

正常ラットにおける脳血流量・酸素消費量のイメージング：
O-15標識ガス吸入PET定量計測

畑澤 順 大阪大学大学院医学系研究科 核医学講座 教授

研究要旨

^{15}O ガスPETは脳血流量・酸素消費量の定量計測に臨床でも用いられているが、小動物における定量計測は技術的に難しく、これまでほとんど行われていなかった。今回、我々は小動物における ^{15}O ガス定量法を確立し、脳虚血モデルにおいて脳酸素摂取率の上昇を捉えることに成功した。また脳虚血モデルに対して免疫染色を行い、梗塞巣と周辺部にミクログリアの活性化、反応性アストロサイトの増殖が認められることを確認した。

A. 研究目的

ラットにおける ^{15}O ガス定量法を確立し、脳血流量(CBF)・脳酸素消費量(CMRO₂)・脳酸素摂取率(OEF)・脳血液量(CBV)の正常値を得る。また脳虚血モデル(片側中大脳動脈閉塞モデル)において、脳血流量低下・脳酸素摂取率の上昇の変化を捉えられるかどうかを確認する。

B. 研究方法

麻酔下の正常ラット8匹(8週齢, 268±14g)、左中大脳動脈閉塞モデルラット(虚血開始30分後)2匹に大腿動脈より動脈ルートを確保し、気管切開を行った後に人工呼吸器による換気を開始した(換気量: 180ml/min)。 ^{15}O ガス供給装置からのルートを酸素混合装置を用いて、人工呼吸器に接続し、 ^{15}O -CO₂ガス(50MBq/min)と ^{15}O -O₂ガス(100MBq/min)の安定した換気を行い、定常吸入法(Frackowiak法)による脳血流量・脳酸素消費量のPET定量計測を行った。定常状態の確認後、動脈採血を行い、全血および遠心分離後の血漿のRIカウント(cps/g)、動脈血液ガスを測定した。また ^{15}O -COガス(100MBq/min)投与により脳血液量の定量計測を行った。麻酔はmidazolam、xylazine、butorphanolの筋肉内注射にて行い、検査中は血圧・脈拍・酸素飽和度・直腸温のモニタリングを行い、ヒートパッドを用いて保温を行った。またPET撮像の終了後に同一のホルダーにてMRIの撮像を行い(FLASHシークエンス: TR=50, TE=5, 64 slices)、自動位置合わせソフトウェアを用いて、PET/MRI統合画像を作成した。また脳虚血モデルにおいて脳スライスを作成し、TTC染色にて梗塞範囲の同定、免疫染色(CD11b・GFAP抗体)にてグリア細胞の評価を行った。

(倫理面への配慮)

本研究は大阪大学動物実験指針、大阪大学医学部動物実験ガイドラインを遵守し、大阪大学医学部動物実験委員会の承認を得て、行われた。

C. 研究結果

定量性の精度検証として、 ^{15}O -ガス肺ファントムPET画像から肺から頭部への散乱線の影響がないこと、減弱補正を行ってもPETカウント値の変化を認めないこと、 ^{15}O -水を注入したNEMA Body phantomによる相対的放射能曲線から直径15mmの球ではPETカウントが70%程度に過小評価されることを確認した。また微量血液の定量計測では、25μlの試料でも200μlと同様の精度で計測可能であることを確認した。

ラットのPET実験においては ^{15}O -CO₂ガス・ ^{15}O -O₂ガスの吸入開始10分後にはいずれも脳のカウントは定常状態に達していた。PETおよび動脈血カウントから計算された正常ラットの全脳平均の定量値は以下の通りであった(CBF: 32.3 ± 4.5 mL/100ml/min、CMRO₂: 3.23 ± 0.42 mL/100ml/min、OEF: 64.6 ± 9.1 %、

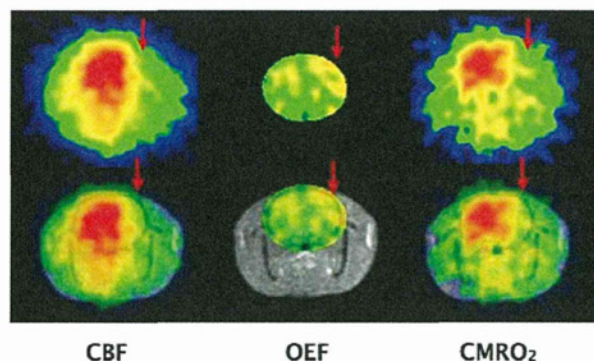


Figure 1: 脳虚血モデルPET画像(虚血30分後)

CBV: 3.16 ± 0.38 mL/100ml)。また虚血モデルでは左中大脳動脈領域にCBFの低下、CMRO₂の低下、OEFの上昇を認めた(Figure 1, 患側/健側CBF: 18.6/30.8 mL/100ml/min、CMRO₂: 1.79/2.64 mL/100ml/min、OEF: 74.3/65.4%)。

また免疫染色(CD11b・GFAP抗体)では梗塞巣および周辺部にミクログリア細胞の高度の活性化、反応性アストロサイトの増殖が認められた (Figure 2)。

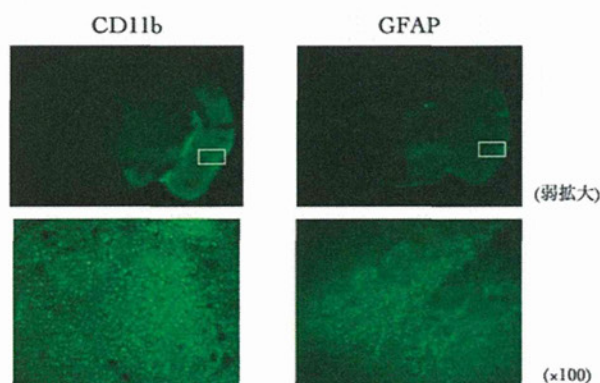


Figure 2:免疫染色画像(左MCA閉塞モデル)

D. 考察

これまでのPETを用いた脳血流・脳酸素消費量の報告はCBF: 31-51mL/100mL/min、CMRO₂: 4.3-6.8 mL/100mL/minであり、我々の研究ではいずれも低めの値となった。しかし、ラット脳を径15mmの球と仮定してPETカウントの過小評価の補正を行ったところ、CBF値は84 mL/100 mL/minとなった。これはオートラジオグラフィやKety-Schmidt法の脳血流量に合致する定量値であった。

酸素摂取率に関しては文献値($54-61 \pm 11-16\%$)よりもやや高めであったが、他の報告よりもSDが小さく、我々の方法では精度・再現性が高いものと考えられた。

E. 結論

¹⁵O-CO₂および¹⁵O-O₂の定常吸入法による正常ラットの脳血流量・脳酸素代謝量の定量評価法を確立した。また免疫染色にて脳虚血モデルのグリア細胞の評価を行った。脳虚血モデルでは脳酸素摂取率上昇の検出が可能であった。

F. 研究発表

1.論文発表

- 1) Watabe T, Shimosegawa E, Watabe H, Kanai Y, Hanaoka K, Ueguchi T, Isohashi K, Kato H, Tatsumi M, Hatazawa J. Quantitative evaluation of cerebral blood flow and oxygen metabolism in normal anesthetized rats: 15O-labeled gas inhalation PET with MRI fusion. *J Nucl Med.* 2013; 54:1-8

2.学会発表

- 脳循環代謝学会
- 日本核医学会
- SNM2012
- 日本分子イメージング学会
- 日本脳神経モニタリング学会

G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1.特許取得

なし

2.実用新案登録

なし

3.その他

なし

PET-CT装置による¹⁵O標識ガス持続吸入法における非観血的脳血流測定に関する研究

研究分担者 松田 博史 国立精神・神経医療研究センター 脳病態統合イメージングセンター長
研究協力者 伊藤 公輝 国立精神・神経医療研究センター 放射線科 医師
今林 悦子 東京都健康長寿医療センター 放射線科 医長
久慈 一英 埼玉医科大学国際医療センター 核医学科 准教授

研究要旨

形態画像と機能画像の評価がほぼ同時にできるPET/CTを用いて、¹⁵O標識ガスによる脳血流代謝をPET/CT装置で行い、その妥当性を検討した。形態画像の情報から総頸動脈のカウントを測定し、撮像範囲の小脳を重複されることにより、非観血的手法による血流量の測定を試みた。相関係数は $r = 0.723$ ($p = 0.04$)で、頸動脈カウントから脳血流の推測が可能である事が示唆された。

A. 研究目的

PET装置を使用した¹⁵O標識ガスによる脳血流代謝測定は最も有用な方法の一つとして広く認知されている。この¹⁵O標識ガスPETは脳血流測定ゴールドスタンダードであるが、その侵襲性の高さや手法の煩雑さのため広く普及するには至っていない。また、近年広まった複合機であるPET/CT装置での撮像の報告は少ない。今回、PET/CT装置を使用し、総頸動脈カウントから補正を行い、非観血的手法による脳血流量測定を試みた。

B. 研究方法

頸動脈や中大脳動脈狭窄を有する患者7名（8検査）を対象とし、¹⁵O標識ガス持続吸入法にて評価した（表1）。PET/CTはbiograph6(Siemens社)を使用し、3D収集を行った。撮像時、頭側に補助板を加えて、通常の体位方向と前後を逆向きとして撮像を行った。CO₂、O₂、COの順に吸入を行い、それぞれにつき動脈採血を行い、脳血液量、脳血流量、酸素摂取率および酸素代謝量を算出した（図1）。非観血的脳血流量測定は頭部と頸部の撮像範囲を小脳で重複させ、両方の画像のROI値を合わせた（図2）。また、健常側総頸動脈のカウントと径を測定した。その後、頸動脈の面積から部分容積補正、カウントから減衰補正の補正を行った（図3）。小脳のROIのカウント比を測定し、頸動脈カウントにかけることで最終的な入力値とした。その後、健常側頸動脈カウントを小脳カウントで補正し、入力値として脳血流量を求めた。得られた値は3D-SRTにて血流分布を確認し、動脈採血による定量値と比較した。統計は $p < 0.05$ を有意差ありとし、推測値と動脈採血による真値の相関係数の評価はピアソンの相関を用いた。

（倫理面への配慮）

本研究は埼玉医科大学国際医療センターにて承認されている。

	年齢	性	病変部位	CA径 (mm)	面積	SEE-JET
1	71	M	右内頸動脈狭窄	8.5	56.74502	stage2
2	55	F	右中大脳動脈狭窄	6	28.27433	stage2
3	69	M	左内頸動脈閉塞	6.4	32.16991	stage1
4	64	M	右中大脳動脈狭窄	6.4	32.16991	stage1
5	69	M	右内頸動脈狭窄	5.4	22.90221	stage2
6	54	F	左内頸動脈閉塞	5.1	20.42821	stage2
7	69	M	右内頸動脈狭窄	6.6	34.21194	stage2
8	65	M	右内頸動脈狭窄	6.4	32.16991	stage0

表1 患者背景 CA：総頸動脈

動脈採血¹⁵Oプロトコル

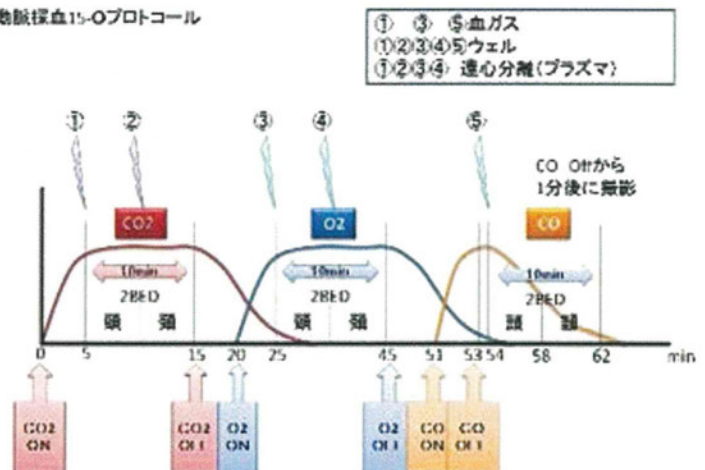


図1 動脈血プロトコル

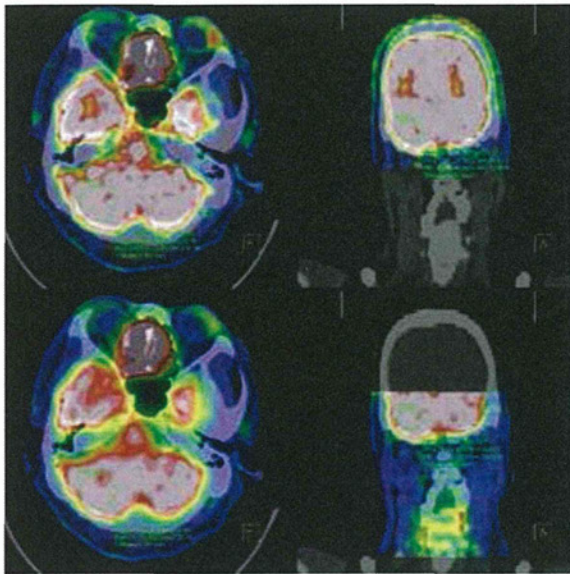


図2 小脳の重複範囲とROI

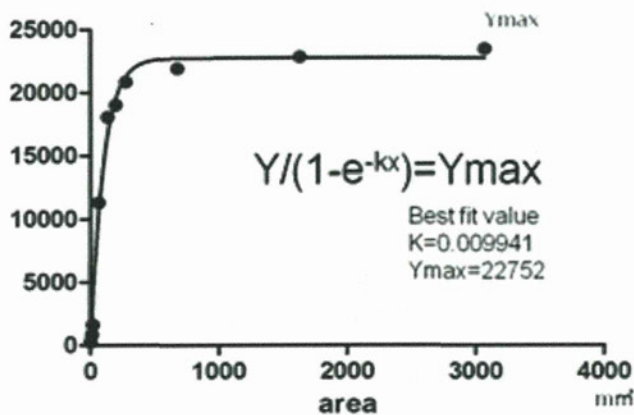


図3 部分容積効果補正の推測式

C. 研究結果

両側総頸動脈のカウント平均値による推測値との相関に有意差が見られた ($r=0.72$, $P=0.04$)。(表2) 実測血流値の平均と標準偏差は 31.7 ± 7.0 ml/100mg/min、頸動脈カウントからの推定値は 33.9 ± 17.0 ml/100mg/minであった。一名は血流値が1.2 ml/100mg/minと推測され、誤差が最大で20 ml/100mg/minを超える被験者も見られた。

	年齢	性	実測血流値	推定血流値	血流差
1	71	M	29.25048	48.16968	18.9192
2	55	F	33.01623	32.54578	-0.47045
3	69	M	33.31984	28.26199	-5.05785
4	64	M	46.07999	55.65206	9.57207
5	69	M	23.19882	24.41788	1.21906
6	54	F	32.21219	34.7368	2.52461
7	69	M	31.99217	46.33565	14.34348
8	65	M	24.21457	1.2035	-23.0111

表2 実測血流値と推定血流値

D. 考察

PET/CTによる ^{15}O 標識ガス持続吸入法において、実測値と頸動脈カウントを利用した定量測定結果は比較的良好な相関を示した。しかしながら、大きな外れ値を示す症例も見られ正確な定量評価をするには、更なる検討を要する。また、頸動脈の面積により値が変化するためCTの角度などにより部分容積効果の補正値が影響を受ける可能性が考えられた。

E. 結論

PET/CTを用いた ^{15}O 標識ガス持続吸入法において、頸動脈カウントから脳血流の推測を非侵襲的に推測する可能性が示唆された。

F. 研究発表

- 1.論文発表
なし
- 2.学会発表

1. Ito K, Imabayashi E, Seto A, Kuji I, Matsuda H. Utility of PET/CT in ^{15}O -gas steady-state method for brain hemodynamic studies. European Association of Nuclear Medicine congress, Munchen,2008
2. Ito K, Imabayashi E, Seto A, Kuji I, Matsuda H. Noninvasive measurements of regional cerebral blood flow using PET/CT in a ^{15}O -gas inhalation steady-state method. The 56th Society of Nuclear Medicine, Toronto,2009

G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

なし

エミッション画像からの減弱補正マップを用いた酸素標識ガスPET検査の検討

研究分担者 西山 佳宏 香川大学 放射線医学講座 教授

研究要旨

久富らの考案したDARG法やDBFM法は従来の酸素ガス標識PET検査時間を著しく短縮し、慢性期のみならず急性期の脳血管障害患者への応用を可能にしている。今回、従来法であるトランスミッション画像から作成した減弱補正マップを用いた減弱補正と、エミッション画像から作成した減弱補正マップを用いた減弱補正を使用しCBF、CMRO₂、OEFを作成し比較を行った。この2つの方法には良い相関があり、酸素ガス標識PET検査がさらに時間短縮可能であることが示唆された。

A. 研究目的

CBF (Cerebral Blood Flow: 脳血流量)、OEF (Oxygen Extraction Fraction: 脳酸素摂取率)、CMRO₂ (Cerebral Metabolic Rate of Oxygen: 脳酸素消費量)は、脳血管障害において虚血の程度を評価する最も信頼できる指標である。これらの定量画像は¹⁵Oで標識されたC¹⁵O、C¹⁵O₂、¹⁵O₂を用いたポジトロン断層撮影 (positron emission tomography: PET) で得られるが、検査に比較的長時間を要し急性期の患者には実施が困難であった。久富らは、従来法のsteady-state法やthree step ARG(autoradiographic)法で要する約1時間の検査時間を短縮し25分で実施可能なdual tracer autoradiographic (DARG) 法、さらに10分で実施可能なdual-tracer basis function method (DBFM) 法を報告した。私共の施設では様々な脳血管障害患者に対して久富らの開発したDBFM法の脳PET検査を臨床応用し、特に急性期の脳血管障害患者に短時間でPET検査が可能になっている。

本研究では脳血管障害患者に、従来法であるトランスミッション画像から作成した減弱補正マップを用いた減弱補正と、エミッション画像から作成した減弱補正マップを用いた減弱補正によるCBF、CMRO₂、OEFのPET検査を行い、2つの方法の画像比較を行った。

B. 研究方法

症例は血行力学的脳虚血が疑われた脳血管障害患者12名で、Powers分類のstage 0が4名、stage Iが4名、stage IIが4名である。

PET検査方法

5分間のトランスミッション撮像の後、13分30秒のダイナミック撮像を行った。ダイナミック撮像開始

10秒後から1分間¹⁵O₂を吸入し、ダイナミック撮像開始11分10秒後から1分間C¹⁵O₂を吸収した。その間動脈採血を34回行った。

画像再構成

トランスミッション画像を用いて減弱補正マップを作成しPET画像再構成を行いCBF、CMRO₂、OEF画像を作成した。次に同じデータを用いて、エミッション画像を用いて減弱補正マップを作成し、CBF、CMRO₂、OEF画像を作成した。

画像解析

NEURO FLEXER（日本メジフィジックス社）を使用し、CBF、CMRO₂、OEFの値を求めた。

（倫理面への配慮）

PET実施に当たっては、学内の倫理規定を遵守し、十分なInformed consentのうえで患者承諾を得る。また、プライバシーの保護を遵守し、個人が特定できる様な形での公表は行わない。対象となる個人は研究への参加を個人の意志でいつでも取りやめることが出来る。また、研究施行者あるいは主治医が、検査及び研究内容によって生じる可能性のある利益、不利益及び危険性について口頭及び文書にて説明を十分に行い、内容等に了解を得た上で、文書により事前に同意を得る。

C. 研究結果

stage 0の患者において、トランスミッション画像から作成した減弱補正を用いたCBF、CMRO₂、OEFの値とエミッション画像から作成した減弱補正を用いたCBF、CMRO₂、OEFの値には良好な相関関係を示した。同様に、stage Iとstage IIの患者においてもこれら2つの方法から算出したCBF、CMRO₂、OEF

の値には良好な相関関係を示した。

症例を呈示する。症例はstage IIの血行力学的脳虚血の症例である。図1は従来法であるトランスミッション画像から作成した減弱補正マップを用いた減弱補正によるCBF画像、図2はエミッション画像から作成した減弱補正マップを用いた減弱補正によるCBF画像を示す。図2でも左半球の血流低下の指摘が可能である。

図1

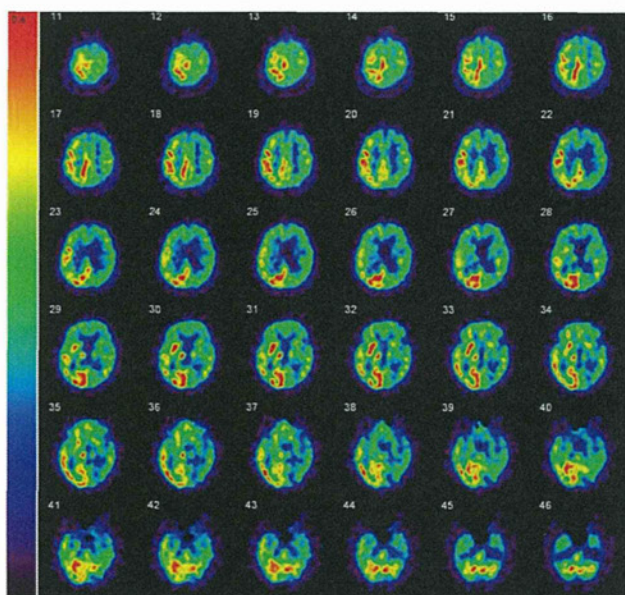
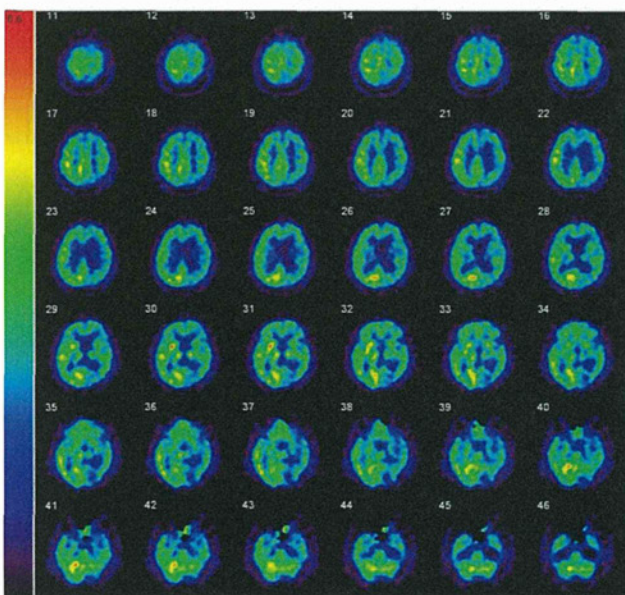


図2



D. 考察

トランスミッション画像から作成した減弱補正を用いたCBF、CMRO₂、OEFの値とエミッション画像から作成した減弱補正を用いたCBF、CMRO₂、OEFの値にはいずれのステージの患者においても良好な関係を示した。この結果より、トランスミッション撮像を行わずに減弱補正を行うことができ、PET検査のさらなる時間短縮が可能であると考えられた。急性期の脳血管障害患者において、短時間でPET検査を行うことは治療を行うにあたって非常に有用であり、今後はさらに症例を積み重ね有用性や問題点についても検討する必要がある。

E. 結論

従来法であるトランスミッション画像から作成した減弱補正マップを用いた減弱補正と、エミッション画像から作成した減弱補正マップを用いた減弱補正を使用しCBF、CMRO₂、OEFを作成し比較を行った。この2つの方法には良い相関があり、酸素ガス標識PET検査がさらに時間短縮可能であることが示唆された。

F. 研究発表

1.論文発表

1. Kawai N, Kawanishi M, Shindou A, Kudomi N, Yamamoto Y, Nishiyama Y, Tamiya T. Cerebral Blood Flow and Metabolism Measurement Using Positron Emission Tomography before and during Internal Carotid Artery Test Occlusions: Feasibility of Rapid Quantitative Measurement of CBF and OEF/CMRO₂. Interv Neuroradiol. 18; 264-274, 2012

2.学会発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

なし

脳血流酸素代謝量迅速検査における脳血液到達時間および脳血液量推定法開発に関する研究

研究分担者 久富 信之 香川大学医学部准教授

研究要旨

脳血流(CBF)、脳酸素摂取率(OEF)および脳酸素代謝量(CMRO₂)についての定量画像は脳血管障害に対する病態生理把握を可能とする。本研究では標識一酸化炭素ガス検査を省略したため画像データが得られなくなった脳血液量(CBV)を、迅速法において推定する計算法を開発し、その有効性を確認した。計算法の開発において血液が到達する時刻が健常部位と比較し遅延することが問題となるためこの遅延時間の推定法を開発し、遅延時間の問題を克服した上でCBV画像の定量精度を高めた。遅延時間は、健常部位と比較して血流低下部分で有意に遅延が見られ、また、OEFと相関があることが分かった。また、推定した遅延時間をもとに計算したCBV画像は、CO投与検査すなわち従来法と類似する分布が見られた。本法は今後の脳虚血臨床検査および脳虚血病態解明に貢献すると期待される。

A. 研究目的

脳血流(CBF)、脳酸素摂取率(OEF)および脳酸素代謝量(CMRO₂)定量画像は脳血管障害に対する病態生理把握を可能とする。これら脳機能定量画像は複数の¹⁵O標識化合物すなわち標識酸素、標識水、標識一酸化炭素を投与するPET検査により得ることが可能であった。しかし、この検査は検査時間が1時間程度と長く、特に急性期症例に適用できないという問題があった。そのため、本研究の初期には標識酸素および標識水を連続的に投与し、かつ標識一酸化炭素の投与を不要とする方法を数理理論により構築し、検査時間を10分程度と短時間化する迅速検査法を実現した。さらに当年度本研究では検査を省略したため画像データが得られなくなった脳血液量をこの迅速検査法において推定する方法を開発し、その有効性を確認した。

B. 研究方法

理論：酸素および水に対する脳組織での動態に基づき、連続投与的法に対する動態は(Ci(t))を組織カーブ、酸素と水に対する入力関数をそれぞれAo(t)およびAw(t)、血流をf、酸素摂取率をE、酸素と水に対する血液成分分量为VoおよびVwとした)、次式で表現できる：

$$Ci(t) = E \cdot f \cdot A_o(t) \otimes e^{-\frac{f}{V_o}t} + f \cdot A_w(t) \otimes e^{-\frac{f}{V_w}t} + V_o^0 \cdot A_o(t) + V_w^0 \cdot A_w(t) \quad (1)$$

右辺第1項は酸素に対する動態、第2項は水に対する動態、第3、4項は血液成分をそれぞれ表現している。この動態に対し、DARG法では酸素投与時の面積計算に基づく計算を行い、CBF, OEF, CMRO₂の計算を行う。またDBFM法ではfについては生理的に妥当な範囲でlook-up table法を適用し、他の変数(E, Vo, Vw)については線形最小二乗法を適用して、これらの生理パラメータを得た。

これらのパラメータの内、脳血液量を表すものはVoとVwであるが、脳組織各領域と計算で使用した入力関数の時間差（血液到達時刻差:ATB）による誤差が大きいことが報告されている。そのため領域ごと、本研究では画像の画素毎の血液到達時刻を評価し補正する方法を開発した。本方法は血液到達時間差によって、CBF, OEF, CMRO₂に生じる計算法ごとの差を考慮し、その差によって画素ごとの到達時間差を評価した。この評価に基づいて、その時間差を補正し、再度CBF, OEF, CMRO₂およびVoとVwを計算した。

サブジェクト：本方法の有効性の確認のため脳血管障害の確認できた患者(n=8、年齢：73.4 ± 8.2 歳、体重：73.4 ± 8.2 kg)における検査データによる解析を実施した。

（倫理面への配慮）

健常者および患者の検査に際しては国立循環器病研究センターの倫理委員会および香川大学医学部付属病院の倫理委員会の承認を得た上で、被験者に対

して詳細な説明を行い、書面による承諾を得た上で検査を実施した。

C. 研究結果

図1にDBFM法にATBの補正を行ったCBF、OEF、CMRO₂、ATB画像を示す。右半球に血流の低下、OEFの上昇、CMRO₂の低下が見られた1例となる。ATB画像上で、虚血による血流低下部分かつOEF上昇部分に一致して血液到達時刻が有意に遅延している結果が得られた($P<0.05$)。ATBの推定によりOEFと同等の診断情報を得る可能性が示唆された。

図2にCBV画像の比較を示す。CO投与検査(上側)と比較してDBFM法(下側)によるCBV画像の画質は劣化が見られるが、分布は類似が見られた。

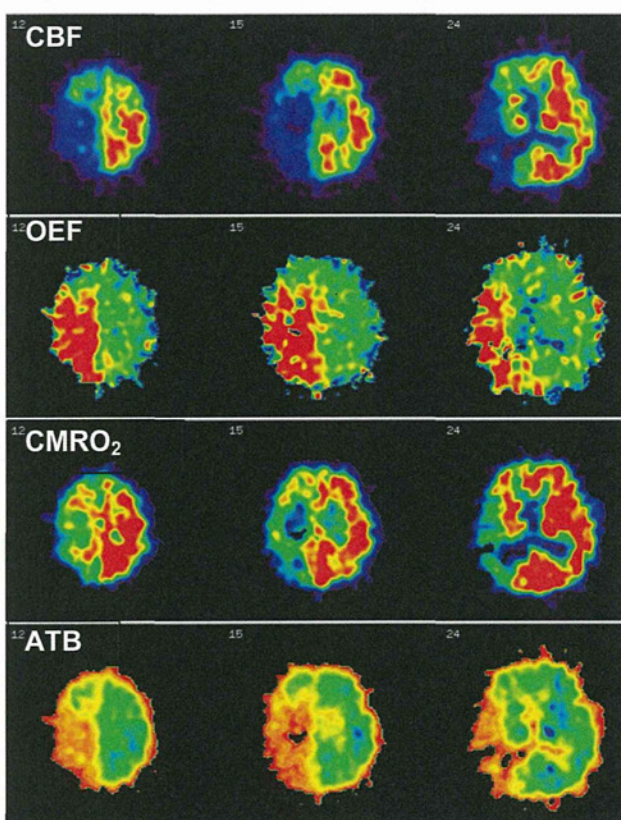


図1：機能画像、上からCBF、OEF、CMRO₂およびATB画像。

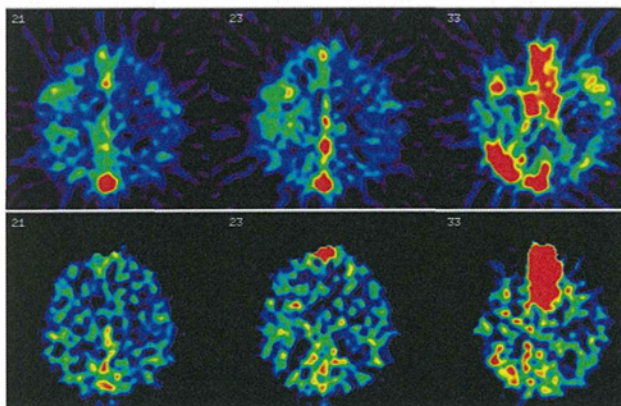


図2：CBV画像、上側：COによる、下側：DBFM法による。

D. 考察

本研究ではCBF、OEFおよびCMRO₂の定量画像を10分程度の短時間検査で実施する迅速検査法すなわちDBFM法に加えてCBV画像を推定する方法の開発を目的とした。本法によりトランスミッション撮像が典型的に5分、連続投与法が5分程度の撮像で実施可能である、そのため検査全体として15分程度の時間で検査が終了することが可能であった。本迅速検査では、これまで脳虚血の診断に有効でありなが短時間化のため得られなくなったCBV画像を、連続投与法のデータから推定可能とする点で有意義な手法の開発と考えられる。

これまで、DBFM法ではCBVの分布は従来法と比較して不一致が見られた、これは脳虚血部位で血液が到達する時刻が健常部位と比較して遅延すると考えられることがその要因の一つと考えられた。そのため、遅延時間の推定がCBVの定量精度を高めると考えられ、本手法においては、PETデータからCBF、OEF、CMRO₂を推定する複数の方法すなわちDARG法およびDBFM法の間で遅延時間に対する誤差感度が異なることを利用して、その計算値の差から遅延時間を推定した。図1に示す通り遅延時間は、健常部位と比較して血流低下部分で有意に差があることが分かった。推定した遅延時間をもとに、CBF、OEF、CMRO₂およびCBVの計算値を補正した。計算したCBV画像(図2)は、従来法と類似のみられる分布が見られた。但し、画像上の画質の劣化があった。画質の劣化はあるが臨床診断には有効と考えられる。

また、研究目的での実施を考えたとき、本方法は時々刻々変動する病態を正確に把握することを可能とし、今後の治療法開発にも貢献するものと考えられる。

E. 結論

CBFおよびCMRO₂定量画像を10分程度の短時間で撮像する方法に加え、CBV画像の推定を可能とする方法を開発し、またその有効性を確認した。本研究により開発した方法は今後の脳虚血臨床検査および脳虚血の病態解明の研究に貢献するものと期待される。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Kudomi N, Hirano Y, Koshino K, Hayashi T, Watabe H, Fukushima K, Moriwaki H, Teramoto N, Iihara K, Iida H. Rapid quantitative CBF and CMRO₂ measurements from a single PET scan with sequential administration of dual ¹⁵O-labeled tracers. *J Cereb Blood Flow Metab.* 33(3);440-448,2013
2. Enmi J, Kudomi N, Hayashi T, Yamamoto A, Iguchi

S, Moriguchi T, Hori Y, Koshino K, Zeniya T, Jon Shah N, Yamada N, Iida H. Quantitative assessment of regional cerebral blood flow by dynamic susceptibility contrast-enhanced MRI, without the need for arterial blood signals. *Phys Med Biol.* 57(23);7873-7892,2012

3. Kawai N, Kawanishi M, Shindou A, Kudomi N, Yamamoto Y, Nishiyama Y, Tamiya T. Cerebral Blood Flow and Metabolism Measurement Using Positron Emission Tomography before and during Internal Carotid Artery Test Occlusions: Feasibility of Rapid Quantitative Measurement of CBF and OEF/CMRO₂. *Interv Neuroradiol.* 18; 264-274, 2012

2. 学会発表

1. 久富信之、香川大学でのPET/SPECT動態解析の現状－迅速酸素代謝検査など－第2回核医学画像解析研究会（大阪）

G. 知的財産権の出願・登録状況 （予定を含む。）

なし

脳におけるミクロ循環とマクロ循環の橋渡しに関する研究

研究分担者 菅野 巖（独）放射線医学総合研究所分子イメージング研究センター 主任研究員

研究要旨

核医学的によるマクロ的な脳循環をミクロ的循環の立場からの理解を目指した。我々が報告した8-9%低酸素飼育マウスのひげ刺激に対してレーザードップラー血流（LDF）応答が低減するモデルで、2光子顕微鏡を用いて体性感覚野における脳表動脈と穿通動脈径のひげ刺激に対する応答を計測した。その結果、脳表動脈は低酸素飼育でも一定の応答を示したが穿通動脈は低酸素飼育期間とともに径変化率が減少し、両者の血管系が異なる血流調節支配を受けていることを初めて確認した。

A. 研究目的

8-9%低酸素環境で飼育したマウスでひげ刺激に対する体性感覚野の脳血流変化率は、低酸素飼育期間1~3週間に応じて、レーザードップラー血流計（LDF）測定で、20%から5%程度に減少するが、CO₂応答は維持されていること、また神経活動も保持されていることを報告した。本研究ではこのようなひげ刺激に対する血流応答の低減が脳表動脈と穿通動脈のいずれの血管系によるか解明することを目的として、2光子走査顕微鏡を用いて脳表動脈と穿通動脈のそれぞれの血管径の変化を測定した。

B. 研究方法

Tie2-GFP遺伝子改変マウス（7-11週齢、N=6）を使用した。実験開始の7日以上前に大脳皮質体性感覚野に冨田らの頭窓を装着し、頭窓に顕微鏡固定用金具を固定した。マウス頭部は二光子顕微鏡に固定して測定する。予め、低酸素飼育前にコントロールを測定した後、8-9%酸素チェンバーで飼育開始し、1週間毎に2光子顕微鏡計測を実施する。測定中は室内酸素濃度に晒される。ひげ刺激は1本のひげにチューブを被せて振動刺激（10Hz、5秒）を加え、これと同期して10回繰り返し画像を加算平均計測した。穿通動脈は計測深度100 μ m毎に計測し、血管断面の短径を求めた。脳表動脈は共焦点顕微鏡として2D画像から直接径を測定した。

（倫理面への配慮）

実験は放医研における実験動物使用規定に則った。

C. 研究結果

コントロール状態での血管反応性は、図1に示す通り、深さに依存せずほぼ一定の変化率を示した。変化率は脳表血管でも同じであった。低酸素飼育期

間と血管反応率は、穿通動脈はコントロールの12~13%から3週間目で5%以下に低下した。一方、脳表血管は低酸素期間による変化率の低下は比較的小なく12%~78%へ低下する程度であった。

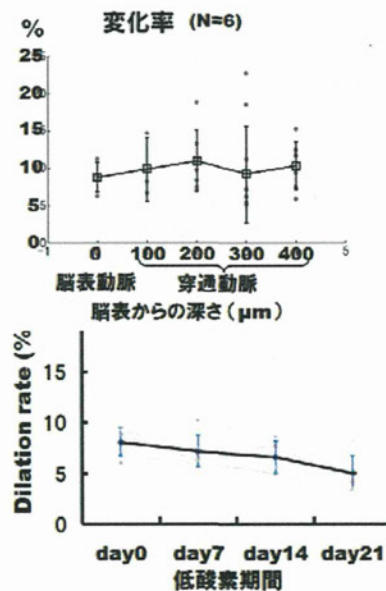


図1. 室内酸素濃度下のひげ刺激への変化率

図2. 低酸素期間と脳表動脈ひげ刺激変化率

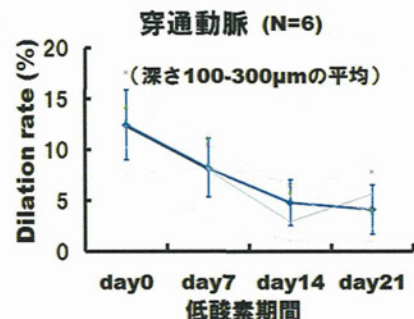


図3. 低酸素期間と穿通動脈ひげ刺激変化率

D. 考察

今回の結果は我々が既に報告したLDFによる血管反応性の減少は穿通動脈の血管反応性の低下を反映したものと考えられる。これに対して、脳表動脈はほとんど低酸素飼育期間に関係がない事を示した。これは脳表動脈と穿通動脈の調節系が異なることを示唆する。今後、二つの調節系を測定するための測定を試みる必要がある。

E. 結論

低酸素暴露マウスのひげ刺激に対する血管径の変化を測定し、脳表動脈はひげ刺激に応答を続けたが、穿通動脈は低酸素暴露期間が長引くに連れて、ひげ刺激への応答が減少した。脳表動脈と穿通動脈とで異なる調節機構があることを示唆する。

F. 研究発表

1.論文発表

1. Takuwa H, Masamoto K, Yamazaki K, Kawaguchi H, Ikoma Y, Tajima Y, Obata T, Tomita Y, Suzuki N, Kanno I, Ito H. Long-term adaptation of cerebral hemodynamic response to somatosensory stimulation during chronic hypoxia in awake mice. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2013 Feb 13. doi: 10. 1038/jcbfm. 2013.16. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 23403375.
2. Unekawa M, Tomita Y, Toriumi H, Masamoto K, Kanno I, Suzuki N. Potassium-induced cortical spreading depression bilaterally suppresses the electroencephalogram but only ipsilaterally affects red blood cell velocity in intraparenchymal capillaries. *J Neurosci Res.* 2013 Apr;91(4):578-84.
3. Yoshihara K, Takuwa H, Kanno I, Okawa S, Yamada Y, Masamoto K. 3D analysis of intracortical microvasculature during chronic hypoxia in mouse brains. *Adv Exp Med Biol.* 2013;765:357-63
4. Masamoto K, Kawaguchi H, Ito H, Kanno I. Dynamic two-photon imaging of cerebral microcirculation using fluorescently labeled red blood cells and plasma. *Adv Exp Med Biol.* 2013; 765:163-8.
5. Takuwa H, Matsuura T, Obata T, Kawaguchi H, Kanno I, Ito H. Hemodynamic changes during somatosensory stimulation in awake and isoflurane-anesthetized mice measured by laser-Doppler flowmetry. *Brain Res.* 2012 Sep 7;1472:107-12.
6. Kawaguchi H, Masamoto K, Ito H, Kanno I. Image-based vessel-by-vessel analysis for red blood cell and plasma dynamics with automatic segmentation. *Microvasc Res.* 2012 Sep; 84(2): 178-87.
7. Masamoto K, Tomita Y, Toriumi H, Aoki I, Unekawa M, Takuwa H, Itoh Y, Suzuki N, Kanno I.

Repeated longitudinal in vivo imaging of neuro-glio-vascular unit at the peripheral boundary of ischemia in mouse cerebral cortex. *Neuroscience.* 2012 Jun 14;212:190-200.

8. Masamoto K, Kanno I. Anesthesia and the quantitative evaluation of neurovascular coupling. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2012 Jul; 32(7): 1233-47.
9. Paulson OB, Kanno I, Reivich M, Sokoloff L. History of International Society for Cerebral Blood Flow and Metabolism. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2012 Jul;32(7):1099-106.
10. Miyazaki K, Masamoto K, Morimoto N, Kurata T, Mimoto T, Obata T, Kanno I, Abe K. Early and progressive impairment of spinal blood flow-glucose metabolism coupling in motor neuron degeneration of ALS model mice. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2012 Mar; 32(3): 456-67
11. 正本和人、富田裕、鳥海春樹、畝川美悠紀、田桑弘之、谷口順子、川口拓之、伊藤義彰*、鈴木則宏*、伊藤浩、菅野巖: 脳虚血・低酸素モデルマウスにおける血管新生ライブイメージング、脳循環代謝 = Cerebral Blood Flow and Metabolism : 日本脳循環代謝学会機関誌、23(2)、84-89、2012
12. 正本和人、菅野巖: 二光子励起レーザー走査顕微鏡法による神経血管カップリングの生体イメージング、レーザー研究、40(4)、230-235、2012

2.学会発表

[口演発表]

1. Sekiguchi Y, Masamoto K, Takuwa H, Kawaguchi H, Kanno I, Ito H, Tomita Y, Suzuki N*, Sudo R*, Tanishita K*: Measuring the vascular diameter of brain surface arteries and parenchymal arterioles in awake mouse, ISOTT2012, Bruges, 2012.08
2. 木村泰之、伊藤浩、白石貴博、菅野巖、須原哲也: ドーパミン受容体密度測定における HR+と Eminenceの差異について、第3回 島津 PET ユーザーズミーティング、松本、2012.09
3. 川口拓之、島田斉、篠遠仁、平野成樹、Kershaw Jeffrey、生駒洋子、田桑弘之、谷口順子、関千江、木村泰之、小高文聡、菅野巖、須原哲也、伊藤浩: 黒質のニューロメラニンMRIとドーパミントランスポーター分布密度の関連の検討、第40回日本磁気共鳴医学会大会、京都、2012.09
4. 菅野巖、田桑弘之、関千江、正本和人、谷口順子、川口拓之、生駒洋子、脇坂秀克、伊藤浩: 持続的低酸素暴露マウスの脳におけるFDG測定、第52回日本核医学会学術総会、札幌市、2012.10
5. 田桑弘之、川口拓之、正本和人、谷口順子、菅野巖、伊藤浩: 脳機能抑制による局所脳血流の変化 -Crossed cerebellar diaschisisモデルマウスにおけるLDF計測-、第24回日本脳循環代謝学会総会、広島、2012.11
6. 川口拓之、井関光、菅幹生、田桑弘之、田島洋佑、正本和人、菅野巖、伊藤浩: 脳微小血管の時

空間画像による赤血球速度自動定量法、第24回日本脳循環代謝学会総会、広島、2012.11

7. 伊藤浩、田桑弘之、川口拓之、正本和人、田島洋佑、茨木正信、菅野巖: 脳賦活および脳機能抑制による局所脳有効酸素拡散能の変化 —毛細血管径の変化からの推定—、第24回日本脳循環代謝学会総会、広島市、2012.11
8. 畛川美悠紀、富田裕、鳥海春樹、長田高志、正本和人、川口拓之、菅野巖、鈴木則宏*、その他: 麻酔下マウスにおける大脳皮質性拡張性抑制誘発時の脳表動静脈および毛細血管の口径と脳血流の変化、第24回日本脳循環代謝学会総会、広島、2012.11
9. 菅野巖、関口優太、田桑弘之、正本和人、川口拓之、谷口順子、富田裕、須藤亮*、鈴木則宏*、谷下一夫*、伊藤浩: 慢性低酸素飼育下マウスの大脳皮質体性感覚野における脳表動脈と穿通動脈のひげ刺激応答、第24回日本脳循環代謝学会総会、広島市、2012.11

[ポスター発表]

1. 下村岳夫、青木伊知男、菅野巖: 前臨床生体イメージングの効率化: 麻酔下の小動物をワンタッチ固定できる器具の発明、千葉エリア産学官連携オープンフォーラム2012、千葉県習志野市、2012.07
2. Kimura Y, Ito H, Yamada M, Kodaka F, Takano H, Fujiwara H, Shimada H, Kanno I, Suhara T: Inter-scanner differences in dopamine receptor imaging, The 9th International Symposium on Functional Neuroreceptor Mapping of the Living Brain (NRM12), Baltimore, 2012.08
3. Shiraishi T, Kimura Y, Kanno I, Suhara T, Ito H: Evaluation of Inter-Scanner Differences in Effect of Radioactivity from Outside FOV, The 9th International Symposium on Functional Neuroreceptor Mapping of the Living Brain (NRM12), Baltimore, 2012.08
4. Takuwa H, Masamoto K, Seki C, Maruyama M, Obata T, Kawaguchi H, Kanno I, Higuchi M, Ito H: Cerebrovascular dysfunction during somatosensory stimulation associated with beta-amyloid accumulation in APP transgenic mice. The 9th International Symposium on Functional Neuroreceptor Mapping of the Living Brain (NRM2012), Baltimore, 2012.08

5. Takuwa H, Matsuura T, Obata T, Kawaguchi H, Kanno I, Ito H: Changes in RBC velocity and concentration during whisker stimulation in awake and anesthetized mice, The 35th annual meeting of the japan neuroscience society, 名古屋, 2012.09
6. Shiraishi T, Kanno I, Ito H, Yoshikawa K, Tanimoto K, Ishii N, Kimura T, Omatsu M, Ohashi S, Toubaru S, Takano H, Tsuji H, Ando Y, Kamada T, Shibayama K: Hybrid wavelet shrinkage (HWS) filter suppress the noise propagation in ordered subset expectation maximization (OS-EM) algorithm, Annual Congress of the European Association of Nuclear Medicine, Milan, 2012.10
7. 田桑弘之、脇坂秀克、関千江、菅野巖、伊藤浩: 覚醒マウスにおけるFDG-PETと自発運動量の同時計測実験系の構築、第52回日本核医学会学術総会、札幌市、2012.10
8. 木村泰之、伊藤浩、白石貴博、生駒洋子、小高文聰、山田真希子、高野晴成、藤原広臨、島田斉、菅野巖、須原哲也: [11C]racloprideおよび[11C]FLB 457によるPET測定の種類間差の比較、第52回日本核医学会学術総会、札幌市、2012.10

[招待発表]

1. 菅野巖: PETのゆらぎとNIRSやfMRIのゆらぎ、第14回日本ヒト脳機能マッピング学会、札幌市、2012.07

[講義・講演]

1. 菅野巖: 脳PET/SPECTに定量性は必要か、第13回日本脳神経核医学研究会、札幌市、2012.10

G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得
木村裕一、関千江、菅野巖、その他: 測定装置並びにそれらを備えた液体採取測定システム、2012
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

画像の高解像度化と機器の設計、性能評価に関する研究

研究分担者 銭谷 勉 国立循環器病研究センター研究所 画像診断医学部 室長
研究協力者 堀 祐樹 国立循環器病研究センター研究所 画像診断医学部 流動研究員

研究要旨

我々はPETやSPECTで撮像された脳機能画像の精度評価を行うためにリアリスティックな3D脳ファントムを開発した。また、画像の精度評価や多施設研究を行う上で、装置に依存する空間分解能の違いを考慮することは重要である。昨年度、我々は3D脳ファントムから空間分解能を推定する手法を提案した。これにより、デジタルファントムを用いた画像精度評価や空間分解能の違いを排除した多施設評価が可能となる。本研究では、提案手法を利用して、定量SPECT画像再構成法QSPECTで得られた画像の精度評価および施設間再現性を評価した。11施設のSPECT装置で3D脳ファントムを撮像し、画像再構成は従来画像再構成法(FBP)と定量SPECT画像再構成法(QSPECT)で行い比較した。QSPECT画像はデジタルファントム画像との一致度が高かった。空間分解能の違いを排除することによって、施設間のばらつきが抑制できることが確認できた。また、QSPECT画像がFBP画像よりも施設間再現性が高いことが確認された。3D脳ファントムとそれを用いて空間分解能を推定する提案手法は、PETやSPECTにおける画像精度評価や多施設評価への応用が期待される。

A. 研究目的

我々はPETやSPECTで撮像された脳機能画像の精度評価を行うためにリアリスティックな3D脳ファントムを開発した。また、画像の精度評価や多施設研究を行う上で、装置に依存する空間分解能の違いを考慮することは重要である。昨年度、我々は3D脳ファントムから空間分解能を推定する手法を提案した。これにより、PETやSPECTにおいて、デジタルファントムを用いた画像精度評価や空間分解能の違いを排除した多施設評価が可能となる。本研究では、提案手法を利用して、定量SPECT画像再構成法QSPECTで得られた画像の精度評価および施設間再現性を評価する。

B. 研究方法

11施設で得られた画像の空間解像度は、最も低い空間解像度に統一させた。各施設のSPECT画像の精度は、最も低い空間解像度にスムージングさせたデジタル画像との二乗平方根誤差（Root Mean Square Error: RMSE）で評価した。施設間の再現性は他10施設のSPECT画像とのRMSE、および変動係数（coefficient of variance: COV）で評価した。再構成画像はQSPECT画像再構成法および各装置に搭載されているFBP画像再構成法で生成し、QSPECTとFBPで画像精度および施設間再現性を比較した。

1. データ収集

11施設のSPECT装置でデータが収集された。表1は各施設のSPECT装置のメーカーと機種、使用されたコリメータの種類、収集条件としての回転半径、画素サイズのリストである。本データ収集以前に、再構成画像における感度が一樣であることが、放射能濃度一様円柱ファントムを用いて確認されている。123I-IMP 溶液が封入された3D脳ファントム（図1）の投影データが臨床脳血流検査と同様のプロトコルで収集された。エネルギーウィンドウ159 keV $\pm$ 10%、画像マトリクス64 $\times$ 64で、56分間撮像された。

表1 各施設の機種と撮像条件

Institutions	Manufacture and camera	Collimator	Radius of rotation [mm]	Pixel size [mm]	FWHM [mm] (QSPECT)	FWHM [mm] (FBP)
#1	SILMLNS LCAM	LLHR para	135	6.6	13.2	18.0
#2	SIEMENS ECAM	LEHR para	150	6.6	13.6	17.6
#3	IOSHIBA LCAM	LMHR fan	140	3.4	11.0	12.8
#4	TOSHIBA GCA7200	LESHR fan	130	3.4	10.9	17.7
#5	SIMADZU IRIX	LEGAP para	150	7.0	14.7	14.9
#6	GE Infinia	ELEG para	150	5.5	14.6	15.9
#7	PHILIPS SkyLight	VXHR para	200	4.3	13.7	14.8
#8	PHILIPS BrightView	CHHR para	160	6.4	13.7	15.2
#9	TOSHIBA GCA9300	LESHR fan	132	3.4	10.3	14.8
#10	GE Infinia	FIFGP para	150	6.8	15.3	15.6
#11	PHILIPS BrightView	CHHR para	140	6.4	13.9	15.0

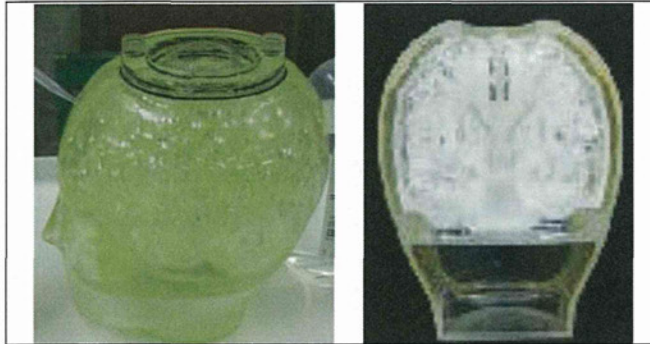


図1 3D脳ファントム。左は外観、右は断面。

2. 画像再構成

画像再構成は定量SPECT画像再構成法QSPECTと従来画像再構成法FBPの2種類で行われ、施設間再現性が比較された。QSPECTはOSEM法ベースの吸収補正、散乱線補正を含む逐次近似画像再構成法である。サブセット5、繰り返し回数5で画像が得られ、半値幅3mmのガウスフィルタが施された。FBPは各装置にインストールされているメーカーで提供しているソフトウェアが使用された。 μ 値0.07の設定でChangの吸収補正が適用された。

3. 空間分解能の統一

マトリックス数は線形補間により 64×64 に統一された。空間解像度を揃える手順を図2に示す。SPECT画像、デジタル画像を3Dフーリエ変換し、周波数空間上でデジタル画像をSPECT画像で除する。その商を3D逆フーリエ変換により実空間に戻すことによりPoint Spread Function (PSF)が算出される。このPSFの半値幅(full-width half-maximum: FWHM)をSPECT画像の空間解像度とした。更にデジタル画像と両再構成画像の空間解像度を以下の式により算出された $FWHM_{filter}$ を持つガウスフィルタをそれぞれの再構成画像にかけることで空間解像度を揃えた。11施設の中で、最も低い空間解像度が18mmであったため、すべての施設の画像の空間分解能が18 mmになるようにした。

$$FWHM_{filter} = \sqrt{18 - FWHM^2} \quad (1)$$

ここで、FWHMは、デジタル画像、FBP画像、QSPECT画像の統一前の空間分解能(FWHM)である。

デジタル画像、FBP画像、QSPECT画像の空間解像度をそろえた後、トータルカウントがデジタル画像に一致するように画素値をスケールリングした。

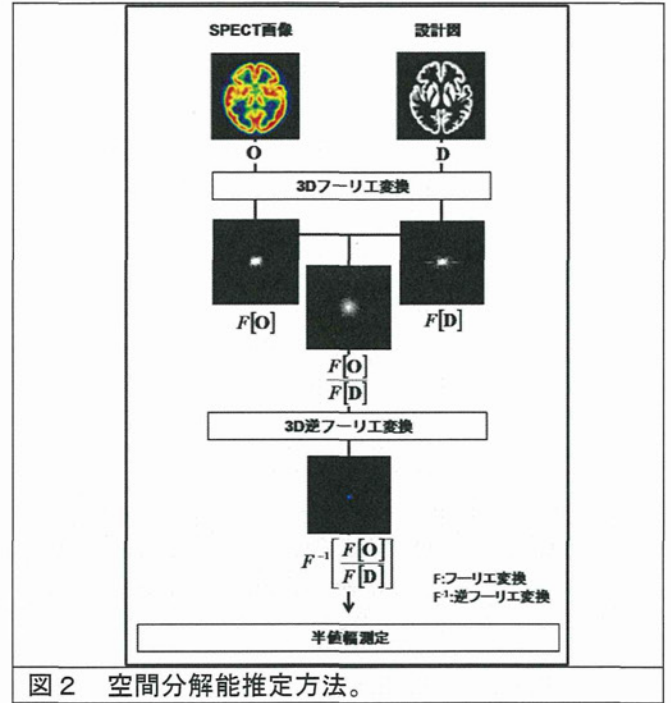


図2 空間分解能推定方法。

4. 各施設のSPECT画像の精度評価

SPECT画像とデジタル画像との i 番目の施設のSPECT画像の $RMSE_{digi}(i)$ は以下の式により算出した。

$$RMSE_{digi}(i) = \frac{1}{2} \frac{\|\bar{O}(i) - \bar{D}_{smooth}\|_2}{\|\bar{O}(i)\|_2} \quad (2)$$

$\bar{O}(i)$ は i 番目の施設のSPECT画像、 $\bar{D}_{smooth}$ は空間解像度が18 mmになるようにスムージングをかけたデジタル画像である。

5. 施設間再現性評価

施設間再現性は、 i 番目の施設のSPECT画像と他10施設のSPECT画像との $RMSE_{equip}(i)$ で評価し、以下の式により算出した。

$$RMSE_{equip}(i) = \frac{1}{n} \sum_{j=1, j \neq i}^n \frac{\|\bar{O}(i) - \bar{O}(j)\|_2}{\|\bar{O}(i)\|_2} \quad (3)$$

ここで、 $\bar{O}(i)$ は i 番目の施設のSPECT画像、 $\bar{O}(j)$ は j 番目の施設のSPECT画像である。

C. 研究結果

図3は空間分解能を統一する前後の各施設のQSPECTおよびFBPで得られたSPECT画像である。QSPECT画像がFBP画像よりもデジタルファントム画像との一致度が高かった。図4は各施設のSPECT画像とデジタル画像のRMSEで、QSPECT画像とベン

ダーFBP画像に対する結果である。空間解像度統一させることで施設間差が小さくなった。QSPECT画像の方がベンダーFBP画像よりも施設間差は小さかった。図5は各施設のSPECT画像に対する他10施設のSPECT画像とのRMSEで、QSPECT画像およびベンダーFBP画像の結果である。それぞれ、空間分解能統一前後の結果も示した。図6はQSPECT画像とFBP画像それぞれの11施設の平均画像とCOV画像である。COV画像をQSPECTとFBPと比較すると、画素値のばらつきはFBPで大きく、QSPECTで小さかった。

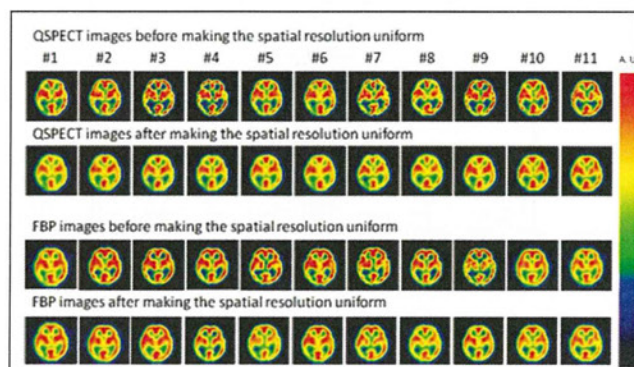


図3 空間分解能統一前後の各施設のSPECT画像。

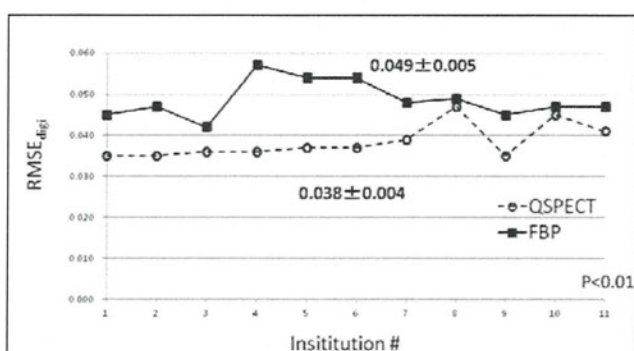


図4 各施設のSPECT画像の精度評価。

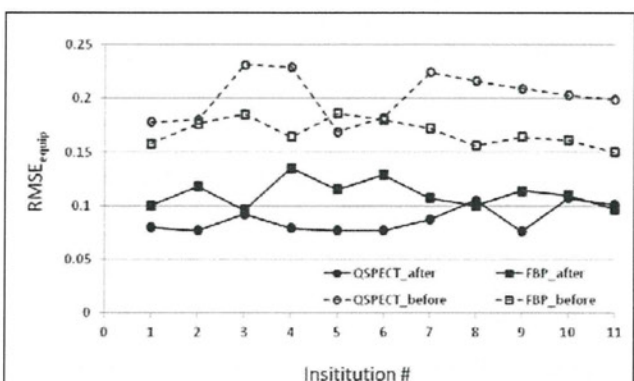


図5 施設間再現性。各施設SPECT画像と他10施設SPECT画像とのRMSE。

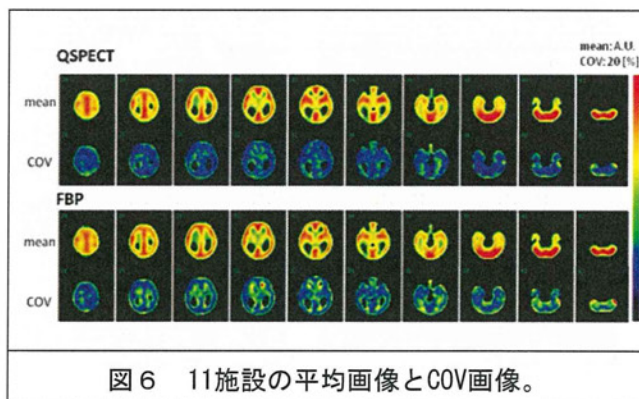


図6 11施設の平均画像とCOV画像。

D. 考察

3D脳ファントムを用いて、各施設のSPECT画像の空間解像度およびデジタルファントム画像と空間解像度を統一し、施設間再現性およびSPECT画像精度を評価した。

SPECT画像の画像精度は、ほとんどの施設でベンダーFBP画像よりもQSPECT画像の方がRMSEが低く、QSPECTが高い精度で画像再構成できていたと言える。

また、施設間再現性では、空間解像度を統一させることで、QSPECT再構成およびFBP再構成でRMSEが改善され、空間解像度の統一は施設間評価に有効であると言える。さらに、FBPよりもQSPECTの方がRMSEが小さく、COV画像の値も小さかった。このことから、QSPECT再構成は施設間のばらつき抑え、再現性良くSPECT画像を得ることができると言える。

E. 結論

昨年度提案したPET/SPECT用の脳ファントムから空間分解能を推定する手法を利用することで、定量SPECT画像再構成法QSPECTは画像精度および施設間再現性が高いことが示された。3D脳ファントムとそれを用いて空間分解能を推定する提案手法は、PETの応用も可能でPETやSPECTにおける画像精度評価や多施設評価への応用が期待される。

F. 研究発表

1.論文発表

1. Iida H, Hori Y, Ishida K, Imabayashi E, Matsuda H, Takahashi M, Maruno H, Yamamoto A, Koshino K, Enmi J, Iguchi S, Moriguchi T, Kawashima H, Zeniya T. Three-dimensional brain phantom containing bone and grey matter structures with a realistic head contour. *Ann Nucl Med*, vol. 27, no. 1, pp. 25-36 (2013)

2.学会発表

1. Hori Y, Zeniya T, Yamamoto A, Koshino K, Enmi

J, Iguchi S, Moriguchi T, Kawashima H, Iida H. Novel method for simultaneous evaluation of spatial resolution and image accuracy using three dimensional brain phantom - Application to a SPECT multicenter study. Society of Nuclear Medicine' s 59th Annual Meeting (Miami, USA), June 9-13, 2012

2. 堀 祐樹, 銭谷 勉, 山本明秀, 越野一博, 圓見純一郎, 井口智史, 森口哲朗, 飯田秀博. 定量化されたSPECT画像再構成(QSPECT)の定量精度と装置間再現性. 第37回日本脳卒中学会総会(福岡), 2012年4月26-28日

3. 堀 祐樹, 銭谷 勉, 飯田秀博. 定量化されたSPECT画像再構成法(QSPECT)の定量精度と装置間再現性—3D脳ファントムを用いた評価. 第52回日本核医学会学術総会(札幌), 2012年10月11-13日

G. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む。)

特になし

ペプチドのGa-68標識合成の最適化に関する検討

研究分担者 河嶋 秀和 国立循環器病研究センター研究所 画像診断医学部 室長

研究要旨

脳梗塞発症時急性期治療においては、時々刻々と変化する梗塞部および周辺領域の状態を正確に把握すること、さらに治療効果の有無を判定し、その後の治療方針へ迅速にフィードバックすることが極めて重要である。Ga-68はジェネレータ産生核種であり、緊急時でも用時調製が可能のため、これを用いたPET診断は本目的に合致する。昨年度の研究では、モデル化合物として $\alpha v\beta 3$ インテグリンを標的とする既存のペプチド性リガンド（NODAGA-RGD）につき、Ga-68標識合成を検討した結果、30分という短時間での薬剤調製を達成した。今年度は、不純物であるGe-68を除去する目的の固相カラムを系に組み込むことで、 ^{68}Ga -NODAGA-RGDの放射核種純度の向上を試みた。また、担癌マウスに ^{68}Ga -NODAGA-RGDを投与後、体内分布を測定し、所期の通りの薬剤が得られていることを検証した。

A. 研究目的

PETやSPECT等の核医学診断により、脳機能変化の定量評価が可能である。特に脳梗塞急性期における診断では、疾患の性質上、イメージングプローブを必要時に短時間で供給することが重要となることから、本研究事業に掲げるO-15標識ガス製剤の迅速供給システムも、これを実現する目的で整備されている。一方、臨床への診断薬剤の短時間供給は、脳梗塞発症後、生体内機能性分子を標的としたプローブにも求められる。そこで、本研究では、臨床的汎用性と緊急時における対応性に優れたジェネレータ産生PET核種であるGa-68につき、ペプチドへの導入とその評価を検討した。

B. 研究方法

^{68}Ga -NODAGA-RGD調製時における放射性異核種（Ge-68）の除去に関する検討

RGDは、細胞接着分子である $\alpha v\beta 3$ インテグリンと親和性を有するペプチドであり、遊走した細胞や新生血管のイメージングプローブとして注目されている。昨年度は、キレート形成部位として配位子NODAGAを含むRGDから ^{68}Ga -NODAGA-RGDを標識合成する条件の検討を行った（図1）。

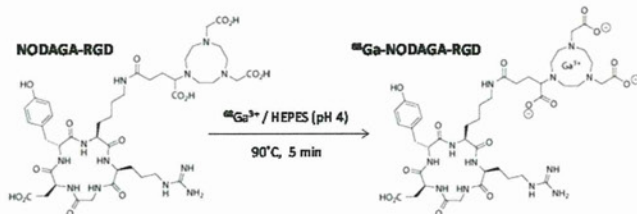


図1 ^{68}Ga -NODAGA-RGDの合成

しかし、報告した方法では、Ga-68の親核種であるGe-68がカラム担体（ TiO_2 ）から溶出し、最終製剤に混入することで放射核種純度の低下が惹起すると示唆された（図2）。そこで、本研究では陰イオン交換カラムを用いたGa-68の精製により、放射核種純度を向上させることを試みた。

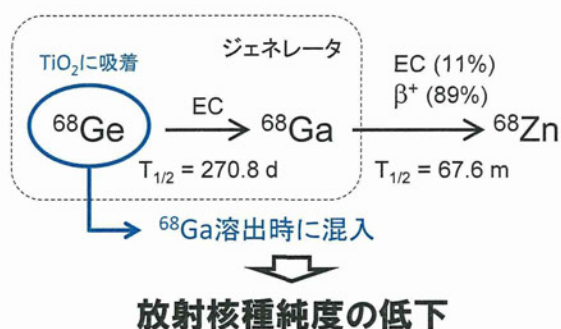


図2 Ge-68の混入による放射核種純度の低下

NODAGA-RGD（ABX社）の1 $\mu\text{mol/mL}$ 水溶液を調製し、1 μL を反応に使用した。0.1 N塩酸（6 mL）を用いて ^{68}Ge - ^{68}Ga ジェネレータ（Obninsk社）から $^{68}\text{Ga}^{3+}$ を溶出し、これを12 N塩酸（3.2 mL）を入れたバイアルに回収した。溶液を陰イオン交換樹脂（Chromafix; Chemco社）に通じた後、注射用水（1 mL）にて $^{68}\text{Ga}^{3+}$ を再溶出した。溶液をHEPESで $\text{pH} \approx 4$ に調整し、NODAGA-RGD溶液を添加した。その後、90°Cの湯浴中で5分間反応させた。反応液はC18 Sep-Pakにて精製し、Silica gel 60 TLC（展開溶媒：MeOH/水 = 3/1）で ^{68}Ga -NODAGA-RGDの放射化学的純度を測定した。

担癌動物における体内放射能分布の測定

^{68}Ga -NODAGA-RGDを動物に投与し、体内分布を臓器摘出法にて測定した。SCIDマウス(C.B-17/Icr-scid/scid, 雄性, 5週齢)皮下にヒト肺扁平上皮癌細胞(SK MES1) 1.35×10^8 cellsを接種し、7週間後に実験に使用した(n=5)。マウスに ^{68}Ga -NODAGA-RGDを尾静脈から投与し、1時間後に腫瘍および臓器を摘出、秤量し、放射能をガンマカウンタで測定した。臓器単位重量あたりの放射能を% injected dose/g (% ID/g) にて算出した。

C. 研究結果

^{68}Ga -NODAGA-RGD調製時における放射性異核種(Ge-68)の除去に関する検討

ジェネレータから溶出した $^{68}\text{Ga}^{3+}$ を濃塩酸に回収し、Chromafix固相カラムに通じた。これにより、陰イオンとなったGa-68を吸着させ、陽イオンの状態のGe-68のみを洗い出すことで除去した。1 mLの注射用水で再溶出した $^{68}\text{Ga}^{3+}$ を1週間保管した溶液につき、ガンマカウンタで測定したが、Ge-68由来の放射能は検出されなかった。

昨年度の検討と同様、得られた $^{68}\text{Ga}^{3+}$ 溶液にHEPESを添加し、標識反応を行った結果、 ^{68}Ga -NODAGA-RGDの生成を確認した。 $^{68}\text{Ga}^{3+}$ の溶出から ^{68}Ga -NODAGA-RGDのEtOH溶液を得るまでに要した時間は40分であった。

担癌動物における体内放射能分布の測定

^{68}Ga -NODAGA-RGDを担癌マウスに静脈内投与し、投与1時間後の体内放射能分布を測定した結果、腫瘍への放射能集積は $4.7 \pm 1.8\%$ ID/gであった。一方、血液および筋肉は、それぞれ $0.25 \pm 0.05\%$ ID/g、 $0.53 \pm 0.14\%$ ID/gであり、腫瘍/血液比は18.8、腫瘍/筋肉比は8.9となった。肝臓や腎臓といった代謝・排泄系臓器への集積は、それぞれ1.9% ID/g、2.0% ID/gであった。

D. 考察

ジェネレータからの $^{68}\text{Ga}^{3+}$ 溶出液(0.1 N塩酸, 6 mL)を濃塩酸(12 N, 3.2 mL)に混合すると、塩酸

濃度はおよそ4 Nとなる。このpHでは、Ga-68は錯イオン $[\text{GaCl}_4]^-$ を形成するため、陰イオン交換樹脂への吸着が期待される。注射用水による再溶出後では、所期の通り、ChromafixにはGe-68と考えられる長半減期の放射性核種の残存を認めたが、溶液中への異核種混入はなく、Ga-68溶液の放射核種純度の向上を達成した。

$^{68}\text{Ga}^{3+}$ 溶出液は、HEPES存在下でNODAGA-RGDと反応させることにより、 ^{68}Ga -NODAGA-RGDが生成した。全工程時間は40分と、精製過程が入ったために昨年度よりも10分間延びたが、Ga-68の半減期(67.6分)から計算し、66%の減衰率で ^{68}Ga -NODAGA-RGDを合成できた。

調製した ^{68}Ga -NODAGA-RGDの担癌マウスにおける分布は、過去の報告とよく一致した。すなわち、腫瘍における放射能集積が高く、血管新生の亢進を示しているものと考えられ、今回の調製法でも ^{68}Ga -NODAGA-RGDが得られていると考えられた。

E. 結論

Ga-68標識ペプチド性プローブの迅速合成について、放射核種純度を改善し、製剤としての有用性を高めることに成功した。ジェネレータからの用時調製が可能であり、汎用性が高いGa-68を用いたプローブは、脳梗塞発症急性期のみならず、臨床での展開が期待される。その一方、製剤の品質管理についても徹底が求められる。本研究で示したGe-68の除去についても、例えばジェネレータから $^{68}\text{Ga}^{3+}$ を適宜事前溶出しておくことで溶出液中に混入するGe-68を低減できるため、このような手法と組み合わせた臨床上の運用が必要である。

F. 研究発表

- 1.論文発表
なし
- 2.学会発表
なし

G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

なし

¹⁵O標識トレーサを用いた局所心筋血流量の定量化法の改善に関する研究

研究分担者 越野 一博 国立循環器病研究センター 研究所 画像診断医学部 研究員

研究要旨

¹⁵O標識トレーサを用いる心筋機能PET検査では、中隔領域において右心室からのspilloverに基づく系統的誤差が存在しえる。本研究では、最初に、¹⁵O標識水PETによる中隔領域の心筋血流量推定において、右心室からのspillover補正を組み込んだ解析モデルの妥当性および安定性を確認した。次に、補正の有無により推定した心筋血流量に統計的有意な差が生じることを確認し、右心室からのspillover補正が必要であることを示した。さらに、その解析モデルを応用して得られる左右心室の血液分画成分画像を用いて、¹⁵O標識一酸化炭素吸入と心電図同期PET撮像からの左心室駆出率推定において、右心室からのspilloverがおよぼす影響を評価した。左心室駆出率には補正の有無による統計的有意な差はなく、右心室からのspilloverの影響は小さいことが示唆された。

A. 研究目的

¹⁵O標識トレーサを用いる心筋機能PET検査では、中隔領域においてPETの空間分解能、心拍動および事後平滑化フィルタに起因する右心室からのspilloverに基づく系統的誤差が存在しえる。本研究の目的は、①中隔領域の心筋血流量推定において、右心室からのspillover補正を組み込んだ解析モデルの検証とその有効性評価、②その解析モデルを応用し、¹⁵O標識一酸化炭素PET撮像による左心室駆出率推定における右心室からのspilloverの影響評価、の2つである。

B. 研究方法

①中隔領域における心筋血流量推定における右心室からのspillover補正

5頭の健常および9頭の陳旧性心筋梗塞を有するミニブタを対象として、計25回のPET検査を行った。1回のPET検査においては、1回の安静時および3回のアデノシン持続負荷時（投与量：100、200および400 μg/kg/min）の¹⁵O標識水静注撮像を行った。

コンパートメントモデル解析におけるspillover補正法に関して、従来法である左心室内腔のみを考慮したsingle spillover correction (SSC) 法と、それに加えて右心室内腔を考慮したdual spillover correction (DSC) 法を以下の項目について検討した。

1) 解析モデルの良さ。測定された中隔領域時間放射能濃度曲線と、それぞれの方法から推定される時間放射能濃度曲線を用いて、解析モデルの良さを、数理統計学の指標である赤池情報量規準により評価した。

2) 心筋血流量推定の安定性。健常例を対象として、

中隔領域を中心とする左右心室を含む4種類の大きさの関心領域を設定した。それぞれの大きさの関心領域について、心筋血流量を推定した。関心領域が大きくなると、得られる組織放射能濃度における両心室の放射能濃度の割合が増大する。これを擬似的なspilloverとした。

3) 健常および陳旧性心筋梗塞例のミニブタに対して、2つの補正法による心筋血流量の違いを評価した。第1図に示されるAHA 17セグメントモデルより定義される中隔領域（計500個）の心筋血流量をそれぞれの解析モデルについて求め、両者のモデル間で系統的な差がないかを、Bland Altman解析とt検定により検討した。

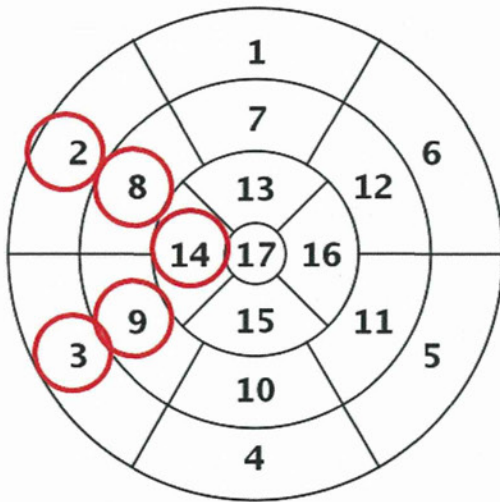
②右心室からのspilloverが左心室駆出率に及ぼす影響

¹⁵O標識一酸化炭素を検査対象に吸入させ、PET撮像を行うことで、心房および心室内腔の血液分布が得られる。さらに心電図信号を併用し、画像再構成することにより、心時相ごとに分割された血液分布画像（心電図同期血液分布画像）が得られる。しかしながら、第2図に示したように、中隔領域は右心室からのspilloverにより、画像上で左心室との癒着が発生し、左心室領域およびその体積推定の誤差要因となることが予想される。右心室からのspilloverを除去するために、研究方法①で検証したDSC法を応用した。¹⁵O標識水PET撮像から得られた画像について、各画素にDSC法を適用することで、第3図および第4図に示したように、各画素について、左心室および右心室由来の血液分画の割合を推定することが可能である。それらの割合を、心電図同期血液分布画像に適用し、右心室からのspilloverを除去した（第5図）。

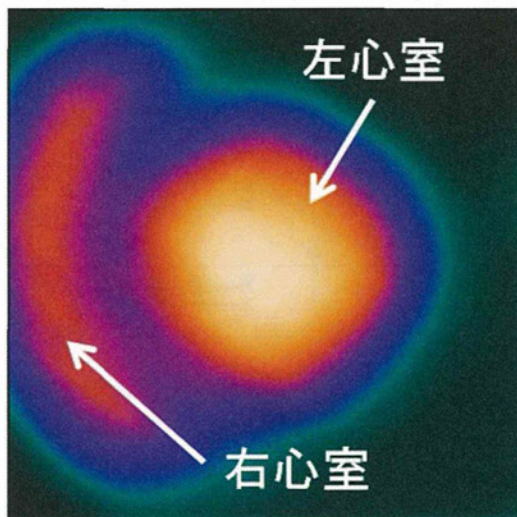
開発した手法の有効性を評価するために、イヌ5匹を対象とし、安静時における心電図同期 ^{15}O 標識一酸化炭素吸入PET撮像および ^{15}O 標識水PET撮像を行った。上で述べた右心室からのspillover除去を行う場合と行わない場合のそれぞれから推定した左心室駆出率を比較した。

(倫理面への配慮)

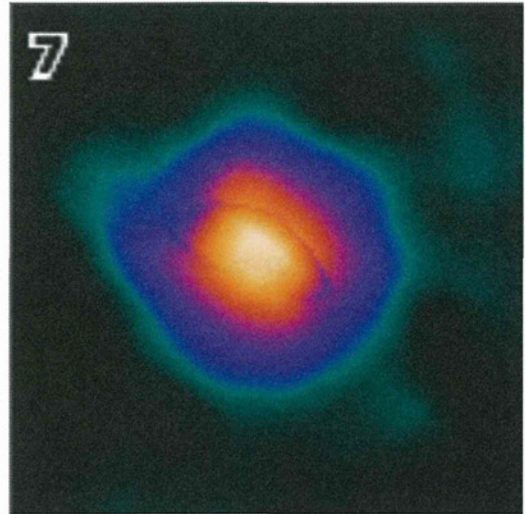
動物実験は、国立循環器病研究センター動物実験委員会の承認を得て行った。



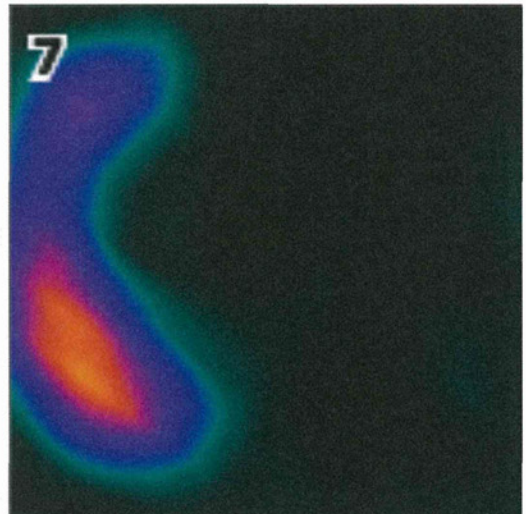
第1図：AHA 17セグメントモデルに基づき、中隔領域として定量したセグメント（丸で囲まれた番号）



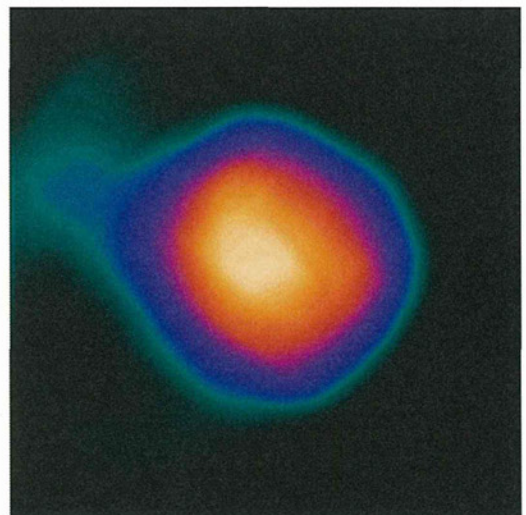
第2図： ^{15}O 標識一酸化炭素による拡張終期血液分布画像



第3図：画素ごとに求めた左心室由来の血液分画



第4図：画素ごとに求めた右心室由来の血液分画（第3図と同一断面）



第5図：右心室由来の血液分画を除去した拡張終期血液分布画像