

71. 酸化ストレス・イメージングの認知症診断への応用

岡沢 秀彦

福井大学 高エネルギー医学研究センター

Key words : 酸化ストレス, 神経変性, 認知症, アミロイドイメージング, PET/MRI

緒 言

近年、病理組織学的根拠に基づく分子イメージング法が展開され、早期診断への応用が実現しつつある。脳分子イメージングの手法も広く臨床応用され、アルツハイマー病における凝集アミロイド β ($A\beta$) タンパク画像等、生体で病理所見を非侵襲的に画像化し、早期診断に利用する画像法が一般化してきている。本邦においても既に3種類の $A\beta$ イメージング PET 製剤が薬事承認され、今後の臨床応用が期待されている。同様の技術はタウタンパクやレビー小体 (α -シヌクレイン) など、神経変性の原因とされる様々な脳内変性物質の描出に応用され、近い将来には各種疾患予備軍の早期診断が実現する可能性がある。これらの変性凝集タンパクとミトコンドリア変性は密接に関わっており、ミトコンドリアの変性による酸化ストレスは、多くの脳神経変性を増悪させる原因の一つと考えられている。従って、酸化ストレス状態を引き起こすミトコンドリア機能異常を生体で画像化する意義は大きく、病態のモニタリングや治療効果判定における役割が期待されている。我々は、神経変性部位の酸化ストレス状態を画像化するため、ポジトロン CT (PET) 用放射性薬剤である [^{62}Cu]diacetyl-bis(N4-methylthiosemicarbazone) ([^{62}Cu]ATSM) を、パーキンソン病および筋萎縮性側索硬化症 (ALS) 患者の生体脳イメージングに応用し、脳内酸化ストレス領域を描出するとともに、[^{62}Cu]ATSM 集積強度が症状の重症度と相関することを明らかにした¹⁻³⁾。本研究はこの酸化ストレス・イメージングを認知症診断に応用し、病態解明及び治療への展開を図るものである。様々な病因から実際の神経変性に至るまでの過程を酸化ストレス・イメージングにより非侵襲的に描出できれば、病期診断、経過観察、治療効果判定等に大きく貢献する可能性がある。

方 法

1. PET 薬剤の製造

本研究では、アミロイドイメージング用に [^{11}C]Pittsburgh Compound B (PiB)、酸化ストレス・イメージング用に [^{64}Cu]ATSM を PET 薬剤として製造・供給した。前者は既に合成法が確立されており、従来法による合成・供給が可能であった。一方 Cu-ATSM については、これまで本学ではジェネレーター核種の ^{62}Cu を $^{62}\text{Zn}/^{62}\text{Cu}$ ジェネレーターから溶出し、ATSM に標識することで臨床応用していたが^{1,2,4)}、現在 $^{62}\text{Zn}/^{62}\text{Cu}$ ジェネレーターが使用できないため、 ^{64}Ni を金属ターゲットとして ^{64}Cu (半減期 12.7 時間) をサイクロトロンで製造し、ATSM の標識に用いることとした。これまでの動物実験による基礎検討で、[^{62}Cu]ATSM と同じ体内動態であることは確認しているが、ヒトへの応用は国内でもまだ少数であるため、不純物の確認や毒性試験等を改めて行う必要があった。精製後の ^{64}Cu 溶液内に ^{64}Ni 等の不純物が基準値以下であることを確認した後、放射能が十分低下した [^{64}Cu]ATSM をマウスへ投与し、2 週間の経過観察による毒性試験を行った。これらの薬剤合成試験および毒性試験の結果等を合わせて倫理審査委員会に臨床研究計画を申請し、承認された。

2. 臨床研究

1) 対象および PET/MRI 検査

軽度認知障害 (MCI) あるいは初期認知症と診断された患者 20 名 (平均年齢 69 ± 13 才、男性 12 名、女性 8 名) および健常ボランティア 6 名 (平均年齢 58 ± 6 才、男性 5 名、女性 1 名) に対し、[^{11}C]PiB PET/MRI を行った。

[⁶⁴Cu]ATSM は前述の様に、倫理審査委員会承認まで約 9 ヶ月を要したため、ヒトを対象とした PET/MRI 検査は 3 名のみで施行した。全ての被験者に対し、検査前に Mini-mental State Examination (MMSE)、長谷川式簡易知能評価スケール (HDS-R) による認知機能の評価を行い、書面による PET/MRI 検査の同意を得た。

PET/MRI 検査は、GE 社製 Signa PET/MR を用いて行った。装置の性能は、PET 検出器部; FOV 60 cm (xy 方向、頭部撮像時は 25.6 cm) × 25 cm (z 方向)、89 スライス、スライス厚 2.45 mm、解像度 4.2 mm FWHM の基本性能を備え、list-mode での 3D 収集を行った。MRI は磁場強度 3 テスラ (3T)、FOV 24 cm、頭部用 8-channel コイルでの撮像を行った。

2) [¹¹C]PiB PET/MRI

被験者の肘部正中静脈に静脈ラインを確保し、ベッド上安静仰臥位の状態でボア内に入れ、[¹¹C]PiB 約 740 MBq の静脈投与と同時に PET 収集を開始した。70 分間の経時的 PET 撮像を基本とし、制止困難な場合は、継続困難と判断した段階で一度 PET 撮像を中止し、投与後 50 分目から 20 分間の撮像を再開した。検査中採血は行わなかった。PET 画像収集中に、MRI 撮像を同時に開始し、減弱補正用 MRAC の他、3D-T1WI、ASL、FLAIR、T2*、DWI、TOF-MRA、SWAN、resting-state fMRI、DTI 等の画像を可能な限り連続して撮像した。

3) [⁶⁴Cu]ATSM PET/MRI

はじめの検査前準備は 2) と同様である。[⁶⁴Cu]ATSM 約 300 MBq の静脈投与と同時に 30 分間の経時的 PET 撮像を開始した。撮像時間が 30 分間と時間が限られているため、同時収集の MRI は MRAC、3D-T1WI、ASL 等、2) と異なる条件下で変化を来す可能性のあるシーケンスのみを選択して行った。2) と同様、検査中採血は行わなかった。

4) PET 画像再構成および定量指標

[¹¹C]PiB PET/MRI: 70 分間の経時的 PiB 画像データは、5 sec × 12、10 sec × 6、20 sec × 3、30 sec × 4、60 sec × 5、5 min × 4、10 min × 4 のフレームデータに変換した。画像再構成は OSEM 法で、FXS (point spread function) あり、減弱補正は CT シングルアトラスベースの頭部用補正法を用いた。¹¹C の減衰を撮像開始点に補正し、PiB の時間放射能曲線が得られるダイナミックデータとした。静止画像は 50~70 分時の平均画像を標準化 (SUV 変換) し、半定量値として SUV 画像あるいは小脳を標準値とする SUVR 画像にて評価した。一方、ダイナミックデータは小脳を参照領域とする binding potential (BP_{ND}) 画像の計算に用いた。

[⁶⁴Cu]ATSM PET/MRI: これまで [⁶²Cu]ATSM PET 画像では、投与後 10-20 分間の平均画像を SUV 変換して酸化ストレスの指標としてきたが、⁶⁴Cu は半減期が長いと、さらに遅い 20-30 分目の画像も安定した指標として用いることができる可能性があり、2 通りの画像を作成して比較した。病態の判定は [¹¹C]PiB と同様、SUV 画像もしくは SUVR 画像を用いた。また、ダイナミックデータから得られる時間放射能曲線で経時の変化を解析することにより、最適な撮像時間も検討した。

結 果

患者 20 名中、[¹¹C]PiB 集積が陽性であった患者は 8 名で、12 名が陰性、うち 1 名は境界域 (+/-) 程度の集積と判定された。陽性患者 8 名のうち 1 名で [⁶⁴Cu]ATSM PET/MRI が実施可能であった。一方、健常ボランティアは 6 名のうち、2 名に [⁶⁴Cu]ATSM PET/MRI を行うことができた。

図 1 は [¹¹C]PiB PET の代表的な時間放射能曲線 (TAC) である。内頸動脈などの脳主幹動脈に関心領域 (ROI) を設定すると動脈入力関数 (図 1 赤丸) が得られ、大脳皮質 (青四角) や大脳白質 (黄三角) との動態の違いが明らかであった。この様に画像から動脈入力関数 (arterial input function) を推定する方法を IDIF (image derived input function) 法という。また、健常者では皮質より白質の生理的集積が高くなるが、グラフでも投与 30 分後以降のカウントが白質で最も高くなっており、白質集積の高さと非可逆的集積の動態を確認した。

PET 撮像開始後 3 分間のダイナミックデータを用いることで、IDIF と脳皮質カウント (大脳皮質 TAC) から、脳血流画像 (CBF) が計算できた (図 2 左)。さらに IDIF もしくは小脳皮質を参照領域として用いる計算法により、[¹¹C]PiB と脳内アミロイド β (Aβ) 凝集タンパクの結合密度を表す BP_{ND} 画像が作成できた。現在標準的に用いられている SUV もしくは SUVR 画像と比較すると、これらの画像指標の違いは明瞭で、コントラストは BP_{ND} 定量画像の

方がクリアであり、健常者では皮質への $A\beta$ 沈着がほとんどないことが明らかであった（図2）。また、CBF とその他のパラメータ画像の違いも一目瞭然である。

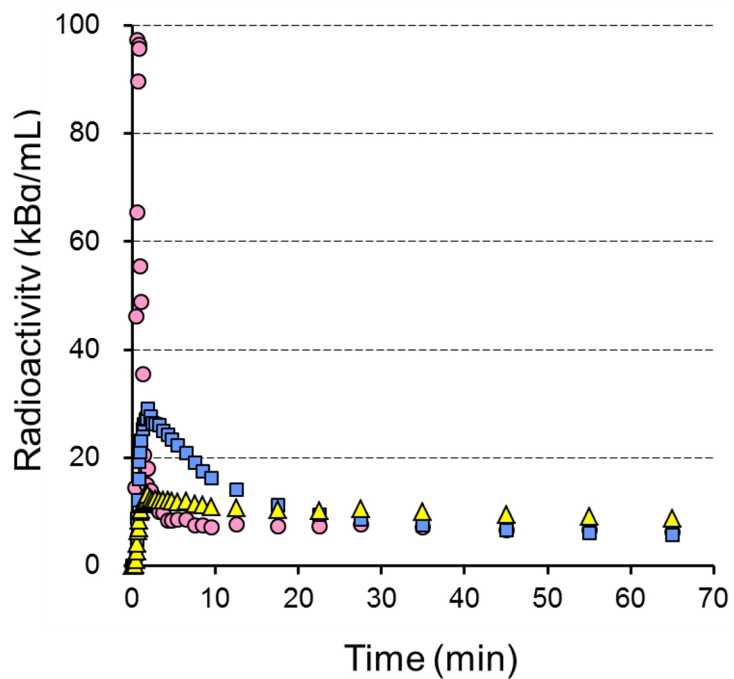


図1. PET ダイナミックデータから得られる時間放射能曲線（TAC）
赤丸：動脈 TAC、青四角：大脳皮質 TAC、黄色三角：白質 TAC。

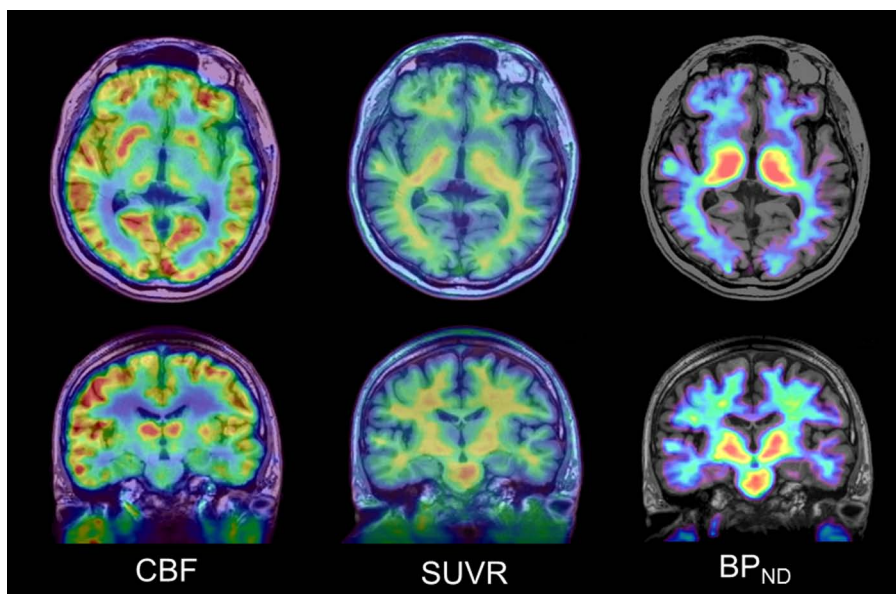


図2. 健常ボランティアの $[^{11}C]PiB$ PET/MRI 検査により得られたパラメータイメージと MRI との融合画像
脳血流（CBF 左）、小脳による標準化を行った SUVR（中）、 $A\beta$ 凝集タンパク密度（ BP_{ND} 右）。

アルツハイマー型認知症患者とそれ以外の認知症患者の代表的な ^{11}C PiB PET SUVR 画像を図 3 に示す。認知機能低下の程度によらず、アルツハイマー型認知症では大脳皮質への ^{11}C PiB 集積が明瞭であるのに対し、前頭側頭型認知症では健常者と同様白質の非特異的集積に局限していた。

さらに、 ^{64}Cu ATSM PET/MRI による酸化ストレス・イメージングをアルツハイマー型認知症患者と健常被験者で比較すると、 ^{11}C PiB 集積の亢進した部位ではあまり酸化ストレスの差異が認められないものの、海馬の集積に比較的に明瞭な違いがあることが画像上で描出された (図 4)。また、経時的に収集したダイナミックデータの解析では、 ^{64}Cu ATSM 投与 10-20 分後の平均画像が投与 20~30 分後の平均画像とほぼ同じ局所分布と SUV 値を示すことが明らかとなった。

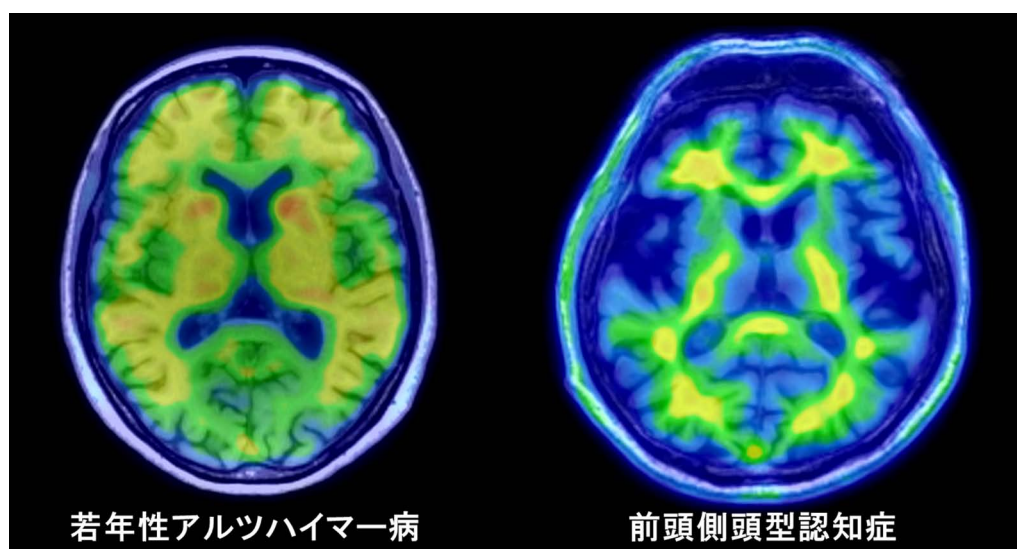


図 3. アルツハイマー型認知症と前頭側頭型認知症 (右) の ^{11}C PiB PET/MRI 融合画像
左は 51 歳女性で、認知機能テストは軽度認知障害 (MCI) 程度の機能低下であったが、前頭葉や側頭葉の皮質に ^{11}C PiB 集積を認め、若年性アルツハイマー病と診断された。右は 82 歳男性で、長谷川式スコア (HDR-S) が 9 点とかなり認知機能が低下していたが、 ^{11}C PiB 集積は健常者同様白質に局限していた。

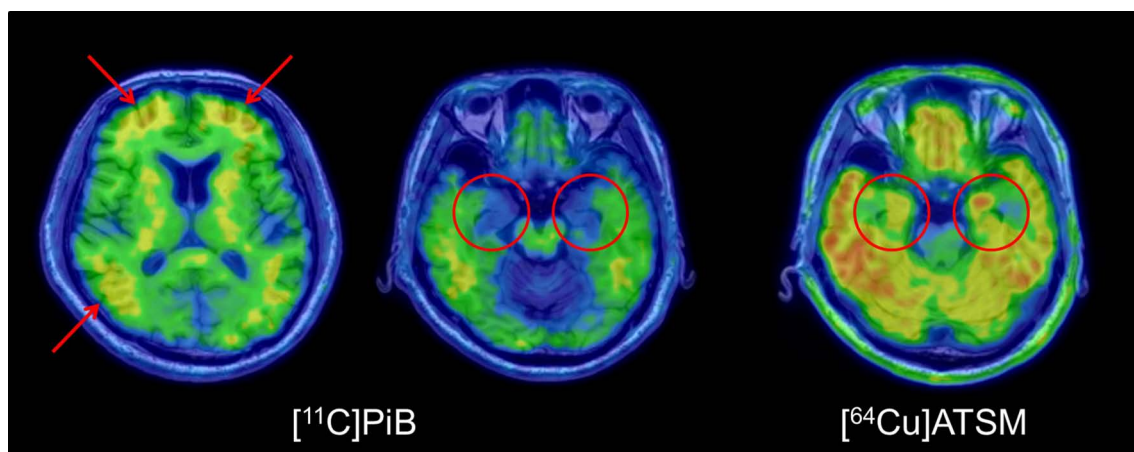


図 4. 早期アルツハイマー型認知症患者のアミロイド画像と酸化ストレス画像

早期アルツハイマー型認知症と診断された 61 歳男性 (MMSE 29/30) の $[^{11}\text{C}]\text{PiB}$ PET/MRI では、前頭葉皮質等への有意なアミロイド沈着を示したが (左: 矢印)、両側海馬には集積亢進を認めなかった (中: 円内)。一方、酸化ストレスを描出する $[^{64}\text{Cu}]\text{ATSM}$ は両側海馬に高い集積を認めた (右: 円内)。

考 察

今回の検討では、認知症患者 20 名と健常ボランティア 6 名の画像データを直接比較することで、アルツハイマー型認知症の特徴的な画像所見を描出することができた。これまでも既に数多くの論文で述べられているように、 $[^{11}\text{C}]\text{PiB}$ をはじめとするアミロイドイメージング剤は、アルツハイマー型認知症とその他の認知症性疾患の鑑別に大変有用である。さらに、酸化ストレス・イメージングを追加することで、症状の原因となるニューロンの変性を画像化できる可能性が示された。 $[^{64}\text{Cu}]\text{ATSM}$ PET/MRI を行うことができた症例数が少なく、同様の傾向が普遍的に認められるかは今後の課題である。

$[^{64}\text{Cu}]\text{ATSM}$ PET/MRI で経時的に収集したダイナミックデータの解析では、 $[^{64}\text{Cu}]\text{ATSM}$ 投与 10-20 分後の平均画像が投与 20-30 分後の平均画像とほぼ同じ局所分布と SUV 値を示すことが明らかとなり、これまで $[^{62}\text{Cu}]\text{ATSM}$ PET で解析に用いてきた酸化ストレス画像の妥当性を示すことができた。

今回は PET 画像の解析を主に行ったが、同時に収集した各種 MRI 機能画像の解析はまだ十分に行っておらず、resting-state fMRI や DTI 等を用いた安静時脳内ネットワーク (DMN) 解析と $[^{11}\text{C}]\text{PiB}$ 、 $[^{64}\text{Cu}]\text{ATSM}$ の集積を比較検討することで、脳神経変性疾患の病態や進行過程の解明に繋がることが期待される。また、 $A\beta$ 凝集を認める領域とミトコンドリア機能障害による酸化ストレスの領域が乖離する可能性が示されたことは、神経変性過程の解明や病理変化の時系列を明瞭化する上で重要であり、認知症治療のターゲットを検討する上で貴重な情報になると考えられる。

共同研究者

本研究の共同研究者は、福井大学医学部の井川正道、同高エネルギー医学研究センターの辻川哲也、森哲也、清野泰、牧野顕、福井県立大学の米田誠である。本研究を進めるにあたり、御支援いただきました上原記念生命科学財団に深謝いたします。

文 献

- 1) Ikawa M, Okazawa H, Kudo T, Kuriyama M, Fujibayashi Y, Yoneda M. Evaluation of striatal oxidative stress in patients with Parkinson's disease using $[^{62}\text{Cu}]\text{ATSM}$ PET. *Nucl Med Biol* 2011; 38: 945-951. doi: 10.1016/j.nucmedbio.2011.02.016
- 2) Ikawa M, Okazawa H, Tsujikawa T, Matsunaga A, Yamamura O, Mori T, Hamano T, Kiyono Y, Nakamoto Y, Yoneda M. Increased oxidative stress is related to disease severity in the ALS motor cortex: A PET study. *Neurology* 2015; 84(20): 2033-2039. doi: 10.1212/WNL.0000000000001588.

- 3) Okazawa H, Ikawa M, Tsujikawa T, Kiyono Y, Yoneda M. Brain imaging for oxidative stress in neurodegenerative disease. *Q J Nucl Med Mol Imaging* 2014; 58: 387-397.
- 4) Fujibayashi Y, Taniuchi H, Yonekura Y, Ohtani H, Konishi J, Yokoyama A. Copper-62-ATSM: a new hypoxia imaging agent with high membrane permeability and low redox potential. *J Nucl Med* 1997;38: 1155–1160. PMID: 9225812