慶應義塾大学学術情報リポジトリ
Keio Associated Repository of Academic resouces

Title	18F-FDG標識赤血球PETによる生体内血液量の測定法の確立
Sub Title	18F-FDG-labeled red blood cell PET for blood pool imaging
Author	中原, 理紀(Nakahara, Tadaki) 高橋, 和弘(Takahashi, Kazuhiro) 陣崎, 雅弘(Jinzaki, Masahiro) 松坂, 陽至(Matsusaka, Yōji)
Publisher	
Publication year	2019
Jtitle	科学研究費補助金研究成果報告書 (2018.)
JaLC DOI	
Abstract	FDG標識赤血球PETはPETによる血液プールの画像化が可能になる成果であり、2017年にヨーロッパの核医学専門誌に論文が掲載され、世界で初めてこの手法での報告をした。この論文は既に他の6 本の論文に引用されており、その科学的重要性があることが示唆された。熱変性FDG標識赤血球はFDG標識赤血球 を熱変性させ、脾臓組織を特異的に画像化する技術であり、2018年にアメリカの核医学専門誌に掲載され、これも世界で初めての手法である。学会では第56回日本核医学会や第44回日本微小循環学会で発表した。 We demonstrated that FDG-labeled red blood cell PET enables blood pool imaging on PET. This result was published on an European academic journal. The report has been already cited by six articles, which suggests that the report has scientific importance. We also remonstrated that heat-denatured FDG-labeled RBC PET is useful for visualing splenic tissues. The report was published on an American academic journal. We also presented the results of our researches in two academic meeting in Japan.
Notes	研究種目：基盤研究(C)(一般) 研究期間：2016～2018 課題番号：16K10362 研究分野：核医学
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=KAKEN_16K10362seika

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

様　式　Ｃ－１９、Ｆ－１９－１、Ｚ－１９　（共通）

科学研究費助成事業　　研究成果報告書

令和　元 年　 ５ 月 １７ 日現在

機関番号：３２６１２
研究種目：基盤研究(C)（一般）
研究期間：2016～2018
課題番号：１６Ｋ１０３６２

研究課題名（和文）18F-FDG標識赤血球PETによる生体内血液量の測定法の確立

研究課題名（英文）18F-FDG-labeled red blood cell PET for blood pool imaging

研究代表者
中原　理紀（Nakahara, Tadaki）

慶應義塾大学・医学部（信濃町）・准教授

研究者番号：１０３１７２４０

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費）　　3,500,000円

研究成果の概要（和文）：FDG標識赤血球PETはPETによる血液プールの画像化が可能になる成果であり、2017年にヨーロッパの核医学専門誌に論文が掲載され、世界で初めてこの手法での報告をした。この論文は既に他の6本の論文に引用されており、その科学的重要性があることが示唆された。熱変性FDG標識赤血球はFDG標識赤血球を熱変性させ、脾臓組織を特異的に画像化する技術であり、2018年にアメリカの核医学専門誌に掲載され、これも世界で初めての手法である。学会では第56回日本核医学会や第44回日本微小循環学会で発表した。

研究成果の学術的意義や社会的意義
FDG標識赤血球PETはPETによる血液プールの画像化が可能になる成果であり、これによってこれまで以上に微小な消化管出血を検出できるようになったり、正確な心機能評価や局所血液量を生きた状態で測定できるようになる技術である。また熱変性FDG標識赤血球は脾臓組織を特異的に画像化する技術であり、悪性腫瘍と紛らわしい病変をより正確に診断したり、脾臓摘出術の正確な手術方法の決定に役立つ可能性を秘めている。

研究成果の概要（英文）：We demonstrated that FDG-labeled red blood cell PET enables blood pool imaging on PET. This result was published on an European academic journal. The report has been already cited by six articles, which suggests that the report has scientific importance. We also remonstrated that heat-denatured FDG-labeled RBC PET is useful for visualing splenic tissues. The report was published on an American academic journal. We also presented the results of our researches in two academic meeting in Japan.

研究分野：核医学

キーワード：FDG標識赤血球　PET　陽電子放出断層撮像　blood pool imaging　脾組織　熱変性FDG標識赤血球

様　式　Ｃ－１９、Ｆ－１９－１、Ｚ－１９、ＣＫ－１９（共通）

１．研究開始当初の背景

18F-FDG は陽電子放出核種 18F で標識した glucose の analog であり、PET 装置を用いて安全に生体組織内の糖代謝を定量的に画像化することができる。臨床では主に悪性腫瘍細胞や炎症細胞では糖代謝が亢進している性質を利用し、腫瘍・炎症イメージングに用いられている。

PET 以外の核医学的な手法による血液イメージングはすでに臨床で使用されており、その一つに 99mTc 標識赤血球シンチグラフィがある。この検査は、γ線放出核種 99mTc で標識した放射性赤血球を生体内に戻して撮像するというものである。海外を中心に長く臨床応用されているものの PET のように分解能や定量性が高くないため、出血部位や血管奇形の検出程度にしか用いられず、組織血液量の測定には不向きであった。

赤血球を標識するという発想を元に、我々は赤血球が 18F-FDG を取り込む性質を血液イメージングに応用できないかと考えた。赤血球は核を有しないが、血漿中の glucose を細胞膜上の GLUT(glucose transporter)を介して細胞内に取り込み、解糖系などから得られたエネルギーを元に viability を維持している。この生理的機能を利用して 18F-FDG を赤血球に取り込ませることが可能であることはすでに報告があるが(Nahmias C et al. Journal of nuclear medicine. 2000.)、18F-FDG で標識した赤血球を生体内に戻すという試みは今まで報告がない。

２．研究の目的

我々は、ラットから採取した赤血球を 18F-FDG 溶液と培養し、洗浄後の赤血球に放射能があることを確認した。本研究の目的は、定量的血液 PET 画像を得るための 18F-FDG 標識赤血球精製法、ならびに画像プロトコルを確立することである。

これが可能になると、既存の 99mTc 標識赤血球より、精度の高いによる blood pool imaging が得られ、各々生体組織内の血液量を定量化することができる。これにより、循環器系疾患の病態解明や悪性腫瘍内血液量測定による治療効果判定などに応用できる可能性がある。

３．研究の方法

(1) 良質な赤血球を用いた 18F-FDG 標識赤血球の作成、及び標識効率と安定性の確認

18F-FDG 標識赤血球は、ラットから採血および洗浄した溶液を 18F-FDG 溶液で培養することで得られることがラットの PET 画像から判明した。しかし、その調整法が適切であるかについてはまだ不明な点が多く、18F-FDG 標識赤血球が生物学的に安定しているかは確定していない。まず、赤血球は抗凝固剤で採血しても試験管内で凝集したり変形することが知られている(Keating FK et al. Transfusion. 2008.)。これによって 18F-FDG 標識赤血球が脾臓に trap されることなどにより生体内分布が生理的でなくなる可能性があり、形態的な安定性を顕微鏡下で観察し、赤血球の凝集や変形/膨化が無いことを確認した。

また、18F-FDG の赤血球への標識効率を左右する因子として、採血量、培養時間、18F-FDG 混和量などが考えられる。これらを調節し、効率の良い標識法を探る。

さらに、18F-FDG 標識赤血球における 18F-FDG（ないしその代謝産物）の細胞内化学的安定性についても検討する。なぜなら、我々の予備実験では試験管内で標識から 3 時間後までに徐々に赤血球外に 18F 体(18F を含有する分子の総称を表す)が漏出していることが確認されており、これまで腫瘍細胞を用いた実験の結果と異なっている。赤血球は他の組織と異なり解糖系以外の糖代謝経路も存在することが影響している可能性がある。細胞外に 18F-FDG が漏出してしまうと正確な血液量を測定する精度が下がる可能性があるので、漏出した 18F 体の組成を同定することは安定した 18F-FDG 標識赤血球を得るために重要である。この問題を解決するために高速液体クロマトグラフィーや質量分析装置を用いて赤血球の 18F-FDG 代謝を解析した。

(2) 18F-FDG 標識赤血球 PET イメージングの最適化と局所血液量測定法の確立

平成 28 年度で得られた良質な 18F-FDG 標識赤血球を用いて、まずその赤血球を投与することで適切な血液 PET 画像が得られているかを確認する。赤血球が生理的ではなく変性が生じていると脾臓で trap され脾臓の集積が経時的に増加する可能性がある。また、18F 体が赤血球から漏出すると尿に排泄される可能性があり、膀胱の集積は 18F-FDG 標識赤血球の in vivo 安定性を評価するうえで有用な指標となると予想された。

18F-FDG 標識赤血球の in vivo 安定性が判明した後、得られた画像から特定組織の 18F-FDG 標識赤血球量を放射能量として間接的に測定し、健常な生体内の各組織血液量を求める。この時、動物用 CT を用いて各臓器や血管の位置の同定を行い、解剖学的情報を加味したより精度の高い解析を行う。これらを複数の個体で計測し、各組織血液量の個体差や種差などを評価した。

(3) 動物の疾患モデルを用いた医療への応用化の検討

動物の様々な病態モデルにおける血液分布や血液量を測定し、【２】で得られた健常な動物における血液分布や各組織血液量と比較した。これにより、疾患の病態解明や治療効果判定などに役立つ可能性があるかを検討する。ラットの後肢うっ血モデルでは一過性の血液量増加が明瞭に認められ、ダイナミックな血液量の変動を PET 画像で容易に捉えることができると考えられた。この結果を踏まえると、うっ血性臓器障害や局所循環血液量が減る可能性のある臓器虚

血性疾患などを 18F-FDG 標識赤血球 PET で評価できる可能性があると考えられるため、実際に動物の疾患モデルを作成してその可能性を検討した。また、ヒトの臨床応用を目指した実験計画の立案を行った。

４．研究成果

まず最適な標識条件の検討では、標識前に glucose を除去した状態で 37℃培養することで、取り込み率が上昇することが分かった。これは赤血球内の glucose 濃度が下がり、赤血球内への FDG の取り込みが促進されたものと思われる。また、標識時間は 30 分、標識後は冷却することで標識率を保てることが分かった。

PET 画像では、心臓の内腔や大動脈などの血管内に強い集積があり、血液プールのイメージングに成功していると考えられた。

疾患モデルとして、消化管出血モデルを作成し、実施したところ、明瞭な腹腔内出血を可視化することができた。また、ラットの左下肢近位を駆血して撮影したところ、駆血部が赤紫色にうっ血した時点で PET を撮像すると、右の健側後肢に比して左後肢全体の集積が亢進していた。後に駆血を解除すると、肉眼的な変色が解除されたのとともに PET 画像における集積亢進も改善した。

最終年度には、ヒト赤血球で臨床応用するために必要なデータや設備を検討した。その結果、ヒト赤血球で実施するためには厳密な基準を満たしたクリーンな環境で取り扱い標識する必要があり、細胞プロセッシング部門との連携も必要と分かった。今後どのように連携して行うか、臨床研究法に準じた研究を開始するかを検討する。

成果としては、2017 年に FDG 標識赤血球 PET の結果がヨーロッパの核医学専門誌に論文が掲載された。この論文は既に 6 本の論文に引用されており、その科学的重要性があることが示された。

2018 年には FDG 標識赤血球を応用させた、熱変性 FDG 標識赤血球の PET による脾臓組織の検出の内容の論文がアメリカの核医学専門誌に掲載された。PET で熱変性させた赤血球を in vivo で脾臓組織に集積する報告を行ったのは本報告が世界初めてである。これにより膵内副脾由来の epidermal cyst の微小な脾臓組織を検出し、膵内副脾由来の epidermal cyst の確定診断を行ったり、特発性血小板減少症の治療目的の脾摘時に再発の原因となる副脾を術前に明瞭に描出させ完全切除を行うことでその再発を抑制したりすることが可能となる。また、splenosis という腹腔内に散布された脾臓組織が悪性腫瘍の播種と紛らわしく診断上、悩ましい所見となりうるが、熱変性 FDG 標識赤血球 PET はそれを splenosis と確定診断できる。

第 44 回日本微小循環学会で本研究の成果発表を行い、他分野の研究者からご意見を頂き、さらに応用法などの理解が深まった。

以上のように、本課題については十分な研究成果が出せたと考える。

５．主な発表論文等

〔雑誌論文〕（計　2　件）

1. Matsusaka Yohji、Nakahara Tadaki、Takahashi Kazuhiro、Iwabuchi Yu、Ogata Yuji、Nishime Chiyoko、Kajimura Mayumi、Jinzaki Masahiro、Preclinical evaluation of heat-denatured [18 F]FDG-labeled red blood cells for detecting splenic tissues with PET in rats、Nuclear Medicine and Biology、査読有り、56、2018 年、26-30、https://doi.org/10.1016/j.nucmedbio.2017.09.002

2. Matsusaka Yohji、Nakahara Tadaki、Takahashi Kazuhiro、Iwabuchi Yu、Nishime Chiyoko、Kajimura Mayumi、Jinzaki Masahiro、18F-FDG-labeled red blood cell PET for blood-pool imaging: preclinical evaluation in rats、EJNMMI Research、査読有り、7、2018 年、オープンアクセスのためページなし、https://doi.org/10.1186/s13550-017-0266-3

〔学会発表〕（計　2　件）

1. MATSUSAKA Y., NAKAHARA T., KAJIMURA M., JINZAKI M.、18F-FDG-labeled red blood cell PET for blood pool imaging and its application、第 44 回日本微小循環学会（招待講演）、2019 年

2. 松坂 陽至，中原 理紀，高橋 和弘，岩渕 雄，西銘 千代子，梶村 眞弓，陣崎 雅弘.、18F‐FDG 標識赤血球を用いた PET による blood pool imaging の前臨床研究、第 57 回日本核医学会総会、2018 年

６．研究組織

(1)研究分担者
研究分担者氏名：高橋　和弘
ローマ字氏名：TAKAHASHI, Kazuhiro
所属研究機関名：秋田県立循環器・脳脊髄センター（研究所）
部局名：その他部局等
職名：研究員
研究者番号（8 桁）：20370257

研究分担者氏名：陣崎　雅弘
ローマ字氏名：JINZAKI, Masahiro
所属研究機関名：慶應義塾大学
部局名：医学部（信濃町）
職名：教授
研究者番号（8 桁）：80216259

研究分担者氏名：松坂　陽至
ローマ字氏名：MATSUSAKA, Yohji
所属研究機関名：慶應義塾大学
部局名：医学部（信濃町）
職名：助教
研究者番号（8 桁）：00594483

(2)研究協力者
なし

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。