

Y. Fukazawa, T. Mizuno, S. Watanabe, M. Kokubun, H. Takahashi, N. Kawano, S. Nishino, M. Sasada, H. Shirai, T. Takahashi, Y. Umeki, T. Yamasaki, T. Yasuda, A. Bamba, M. Ohno, T. Takahashi, M. Ushio, T. Enoto, T. Kitaguchi, K. Makishima, K. Nakazawa, Y. Uehara, S. Yamada, T. Yuasa, N. Isobe, M. Kawaharada, T. Tanaka, M. S. Tashiro, Y. Terada, and K. Yamaoka	Modeling and Reproducibility of Suzaku HXD PIN/GSO Background	Publications of the Astronomical Society of Japan	61, SP1	S17--S33	2009
T. Kishishita, H. Ikeda, T. Sakumura, K. Tamura, T. Takahashi	Development of a low-noise, two-dimensional amplifier array	Nuclear Instruments and Methods in Physics Research A	598	591-597	2009
S. Watanabe, R. Sato, T. Takahashi, J. Kataoka, G. Madejski, M. Sikora, F. Tavecchio, R. Sambruna, R. Romani, P. G. Edwards, T. Pursimo	SUZAKU OBSERVATIONS OF EXTREME MEV BLAZAR SWIFT J0746.3+2548	The Astrophysical Journal	694	294-301	2009
S. Motomura, Y. Kanayama, H. Haba, K. Igarashi, Y. Watanabe, S. Enomoto	Development of multi-elemental molecular imaging on semiconductor Compton telescope as a tool for metallomics research	Pure and Applied Chemistry	80	2657-2666	2008
S. Motomura, Y. Kanayama, H. Haba, Y. Watanabe, and S. Enomoto	Multiple molecular simultaneous imaging in a live mouse using semiconductor Compton camera	J. Anal. Atom. Spectrom.	23	1089-1092	2008
榎本 秀一, 羽場 宏光	マルチレーザーの開発と利用	Isotope News	8	9-15	2008
榎本 秀一	複数分子の同時イメージングを実現した世界初の診断装置を開発	メディカルバイオ	11	14-15	2008

谷田貝 文夫, 高橋 昭久, 本間 正充, 鈴木 ひろみ, 大森 克徳, 関 真也, 橋爪 藤子, 嶋津 徹, 榎本 秀一, 大西 武雄, 石岡 憲昭	“きぼう”での生物実験に向けて: LOH 解析による宇宙放射線の生物影響の検討	日本マイクログラビティ応用学会誌	25(4)	695-700	2008
谷田貝 文夫, 菅澤 薫, 榎本 秀一, 本間 正充	DSB 修復から適応応答を推測する	放射線生物研究	43(4)	476-486	2008
Cui, Y., Kataoka, Y., Inui, T., Mochizuki, T., Onoe, H., Matsumura, K., Urade, Y., Yamada, H., and Watanabe, Y.	Upregulated neuronal COX-2 expression after cortical spreading depression is involved in non-REM sleep induction in rats	J. Neurosci. Res.	86(4)	929-936	2008
A. Toyoshima, Yoshitaka Kasamatsu, Y. Kitatsuji, K. Tsukada, H. Haba, A. Shinohara and Y. Nagame	Development of an electrochemistry apparatus for the heaviest elements	Radiochimica Acta	96(6)	323-326	2008
H. Haba, H. Kikunaga, D. Kaji, T. Akiyama, K. Morimoto, K. Morita, T. Nanri, K. Ooe, N. Sato, A. Shinohara, D. Suzuki, T. Takabe, I. Yamazaki, A. Yokoyama, and A. Yoneda	Performance of the Gas-jet Transport System Coupled to the RIKEN Gas-filled Recoil Ion Separator GARIS for the $^{238}\text{U}(^{22}\text{Ne}, 5n)^{255}\text{No}$ Reaction	Journal of Nuclear and Radiochemical Sciences	9(1)	27-31	2008
渡辺恭良、鈴木正昭、尾上浩隆、土居久志、和田康弘、片岡洋祐、榎本秀一	分子イメージング研究による創薬・疾患診断の革新 (第 44 回 (2007 年度) ベルツ賞受賞論文)	日本医師会雑誌	136(12)	2469-2474	2008
渡辺恭良、鈴木正昭、尾上浩隆、土居久志、和田康弘、片岡洋祐、榎本秀一	分子イメージング研究による創薬・疾患診断の革新 (第 44 回 (2007 年度) ベルツ賞受賞論文)	最新医学	63(1)	116-138	2008

Y. Ishii, A. Toyoshima, K. Tsukada, M. Asai, H. Toume, I. Nishinaka, Y.Nagame, S. Miyashita, T. Mori, H. Sukanuma, H. Haba, M. Sakamaki, S.Goto, H. Kudo, K. Akiyama, Y. Oura, H. Nakahara, Y. Tashiro, A. Shinohara, M. Schadel, W. Bruchle, V. Pershina, and J. V. Kratz	Fluoride Complexation of Element 104, Rutherfordium (Rf), Investigated by Cation-exchange Chromatography	Chem. Lett.	37(18)	288-289	2008
Motomura S, Enomoto S, Haba H, Igarashi K, Gono Y, Yano Y.	Gamma-ray Compton imaging of multitracer in biological samples using strip germanium telescope	IEEE Trans. Nucl. Sci.	54(3)	710-717	2007
Yoshiro Yamashita, Yoshio Takahashi, Hiromitsu Haba, Shuichi Enomoto, Hiroshi Shimizu	Comparison of reductive accumulation of Re and Os in seawater - sediment systems	Geochimica et Cosmochimica Acta	71(14)	3458-3475	2007
M. Kidera, K. Takahashi, S. Enomoto, Y. Mitsubori, A. Goto, Y. Yano	Development of a novel mass spectrometer equipped with an electron cyclotron resonance ion source	European Journal of Mass Spectrometry	13(4)	239-248	2007
M. Kidera, K. Takahashi, S. Enomoto, A. Goto and Y. Yano	New fragment ion production method using super cold electrons in electron cyclotron resonance plasma	European Journal of Mass Spectrometry	13(5)	355-358	2007
R. Minayoshi, T. Ohyama, N. Kinugawa, J. Kamishima, T. Ogi, K. Ishikawa, M. Noguchi, H. Sukanuma, K. Takahashi, S. Enomoto and M. Yanaga	Change of concentrations of trace elements and protein contents in the liver of zinc deficient mice	Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry	272(2)	429-431	2007

五十嵐香織、金山洋介、本村 信治、松田 芳和、榎本 秀一	牡蠣抽出物の胃液分泌能	Trace Nutrients Research	24	56-58	2007
Mizuno, K., Tanaka, M., Nozaki, S., Yamaguti, K., Mizuma, H., Sasabe, T., Sugino, T., Shirai, T., Kataoka, Y., Kajimoto, Y., Kuratsune, H., Kajimoto, O., and Watanabe, Y.	Mental fatigue-induced decrease in levels of several plasma amino acids	J. Neural Transm.	114	555-561	2007
Tamura, Y., Kataoka, Y., Cui, Y., Takamori, Y., Watanabe, Y., and Yamada, H.	Multi-directional differentiation of doublecortin- and NG2-immunopositive progenitor cells in the adult rat neocortex <i>in vivo</i>	Eur. J. Neurosci.	25	3489-3498	2007
Tamura, Y., Kataoka, Y., Cui, Y., Takamori, Y., Watanabe, Y., and Yamada, H.	Intracellular translocation of glutathione S-transferase pi during oligodendrocyte differentiation in the adult rat cerebral cortex <i>in vivo</i>	Neuroscience	148	535-540	2007
Kishishita T., Ikeda H., Kiyuna T., Tamura K., Nakazawa K., Takahashi T.	Development of a low-noise analog front-end ASIC for CdTe detectors	Nuclear Instruments and Methods in Physics Research,	580	1363-1371	2007
Takeda S., Watanabe S., Tanaka T., Nakazawa K., Takahashi T., Fukazawa Y., Yasuda H., Tajima H., Kuroda Y., Onishi M., Genba K.	Development of double-sided silicon strip detectors(DSSD) for a Compton telescope	Nuclear Instruments and Methods in Physics Research, Section A	579	859-865	2007

Watanabe S., Takeda S., Ishikawa S., Odaka H., Ushio M., Tanaka T., Nakazawa K., Takahashi T., Tajima H., Fukazawa Y., Kuroda Y., Onishi M.	Development of semiconductor imaging detectors for a Si/CdTe Compton camera	Nuclear Instruments and Methods in Physics Research, Section A	579	871-877	2007
Odaka H., Takeda S. Watanabe S., Ishikawa S., Ushio M., Tanaka T., Nakazawa K., Takahashi T., Tajima H., Fukazawa Y.	Performance study of Si/CdTe semiconductor Compton telescopes with Monte Carlo simulation	Nuclear Instruments and Methods in Physics Research, Section A	579	878-885	2007
Watanabe S., Ishikawa S.-N., Takeda S., Odaka H., Tanaka T., Takahashi T., Nakazawa, K., Yamazato, M., Higa, A., Kaneku, S.	New CdTe pixel gamma-ray detector with pixelated Al schottky anodes	Japanese Journal of Applied Physics Part 1	46(9A)	6043-6045	2007
H. Haba, D. Kaji, H. Kikunaga, T. Akiyama, N. Sato, K. Morimoto, A. Yoneda, K. Morita, T. Takabe, and A. Shinohara	Development of Gas-jet Transport System Coupled to the RIKEN Gas-filled Recoil Ion Separator GARIS for Superheavy Element Chemistry	J. Nucl. Radiochem. Sci.	8(2)	55-58	2007
玉城充、三戸美 生、首藤 靖浩、 山口 浩司、喜友 名達也、山本雅 也、寒河江健一、 喜名徹	CdTeを用いたX線画像 検出器モジュールの開 発	日本放射線技 術会 画像通 信	30(2)	34-39	2007

# ミネラルのイメージング技術

榎本秀一<sup>\*1</sup>, 廣村 信<sup>\*2</sup>, 五十嵐香織<sup>\*3</sup>

- \* 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\*<sup>1</sup>, 廣村 信\*<sup>2</sup>, 五十嵐香織\*<sup>3</sup>

### 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 ユニットのリーダー)

\*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<sup>1)</sup>。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<sup>2)</sup>、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<sup>3)</sup>。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る。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<sup>4)</sup>。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。



## 第2章 ミネラルのイメージング技術

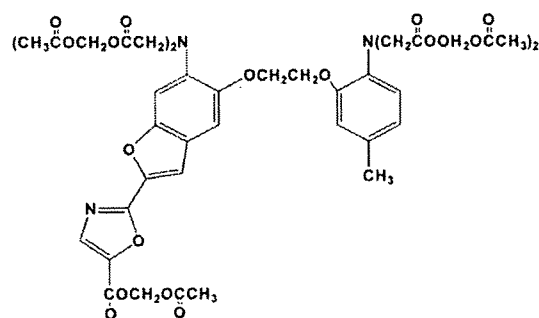


図1 Fura-2の構造と特性

2波長励起1波長蛍光。励起 ( $\lambda_{exc}$  = 340nm,  $\lambda_{exc2} = 380$ nm), 蛍光:  $\lambda_{em} = 510$ nm,  $K_d : 224$ nmol/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<sup>5)</sup>。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 ester<sup>6)</sup>やDansylaminoethyl-cyclen<sup>7)</sup>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、Zn<sup>2+</sup>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、Zn<sup>2+</sup>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ター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<sup>8)</sup>やカリフォルニア大学のJ. H. WeissらのNewport Green類<sup>9)</sup>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。

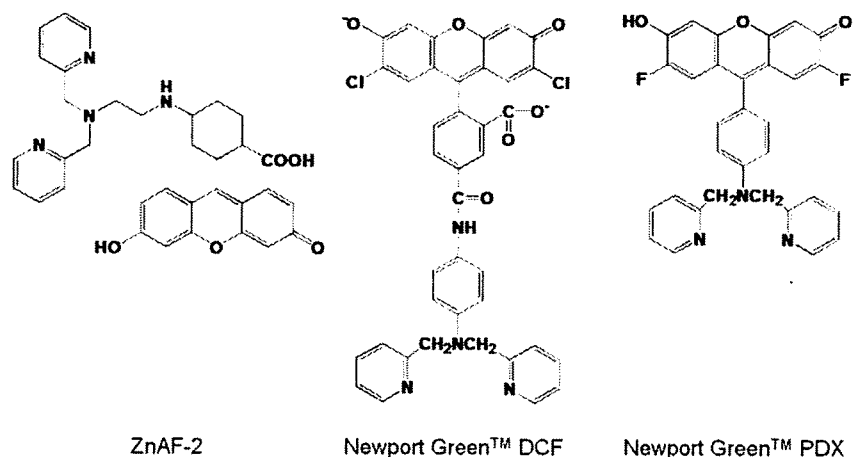


図2 ZnAF と Newport Green の化学構造

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<sup>10)</sup>。

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<sup>11)</sup>。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)<sup>12)</sup>。

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 の遊離に関する検討に 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<sup>13)</sup>。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<sup>14)</sup>。

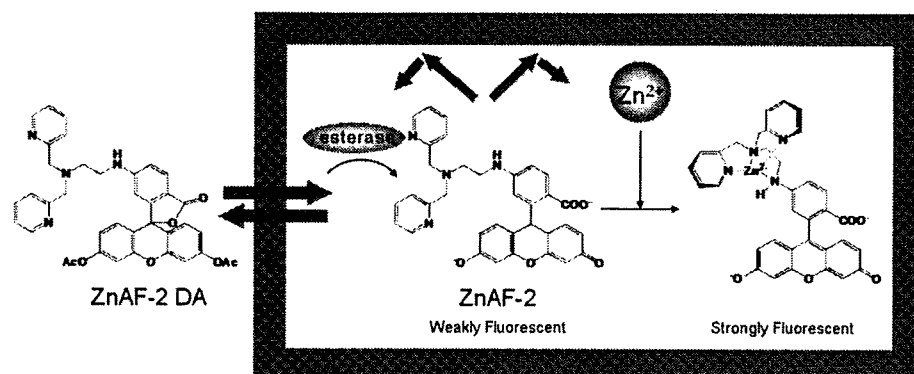


図3 ZnAF-2とZnの細胞内における錯形成反応<sup>12)</sup>

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 $K_d = 40 \mu M$ 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 $K_d = 2.7 nM$ 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<sup>3, 15)</sup>。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<sup>16)</sup>。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<sup>17)</sup>。

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<sup>18)</sup>。

### 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

## 第2章 ミネラルのイメージング技術

コンプトンカメラ (GREI : gamma ray emission imaging, Si/CdTe Compton camera,  $\mu$ 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<sup>19, 20)</sup>。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  $^{11}\text{C}$ 、 $^{13}\text{N}$ 、 $^{15}\text{O}$ 、 $^{18}\text{F}$  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  $^{64}\text{Cu}$  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

ポジトロン核種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),  $\text{Lu}_2\text{SiO}_5$  (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核種がガンマ線検出器を結ぶ線 (同時計数線) 上にあったと特定できる。

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、 $^{15}\text{O}$ 、水および FDG (2-deoxy-2- $^{18}\text{F}$ 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、ポジトロン放出核種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<sup>19)</sup>。

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、1 mm 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



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、感度と解像度をとも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  $^{99m}\text{Tc}$ ,  $^{123}\text{I}$
- ・脳脊髄腔シンチグラフィ  $^{111}\text{In}$
- ・ガリウムシンチグラフィ  $^{67}\text{Ga}$
- ・骨シンチグラフィ  $^{99m}\text{Tc}$
- ・心筋血流シンチグラフィ  $^{201}\text{Tl}$ ,  $^{99m}\text{Tc}$
- ・肺血流シンチグラフィ  $^{99m}\text{Tc}$
- ・肺換気シンチグラフィ  $^{99m}\text{Tc}$ ,  $^{133}\text{Xe}$ ,  $^{81m}\text{Kr}$
- ・甲状腺シンチグラフィ  $^{123}\text{I}$ ,  $^{99m}\text{Tc}$ ,  $^{201}\text{Tl}$
- ・副甲状腺シンチグラフィ  $^{99m}\text{Tc}$ ,  $^{201}\text{Tl}$
- ・肝シンチグラフィ  $^{99m}\text{Tc}$
- ・肝胆道シンチグラフィ  $^{99m}\text{Tc}$
- ・腎シンチグラフィ  $^{99m}\text{Tc}$ ,  $^{131}\text{I}$
- ・副腎シンチグラフィ  $^{131}\text{I}$  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



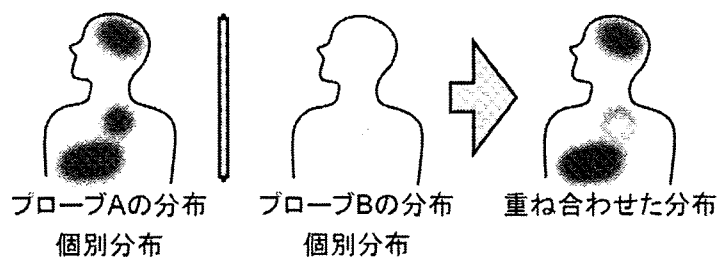


図4 複数分子イメージングの将来

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<sup>27)</sup>。

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

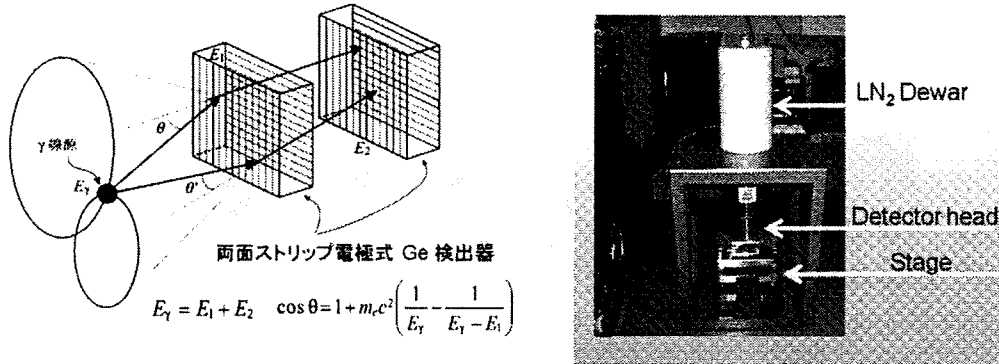


図5 GREIの写真と撮像原理

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ダリティとして，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薬で，より高度で正確な多角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<sup>28, 29)</sup>。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

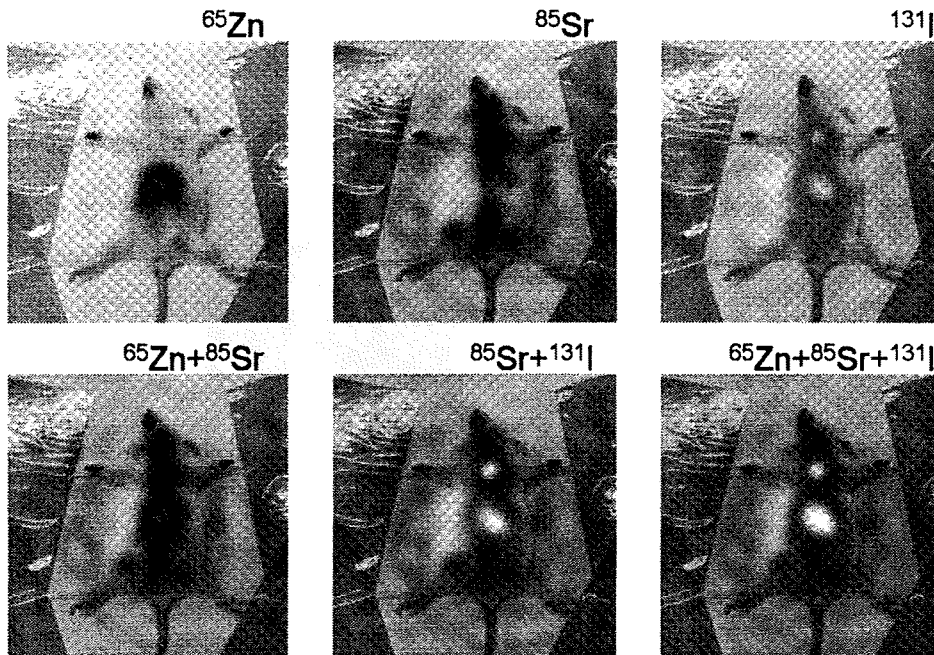


図6 マウス写真と複数核種カラー表示 2D 画像の重層

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-<sup>131</sup>I注射液 (E=364.5keV, 半減期=8日)、<sup>85</sup>SrCl<sub>2</sub> (E=514keV, 半減期=65日) および<sup>65</sup>ZnCl<sub>2</sub> (E=1115.5keV, 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層した写真であり、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<sup>30)</sup>。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<sup>131</sup>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きさで決められている。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 ( $\mu$ 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<sup>31)</sup>。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 ( $\mu$ PIC) を開発している<sup>32)</sup>。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  $\mu$ 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、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。