像可能であるため、筆者らの研究グループでは、まず候補となる抗体やペプチドを用いたプローブの生体内動態を一つひとつ小動物用PETで調べ、その後、GREIによる撮像実験で検証する方法で検討が進められている。それらの候補物質の標識にGREI用のRIを用いれば、複数分子同時イメージングが可能になるという訳である。ただし、それらの候補因子をシステムティックに探索する手法はまだ確立されていない。

近年、異なる階層のオミックス研究^{*1)}の成果を結合し、生命のメカニズムの統合的な理解をめざした、システムバイオロジーの確立に向けた研究が盛んにおこなわれている。このシステ

ムバイオロジーの成果を利用できれば、遺伝子多型などの個体差の情報も考慮した効果的な疾患関連因子の探索も可能になるかもしれない。

しかしながら、この疾患関連因子の探索を実現するには、大規模な代謝ネットワークの解析など、膨大な量の演算処理が必要になると予想される。また、候補因子の探索ができたとしても、それらを特異的に抽出できる分子プローブの設計・合成が必要である。これらの実施を可能にする基盤としては、次世代スーパーコンピュータの整備や、研究機関や分野の垣根を越えた研究協力体制の実現が求められるであろう。にわかには実現することは困難かもしれないが、オールジャパンの研究体制による、真の「Evidence-based Medicine (科学的根拠にもとづく医療)」の実現に期待したい。

Profile

もとむら・しんじ

理化学研究所 神戸研究所 分子イメージング科学研究センター メタロミクスイメージング研究ユニット 研究員

2002年、九州大学大学院理学研究科博士後期課程を単位取得のうえ退学。2003年、同大学より博士(理学)の学位を取得。理化学研究所基礎科学特別研究員などを経て、2008年10月から現職。次世代・複数分子同時イメージングをめざしたコンプトンカメラの高度化開発に従事。

えのもと・しゅういち

岡山大学 大学院医歯薬学総合研究科 医薬品機能分析学分野 教授。理化学研究所 神戸研究所 分子イメージング科学研究センター メタロミクスイメージング研究ユニット 研究ユニットリーダー。

1991年北海道大学大学院薬学研究科博士後期課程修了、薬学博士。日本学術振興会PD、理化学研究所基礎科学特別研究員、理化学研究所仁科加速器研究センター副チームリーダーなどを経て、2008年10月から現職。メタロミクス研究と分子イメージング研究を推進中。

参考文献

-

FOOTNOTE

*10 テルル化カドミウム半導体としての性質をもつ、CdとTeの化合物。Si半導体と同様に、常温で作動可能な半導体放射線検出器の素材として利用されている。

*11 シンチレーション検出器放射線との相互作用で発光(シンチレーション)する物質を素材とした放射線検出器。

ミネラルのイメージング技術

榎本秀一*¹, 廣村 信*², 五十嵐香織*³

- | | | | | |
|-----|---------|-------|--------------|----------|
| * 1 | 物理化学研究所 | 和光研究所 | メタロミクス研究ユニット | ユニットリーダー |
| * 2 | 物理化学研究所 | 和光研究所 | メタロミクス研究ユニット | 研究員 |
| * 3 | 物理化学研究所 | 和光研究所 | メタロミクス研究ユニット | 研究員 |

『ミネラルの科学と最新応用技術』
2008年4月 シーエムシー出版刊 抜刷

第2章 ミネラルのイメージング技術

榎本秀一*1, 廣村 信*2, 五十嵐香織*3

1 はじめに

生体に存在する各種元素を含めたさまざまな分子の振る舞いが、*in vivo*においてどのようになっているのかという興味は、われわれ生命科学研究者の大きな関心事である。生体や組織の機能発現は、個体中のさまざまな機能タンパク質や生理活性物質の単独の振る舞いによりなされるものではなく、複数の分子や物質の相互作用によって生体機能の恒常性を保持している。したがって、このような生体分子間相互作用を包括的に解析することの必要性は論を待たない。生体分子のダイナミクスは、一時として同じ状態であることはなく、機を見て敏なる振る舞いが行われている。このようなリアルタイムの現象を可視化する技術が、分子イメージング技術である。

昨今、欧米のみならずわが国においても、ポジトロン断層撮影 (PET) や核磁気共鳴イメージング (MRI) などを中心とした分子イメージング研究の推進、進捗が話題に上ることも多く、その重要性が注目されている。ポストゲノム時代といわれる昨今の主要テーマは、生体内における分子機能を探索する研究に主眼がおかれ、科学的根拠に基盤を置いた医療 (Evidence based medicine) を実現する分子イメージング研究は重要な研究分野である。このような分子イメージング技術の革新は、創薬の迅速化や低価格化、新たな疾病診断、治療法の開発のみならず、生命科学研究全体の発展に重要な分野となっていくことが予測される。

分子イメージング技術に対する生命科学者の要求はきわめて高く、生体内に極めてわずかにしか存在しない生体分子を高い特異性を有しつつ、詳細にイメージングすることが要求される (高特異性と高分解能)。これは、高感度でありながら、かつ高い S/N 比も要求されている。本章では、蛍光イメージング、PET、SPECT および次世代核医学イメージングや MR イメージング、PIXE や放射光などを用いたイメージングなどについて、ミネラルの代謝ダイナミクスの観点か

*1 Shuichi Enomoto (理化学研究所 和光研究所 メタロミクス研究ユニット ユニットリーダー)

*2 Makoto Hiromura (理化学研究所 和光研究所 メタロミクス研究ユニット 研究員)

*3 Kaori Enomoto Igarashi (理化学研究所 和光研究所 メタロミクス研究ユニット 研究員)

ら注目して概説したい。

2 蛍光イメージング

基礎科学研究者の間で長らく用いられてきた蛍光イメージング技術も、新たなプローブ開発、蛍光タンパク質研究の躍進など、わが国が世界をリードしている研究分野のひとつである。その原理的制限から、いまだ臨床に直接的に応用するには至ってはいないものの、今後の研究の進捗が期待されている。

蛍光イメージングは、蛍光を有する化合物と標的分子の相互作用を利用する。蛍光イメージングを利用するには蛍光特性を有するイメージングプローブを必要とする。昨今、新たな蛍光プローブの創薬もさることながら蛍光分光分析法のうち共焦点レーザー顕微鏡、蛍光相関分光などの機器の発展、開発が進んでいる。蛍光イメージングプローブは、光誘発電子移動 (PeT: photoinduced electron transfer) 機構や蛍光共鳴エネルギー移動 (FRET: fluorescence resonance energy transfer)、分子内電荷移動 (ICT: intramolecular charge transfer) を原理としているが、詳細は優れた総説や成書をご参照いただきたい¹⁾。ここでは、ミネラルのうち、Ca、Zn、Mgの蛍光プローブを中心に概説したい。

2.1 Ca 蛍光プローブ

Caは生体内情報伝達物質として働き、その細胞内でのダイナミクスは今なお、生命科学研究者の関心をひきつけている。1980年代にカルフォルニア大学のR. Y. Tsienらは、細胞内Ca濃度測定法としてQuin-2を発表し²⁾、その後、Fura 2、Fluo 3、Indo 1およびRhod 2などの改良されたCaプローブを開発してきた³⁾。これらのCa蛍光プローブの創出により、生体内Ca動態に関する研究は大きな発展を遂げた。

Tsienらの開発したCa蛍光プローブは、中性域でCa親和性が変化せず、Ca選択性が高い。また、アセトキシメチル (AM) エステル体は、細胞膜透過性が高く、細胞内エステラーゼで加水分解され、細胞外に漏れ出しにくいので、細胞内Ca濃度の測定に適している。

Ca蛍光プローブを選択する場合、測定したいCa濃度域を考慮した解離定数 (Kd) と励起・蛍光波長、およびレシオメトリーの最適化が重要である。また、励起・蛍光波長は測定する実験系に合わせて選択する必要があり、細胞へのダメージや自家蛍光が問題となる場合はより長波長とすることが望ましい⁴⁾。ここで紹介したプローブ以外にも、Ca親和性の低いものや長時間滞留型のプローブ等が市販されている。

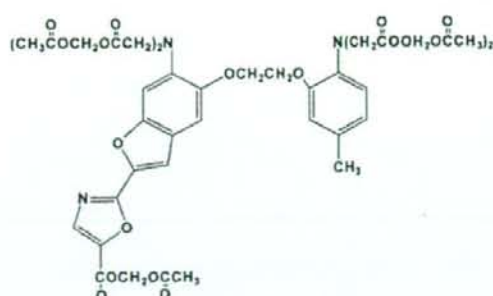


図1 Fura-2の構造と特性

2波長励起1波長蛍光、励起 (λ_{exc} = 340nm, $\lambda_{exc,inv}$ = 380nm), 蛍光: λ_{em} = 510nm, K_d : 224nmol/l, Ca有無により励起波長がシフトするためレシオメトリーが可能であり、プローブ濃度などの影響をさげられる。

2.2 Zn 蛍光プローブ

生体におけるZnの重要性がミネラルの研究者を中心に進められる中、Znのイメージングプローブのニーズが高まってきた。1987年、テキサス大学のC. J. Fredericksonらは、Znの検出にキノリン骨格を持つZn 蛍光プローブでTSQ (6-methoxy-8-(p-toluenesulfonamide)quinoline)を用い、中枢神経系組織切片におけるZnの分布の観測に成功した⁵⁾。その後、神経系におけるZnの機能解明の研究の進捗とともに、1990年代に入り、さまざまなZn 蛍光プローブが創製され、市場入手も容易になった。当初、Zinquin ethyl ester⁶⁾やDansylaminoethyl-cyclen⁷⁾などが、主にイメージングや細胞内遊離Znの測定に使われてきた。Zinquin ethyl esterは、Zn²⁺選択的蛍光プローブの最初の成功例であるTSQを元に考案された化合物であり、錯形成によって蛍光強度が約30倍に増強する。一度、細胞内に導入されると、細胞内エステラーゼによってエステル結合が加水分解を受け、水溶性が増し細胞外へ漏れにくくなる。Dansylaminoethyl-cyclenは、Zn²⁺と1対1錯体のみを形成することと、水溶性であることが大きな特長である。しかしながら、これらのプローブは励起波長がUV側にあることから、蛍光観察の際に細胞へダメージを与えることが危惧され、新たな蛍光プローブが望まれていた。

このような背景から、生理的条件下でプロトン化しにくく、ピリジンなどからなるキレート構造を用いた蛍光プローブが開発された。このグループに属するプローブには、東京大学の長野らのグループが開発したZnAF類⁸⁾やカリフォルニア大学のJ. H. WeissらのNewport Green類⁹⁾がある(図2)。これらのプローブは、490nm~575nm付近の間に励起波長を持ち、従来の蛍光顕微鏡やセルソーター等を使って細胞内Znの検出もでき、また細胞へのダメージもTSQやZinquinよりも低く抑えることができる。

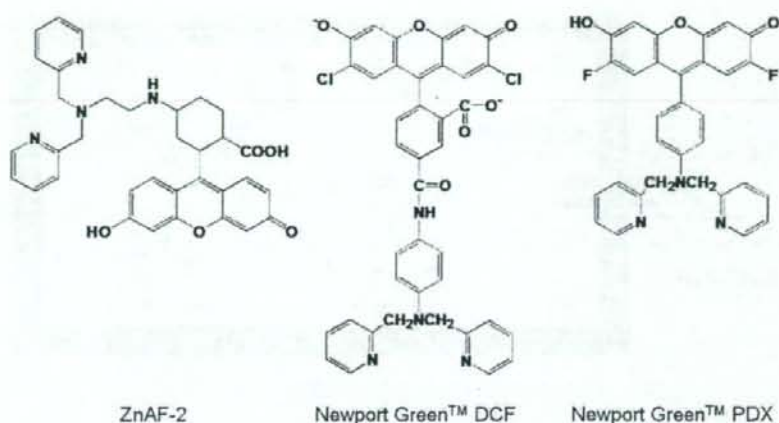


図2 ZnAF と Newport Green の化学構造

昨今の Newport Green を用いた研究をいくつか紹介すると、大阪大学の平野らの研究グループが、いくつかの成果を報告している。平野らは、免疫系において、自然免疫や獲得免疫応答に対する Zn の重要性を証明した論文で、樹状細胞 (dendritic cell) の MHC クラス II 分子の提示において細胞内 Zn 濃度が重要であることを示し、その観察に Newport Green を利用した¹⁰⁾。

また、平野らは、Zn 自体が細胞内シグナル伝達としてのセカンドメッセンジャーとして重要な役割を有することを提唱した¹¹⁾。肥満細胞に存在する IgE レセプターを活性化させると、MAPK シグナリングを介して小胞体付近から Zn が細胞質内へ遊離し、脱リン酸化酵素の阻害などによりリン酸化シグナルを活性化させることを明らかにした。この反応の解明には、Newport Green が利用され、これにより観察された遊離 Zn の動態を Zinc-wave (亜鉛波) と名付けている。

一方、ZnAF-2 は、Kd 値が 27nM と報告されており、細胞内などの低濃度 Zn イオンの計測に適している。また、Ca イオンや Mg イオンの影響はほとんど受けず、Zn 選択性が高い (図 3)¹²⁾。

静岡県立大学の武田らは、脳内における海馬シャッファー側枝終末に Zn が局在し、この終末からの Zn の遊離についての検討に ZnAF-2 を用いている。彼らは、テタヌス刺激による CA1 領域の放線状層のシャッファー側枝からの Zn 遊離の観察をこのプローブにより成功させた¹³⁾。また、同様に武田らは、海馬における Zn は細胞外のグルタミン濃度を低下させる作用があるが、その Zn の由来を明らかにした。テタヌス刺激により、増加する海馬の苔状繊維の細胞外と細胞内の Zn を細胞非透過型である ZnAF-2、および細胞透過型の ZnAF-2 DA を用いてそれぞれ観察に成功した¹⁴⁾。

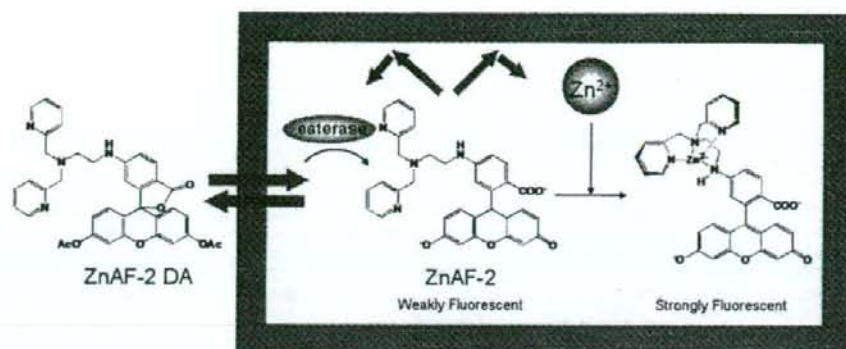


図3 ZnAF-2とZnの細胞内における錯形成反応¹²⁾

以上のようにZnの蛍光プローブは、微量元素研究に有効な手段であることが証明されてきた。また、現在ではNewport greenとZnAF-2は細胞透過型と非透過型が共に市場で入手でき、今日も多くの成果が報告されつつある。最後に、Zn蛍光プローブのNewport GreenとZnAF-2の利点と欠点をあげておきたい。

〈Newport Green〉

利点

- ・Newport Greenの構造に脂肪族アミンを含まないため、ZnAF-2に比べてpHによる影響を受けにくい(特にpH7以下において)。
- ・カルシウムによる妨害を受けない。劇的に変動する細胞内Znの検出に適している。

欠点

- ・Znとの結合解離定数が約 $K_d=40\mu\text{M}$ であるため、微量なZnの変化を検出することは難しい。

〈ZnAF-2〉

利点

- ・Znとの結合解離定数が約 $K_d=2.7\text{nM}$ であるため、試料中の微量なZn濃度の測定が可能である。
- ・細胞透過型は細胞内に蓄積されやすく、細胞内での微量なZnの観察に最適である。

欠点

- ・ZnAF-2の構造に脂肪族アミンを含むため、pHの影響を受けやすく、特に中性以下(pH7以下)では蛍光強度やZnとの結合に影響を及ぼすことが考えられる。

(注 この欠点を補ったZnAF-2Fが開発されている($pK_a=4.9$))

2.3 Mg 蛍光プローブ

マグネシウム蛍光プローブは、当初 Tsien らによって開発された FURAPTRA (Mag-fura-2) があり、その光学特性を改良したものが数例開発され、市販されている^{3, 15)}。しかしながら、これらの蛍光プローブは、トリカルボキシレート型 (APTRA 型) の配位子を有し、 Mg^{2+} に対する選択性が低かった。その後、慶應義塾大学の鈴木らの研究グループは、チャージドベータジケトン型の配位子を用いた KMG-20AM を開発し、高選択的な細胞内マグネシウムのイメージングに成功した¹⁶⁾。彼らはさらにフルオレセイン骨格を有し、高感度で、細胞内 Mg^{2+} 濃度とレーザー励起の最適化を検討した KMG-100 類を創出した¹⁷⁾。

このうち、KMG-104 は、 Mg^{2+} と錯形成して 8 倍の蛍光増大を示し、0.1~6 mM の細胞内マグネシウム濃度範囲に適合した Kd 値 2.1mM を有している。また、mM オーダーの Ca^{2+} の共存でも、ほとんど影響を受けない高い Mg^{2+} 選択性を併せ持つ。さらに鈴木らは、共焦点レーザー顕微鏡などで汎用されるアルゴンイオンレーザーによる励起に適しており、Mg 蛍光プローブによる細胞イメージングのための AM 化を行った KMG-104AM も開発した。彼らは、プロトンイオノフォア FCCP(carbonyl cyanide *p*-(trifluoromethoxy)phenylhydrazone) を用い、Mg の細胞内挙動と ATP の関係を明らかにした研究で、ミトコンドリアのプロトン輸送を加速して脱分極させても細胞内 ATP は大きく変動せず、ミトコンドリアで Mg^{2+} 上昇が大きいことを発見し、ミトコンドリアが細胞内の Mg^{2+} ストアであることも見いだした¹⁸⁾。

2.4 まとめ

以上のように、生体内におけるミネラルダイナミクスをイメージングする蛍光プローブの開発は、次々に進んでいる。今後、他の必須微量元素を含めたさまざまな金属のプローブ開発が加速されると思われるが、蛍光測定技術の進歩とともに、現在は遅れている個体レベル、臨床レベルでの蛍光イメージング技術の発展をさらに期待したい。

3 放射性同位元素を用いる分子イメージング法 (核医学イメージング)

放射性同位元素を用いたイメージング法は、核医学、基礎医学などの研究分野で汎用されている。この範疇に含まれるイメージングは、①陽電子 (ポジトロン) 放出核種を用いる放射断層撮像法 (PET: positron emission tomography) と②同じくそれを植物用に特化した植物用ポジトロンイメージングシステム (PETIS: positron emitting tracer imaging system)、③様々なガンマ線放出核種を用いる単一光子放射断層撮影 (SPECT: Single photon emission computed tomography) および④次世代分子イメージング装置として複数分子同時イメージングのできる

コンプトンカメラ (GREI: gamma ray emission imaging, Si/CdTe Compton camera, μ PIC: micro pixel chamber) がある。これらのうち、PET および PETIS はポジトロン放出核を用いることから、錯体化合物などの工夫をしたり、ミネラルのごく一部のものを利用することは可能である。もちろん、ミネラルが関連する生体反応のイメージングには汎用性がある。SPECT やコンプトンカメラは、プローブとして用いる放射性同位元素を工夫すれば、そのままミネラルのダイナミクスを追跡する手段となる。また、コンプトンカメラを用いた場合、他のイメージング法で困難な複数分子同時イメージングがリアルタイムで可能となる。昨今、わが国においても核医学イメージングを中心とした分子イメージング研究が精力的に推進され、その進歩は著しい^{19, 20)}。本稿では、これら放射性同位元素を用いる分子イメージング法について、ミネラル研究の観点から概説したい。なお、詳細な原理や装置の概要は、優れた成書が多数あるのでご参照いただきたい。

3.1 陽電子放射断層撮像法 (PET: Positron Emission Tomography) によるイメージング

PET は、放射性核種から放出されるガンマ線を利用して、その存在位置を測定する核医学検査法である。核医学検査は一般に放射性医薬品を投与し、代謝に伴う特定臓器への分布位置を、放出される放射線源の位置として体外から測定する。PET で検出できるのは、陽電子 (ポジトロン) を放出する核種であり、それでラベルした物質ということになる。ポジトロンは近傍の電子と結合することで消滅し、この消滅に伴う透過力の強い消滅ガンマ線が2本、互いに反対方向へ放射する。

この一対の消滅ガンマ線 (511keV) を生体周囲に並列した検出器で同時に計数することで、放射線源の方向と位置を求める。検出器には、消滅ガンマ線を高速で高効率に検出するため、ガンマ線吸収係数の高いシンチレータと光電子増倍管を組み合わせたシンチレーション検出器が用いられている。一般に PET の検出器には、BGO ($\text{Bi}_4\text{Ge}_3\text{O}_{12}$) シンチレータ結晶と BGO からの微弱パルスを高速かつ高感度に検出する光電子増倍管が用いられる。

3.1.1 PET の概要とミネラル研究への応用

1950 年代にポジトロン放出核を生体に投与し、その体内分布を断層像として再構成することが進められてきた。しかし、画像再構成法の進歩はコンピュータ技術の未成熟などさまざまな要因から、思うような進歩はなかった。1975 年に入り、ようやく PET が開発され、核医学検査に使用されるようになった。1980 年代後半には画像の定量性と画質を向上するために、画像再構成法および装置改良が進められ、ようやく PET の有用性が核医学の世界に認められて今日に至っている。一方、ポジトロン放出核種である ^{11}C , ^{13}N , ^{15}O , ^{18}F などは、陽子や重陽子を 10~20MeV 加速できる小型サイクロトロンを用いて製造する。これらの元素は当然のことながら生体物質な

どに容易に標識でき、さまざまな標識化合物が開発され、実用化されている。しかしながら、ミネラル研究の観点から考えると、ミネラルのPET研究はほとんど行われておらず、昨今、Cuのポジトロン核種 ^{64}Cu が日の目を見つつある程度である。もちろん、利用可能なポジトロン核種のミネラルは他にも存在するが、これを製造して積極的に利用した研究は、後に述べる植物の分野のみで、動物の分野ではほとんどない。これは、ポジトロン核種の短い物理的半減期に起因するもので、ミネラル研究の基礎医学、臨床医学研究を遅らせる原因であろう。すなわち、汎用されるポジトロン核種は、数分から数時間で壊変する短寿命のものであり、近傍に小型サイクロトロンと標識化合物を短時間で製造する自動合成装置や迅速合成法の確立が不可欠なことがボトルネックになっている。

3.1.2 PETの検出系

ポジトロン線の消滅ガンマ線を検出するには、対向する2つのガンマ線検出器(NaI(Tl), $\text{Bi}_4\text{Ge}_3\text{O}_{12}$ (BGO), Lu_2SiO_5 (LSO)などをシンチレータとする検出器)で同時計測することが不可欠であり、この同時計測で消滅したポジトロンがガンマ線検出器を結ぶ線(同時計数線)上にあったと同定できる。

最近では、次世代PETの開発が進められているが、この消滅ガンマ線を3次元放射線位置検出器で同時計数することにより、従来の2次元放射線位置検出器を用いたPETよりも解像度と感度を向上させる試みがなされている。現在では、解像度が数mm、感度100kcps/MBqであり、かつ高計数率を持つ次世代PET装置の開発が行われている。

3.1.3 PETの応用

生体における血流やエネルギー代謝は、細胞活動が活発な部位で高く、酸素やグルコースなどの局所的な代謝活性が高い。これは、 ^{15}O 、水およびFDG (2-deoxy-2- ^{18}F fluoro-D-glucose)などを投与し、PET画像を取ることで、容易に可視化することができる。このように、脳、心臓やさまざまな臓器の局所の機能をPETで画像化し、正常画像と疾患を疑う生体の画像を比較することで、疾患の発見につながる。例えば、がん細胞は分裂や代謝が活発であるので、FDGを用いることでがんの病巣部位を判別することが容易である。また、病巣の大きさや浸潤、進行の状況も判断でき、治療法の検討や治療効果の判定にも威力を発揮する。また、ポジトロン放出核で神経伝達物質などの生体物質を標識すれば、そのダイナミクスの観察も容易となる。このように標識化合物の選択によって、ミネラルの引き起こす生体内の関連反応のイメージングをPETにより行うことも十分に可能な環境が用意されている¹⁹⁾。

小動物用のマイクロPETも市販されており、機能画像を効果的に取るには熟練を要するものの、PETも基礎医学研究に身近な機器になりつつある。最近、東北大学の石井らのグループは、1mm以下の高空間分解能を持つCdTe半導体を用いた実用型動物用半導体PETの開発に成功

したと報告しており、これら小動物用 PET の普及により、マウスのような小動物を用いた動物実験が簡便となり、生命科学の発展や新薬の開発に寄与するものと思われる^{21, 22)}。

3.2 植物用ポジトロンイメージングシステム (PETIS ; Positron Emitting Tracer Imaging System)

植物用に特化した PET の開発が、日本原子力研究開発機構高崎研究所の松橋らのグループによって開発が行われているのでご紹介したい^{23~25)}。彼らは植物体の 2 次元の画像解析を行うための植物用ポジトロンイメージングシステム (PETIS) を開発し、短寿命のポジトロン放出核を用いた植物研究を推進している。PETIS は、オートラジオグラフィーなどでは得られなかった生きた植物体内における物質移行を、リアルタイム計測できるシステムであり、現在、種々のポジトロン放出核を用いて、短時間の植物の応答計測など新分野の植物研究が展開されている。彼らは AVF サイクロトロンを用いて、 ^{11}C - CO_2 ガス、 $^{13}\text{NO}_3^-$ 、 ^{18}F -水、 ^{18}F -グルコース、 ^{11}C -メチオニン、 ^{11}C -プロリン、 ^{52}Mn 、 ^{52}Fe 、 ^{62}Zn 、 ^{105}Cd などを製造し、これらの標識化合物を用いた植物の代謝過程ポジトロンイメージングに関する研究を推進している。PETIS を用いる非破壊・細部計測によって、オートラジオグラフィーなどの従来法では得られなかった空間的、時間的解析が可能であり、生きたままの状態で見視的に計測できる方法として、植物の環境応答や栄養特性の研究に有効な手段となっていくであろう。しかしながら現在のところ本手法は、原子力機構の高崎研でのみ実施可能であり、今後、PETIS が多くの研究者が利用できる植物研究の有効な手法として普及するには時間を要するものと思われる。

3.3 単一光子放射断層撮影 (SPECT ; Single photon emission computed tomography) によるイメージング

SPECT は生体内に投与された ^{67}Ga 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{111}In 、 ^{123}I 、 ^{201}Tl などの放射性同位元素から放出される単光子ガンマ線を検出する装置であり、PET のようなポジトロン核種を用いる手法とは異なる²⁶⁾。SPECT は核医学診断では汎用されるイメージング法の一つだが、ミネラルのイメージングという観点に立つと使用できる核種の選択性に乏しく、ミネラルイメージングのツールとしては大きな期待はもてない。ただ、PET と異なり、工夫をすれば複数分子イメージングも可能になるのでその応用は期待できる。

現在、汎用されている SPECT は、カメラを生体の周りで回転させて計測する装置であり、回転型ガンマカメラと呼ばれている。ガンマカメラは多数の検出器 (NaI(Tl) 結晶など) が矩形か円形の平面に配列しており、コリメータを通過して入射したガンマ線による発光を電気信号に変換している。臨床では、ガンマカメラを検査用ベッドの周囲で回転させ 2 次元投影データを取

得後、X線CT画像などと同様の画像再構成法を用いて断層像を作成している。最近のSPECTにはガンマカメラを2~3台有する装置が多く、多検出器型SPECTが普及している。これにより、検出感度が向上し、検査時間短縮が図られている。ただ、SPECTでは、感度と解像度をもとに向上させることが原理的に難しい。すなわち、コリメータの径を小さくすれば解像度は向上するが感度が低下する。一方、前述のPETでは同時計数法という電気的コリメータを採用しているため、幾何学的コリメータを使用するSPECTに比べて解像度が高く、大幅に感度を高めることができる。したがって、SPECTの感度と解像度はPETには及ばない。また、SPECTは被検体におけるガンマ線の減弱の影響が大きく、PETに比べて定量性の確保が難しい。PETとSPECTの利点を併せ持つ核医学イメージング装置の開発が切望される。最後に、汎用されているSPECT用核医学核種をご紹介します。

- ・脳血流シンチグラフィ ^{99m}Tc , ^{123}I
- ・脳脊髄腔シンチグラフィ ^{111}In
- ・ガリウムシンチグラフィ ^{67}Ga
- ・骨シンチグラフィ ^{99m}Tc
- ・心筋血流シンチグラフィ ^{201}Tl , ^{99m}Tc
- ・肺血流シンチグラフィ ^{99m}Tc
- ・肺換気シンチグラフィ ^{99m}Tc , ^{133}Xe , ^{81m}Kr
- ・甲状腺シンチグラフィ ^{123}I , ^{99m}Tc , ^{201}Tl
- ・副甲状腺シンチグラフィ ^{99m}Tc , ^{201}Tl
- ・肝シンチグラフィ ^{99m}Tc
- ・肝胆道シンチグラフィ ^{99m}Tc
- ・腎シンチグラフィ ^{99m}Tc , ^{131}I
- ・副腎シンチグラフィ ^{131}I など

3.4 次世代核医学イメージングと複数分子同時イメージング

基礎医学研究や臨床においても、複数分子の同時イメージングの実現の波及効果はきわめて大きい。それは、生体内のさまざまな反応がそれぞれ相互作用を有しているからであり、生体反応過程のリアルタイムイメージングのもたらすブレイクスルーは計り知れないからである(図4)。無論、ミネラル研究においても、複数ミネラル間の相互作用を可視化し、かつそれに関連する生体内反応を別々のプローブで同時にイメージングできれば、ミネラル研究の躍進を加速することは言うまでもない。このような複数分子同時イメージングを実現する機器開発が、まさに世界的に進行しており、とりわけわが国の研究の進歩が先んじている。本稿では、著者らの開発中の複



図4 複数分子イメージングの将来

特性の異なる複数分子プローブを同時に追跡し、生体内動態や代謝過程などの多角的な情報を得ることにより、より高度で正確な診断を可能にし、基礎医学研究にも寄与することが可能である。

数分子同時イメージング装置 GREI を中心に、次世代核医学イメージング機器として、Si/CdTe コンプトンカメラ、マイクロピクセルチェンバー型コンプトンカメラの開発の現状と複数分子イメージングの実際について概説したい。

3.4.1 Ge 半導体コンプトンカメラによる複数分子同時ガンマ線イメージング装置 (GREI ; Gamma-ray emission imaging) の開発

著者らの開発してきたマルチトレーサー法では、加速器や原子炉を利用して生成される多種の放射性核種（複数のミネラル）を一度にトレーサーとして調製し、それらの試料中での挙動が分析される。多数の元素の情報を1回の実験で効率的に調べることが出来るため、スクリーニングを行うのに適しており、また、単一のトレーサーによって得られた情報の足し合わせでは得られない複数の元素間の相関の情報も得ることが出来る。これらの利点によって、マルチトレーサー法は生物学・医学・環境科学などの研究に応用され、さまざまな成果を挙げてきている²⁷⁾。

このようなマルチトレーサー法の優れた特徴にもかかわらず、単一核種のトレーサーに比べて分析方法が限られているため、マルチトレーサーの分布を非破壊的に計測することは行われてこなかった。これは、数百 keV から約 2 MeV までの間の多数の異なるエネルギーのガンマ線がマルチトレーサーから放出されるためである。このような条件下では、従来のガンマ線撮像装置で核種ごとの画像を得ることは困難である。

一方、前述のように核医学診断におけるイメージングにおいては、通常一度に撮像可能な RI 標識分子プローブは一種類だけである。この理由は、現在の主要なイメージング機器である PET や SPECT の撮像原理に負うところが大きい。すでに述べたように PET ではポジトロン放出核が用いられ、511keV の消滅ガンマ線を検出して撮像するため、異なる分子プローブを識別することは困難である。SPECT においては約 300keV 以上のガンマ線に対しては画質が著しく低下してしまい、利用可能な核種が制限される。このため、現在までに複数分子同時イメージン

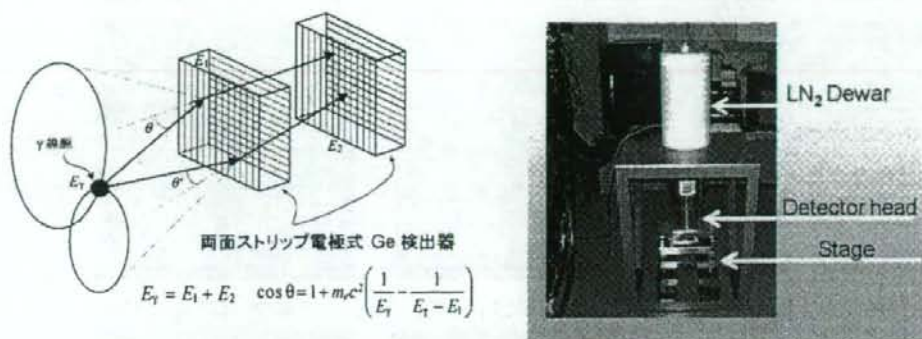


図5 GREIの写真と撮像原理

前段 Ge でコンプトン散乱，後段 Ge で光電吸収を利用し，ガンマ線エネルギー $E_{\gamma} = E_1 + E_2$ で核種を識別。コンプトン散乱の運動学を満たす円錐の交差点がガンマ線源の位置として定まる。

グの有用性を示す研究はほとんど進められておらず，またこのことが複数分子同時イメージング装置開発のモチベーションの低下を招いていると推察される。

しかしながら，生体内における生物学的反応過程は複合的である場合があり，単一の分子プローブでは複雑な生体反応や相互作用，組織病変と周辺臓器との浸潤度や進行度の判定に不十分である。癌と炎症の区別，移植医療における移植臓器の生着率の判定，再生医療の成功の判定などの日常臨床に重要な診断基準のモニタリングに有用なモグリティとして，複数分子同時イメージングの果たす役割は大きいと考えられる。このような日常的な臨床における診断に供する分子プローブの開発もきわめて重要な研究課題であるが，このプローブ開発は装置の実用化と完全にリンクしている。将来的には，複数分子同時イメージング装置の創出と新プローブの創製で，より高度で正確な多元的診断が可能になることが期待できる。

そこで著者らは，コンプトンカメラ方式を採用した GREI の開発を行ってきた^{28, 29)}。GREI は複数分子同時イメージングを実現できる半導体検出器を用いたコンプトンカメラである。半導体検出器は優れたエネルギー分解能を有するので，それぞれのプローブごとに異なる放射性核種を標識すれば，放出されるガンマ線のエネルギーによってそれらを識別することが可能である。また，コンプトンカメラには機械的なコリメータが不要であるため感度を向上させることができ，静止撮像でも複数の方向へ射影した3次元分布の情報が得られるという特徴を有する。

現在のプロトタイプは両面直交ストリップ電極式の平板型 Ge 半導体検出器を2台平行に並べたコンプトンカメラである(図5)。それぞれの検出器の有感領域の寸法は，前段が $39 \times 39 \times 10 \text{mm}^3$ ，後段が $39 \times 39 \times 10 \text{mm}^3$ で，検出器中心間の距離は 60mm 取られている。陽極および陰極は互いに直交する方向のストリップ状に分割されており，それらの組み合わせによって，検出

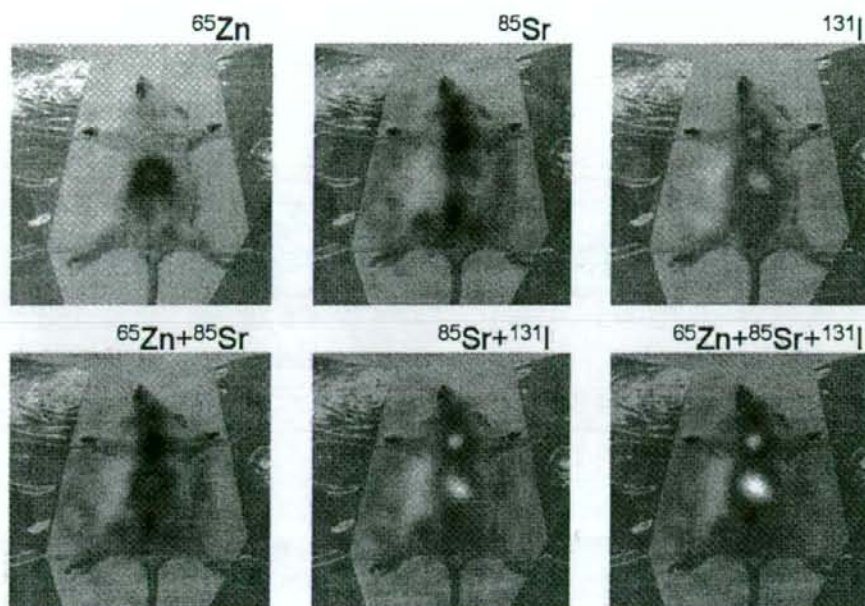


図6 マウス写真と複数核種カラー表示2D画像の重畳

器内でのガンマ線の相互作用のXY方向の位置が検出されるようになっている。また、検出器の深さ方向の位置についても、検出器信号処理の工夫によって約1mmの精度を実現している。この試作機を用いた正常および病態モデル動物の撮像実験を行い、新規分子プローブの探索や装置開発へのフィードバックのための撮像装置の検証を行っている。

〈生物試料の多核種同時ガンマ線撮像実験〉

ここでGREIによる、マウスの複数分子同時ガンマ線イメージングの結果を紹介しよう。図6は、正常ICRマウス♂8週齢にアドステロール- ^{131}I 注射液 ($E=364.5\text{keV}$, 半減期=8日), $^{85}\text{SrCl}_2$ ($E=514\text{keV}$, 半減期=65日) および $^{65}\text{ZnCl}_2$ ($E=1115.5\text{keV}$, 半減期=244日) を同時投与し、麻酔下で12時間連続リアルタイムイメージングした結果と可視像を重畳した写真であり、複数分子同時リアルタイムイメージングの世界初の成功例である³⁰⁾。この図から、Znが肝臓に主に集積し、アドステロールが副腎、その代謝物の ^{131}I が甲状腺付近に、Srが骨に集積していることがわかる。

〈今後の課題〉

これまでに示したように、GREIはほぼ期待通りの結果が得られたが、より実用的な撮像を行うには、さらに空間解像度を向上させ、計測時間も短縮することが望まれるであろう。これらの性能は、検出器中でのガンマ線の相互作用点の位置をより高精度で計測することと、検出効率を

向上させることで改善されるが、それはガンマ線のトラッキング技術によって実現可能である。現在の GREI では、検出器の厚さ方向については既に約 1 mm の精度を実現しているが、XY 方向の精度は電極分割の大きさに決められている。計算機シミュレーションの結果、信号波形の解析によって XY 方向の位置についても精度良く測定すれば、現在約 4 mm の画像の空間解像度が約 1 mm まで改善可能である。また、現在の GREI では、後段の検出器に入射した散乱ガンマ線が 1 回の相互作用で光電吸収された事象を選択的に収集しているが、トラッキング法が実装されれば複数回の相互作用が起こった事象も利用可能になり、検出効率を最大 20 倍程度向上させることが可能になる。これらの性能が改善され実用レベルの撮像が可能になれば、広い核種の選択肢を持ったより汎用的な複数分子同時イメージング装置となるであろう。この装置が完成し、ミネラル研究はいうまでもなく、核医学や創薬の研究にも応用可能な装置に発展していくであろう。

3.4.2 Si/CdTe コンプトンカメラとマイクロピクセルチャンバー (μ PIC) コンプトンカメラの開発

宇宙研究開発機構の高橋らは、GREI 同様にコンプトンカメラ方式を採用した高いエネルギー分解能をもつ Si 検出器と CdTe 検出器を組み合わせた Si/CdTe コンプトンカメラを開発している³¹⁾。この Si/CdTe コンプトンカメラは宇宙ガンマ線の観測を目的とし Si や CdTe 半導体撮像素子を、数十層にわたって積層した半導体多層コンプトンカメラとして開発されてきた。80~662keV までのガンマ線の撮像に成功しており、低エネルギーガンマ線を放出する SPECT 核種も利用可能である。昨今、高橋らと著者らは、この Si/CdTe コンプトンカメラによる小動物を用いた複数分子同時イメージングに着手し、臨床や基礎医学研究でも利用できるコンパクトな Si/CdTe コンプトンカメラの開発を行っている。この Si/CdTe コンプトンカメラは、非常にコンパクトであり、センチネルリンパ腫などの術中モニタリングにも使用できるサイズであり、併せて高い検出効率を有している。著者らの開発する GREI を病院設置型とすれば、Si/CdTe コンプトンカメラはポータブルタイプの低価格複数分子同時イメージング装置と位置づけることができる。一方、京都大学の谷森らのグループは、原理をコンプトンカメラ方式としたガス増幅粒子検出器 (μ PIC) を開発している³²⁾。彼らも宇宙ガンマ線の観測用の装置として開発してきたが、昨今、医療用の μ PIC の開発にも取り組んでいる。この装置は 30cm \times 30cm の検出部面積を持つもので、小動物の生体内ダイナミクス撮像に成功した。この装置は、ガス増幅粒子を利用しているため、低価格化が図れるが、高分解能の画像取得には問題点が残っている。しかし、GREI や Si/CdTe コンプトンカメラと同様に複数分子同時イメージングが可能であり、前述の 2 機種と相補的な複数分子同時イメージング装置となっていくことが予測される。

4 核磁気共鳴によるイメージング

核磁気共鳴画像法 (MRI) は、強力磁石を用いて生体中の水素原子核に強い高周波を照射して、放出される高周波を受信することによるイメージングである。CTと同様に、MRIは生体スライスのような二次元の画像を生成するため、トモグラフィーである。昨今、複数の二次元画像から合成や三次元イメージを生成することも行われている。生体微量元素研究のイメージングの観点からMRIの利用を考えると生体微量元素の反応によって起こされる水分子のダイナミクス変化を評価する以外に、MRI用造影剤の利用や緩和時間の測定による金属元素の集積性を見ることが可能である。本稿では、詳しい原理や詳細な装置の説明は優れた総説などに譲り、ミネラルイメージングの観点から概説したい。

4.1 MRIの画像と測定

MRIは、生体中に含まれる水や脂肪の水素原子核由来の核スピンをを用いて、画像を再構成している。 ^1H 以外の原子核 ^{13}C 、 ^{23}Na 、 ^{31}P なども同様にMRIで画像を得ることもできる。しかし、これらの原子核の検出感度は、 ^1H に比べはるかに低くなる。MRIにおける画像をつくる主要な要素は、各画素を構成する領域の観測スピンの密度、緩和時間、拡散などの分子レベルにおけるスピンの状態や挙動である。MRI画像の画素当たりの強度は、その領域のスピンの密度に比例する。緩和時間は、磁場で励起された核スピンの熱平衡状態へと戻る過程を表す時定数であり、スピンの属する分子の運動性や磁場環境を反映する。緩和時間には縦緩和時間 (T_1) と横緩和時間 (T_2) がある。 T_1 はRFパルスによって励起されたスピンの熱平衡状態に戻る過程の時定数であり、 T_2 は横磁化を構成する各スピン間の位相の時間依存的ずれであり、横磁化の強度減衰過程の時定数である。生体中では臓器や組織の構造や状態が各々の緩和時間を変化させ、その緩和時間の違いを画像のコントラストとしてイメージングできる。また、核スピンの属する分子の環境の粘性や運動異方性、分子の拡散係数もMRI画像に反映される。通常MRI画像は、これらすべての環境を反映するが、撮像方法の選択によってどれか1つの因子を強調した画像を得ることができる。例えば T_1 値を反映させた画像は T_1 強調画像といい、 T_1 値によるコントラストが最も強い画像である。このように強調したいパラメーターを選択することにより、特定の組織や腫瘍細胞などを強調したイメージングを得ることができる。また、拡散係数の違いや物質のダイナミクスをイメージングすることもできる。

4.2 MRIによる生体計測

現在汎用されているMRIは、その測定対象や装置が多岐にわたっている。一概にその能力を

示すことはできないが、汎用される MRI を用いた生体計測についてご紹介しよう。

・時間分解能

MRI 本体のハードウェアやその計測アルゴリズムの開発によって、現在では数十ミリ秒オーダーでの超高速撮像が市販品で行えるようになった。脳科学研究で利用される fMRI (functional MRI) がよく知られているが、リアルタイム計測が可能な高い時間分解能が求められる研究で超高速撮像が用いられている。また、植物を用いた長時間にわたる連続観察も行われている。

・空間分解能

空間分解能は勾配磁場の強度、観測領域の設定とデータポイント数に依存する。実験動物の研究用に開発・市販されている高分解能な MRI 装置 (MR 顕微鏡, MRM: MR microscope と呼ばれる) を使った場合、生物試料の測定における実質的な最高分解能は $10\mu\text{m}$ 程度といわれている。蛍光タンパク質などを使った蛍光イメージングでは、試料の可視光透過性により観測できる深度に限界があるが、MRI ではその限界はない。

・コントラスト試薬・造影剤

MRI 撮像の際、そのままでは十分な画像コントラストが得られないことがある。このような場合、MRI 画像にコントラストを付与したり、強調したりする試薬を生体内に投与することがある。これらはコントラスト試薬、造影剤とよばれる。その効果は緩和時間の変調であり、T1 を短縮させる陽性造影剤と T2 を短縮させる陰性造影剤がある。陽性造影剤には Gd のほか、Mn、Fe の錯体があり、陰性造影剤は酸化鉄微粒子を主体とする SPIO (superparamagnetic iron oxide)、MION (monocrystalline iron oxide nanoparticles) などが知られている。

4.3 MRI の実際

近年、MRI 撮像は、生体構造の画像を得るだけにとどまらず、生体内反応をリアルタイムに MRI 画像に反映させ、生物学的に有益な情報を得るため、遺伝子導入や分子細胞生物学などの既存手法を組み合わせた研究が増えている。ここでは、最近報告された研究をいくつか紹介したい。

4.3.1 トランスフェリンレセプター遺伝子発現のイメージング

2000年に Weissleder らのグループは、トランスフェリン受容体の遺伝子発現をイメージングすることに成功した³³⁾。トランスフェリンはトランスフェリン受容体を介して細胞内に取り込まれるが、野生型トランスフェリン受容体は、細胞中の鉄濃度によりその発現量を制御されている。彼らは発現量抑制が少ない変異トランスフェリン受容体遺伝子を腫瘍細胞に導入し、これにより、遺伝子導入後のトランスフェリン受容体発現量を通常の5倍以上とした。この腫瘍細胞をマウスに移植し、T2短縮効果のある陰性造影剤の MION を結合したトランスフェリンをこのマウ

スに静脈注射し、24時間後にMRI測定を行った。この結果、トランスフェリン-MIONはトランスフェリン受容体を発現した腫瘍細胞に蓄積され、その部分のT2が有意に変化した。さらに、T2強調MRIシグナルの強度はトランスフェリン受容体のmRNAとよく相関することを示した。

4.3.2 β -ガラクトシダーゼのイメージング

2000年にLouieらのグループは、MRI陽性造影剤のGdを用い、 β -ガラクトシダーゼ遺伝子(*lacZ*)の発現を*in vivo*イメージングした³⁴⁾。Gdは近傍に位置する¹Hの緩和時間を短縮することでその効果を発揮するが、単体では毒性を有するので、錯体化合物が使用されている。Louieらは、Gd錯体を糖でコーティングしたEgadMeを初期胚2細胞期のアフリカツメガエルの卵にマイクロインジェクションし、そのうち1グループの細胞に*lacZ*のmRNAを導入した。その後、成長に伴い細胞分裂をくりかえすことで、EgadMeは全細胞に分布するのに対し、*lacZ*は体の片側のみ発現することを示した。体長約3mmまで成長した胚においてT1強調MRI画像を撮像したところ、*lacZ*が発現している部分はT1短縮効果によってMRIシグナルが増大し、*lacZ*のない部分と顕著に区別可能となった。

4.3.3 細胞障害性T細胞を使った腫瘍細胞イメージング

腫瘍抗原に特異的な細胞障害性T細胞(CTL: cytotoxic T lymphocyte)を使った細胞療法において、その効果や抗腫瘍活性の評価を行うため、CTL動態を*in vivo*でイメージングする方法が重要視されている。2003年にKircherらのグループは、CTL(CD8+T細胞)のマウス体内のダイナミクスをイメージングした³⁵⁾。彼らは¹HのT2を短縮する陰性造影剤として、強磁性ナノ粒子(酸化鉄)誘導体(CLIO-HD)をCTLに取り込ませてMR標識し、大腿部に黒色腫をもつマウスにこの標識CTLを腹腔内注射した。そのT2強調MRIにより、リアルタイムイメージングを行った。

4.4 今後の展望

MRIの欠点は、蛍光などの光イメージングに比べて感度ははるかに低いことである。これは、NMRの原理的な問題であり、飛躍的な感度の向上のためには大きなブレイクスルーが必要であろう。近年、励起されるスピンの数を数万倍にする超偏極技術が進捗しているが、超偏極Xeガスによる肺の画像診断や超偏極¹³C化合物による血管や腫瘍の画像化が試みられている³⁶⁾。また、新しいMRIとして、AFM(atomic force microscopy)とNMRを融合させたMRFM(magnetic resonance force microscopy)が考案され、今後の発展が期待される。

5 粒子線励起 X 線放出 PIXE と放射光によるイメージング

種々の加速器による高エネルギーイオンビームを利用した分析手法は、材料物性や固体物理学の研究分野で盛んに行われてきた。その利用には加速器のある施設という物理的制約があるものの、近年、この手法の高感度性を利用し、環境科学や医学、生物学分野にわたる広範な応用研究が見られるようになってきた。これらの手法は ppm から、場合によっては ppt オーダーの感度で定量分析が可能であり、その分解能も数～数百オングストロームレベルの深度で観測できる。また、1997年に兵庫県播磨科学公園都市に建設された大型放射光施設 SPring-8 (Super Photon ring の略と加速エネルギーが 80 億電子ボルト (8 GeV) を意味する 8 を表している) や各地の加速器施設のイオンビームを利用した加速器質量分析法による微量元素分析や PIXE (Particle Induced X-ray Emission, 粒子線励起 X 線放出)、マイクロ PIXE などによる微量元素分析が積極的に研究に用いられている^{37, 38)}。本稿ではこれら加速器を用いたミネラルのイメージングに関して概説したい。

5.1 PIXE とイメージング

PIXE は 1970 年代から始まった元素分析法であり、その原理は、荷電粒子と原子との衝突によって発生する特性 X 線を測定して元素分析を行う手法である。荷電粒子は、陽子が主に使用されるが、これは、特性 X 線を強く出し、照射による試料の損傷が小さいためである。X 線の発生源は、静電加速器やサイクロトロンなどを用い、陽子を数 MeV 程度に加速して試料に当て、その軌道のエネルギー差を X 線として電子が放出され (K-X 線 (特性 X 線))、これを測定する。PIXE は S/N 比が EPMA (Electron Probe Micro Analysis: 電子線マイクロアナライザ) や XRF (X-Ray Fluorescence: 蛍光 X 線) 分析に比べよいことや分析に要する試料が数 mg 程度で、条件によっては 100 μg でも分析可能であるといった特徴がある。さらに、最近の研究開発により、試料中の複数元素に対して平面分布を測定することも可能になってきた。また、標準物質を用いた規格化により正確な定量を行うことができるのもその特徴である。分析システムは、加速器 (試料に照射する陽子線や He イオンなどの発生装置) と Si(Li) 検出器との組み合わせによる方法が一般的である。粒子線は電子線と異なり制動放射 X 線によるバックグラウンドが非常に低く、高感度である。また、Si(Li) 検出器は多元素同時分析が可能なので、高感度分析に威力を発揮する。分析したい元素の濃度で 10^{-7}g/g 、試料で μg 程度の微量分析が可能とされている。また、試料が厚いものや未知成分の試料は PIXE に適している。

昨今は、粒子ビームを $1\mu\text{m}$ 以下にフォーカスしたマイクロビームを用いたマイクロ PIXE が開発され、細胞内の元素分布がイメージングできるようになっており、この開発により病因の解