

200912017A

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 21 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 稲垣暢也

平成 22(2010)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 21 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 稲垣 暢也

平成 22(2010)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<br>糖尿病の超早期診断法の開発に関する研究<br>稲垣 暢也  |    |
| II. 分担研究報告   | 4  |
| 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<br>動物実験系の構築<br>豊田 健太郎   | 4  |
| 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<br>必要な大動物膵島移植系の確立<br>興津 輝  | 6  |
| 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   | 8  |
| 佐治 英郎  |    |
| 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  | 10 |
| 天満 敬   |    |
| 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> ・ <i>ex vivo</i><br>評価 - <sup>18</sup> F 標識 exendin-(9-39)における検討 -<br>河嶋 秀和 | 12 |
| 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<br>高分解能 PET 撮像の検討<br>上田 真史   | 14 |
| 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<br>超早期診断法の開発<br>富樫 かおり  | 16 |
| 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<br>膵島撮像法の開発<br>松田 哲也   | 18 |
| 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   | 20 |
| 斉藤 美佳子   |    |
| 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  | 22 |
| 平尾 佳   |    |
| 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  | 29 |

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  $\mu\text{m}$  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、 $\beta$  細胞特異的な機能タンパクを中心に分子プローブを選定して作成した。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 12 位、27 位の  $^{18}\text{F}$  標識体の PET 撮像で膵臓への集積を認めたが周辺臓器への集積も大きかったため、平成 21 年度には化合物の改変を行った。その結果、膵臓集積性の高い化合物を得ることができ、実際 PET 撮像によって膵臓へ集積を認め、肝臓への集積が抑えられることを確認した。その他、Mitiglinide を母体とする化合物、GPR40 のリガンドを母体とする化合物の開発も平行して行い、特許申請は最終的に 7 件となった。プローブ評価のための膵島定量系については、実際にストレプトゾトシンによる糖尿病モデルの解析を行った。ルシフェラーゼ発現マウスにおける糖尿病モデルも作製した。また MRI による膵島の可視化については、プローブを用いた撮像検討に移行し、初期の検討で MRI シグナルを得た。以上のように、平成 21 年度は膵島イメージングの可能性のあるプローブを開発でき、今後定量性の評価や糖尿病モデルでの評価を行う予定である。

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  
臓器移植治療部 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 1320 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。従って、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。

以上より本研究の目的は、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

膵島特異的に集積する標的分子と標的化合物の探索を継続して行った。GLUT2 の基質誘導体について、分担研究者の佐治、斉藤らとともにを行い、設計を終了した。

### 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。

### 3. 標識分子プローブの基礎的評価

(1). *in vitro* : 単離膵島での結合特性

### 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 (河嶋, 上田, 豊田)

(1). プローブの臓器選択性評価のために、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った。また、膵島選択性は標識プローブを膵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). 画像撮像は microPET もしくは CT/MRI で行い、至適撮像条件

を検討した。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、計数して標識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定量性を確認する。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。

## 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 撮像の検討を行い、本年度はそれらの結果を元に新たなプローブの合成と評価を行った。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終了し、合成し、標識化検討を開始した。

2) K<sub>ATP</sub> チャンネルのリガンド：ミチグリニド：β細胞への結合性評価、標識化終了し、<sup>18</sup>F 標識したプローブによる体内分布実験と PET 撮像実験を行い、膵臓への集積を認めたが、S/N 比低く改善を要した。

3) 小胞モノアミントランスポーター (VMAT2) のリガンド：Dihydratetrabenazine (DTBZ) については、合成収率悪く再設計検討となった。

4) Glucagon-like peptide-1 (GLP-1) 受容体のリガンド：ペプチド性リガンドとして Exendin(9-39) を母体化合物に選択し、標識部位を種々設定し Exendin(9-39) の誘導体として、<sup>18</sup>F もしくは <sup>123</sup>I を導入した 7 種類の標品と標識前駆体を合成。さらに、新規のリガンド化合物の設計と合成、標識化を行った。いずれも膵臓への集積を認めた。平成 21 年においても新たに特許申請した。

5) G 蛋白共役受容体(GPR40)のリガン

ド：分担研究者の佐治らと GW9501, GW1100 を選定して設計し、<sup>18</sup>F もしくは <sup>123</sup>I を導入した GPR40/GPR120 agonist GW9508 誘導体である 3 化合物を、さらに GPR40 antagonist GW1100 誘導体である 3 化合物を設計した。合成検討、標識化検討を行った。

6) ペプチド受容体の抗体：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。

#### 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い、新たな化合物合成を行った。今後、*in vivo* 膵島量定量モデルを用いて PET 撮像を行い、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を行いたい。

#### E. 結論

Exendin(9-39)をはじめとして、β細胞選択性、膵臓集積性の高いプローブを得ており、今後の開発が期待できる状態である。

F. 健康危険情報 特になし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

[1] E. Mukai, K. Toyoda, H. Kimura, H. Kawashima, H. Fujimoto, M. Ueda, T. Temma, K. Hirao, K. Nagakawa, H. Saji, and N. Inagaki. GLP-1 receptor antagonist as a potential probe for pancreatic beta-cell imaging. *Biochem Biophys Res Commun* 389: 523-6, 2009.

[2] M. Ogura, Y. Nakamura, D. Tanaka, X. Zhuang, Y. Fujita, A. Obara, A. Hamasaki, M. Hosokawa, and N. Inagaki. Overexpression of SIRT5 confirms its involvement in deacetylation and activation of carbamoyl phosphate synthetase 1. *Biochem Biophys Res Commun* 393: 73-8, 2010.

[3] X. Liu, N. Harada, S. Yamane, L. Kitajima, S. Uchida, A. Hamasaki, E. Mukai, K. Toyoda, C. Yamada, Y. Yamada, Y. Seino, and N. Inagaki. Effects of long-term dipeptidyl peptidase-IV

inhibition on body composition and glucose tolerance in high fat diet-fed mice. *Life Sci* 84: 876-81, 2009.

[4] S.K. Park, L. Amos, A. Rao, M.W. Quasney, Y. Matsumura, N. Inagaki, and M.K. Dahmer. Identification and characterization of a novel ABCA3 mutation. *Physiol Genomics* 40: 94-9, 2010.

[5] M. Shimodahira, S. Fujimoto, E. Mukai, Y. Nakamura, Y. Nishi, M. Sasaki, Y. Sato, H. Sato, M. Hosokawa, K. Nagashima, Y. Seino, and N. Inagaki. Rapamycin impairs metabolism-secretion coupling in rat pancreatic islets by suppressing carbohydrate metabolism. *J Endocrinol* 204: 37-46, 2010.

[6] B. Chapuy, M. Panse, U. Radunski, R. Koch, D. Wenzel, N. Inagaki, D. Haase, L. Truemper, and G.G. Wulf. ABC transporter A3 facilitates lysosomal sequestration of imatinib and modulates susceptibility of chronic myeloid leukemia cell lines to this drug. *Haematologica* 94: 1528-36, 2009.

#### 2. 学会発表 なし

稲垣暢也. β細胞の可視化はどこまで可能か? 第44回糖尿病学の進歩(大阪、平成22年3月5日)

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

##### 1. 出願番号: PCT/JP2009/56628

特願2009-68837号

特願2009-68838号

特願2009-68839号

特願2009-204769号

特願2009-228658号

PCT/JP2009/066398

特願2009-185470号

#### 及びその使用

##### 2. 実用新案登録 なし

##### 3. その他 なし

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  $\mu\text{m}$  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り、 $\beta$ 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 $\beta$ 細胞特異性を認めたプローブは、*in vivo* における $\beta$ 細胞の定量性を評価する必要がある、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 $\beta$ 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 $\beta$ 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構築した。

### 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 次的に描出できる。また、図 2 に野生型マウスの膵島と STZ による糖尿病マウスの膵島の定量が可能であることを示す。

図 1：膵全体像 膵島のための 3 次元像

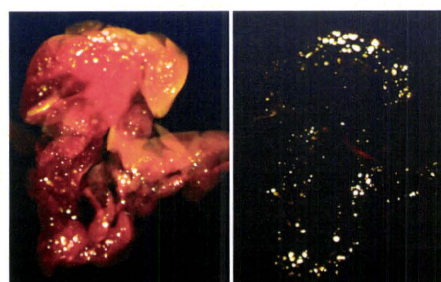
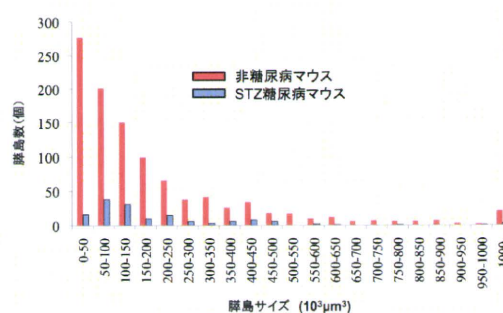
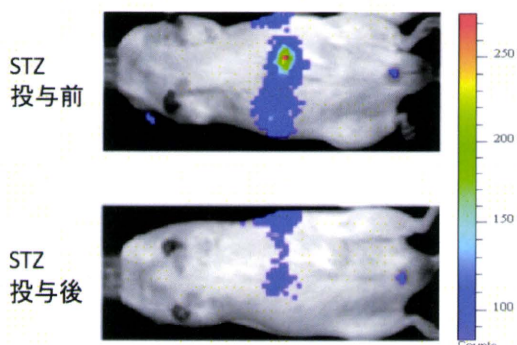


図 2：膵島サイズ別の膵島数のヒストグラム



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に STZ 投与により糖尿病を

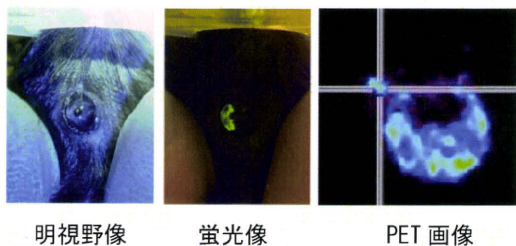


誘導する前後で撮像した結果、図 3 に示すように膵島量の減少を定量的に評価できることを確認した。

図 2：STZ 投与前後の比較

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モデルを構築した。同モデルを PET 撮像することによって、図 3 に示すように、全くバックグラウンドが無い状態で膵島部分の RI 集積量を測定でき、IVIS による定量値との相関が評価できることを確認した。

図 3：虹彩上への膵島移植モデル



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

5. 部分膵摘モデル

平成 20 年度までに膵島量を 50~100% で調整できる部分膵摘モデルを確立した。平成 21 年度は 50% 以上の部分膵摘モデルの構築を試みたが、まだ安定していない。

D. 考察

OPT スキャナーと IVIS システムの構築と同時に、膵島移植モデル・部分膵摘モデル・少量 STZ 糖尿病モデルを構築したことによって、膵β細胞特異的プローブの *in vivo* における定量性評価が可能となった。

E. 結論

*in vivo* におけるプローブの定量性の評価を行い、最終的に自然発症糖尿病モデルにおける評価を行うことが期待される。それによっ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] E. Mukai, K. Toyoda, H. Kimura, H. Kawashima, H. Fujimoto, M. Ueda, T. Temma, K. Hirao, K. Nagakawa, H. Saji, and N. Inagaki, GLP-1 receptor antagonist as a potential probe for pancreatic beta-cell imaging. *Biochem Biophys Res Commun* 389: 523-6, 2009.

[2] X. Liu, N. Harada, S. Yamane, L. Kitajima, S. Uchida, A. Hamasaki, E. Mukai, K. Toyoda, C. Yamada, Y. Yamada, Y. Seino, and N. Inagaki, Effects of long-term dipeptidyl peptidase-IV inhibition on body composition and glucose tolerance in high fat diet-fed mice. *Life Sci* 84 : 876-81, 2009.

2. 学会発表

1. **Toyoda K**, et al. Non-invasive imaging of pancreatic islets targeting glucagon-like peptide-1 receptors. 2009 Asia Islet Biology & Incretin Symposium (AIBIS), July 30-31, in Korea

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



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、ビーグル犬を用いた自家膵島移植にて、移植膵島と生体との血管吻合が完了すると考えられる長期生着モデルの作成を試みた。

## A. 研究目的

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。特に、膵島移植後ある一定期間経過した後、移植膵島内の毛細血管と移植部位周囲の毛細血管が自然吻合することが知られており、このような状態となった際には、開発プローブの生体への投与により移植膵島量が検出可能となる。この膵島移植を用いた評価系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での長期生着モデルの確立を行った。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である。

## 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  $\mu$ 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 162,124IEQ、viability 97%の膵島を分離し移植（11,580IEQ/kg 体重）した。移植後血糖は速やかに正常となり、6ヶ月以上正常血糖を維持することを確認した。

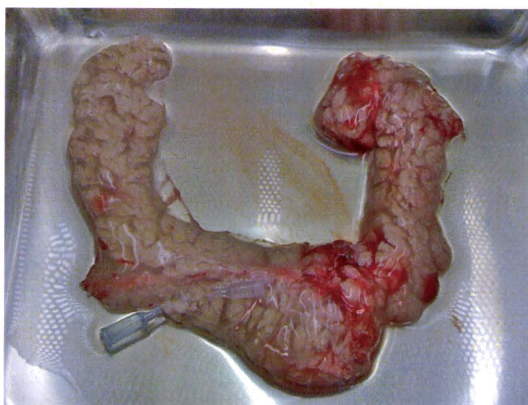


図1. 膵島分離のための摘出膵臓

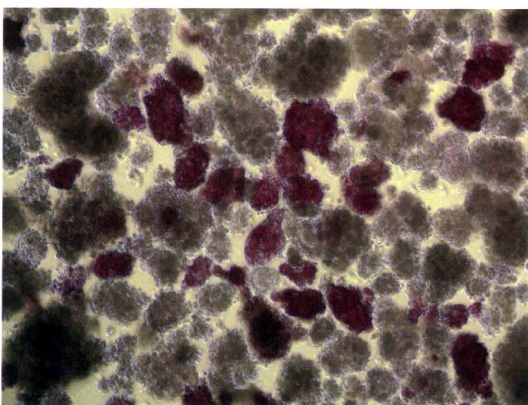


図2. イヌ分離膵島の顕微鏡像

膵島はディチゾンにて赤染している。

### D. 考察

当研究にて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生体内で正常に機能し、それが長期間持続することが確認された。この間には移植膵島の毛細血管と移植部位周囲の毛細血管が自然吻合していると考えられるので、この長期生着したイヌ膵島移植モデルを用いることによって、開発プローブを本来生体に適応しようと計画している経路から投与した場合の効果を評価することが可能となる。

### E. 結論

ビーグル犬を用いたイヌ自家膵島移植にて長期生着モデルを確立した。これにより、非侵襲的生体膵島イメージングのためのプローブの効果検証のための中動物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. Noguchi H, Ueda M, Hayashi S, Kobayashi N, **Okitsu T**, Iwanaga Y, Nagata H, Liu X, Kamiya H, Levy MF, Matsumoto S. Comparison of trypsin inhibitors in preservation solution for islet isolation. **Cell Transplant**;18(5):541-7. 2009

2. Sato E, Yano I, Shimomura M, Masuda S, Katsura T, Matsumoto S, **Okitsu T**, Iwanaga Y, Uemoto S, Inui K. Larger dosage required for everolimus than sirolimus to maintain same blood concentration in two pancreatic islet transplant patients with tacrolimus. **Drug Metab Pharmacokin**;24(2):175-9. 2009

3. Yuasa T, Rivas-Carrillo JD, Navarro-Alvarez N, Soto-Gutierrez A, Kubota Y, Tabata Y, **Okitsu T**, Noguchi H, Matsumoto S, Nakaji S, Tanaka N, Kobayashi N. Neovascularization induced around an artificial device implanted in the abdomen by the use of gelatinized fibroblast growth factor 2. **Cell Transplant**;18(5):683-8. 2009

#### 2. 学会発表

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

1. **Okitsu T**. Islet Transplantation in Japan. 2009 Joint Conference of 10th CTS (Cell Transplant Society) and 36th JSOPMB(Japan Society for Organ Preservation and Medical Biology), April 20-21, Okayama, JAPAN

### 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

し

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、それらを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、Gd、F-19等を用いるMRIとした。

### 1. 標的分子の探索

平成20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、Gd、F-19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。

## C. 研究結果

平成22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 $\mu$ 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、 $\beta$ 細胞特異的な機能タンパク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 $\beta$ 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 $\beta$ 細胞膜特異的に発現するKATPチャネルの構成成分、3) VMAT2：膵 $\beta$ 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 $\beta$ 細胞に分布、5) GPR40/120：脂肪酸をリガンドとする、膵 $\beta$ 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、F-18を導入した化合物を設計した。2) SUR1：20年度までにMitiglinideを母体化合物としたF-18導入化合物を開発してきた。動物実験の結果を基に再設計を行った。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誘導体として、新たに7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 3 化合物を、さらに GPR40 antagonist GW1100 誘導体である 3 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、 $\beta$  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。更に前年度までの評価を基に、構造最適化を行った。

#### 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。標的分子の探索の結果、特に GLP-1R がイメージングの対象として最適であることを見出した。更に、GLP-1R をターゲットにした膵臓  $\beta$  細胞イメージングプローブとして、今後の臨床研究に向けた有望な化合物の開発に成功した。

F. 健康危険情報 特になし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Kuge Y, Obokata N, Kimura H, Katada Y, Temma T, Sugimoto Y, Aita K, Seki K, Tamaki N, Saji H. Synthesis and evaluation of a radioiodinated lumiracoxib derivative for the imaging of cyclooxygenase-2 expression. *Nucl Med Biol*. 36(8):869-76 (2009).
2. Ono M, Watanabe R, Kawashima H, Cheng Y, Kimura H, Watanabe H, Haratake M, Saji H, Nakayama M. Fluoro-pegylated chalcones as positron emission tomography probes for in vivo imaging of beta-amyloid plaques in Alzheimer's disease. *J Med Chem*. 52(20):6394-401 (2009).
3. Ono M, Hayashi S, Kimura H, Kawashima H, Nakayama M, Saji H. Push-pull benzothiazole derivatives as probes for detecting beta-amyloid plaques in Alzheimer's brains. *Bioorg Med Chem*. 17(19):7002-7 (2009).
4. Mukai E, Toyoda K, Kimura H, Kawashima H, Fujimoto H, Ueda M, Temma T, Hirao K, Nagakawa K, Saji H, Inagaki N. GLP-1

receptor antagonist as a potential probe for pancreatic beta-cell imaging. *Biochem Biophys Res Commun*. 389(3):523-6 (2009).

5. Maya Y, Ono M, Watanabe H, Haratake M, Saji H, Nakayama M. Novel radioiodinated aurones as probes for SPECT imaging of beta-amyloid plaques in the brain. *Bioconjug Chem*. 20(1):95-101 (2009).

##### 2. 学会発表

1. Kimura H, Ogawa Y, Kawashima H, Mukai E, Toyoda K, Fujimoto H, Hirao K, Nagakawa K, Ono M, Inagaki N, Saji H. Development of in vivo imaging agents targeting glucagon-like peptide-1 receptor (GLP-1R) in pancreatic islets SNM's 56<sup>th</sup> Annual Meeting, Tronto, Canada, 2009, 6, 13
2. Kimura H, Ogawa Y, Kawashima H, Mukai E, Toyoda K, Fujimoto H, Hirao K, Nagakawa K, Ono M, Inagaki N, Saji H. Development of in vivo imaging agents targeting glucagon-like peptide-1 receptor (GLP-1R) in pancreatic islets World Molecular Imaging Congress 2009, Montreal, Canada, September, 23-26, 2009
- H. 知的財産権の出願・登録状況

##### 1. 特許出願

GLP-1R 関連 :

PCT/JP2009/56628, 特願 2009-185470 号, 特願 2009-204769 号, PCT/JP2009/66398,

SUR1 関連 :

特願 2009-68837 号,

GPR40/120 関連 :

特願 2009-68838 号, 特願 2009-68839 号の計 7 件を出願した。

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

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。 $\beta$ 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、Gd、F-19）などを導入するための検討を行った。

### 1. プローブの作製

1) GLUT2：糖鎖骨格を持つ低分子化合物の合成ルートの作成、少量スケールでの合成検討。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：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として Exendin を母体化合物に選択し、標識部位を設定した。F-18、I-123 が導入可能な Exendin 誘導体の合成ルートの作成、少量スケールでの合成検討。5) GPR40/120：F-18、I-123 導入 GW9508 誘導体、GW1100 誘導体の合成ルートの作成、少量スケールでの合成検討。

### 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 を F-18 標識するための標識試薬である、 $^{18}\text{F}$ SFB の迅速合成法の確立。

マイクロウェーブを用いた F-18 迅速合成法の確立。

## C. 研究結果

平成22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を作成し、2種類のF-18導入化合物の標品と標識前駆体を合成。2) SUR1：F-18導入 Mitiglinide 誘導体の標品と標識前駆体を合成。3) VMAT2：DTBZ 誘導体の合成ルートの作成。4) GLP-1R：ペプチド性リガンドとして Exendin 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、F-18もしくはI-123を導入した7種類の標品と標識前駆体を合成。5) GPR40/120：F-18もしくはI-123を導入したGW9508 誘導体3種類、さらにGW1100 誘導体3種類の標品と標識前駆体を合成。

### 2. 標識化の基礎的検討

糖鎖骨格を持つ低分子化合物の $^{18}\text{F}$ 標識化を確立した。Mitiglinide 誘導体の $^{18}\text{F}$ 標識化を確立した。 $^{18}\text{F}$ SFB の迅速合成法である、one-pot法を確立した。ペプチド化合物である Exendin の、 $^{18}\text{F}$ SFBを用いた $^{18}\text{F}$ 標識化を確立した。同様に $^{125/123}\text{I}$ SIBを用いた $^{125/123}\text{I}$ 標識化を確立した。GW9508、GW1100 誘導体の $^{18}\text{F}$ 標識化、 $^{123}\text{I}$ 標識化を確立した。

## D. 考察

$\beta$ 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・などの合成を行い、設計したほぼ全ての化合

物の合成、標識化を修了した。特に、標識化に関しては、ペプチド、タンパクなどの標識試薬である、 $[^{18}\text{F}]\text{SFB}$  の迅速合成法を確立した。本法を用いることで、これまで90分かかっていた合成時間を、40分程度まで短縮可能となった。今後の誘導化を考慮した各化合物の合成ルートを、今回新たに構築することが出来た。当初計画した化合物の開発を本研究期間内で終えることが出来たと考えている。

#### E. 結論

本研究では、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合成を行った。平成20年度までに数種類の誘導体の開発に成功していた Exendin 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た。その結果、膵臓への集積が高く、近傍の臓器への非特異的な集積が低い化合物の開発に成功した。現在この化合物の大量合成法の確立を行っている。標識化に関しては、確立した迅速合成法を基に自動合成化を検討している。GW9508誘導体、GW1100誘導体に関しては、今年度新たに6種類の化合物の開発に成功した。これまでの結果を基に更なる最適化が必要と考えている。GLUT2 をターゲットにした分子プローブに関しては、今回新たに合成ルートおよび標識法の確立を行った。今後プローブの評価を進める予定である。総じて、ほぼ計画通りにプローブの作製は行われたと考えている。

F. 健康危険情報 特になし。

#### G. 研究発表

##### 1.論文発表

1. Mukai E, Toyoda K, Kimura H, Kawashima H, Fujimoto H, Ueda M, Temma T, Hirao K, Nagakawa K, Saji H, Inagaki N. GLP-1 receptor antagonist as a potential probe for pancreatic beta-cell imaging. *Biochem Biophys Res Commun.* 389(3):523-6 (2009).
2. Kuge Y, Obokata N, Kimura H, Katada Y, Temma T, Sugimoto Y, et al. Synthesis and evaluation of a radioiodinated lumiracoxib

derivative for the imaging of cyclooxygenase-2 expression. *Nucl Med Biol.* 2009 Nov;36(8):869-76.

3. Temma T, Iida H, Hayashi T, Teramoto N, Ohta Y, Kudomi N, et al. Quantification of regional myocardial oxygen metabolism in normal pigs using positron emission tomography with injectable  $(^{15}\text{O})\text{-O}_2$  (2). *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* Feb;37(2):377-85

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

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の Exendin(9-39)につき、4 種の F-18 標識体 (Exendin analog 1-4) を合成した。単離膵島を用いた *in vitro* 結合実験の結果、各化合物は GLP-1 に対して高い親和性を保持していた。さらに ddY マウスに投与し、臓器摘出法により体内動態を基礎的に評価したところ、膵臓へは何れの化合物も 4% ID/g 以上の集積を示した。

#### A. 研究目的

糖尿病の超早期診断を目指し、膵臓ランゲルハンス島β細胞膜に発現する Glucagon-like peptide-1 (GLP-1) 受容体を標的とした PET プローブの基礎評価を行った。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 4 種の化合物、Exendin analog 1-4 を合成した。各化合物の GLP-1 への親和性を *in vitro* で評価するとともに、ddY マウスに投与後の体内動態を測定した。これにより、本化合物によるβ細胞インビボイメージングの可能性を検討した。

#### B. 研究方法

Exendin analog 1-4 の非放射性フッ素体を合成し、<sup>125</sup>I]Exendin(9-39)と単離膵島を用いた *in vitro* 結合阻害実験により、それぞれの膵島細胞に対する親和性を 50%阻害濃度 (IC<sub>50</sub>) として求めた。また、雄性 ddY マウス (6 週齢) に尾静脈より投与し、投与 5, 15, 30, 60, 120 分後に血液と臓器を摘出した (n=5)。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

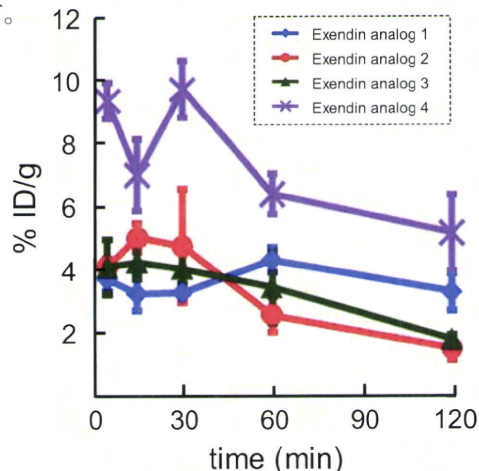
委員会の承認を受けた上で、各機関の動物実験指針に基づいて行った。

#### C. 研究結果

4 種の Exendin analog (非放射性フッ素体) について、結合阻害実験から求めた IC<sub>50</sub> を表に示す。

| Compound         | IC <sub>50</sub> (nM) |
|------------------|-----------------------|
| Exendin(9-39)    | 1.4                   |
| Exendin analog 1 | 1.5                   |
| Exendin analog 2 | 6.0                   |
| Exendin analog 3 | 23.6                  |
| Exendin analog 4 | 10.7                  |

また、Exendin analog 1-4 の膵臓への放射能集積について、その経時変化のグラフを示す。



Exendin analog 1-4 は、単離膵島に対し、何れも母体化合物である Exendin(9-39)と同等の低い IC<sub>50</sub> を示した。

マウスに静脈内投与した結果、4 種の Exendin analog は膵臓に 4% ID/g 以上集積し、投与後 120 分までは滞留～比較的緩やかな放射能消失を認めた。これらの中で、特に Exendin analog 4 は投与 30 分後の時点で 9.7% ID/g と最大の膵集積性を示した。また、何れの化合物も骨への放射能集積は低かったが、膵臓周囲の臓器への集積には化合物間で差を認めた。

#### D. 考察

[<sup>125</sup>I]Exendin(9-39)は GLP-1 受容体リガンドであることから、Exendin analog 1-4 が GLP-1 に対して高い親和性を有することが *in vitro* で示唆された。

そこで、4 種類の化合物をマウスに静脈内投与し、臓器摘出法により *ex vivo* で体内動態を比較した。Exendin analog 1-4 は何れも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た。さらに、膵島 GLP-1 受容体の高感度イメージングを考慮した場合、プローブとしては膵臓に高集積し、周囲の臓器（肝臓、胃、腸）への集積が低い化合物が好ましい。投与 30 分後における定量値を比較した結果、Exendin analog 4 が膵島イメージングプローブとして最も適していると考えられた。

#### E. 結論

Exendin(9-39)を母体とする 4 種の F-18 標識化合物を合成し、膵島イメージングプローブとしての可能性を *in vitro* および *ex vivo* 実験にて評価した。その結果、GLP-1 を標的とした膵島 β 細胞イメージングに有用性が示唆される化合物 (Exendin analog 4) を得た。本 PET プローブを用いることによる膵島 β 細胞の *in vivo* 定量評価が期待され、糖尿病の超早期診断の実現に向けた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. Mukai E, Toyoda K, Kimura H, Kawashima H, Fujimoto H, Ueda M, Temma T, Hirao K, Nagakawa K, Saji H, Inagaki N. GLP-1 receptor antagonist as a potential probe for pancreatic beta-cell imaging. **Biochem. Biophys. Res. Commun.** (2009) **389**: 523-6.

2. Ogawa K, Kawashima H, Shiba K, Washiyama K, Yoshimoto M, Kiyono Y, Ueda M, Mori H, Saji H. Development of [<sup>90</sup>Y]DOTA-conjugated bisphosphonate for treatment of painful bone metastases. **Nucl. Med. Biol.** (2009) **36**: 129-35.

3. Ogawa K, Kawashima H, Kinuya S, Shiba K, Onoguchi M, Kimura H, Hashimoto K, Odani A, Saji H. Preparation and evaluation of <sup>186/188</sup>Re-labeled antibody (A7) for radioimmunotherapy with rhenium(I) tricarbonyl core as a chelate site. **Ann. Nucl. Med.** (2009) **23**: 843-8.

4. Ono M, Hayashi S, Kimura H, Kawashima H, Nakayama M, Saji H. Push-pull benzothiazole derivatives as probes for detecting β-amyloid plaques in Alzheimer's brains. **Bioorg. Med. Chem.** (2009) **17**: 7002-7.

##### 2. 学会発表

1. Kimura H, Ogawa Y, Kawashima H, Mukai E, Toyoda K, Fujimoto H, Hirao K, Ono M, Inagaki N, Saji H. Development of *In Vivo* Imaging Agents Targeting Glucagon-like Peptide-1 Receptor (GLP-1R) in Pancreatic Islets. **Society of Nuclear Medicine 2009**, Toronto.

2. Kimura H, Ogawa Y, Kawashima H, Mukai E, Toyoda K, Fujimoto H, Hirao K, Nagakawa K, Ono M, Inagaki N, Saji H. Development of *In Vivo* Imaging Agents Targeting Glucagon-like Peptide-1 Receptor (GLP-1R) in Pancreatic Islets. **World Molecular Imaging Congress 2009**, Montreal.

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 5 件
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。

#### B. 研究方法

##### PET 撮像

平成 20 年度に作製した GLP-1 受容体のリガンドである Exendin(9-39)の  $^{18}\text{F}$  標識化合物 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 以外に、平成 21 年度に新たに合成された 7 化合物の RI 標識化合物をに関して、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 RI 標識化合物を投与し、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。

また、平成 20 年度に作製した KATP チャネルのリガンド Mitiglinide を母体化合物とした  $^{18}\text{F}$  標識化合物についても、同様に 6 週齢 ddY マウスの尾静脈より投与して PET

撮像実験を行った。

#### C. 研究結果

##### PET 撮像

GLP-1 受容体リガンドを母体とする化合物の  $^{18}\text{F}$  標識化合物は、いずれも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。化合物によっては、平成 20 年度の検討で認められた肝臓への集積が抑えられることが分かった。腎臓への集積は認められたが、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。

Mitiglinide を母体とする  $^{18}\text{F}$  標識化合物については、PET 撮像の結果、膵臓への集積は認められたが、周辺臓器への集積も大きいことが判明した。

#### D. 考察

平成 20 年度には、GLP-1 受容体のリガンドを母体とする化合物の改変によって膵臓イメージングが可能であることを示すことができ、平成 21 年度は、周辺臓器への集積の軽減のための改良を行ったところ、さらに膵臓選択性の高い画像を得ることが可能となった。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、Mitiglnide を母体とするプローブについては、まだ改良が必要であることが明らかとなった。

#### E. 結論

GLP-1 受容体のリガンドを母体とする化合物による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. Ueda M, Iida Y, Tominaga A, Yoneyama T, Ogawa M, Magata Y, et al. Nicotinic acetylcholine receptors expressed in the ventralposterolateral thalamic nucleus play an important role in anti-allodynic effects. *Br J Pharmacol*. 2010 Mar;159(6):1201-10.
2. Mukai E, Toyoda K, Kimura H, Kawashima H, Fujimoto H, Ueda M, et al. GLP-1 receptor antagonist as a potential probe for pancreatic beta-cell imaging. *Biochem Biophys Res Commun*. 2009 Nov 20;389(3):523-6.
3. Ogawa K, Kawashima H, Shiba K, Washiyama K, Yoshimoto M, Kiyono Y, Ueda M, et al. Development of [(90)Y]DOTA-conjugated bisphosphonate for treatment of painful bone metastases. *Nucl Med Biol*. 2009 Feb;36(2):129-35.
4. Kudo T, Ueda M, Kuge Y, Mukai T, Tanaka S, Masutani M, et al. Imaging of HIF-1-active tumor hypoxia using a protein effectively delivered to and specifically stabilized in HIF-1-active tumor cells. *J Nucl Med*. 2009 Jun;50(6):942-9.

#### 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

「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」

研究分担者 富樫かおり 所属 京都大学 画像診断学・核医学

研究要旨：膵島を直接的に定量する方法とは異なるアプローチとして、糖尿病へと到る過程で生じる膵島破壊に着目して、その病変に関与する貪食細胞の可視化による早期診断の検討を行っている。鉄剤にコーティングを施し、活性化した貪食細胞に取り込まれる数十 nm サイズとした USPIO 造影剤を使用して、膵島の変性過程を描出可能か検証を研究を行ったが、膵島への USPIO 集積は予想されたよりも低く、高分解能撮像が可能な 7T-MRI でも個々の膵島の変化は描出困難であった。

A. 研究目的

糖尿病を発症するまでに膵島の 70%以上が破壊されるが、その過程に貪食細胞の関与が指摘されている。そこでこの細胞をターゲットとしたイメージングが可能であるかについて、微小超常磁性酸化鉄粒子 (ultrasmall superparamagnetic iron oxide particles: USPIO)による動物モデルでの描出を検証した(稲垣教授、松田教授との共同研究)。

B. 研究手法検討

生後7、11、13週のI型糖尿病モデルNODマウスに対してUSPIO 300  $\mu$ mol/kgを尾静脈より投与して、生後7週目のマウスは18、36時間後に、生後11、17週のマウスでは36時間後に撮像を行った。対照として糖尿病モデルではない生後12週のICRマウスに対して同量の投与を行い比較した。各条件で使用されたマウスは1-2匹である。

撮像には動物用7T-MRI装置を使用し、呼吸同期を併用した。T1WIにより膵臓の位置を同定後、T2WIを異なるTE値(12-192ms)で撮像してT2値を推定した。面内解像度は234 $\mu$ m、スライス厚は0.5mmとした。

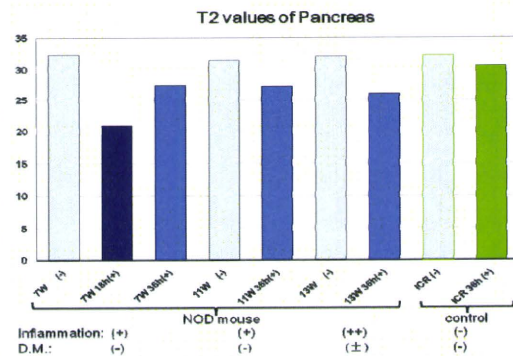
MRI撮像後に膵臓を摘出して5 $\mu$ mの切片としてHE染色を行い膵臓の障害程度をスコアリングした(0:変化なし、1:膵島周囲への単核球浸潤、2:膵島の1/3より少ない領域への同浸潤、3:1/3以上1/2より少ない領域への同浸潤、4:1/2以上の領域への同浸潤)。

C. 検討結果

病理標本解析では7週では膵島障害スコアは0.82とごく軽度の変化のみであったのに対して、11週では1.77、13週では2.25とより強い障害が認められた。ただし13週の時点でも糖尿病と考えられる臨床症状は明瞭ではなかった。

MRI画像の評価では、USPIO静注後18時間の時

点で生後7週のラットでUSPIOによると考えられる大きなT2値の低下が認められたが、この時点では膵島に病理学的な変化はなく、血管内に残っているUSPIOの影響が大きいと考えられた。これに合致するように36時間の時点でT2値の低下は減少した。膵島自体に単核球の浸潤が明瞭に認められた11、13週でも同様にT2値の低下は認められたが、7週との比較ではその減少幅はわずかであった(下図参照)。コントロールとの比較ではT2値の低下幅は大きく、これは血管内に残るUSPIOの影響および単核球以外に局所に集積する機序を示唆するものと考えられたが、病理画像からの特定はできなかった。



D. 結論

USPIO集積によるMRI画像での信号変化は当初期待されたよりもはるかに少なく、単核球の機能がin vitroで観察されたものよりも低いのではないかと推測された。本方法での早期変化予測は困難と考えられた。

E. 健康危険情報 特になし。

F. 研究成果 (○:腹部画像・MR撮像技術関連論文)

1. 論文

○1) Hirokawa Y, Isoda H, Okada T, Arizono S, Shimada K, Yamamoto A, Shibata T, Togashi K.

Improved Detection of Hepatic Metastases From Pancreatic Cancer Using Periodically Rotated Overlapping Parallel Lines With Enhanced Reconstruction (PROPELLER) Technique After SPIO Administration. *Invest Radiol.* 45(3):158-164, 2010

2) Nakatani K, Nakamoto Y, Saga T, Higashi T, Togashi K. The potential clinical value of FDG-PET for recurrent renal cell carcinoma. *Eur J Radiol.* 2009 Dec 14. [Epub ahead of print]

3) Higashi T, Hatano E, Ikai I, Nishii R, Nakamoto Y, Ishizu K, Suga T, Kawashima H, Togashi K, Seo S, Kitamura K, Takada Y, Kamimoto S. FDG PET as a prognostic predictor in the early post-therapeutic evaluation for unresectable hepatocellular carcinoma. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2010 Mar;37(3):468-82

4) Satogami N, Okada T, Koyama T, Gotoh K, Kamae T, Togashi K. Visualization of external carotid artery and its branches: non-contrast-enhanced MR angiography using balanced steady-state free-precession sequence and a time-spatial labeling inversion pulse. *J Magn Reson Imaging.* 2009 Sep;30(3):678-83.

5) Hara T, Higashi T, Nakamoto Y, Suga T, Saga T, Ishimori T, Ishizu K, Kawashima H, Kawase S, Matsumoto K, Togashi K. Significance of chronic marked hyperglycemia on FDG-PET: is it really problematic for clinical oncologic imaging? *Ann Nucl Med.* 2009 Sep;23(7):657-69.

6) Shimada K, Isoda H, Okada T, Kamae T, Arizono S, Hirokawa Y, Shibata T, Togashi K.

Non-contrast-enhanced hepatic MR angiography: Do two-dimensional parallel imaging and short tau inversion recovery methods shorten acquisition time without image quality deterioration?

*Eur J Radiol.* 2009 Jun 23. [Epub ahead of print]

7) Shimada K, Isoda H, Okada T, Kamae T, Arizono S, Hirokawa Y, Togashi K. Unenhanced MR portography with a half-Fourier fast spin-echo sequence and time-space labeling inversion pulses: preliminary results. *AJR Am J Roentgenol.* 2009 Jul;193(1):106-12.

○8) Hirokawa Y, Isoda H, Maetani YS, Arizono S, Shimada K, Okada T, Shibata T, Togashi K.

Hepatic lesions: improved image quality and detection with the periodically rotated overlapping parallel lines with enhanced reconstruction technique--evaluation of SPIO-enhanced T2-weighted MR images.

*Radiology.* 2009 May;251(2):388-97.

9) Kasahara S, Miki Y, Mori N, Urayama S, Kanagaki M, Fushimi Y, Maeda C, Sawamoto N, Fukuyama H, Togashi K. Spin-echo T1-weighted imaging of the brain with interleaved acquisition and presaturation pulse at 3 T: a feasibility study before clinical use.

*Acad Radiol.* 2009 Jul;16(7):852-7.

○10) Gotoh K, Okada T, Miki Y, Ikedo M, Ninomiya A, Kamae T, Togashi K. Visualization of the lenticulostriate artery with flow-sensitive black-blood acquisition in comparison with time-of-flight MR angiography. *J Magn Reson Imaging.* 2009 Jan;29(1):65-9.

○11) Arizono S, Isoda H, Maetani YS, Hirokawa Y, Shimada K, Nakamoto Y, Shibata T, Togashi K. High spatial resolution 3D MR cholangiography with high sampling efficiency technique (SPACE): comparison of 3T vs. 1.5T. *Eur J Radiol.* 2010 Jan;73(1):114-8.

#### 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