

高エネルギー医学研究センターの研究活動 [1997]

(1) 基礎研究

福井医科大学高エネルギー医学研究センター（以下、センター）では、PET 検査を中心とした臨床研究を支え発展させることを目的として、それらの科学的根拠の解明研究に加えて新しい概念に基づく検査薬剤・検査法の開発を基礎的なレベルから行っている。現在、基礎研究には生態イメージング研究部門、放射性医薬品化学研究部門およびセンターに所属する職員 5 名（客員、常勤、非常勤を含む）、大学院学生 2 名、その他 2 名が参加している。主要な研究テーマとしては、腫瘍糖代謝機構の解明、新規低酸素組織診断薬剤の開発、新鮮脳切片を用いた機能解析などがある。

< 腫瘍糖代謝機構の解明 >

従来より F-18-2-fluoro-2-deoxy-D-glucose (FDG) による腫瘍イメージングの臨床的有用性が指摘されている。FDG の企業供給が計画・実施されるに到っているが、その主要な目的は腫瘍診断にあると考えられる。腫瘍は嫌氣的糖代謝を活発に行っておりそれが腫瘍 FDG 集積の高さをもたらすとされているが、そのメカニズムと意義についての詳細は明らかにされていない。悪性度や治療効果の評価など腫瘍の質的診断への FDG の寄与を考えるとこれらの知見は最も重要となると考えられる。そこで、まず腫瘍の細胞レベルでの糖代謝変化を正常細胞との比較を通じて検討した。好氣的条件下においても同等の増殖能を有する正常細胞に比較して酸素消費が低いことが明らかとなった。したがって、腫瘍の嫌氣的糖代謝は増殖に伴う血管新生の遅れからくる低酸素状態の結果なのではなく積極的な意義を持つ代謝変化である可能性が示唆された。FDG の腫瘍集積においては、膜輸送になう glucose transporter (GLUT) および糖リン酸化になう hexokinase の 2 つのタンパクが関与していることが知られている。脳などにおいては hexokinase が糖代謝の律速段階酵素とされており FDG 集積も hexokinase 活性を反映するものとされている。我々は、FDG に非選択的膜透過性を与えれば hexokinase のみの活性を反映する性質を持つようになるのではないかと考え、heptaacetyl-FDG (AFDG) の代謝特性を検討した。その結果、所期のとおり AFDG が血液中では安定であり容易に細胞膜を透過し細胞内でただちに FDG となることが明らかとなった。そこで、AFDG および FDG を用いて膜輸送とリン酸化について詳細に検討を行ったところ、腫瘍においてはこれらのタンパク発現のバランスが変化しており GLUT が律速段階となる場合があることが示された。このことは FDG を用いた場合その集積が hexokinase 活性ではなく GLUT 活性を反映する可能性があることを示唆している。腫瘍の hexokinase 活性と増殖度とに相関があることが知られているが、FDG 集積と増殖度の相関に多くの例外があることが知られている。本研究結果は、その問題点を明らかにし、さらに選択的 hexokinase 活性測定診断薬剤としての AFDG の可能性を示したものと考えられ

る。現在の腫瘍治療効果判定は形態学的診断によるところが多く腫瘍の退縮あるいは消失が判断の基準であるため、治療が終了した後の判定がほとんどである。このことが患者の精神的・肉体的負担を増すことにもつながっている。治療開始前あるいは直後に判定が可能であれば不適切な治療や副作用発現の防止に有用と考えられる。そこで FDG による治療直後効果判定の可能性について検討を行った。まず、実験腫瘍細胞を用い、放射線照射後の極早期における糖代謝変化を検討したところ、照射数時間後に一過性の糖代謝亢進が観察された。この時点で細胞には形態的变化はまったく見いだされなかった。そこで、糖代謝亢進の機序を明らかにするためタンパク、遺伝子発現レベルでの検討を行った。その結果、亢進は DNA から RNA への転写レベルでおこなっていることが示された。このような発現は一般的に知られている HSP などのショックタンパクの発現に先立つものであった。すなわち、腫瘍細胞は放射線照射による障害に対処するためのシステムたち上げに先立ってエネルギー確保のための糖代謝システムを遺伝子発現レベルで亢進させていることが示唆された。この現象は脳腫瘍患者における定位放射線治療においても観察され、治療効果との関連性を示唆する結果も得られている。

これらとは別に、神経細胞の腫瘍化の過程における糖代謝変化の解明をめざして、分化・未分化型の両方の発現型を提示し得る培養神経細胞系を用いる検討を行っている。

< 新規低酸素組織診断薬剤の開発 >

脳、心筋などの組織における虚血性疾患は、老年性血管障害の増加にあいまって大きな問題となりつつある。虚血性疾患では、低血流領域が血流回復によって再起できる状態であるかどうか治療の重要なポイントとなる。低酸素組織とは、血流低下により代謝異常は生じているものの組織としてはまだ正常に機能し得る状態にある組織を指しており、このような領域の存在を把握できれば虚血性疾患における治療方針に重要な指針を与えるものと考えられる。センターでは、銅の生体内酸化還元系への親和性に着目し臨床使用可能なジェネレータ産生超短半減期ポジトロン放出核種銅 62 (Cu-62) による診断薬剤の開発を行ってきた。その中で、低酸素による電子過剰状態を選択的に検出し得る診断薬剤として Cu-62-diacetyl-bis(N4-methylthiosemicarbazone) (Cu-ATSM) を見いだした。Cu-ATSM は、脂溶性低分子錯体であり脳血液関門をはじめとする生体膜を容易に透過できるが正常組織ではなんら変化を起こすことなく再度血流へ再分布する。しかしながら、低酸素組織では電子過剰状態となったミトコンドリア電子伝達鎖複合体 I において NADH 依存的に還元を受け、その結果錯体構造を維持できなくなるため細胞内に滞留する性質を有する。Cu-ATSM は灌流心筋標本実験において低酸素選択的集積が示されるとともに動物実験においても急性心筋虚血領域に高い集積を示すことが明らかとなった。

これとは別に、近年脳老化において電子伝達障害によるラジカル発生が注目されている。脳のような分裂終了組織でみられる老化はテロメア説によっては説明できず、なんらかの障害の蓄積が細胞老化を引き起こすのではないかと考えられている。ラジカル説はそのひ

とつであり、生じたラジカルが DNA、タンパク、膜などに障害を与えると考えられている。ラジカルの発生部位はミトコンドリア電子伝達鎖と考えられ、この障害が検出できれば臨床症状が生じる以前の的確な診断が可能となるとともに、そのような障害発生をおさえる予防的処置の開発も可能と考えられる。特に、先述の Cu-ATSM は電子伝達鎖の障害による異常な電子蓄積にも親和性を有すると考えられることから、その脳老化診断への応用が期待された。そこで、生後早期に記憶障害を呈する老化促進モデルマウス (SAMP8) を用い、電子伝達障害脳モデルとしての可能性を検討した。ラジカル発生部位の近傍にありかつ遺伝子障害を蓄積することがしられるミトコンドリア DNA の欠失を指標として半定量的 PCR 法による検討を行ったところ、正常マウス脳と比較して生後早期から SAMP8 脳に遺伝子障害が多発することが明らかとなった。さらに、Cu-ATSM での検討において記憶障害を発生する以前の若年 SAMP8 脳においても高い集積を示し、脳異常老化の早期診断の可能性が示唆された。これらの成果を基礎として福井医科大学倫理委員会の承認を経て臨床検討を行うに到っている。

< 新鮮脳切片を用いた機能解析 >

近年、神経科学分野における基礎研究の進展はめざましく細胞をはじめとして非常に微細な構造レベルで多くの知見が得られている。PET は、ヒトを含めた生体の生理学・生化学・薬理学的情報を非侵襲的に得られる点で非常に有用であるが、時間・空間分解能などの問題から基礎研究での成果を直接的に結合させた議論はむずかしい。これら二者の間を補間し結合させるには新たな方法論の展開が必要となる。局所的神経回路網を温存した新鮮脳組織切片での放射性トレーサ挙動を経時的・定量的に追跡することにより局所脳機能とトレーサ挙動との関連を明らかにするための実験システムを構築した。この手法は、同時に種々の生理学・生化学・薬理学的負荷を血流の影響を受けることなく脳組織に与えることが可能な点で生体計測とは異なる利点を有し、その解析も容易と考えられる。また、電気生理学分野において確立された脳組織切片による実験手法も導入可能であり所期の目的に適した方法論として期待される。そこで、まず脳組織切片での糖代謝が様々な負荷を与えた場合にどのように変化するかを検討し、脳組織の糖代謝の特徴を明らかにすることから検討を開始した。脱分極抑制、シナプス興奮抑制、あるいは代謝阻害などによる糖代謝変化は、脳において糖代謝により産生されるエネルギーの多くが自発的発火により消費されておりそれは細胞としての機能維持に必要なエネルギー量を上回っていること、シナプスレベルでのエネルギー消費は多くないことなどが明らかとなった。これらの知見は、エネルギー代謝を指標とする新鮮脳切片を用いたトレーサ研究の基盤となるものであるとともに、臨床 PET 診断における FDG の意義を考える上でも興味深いものと考えられる。

< まとめ >

高エネルギー医学研究センターにおける基礎研究は、まだ開始されてから日も浅く十分

なレベルにまで到達しているとはいいいがたい。しかしながら、臨床現場に直結した環境を最大限に活用し情報交換を密にする中で新しい視点と方向性を持った基礎研究として地盤を築きつつあると自負している。諸先生、諸先輩方のご指導、ご批判を仰ぎたい。

(2) 臨床研究

<センター内における研究>

平成6年10月、高エネルギー医学研究センターの開所と同時に、PET検査を臨床および研究に適用するための基礎的検討を開始した。PETスキャナーの定量性の検討(杉本)から始まり、脳賦活検査を念頭においた検討として、三次元収集の基礎的検討(杉本、定藤)、水自動合成装置の導入を経て、三次元収集の脳賦活検査への応用(定藤)を開始した。そして平成7年8月より第一回の脳賦活検査として“両手指強調運動を司る神経回路の同定”(定藤, Sadato, et al. 投稿中)を行った。これと平行して、フッ素18(F-18)フルオロデオキシグルコース(FDG)を用いた糖代謝画像、酸素15(O-15)標識ガスを用いた酸素代謝画像の基礎的検討を行った。平成8年には、PETの臨床的有用性を最大限に生かすため、まず全身撮影の基礎的検討(杉本)を開始、三次元収集による全身撮影(杉本、岡本、定藤)の検討と撮影法の改良を行った。さらに、FDG-PETを用いた非観血的腫瘍糖代謝定量法の開発(定藤)を行った。脳賦活検査においては、急速な機能的磁気共鳴画像(MRI)の発達に鑑み、PETとの直接比較を単語生成課題を用いて行った(定藤)。

<学内における共同研究>

米倉の教授就任とともに、平成7年5月からプロトコール方式による学内共同研究の募集を始めた。放射線科、耳鼻科、口腔外科、整形外科、泌尿器科、第一内科、第二内科、麻酔科、脳外科の各診療科からの共同研究申請を受け、審査の上受理した。これは、1年ごとに更新し、研究方向を確認しつつ、研究の成果を確実に積み上げる目的をもって発足した。具体的には毎週開かれるPETカンファレンスにおいて前週の検査結果を供覧検討し、プロトコールの進捗状況を随時確認、定量や画像処理を含む核医学的なデータ処理につきコンサルテーションを受けると共に、共同研究者として論文作成に携わるものである。中枢神経系については、脳循環障害におけるバイパス術前後における脳循環代謝の変化(脳外科)、変性疾患に対する治療によるブドウ糖代謝の変化の評価(第二内科)、圧迫性脊髄疾患における除圧手術の治療効果判定(整形外科)など、治療評価に直結する臨床研究を、FDGあるいはO-15ガスをを用いて行った。心疾患については、虚血性心疾患における心電図異常の成因と代謝異常の関係をPETで証明した(第一内科)、心臓の代謝機能画像の簡便な定量法を放射線科との共同研究で開発した。腫瘍関係では、定位放射線治療直後に照射された腫瘍の糖代謝亢進が認められ(放射線科)、超早期に治療効果を判定する可能性が示さ

れた。頭頸部腫瘍における複合治療の効果判定に FDG-PET が有用であることを示し（歯科口腔外科）また甲状腺腫瘍の鑑別診断に FDG-PET が極めて有効であることを確認した（放射線科、耳鼻科）。FDG-PET は孤立性肺病変の評価に有用であり（放射線科）さらに、前立腺癌のホルモン療法に対する反応が FDG-PET で鋭敏に捉えることが出来ることを示した（泌尿器科）。新しい試みとして、整形外科的な骨病変に対する外科療法後の免荷療法の打ち切り時期の評価に F-18 を用いる骨画像の開発（整形外科）を試みている。全体として、臨床的な問題意識をもって、それを解決すべく PET を用いるという研究姿勢をとっている。

< 学外との共同研究 >

米国国立衛生研究所（M. Hallett）との運動制御に関する非侵襲的機能画像を用いた共同研究を継続しており、その成果は“手指運動を司る神経活動の頻度依存性”（Sadato, et al. 1996, 1997）“手指運動の複雑性と神経活動の変化”（Sadato, et al. 1996）“盲人の点字読みに用いられる神経回路網の研究”（Sadato, et al. 1996）として、共著論文を発表した。平成 7 年 10 月より文部省放送教育開発センター（現文部省メディア教育開発センター）と、感性脳機能に関する共同研究を開始し、平成 8 年 3 月と 10 月の 2 回にわたり、感性脳機能の PET による評価という脳賦活検査を行った。さらに機能画像の定量的処理の方法論に関しミシガン大学（養島）と共同研究をはじめた。京都大学脳病態生理学講座（美馬、福山、長濱）との共同研究として、平成 8 年 3 月、12 月に運動制御（受動運動と能動運動の違いについて）および前頭前野の機能局在に関する脳賦活検査を施行した。脳賦活検査に関するマルチセンター共同研究（東京都老人研、秋田脳研、東北大）に 6 月より参加した。12 月に、京都大学総合人間学部・岐阜大学・東北大学加齢研（松村、内藤、川島）との共同研究として、運動学習の脳賦活検査を行った。