

Beta Adrenergic Receptors in Dog Heart Characterised in vivo by ^{11}C -CGP 12117 and Positron Emission Tomography

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/8117

¹¹C-CGP 12177 を用いたイヌ心筋ベータアドレナリン受容体の in vivo 解析に関する研究

金沢大学医学部核医学講座 (主任: 久田欣一教授)

瀬戸 幹 人

(平成1年4月7日受付)

イヌ心筋におけるベータアドレナリン受容体の分布を, そのアンタゴニストである 4-(3-t-butylamino-2-hydroxypropoxy)-benzimidazol-2 (¹¹C)-one (¹¹C-CGP 12177, kd=0.2 nmol, in vitro) および positron emission tomography (PET) を用いて, in vivo において画像で示した. 高比放射能の ¹¹C-CGP 12177 (約500Ci/mmol) を犬に静注し, 心筋の体軸横断面スライスの PET イメージを得た. 心筋の ¹¹C-CGP 12177 濃度は静注後急速に増加し, 約30分間はほぼ一定値を保ち, その後穏やかに減少した. Saturation experiment を行ない, PET で測定された心臓の総リガンド濃度から非特異的結合分画を差引き, 特異的受容体結合リガンド濃度を求める modified hyper bole function 法を考案した. 正常犬心筋におけるベータアドレナリン受容体密度 (Bmax) は約 113pmol/cm³ と判明した. ¹¹C-CGP 12177 のベータアドレナリン受容体への結合が特異的であることを証明するために, displacement study および pre-saturation study 施行した. ¹¹C-CGP 12177 静注25分後に過剰量の非標識 CGP 12177 をボラス静注したところ, 心筋リガンド濃度は急速に低下し, また心拍数も急速に低下した. CGP 12177 の薬理作用 (心拍数の低下) とラジオリガンドの結合阻害は, displacement のために投与するアンタゴニストの増量につれて同調して増強した. Pre-saturation study においては, ¹¹C-CGP 12177 静注10分前に過剰量の非標識アンタゴニストを投与しベータアドレナリン受容体を前もって占拠したところ, ラジオリガンドの心筋/血液濃度比は control kinetic study のそれに比して有意に低下した. ¹¹C-CGP 12177 の生体心筋におけるノルアドレナリン結合部位への特異的結合性が, 犬を用いた基礎的 PET study で証明されたので, ¹¹C-CGP 12177 によるイメージングは in vivo おいて生理的条件下での受容体を評価するには理想的方法であると思われた.

Key words cardiac beta adrenergic receptor, beta blocker, ¹¹C-CGP 12177, positron emission tomography

近年種々の心・肺受容体のアンタゴニストにサイクロトロン核種である ¹¹C を標識した受容体リガンドおよび positron emission tomography (PET) を用いて, たとえば心筋ムスカリン様アセチルコリン受容体, ベンゾジアゼピン受容体, 肺セロトニン受容体等の存在を in vivo において画像化する試みが報告されている^{1)~9)}. 心筋の収縮力および心拍数を司るベータアドレナリン受容体もまた非常に重要であり, ヒト

の心疾患治療においてはベータアドレナリン受容体の概念に基づく薬剤 (ベータ遮断剤, ベータ刺激剤) が既に広く臨床に用いられてきている⁹⁾.

In vitro における受容体結合試験においては, ベータアドレナリン受容体アンタゴニストである ³H-CGP 12177, ³H-dihydroalprenolol (DHA), あるいは ¹²⁵I-iodopindolol を用いて, 種々の臓器ホモジェネートにおけるベータアドレナリン受容体が測定されてい

Abbreviations: CGP 12177, 4-(3-t-butylamino-2-hydroxypropoxy)-benzimidazol-2-one; DHA, dihydroalprenolol; NA, noradrenaline; PET, positron emission tomography; MQNB, methiodide quinuclidinyl benzylate

る⁷⁻²⁰。¹²⁵I-iodopindolol とガンマカメラを用いることによって、ベータアドレナリン受容体を in vivo において示すことも試みられた²¹。しかしながら pindolol は親脂溶性なものと 4-(3-t-butylamino-2-hydroxypropoxy)-benzimidazol-2-one (CGP 12177) に比し非特異的結合が高いことにより、¹²⁵I-iodopindolol の肺の集積が非常に高くシンチグラフィ像からは肺と心筋とを分離同定することは困難である。

DHA および pindolol の如き親脂溶性リガンドと比較すると、CGP 12177 には以下の利点がある。すなわち親和性が高く (Kd=0.2nmol) 非特異的結合が殆んどない点、また CGP 12177 は親水性リガンドでアゴニストと同様に受容体の関与なしには膜脂層を通過しないため (細胞内小胞へ移動した desensitized receptor とは結合しないため)、ベータアドレナリン受容体の desensitization が検出できる利点がある⁸⁻¹³。しかしながら、in vitro 受容体結合試験の問題点は、受容体のサブタイプへの親和性とそのアゴニストあるいはアンタゴニストの薬理効果との関係を示すことが困難である。さらには in vitro 受容体結合試験中の状況は、in vivo の生理的神経伝達物質支配下における受容体結合条件とは全く異なる。またベータアドレナリン受容体における noradrenaline (NA) 結合部位の結合能力は正常臓器とホモジェネートでは異なっている³。よって PET およびリガンドとしては ¹²⁵I-CGP 12177 を用いて、ベータアドレナリン受容体を非侵襲的に in vivo において画像として描画することは興味深いと思われる。

短半減期 (20.4分) のポジトロン放出核種である ¹¹C の標識法の開発は、放射性受容体リカンド合成に有用である。PET は体外計測によって心臓の局所血流、代謝、生化学を in vivo において定量できる画像診断法である^{22,23}。本法は動物においてまた究極的にはヒトの心臓疾患における局所の受容体密度と受容体親和性の変化を評価できる可能性をもたらした²⁴。本研究では、ベータアドレナリン受容体アンタゴニストである ¹²⁵I-CGP 12177 の受容体マッピング用リガンドとしての in vivo における特異的結合性を証明することを目的として、イヌ心筋を用いて基礎的 PET 試験を試みた。

材料および方法

I. ¹²⁵I-CGP 12177 の合成

¹²⁵I-CGP 12177 は Crouzel らの方法により合成した²⁰。医療用サイクロトロンにて ¹²C₂ として ¹²C が生産され、phosgene ¹²C-COCl₂ に変換した。¹²⁵I-CGP

12177 は前駆物質である 1-(3-t-butylamino-2-hydroxypropoxy)-2, 3-diamino benzene に ¹²C-phosgene を反応させることにより合成した。この ¹²⁵I-CGP 12177 の合成過程に約30分を要し、イヌへの投与時の特異放射能は 498±284Ci/mmol であった。

II. 動物の調整

14匹のビーグル犬 (10-20kg) を用いて61回の PET 検査を施行した。イヌは全例 PET 検査の2時間前にまずペントバルビタール (25mg/kg) で麻酔し、それ以後は pancronium sulfate (クラレー) 0.15mg/kg/hr で筋弛緩させるか、もしくはペントバルビタール持続投与 (0.25mg/kg/hr) にて持続麻酔した。イヌは挿管され ventilator を用いて室内空気 300ml/kg/min で換気した。クラレーの持続ポンピング、¹²⁵I-CGP 12177 や他の非標識アンタゴニストの注射、および血液採取のために、カテーテルを外頸静脈より挿入し、先端は右心房内に留置した。PET 検査中持続的に心電図をモニターした。

III. PET によるイヌ心臓における ¹²⁵I-CGP 12177 濃度の測定

49回の実験は単一スライスのみ得られる PET システム (ECAT2, ORTEC, Oak Ridge, TN) を用いて撮像した。2cm厚の心臓横断面のデータについて記録した。12回の実験は time-of-flight システム装着 PET (LETI, CEA, Grenoble, France) を用いて施行され、この PET システムでは7スライス同時に撮像され分解能は 12mm であった。各実験前には、イヌの胸部通過時の ¹²⁵I が放出する 511Kev の放射線減弱を補正するために、⁶⁸Ge リニグ線源トランスミッションスキャンを収集した。ECAT システムを用いた連続的データ収集には左室の中間のレベルを選択し、エミッションスキャンは3.8から32.6 mCi (141-1206MBq) の ¹²⁵I-CGP 12177 の右房への静注直後より開始された。60分から180分の間にわたり、同一レベルでの48回にわたる PET スキャンが繰り返し記録された。1回の PET スキャンにおける収集時間は、静注後より約20分間は1分収集、最終スキャン近くでは10分におよぶ収集を行ない、各スキャンで少なくとも500,000カウントが得られるようにした。ECAT システムにおける分解能は 17mm であった。

PET スキャン再構成像における左室の最高カウンターの80%以上の部位に関心領域を設定した。全スキャンの関心領域中の ¹²⁵I-CGP 12177 濃度を測定した。⁶⁸Ge の均一線源を含む円筒ファントムを用いて毎週キャリブレーションが行なわれた。PET 検査中の右心内血液を経時的に採取し、その ¹²⁵I の放射能をガン

マカウンターを用いて測定した。 ^{68}Ge の標準溶液を含むファントムで実験的に求められた calibration factor を用いて、測定された心臓の ^{14}C -CGP 12177 濃度は、注射量に対する心筋1グラム当たりの百分率で表わすか、もしくは ^{14}C -CGP 12177 の投与量を乗じて pmol/g で表わした。

IV. ^{14}C -CGP 12177 特異的結合性を証明するための PET 検査法

1. Control kinetic study

放射性リガンド静注直後より60-180分の間 PET スキャンにおける同一スライス的心臓内関心領域の ^{14}C -CGP 12177 濃度を経時的に記録、血中放射性リガンド濃度の経時変化と合わせて評価した。本試験における特異的受容体結合を裏付ける所見としては、放射性リガンド静注後の心臓への取込みが非常に早く、その濃度が少なくとも30分間以上の長時間一定して留まることであり、この所見はそのリガンドの高親和性(Kdの低値)を示している。

2. displacement study

9例の実験において ^{14}C -CGP 12177 静注25分後に、種々の量の非標識 C-CGP 12177 を急速静注し、放射性リガンドのベータアドレナリン受容体特異的結合部位への結合が競合的阻害を受けるか否かを評価した。本試験において、非標識アンタゴニスト投与にて心筋 ^{14}C -CGP 12177 濃度低下(既ち displacement)を認め、またその非標識アンタゴニスト投与量と displacement の大きさの程度とに相関があれば、 ^{14}C -CGP 12177 特異的受容結合の裏付けとなる。

3. pre-saturation study

^{14}C -CGP 12177 静注10分前に、2例において非標識 CGP 30nmol/kg、2例において propranolol 2000nmol/kg を投与し、過剰量の種々のベータ遮断剤により受容体結合部位をあらかじめ占拠させておき、放射性リガンド静注後の心臓内濃度を control kinetic study のそれと比較した。本試験においては、control kinetic study に比して心臓内放射性リガンド濃度が十分低値に抑制されるならば、特異的受容体結合の裏付けとなる。

^{14}C -CGP 12177 受容体結合の定量的解析法としては、Patlakの解析法を応用した²⁵⁾²⁶⁾。 ^{14}C -CGP 12177 の血中濃度を複指数関数にフィットし $[C(t) = Ae^{-\alpha t} + Be^{-\beta t}]$ 、血中放射性リガンド濃度の時間Tまでの積分値を時間Tでの血中濃度で除した時間の示標である normalized integral $[\theta = \int_0^T C(t)dt/C(T)]$ を求めた。次いで心筋と血中との放射性リガンド濃度比 (volume of distribution) を normalized integral (θ) の関数で

表わすと、 $M(\theta)/C(\theta) = P_1(1 - e^{-P_2\theta}) + P_3\theta$ となる [M(θ) および C(θ) は時間 (θ) における心筋および血中 ^{14}C -CGP 12177 濃度]。上式カーブ後半部の直線部位の傾きである P_3 を各群間で多重比較をおこなった。

4. saturation study

投与する ^{14}C -CGP 12177 総濃度を各実験にて漸増減させ種々量を投与し、各平衡状態における受容体との結合リガンド濃度を測定することにより、犬心筋の受容体密度 (Bmax) および放射性リガンドの親和性の指標である平衡定数 (Kd) を測定した。

V. 統計学的検定法

得られた成績はすべて平均値±標準偏差で示した。多群間の平均値の差の検定は、一元分散分析法のち Scheffé の多重比較で行い、 $p < 0.05$ を有意とした。

成 績

I. PET イメージによる心筋 ^{14}C -CGP 12177 の分布

^{14}C CGP 12177 (6.2mCi, 913Ci/mmol, 0.6nmol/kg) 静注30秒後の PET イメージでは、放射性リガンドの放射能は心腔に分布しているが(図1, A), 5分後には心筋は明瞭に抽出され、右室および肺は抽出されていない(図1, B)。 ^{14}C -CGP 12177 静注24分後 PET イメージのパターンは、5分後像と同様に変化を認めない(図1, C)。放射性リガンド静注25分後に過剰量の非標識 CGP 12177 (25nmol/kg) を急速静注したところ、その30分後に得られた PET スキャンでは、特に前壁中隔付近の放射能が低下しており、同一ベータアドレナリン受容体結合部位を求めて競合する非標識 C-CGP 12177 による ^{14}C -CGP 12177 の結合阻害を示している(図1, D)。

II. ^{14}C CGP 12177 の時間一放射性曲線のパターン

Control kinetic study においては、高比放射能 (913Ci/mmol, 0.6nmol/kg) の ^{14}C -CGP 12177 急速静注後数分内で、トレーサーの血中濃度は非常に低値となっている(図2, Δ …… Δ)。一方、 ^{14}C -CGP 12177 の心筋濃度は静注後約10分で血中濃度の数倍の一定高値となり、約30分間はほぼ一定値を保ち、後穏やかに低下している(図2, \circ …… \circ)。同じイヌを用いた別実験では、放射性リガンド静注25分後に過剰量の非標識 CGP (25nmol/kg) を静注したところ、同一結合部位を争っての放射性リガンドと非標識リガンドとの競合の結果、 ^{14}C -CGP 12177 の心筋濃度は急速に低下した(図2, \bullet …… \bullet)。非標識 CGP 12177 静注によって心拍数も同様に急速に低下し、CGP 12177 の薬理作用と放射性リガンドの結合とは同調して出現した(図

2, □……□).

Ⅲ. CGP 12177 の投与量とベータアドレナリン受容体と結合した CGP 12177 の量との関係 (saturation study)

Control kinetic study における ^{14}C -CGP 12177 の心筋濃度の時間一放射性曲線の15分から25分までの直線部位を外挿し, 各実験における心筋の CGP 12177 濃度 (pmol/g) を求め, 投与された様々な量の CGP 12177 量に対する function でプロットした (図 3). CGP 12177 静注量が 10nmol/kg 以下の場合には, 心筋

の CGP 12177 濃度はその投与量に比例した (図 3, A, $y=4.04 \times 0.52$, $r=0.966$). CGP 12177 投与量が 10nmol/kg を越えると, リガンドの投与量を增量させるにつれて心筋濃度の増加は次第に緩やかとなったが, 心筋濃度のプラトーは得られず増加し続けた (図 3 B). 筆者は血中リガンド濃度および CGP 12177 の非特異的受容体結合に相当する分として $p \times q_0$ の項を hyperbole function に追加することにより, 以下の式の如く PET によって測定された心臓におけるリガンド総濃度から特異的受容体結合のみを区別する新法

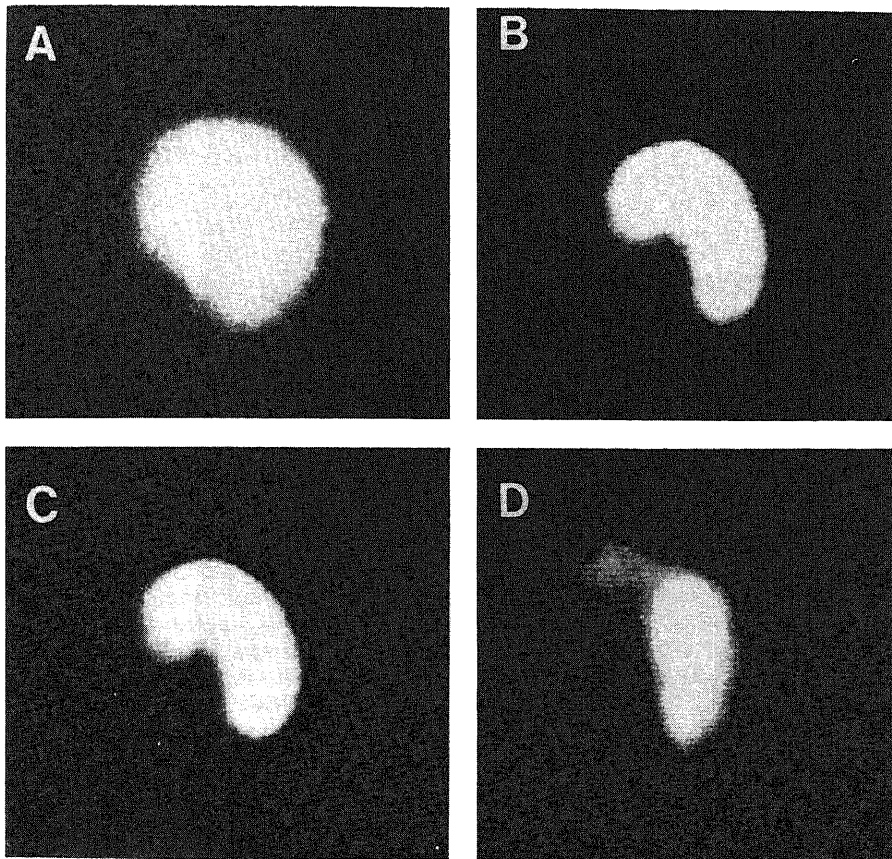


Fig. 1. PET images of a dog chest after intravenous injection of ^{14}C -CGP 12177. A, PET scan obtained 1min after injection of ^{14}C -CGP 12177 (6.1mCi, $^{367}\text{Ci}/\text{mmol}$) shows a high activity or the blood pool in the cavity of the heart. B, The same PET section 5min after radioligand injection shows a high accumulation of activity in the myocardium. The lungs are not visualized. C, 24min after injection the shape of the PET scan and the radioactivity of the myocardium do not change compared with panel B. D, 25min after radioligand injection unlabeled CGP 12177 (25nmol/kg) was injected rapidly. PET scan obtained 30min after injection of unlabeled CGP 12177 shows a decreased radioactivity in the heart, indicating a binding inhibition of radioligand by unlabeled ligand, which competes for the same binding sites.

を考案した。 $C = B_{max} \times q_0 / (K_d + q_0) + p \times q_0$, ここで C は PET にて検出された心臓における CGP 総濃度, B_{max} は犬心筋のベータアドレナリン受容体密度, K_d は ^{14}C -CGP 12177 の in vivo における平衡定数, q_0 は静注投与されたりガンド量, および p は血中 CGP 12177 濃度と非特異的受容体結合に相当する分画が投与された CGP 量によって比例増加する傾きである。この modified hyperbole function を用いたコンピュータフィッティングによって、心筋のリガンド総濃度のカーブ (T) から特異的受容体結合以外の成

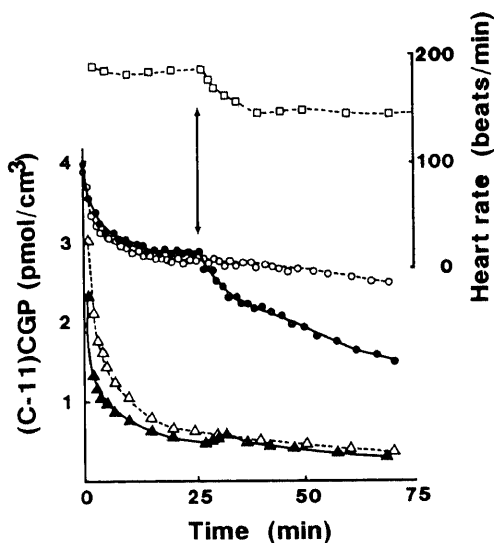


Fig. 2. ^{14}C -CGP 12177 radioactivity-vs.-time curves. Concentrations are expressed as pmol/cm³ of tissue. After bolus injection of 6.2mCi of ^{14}C -CGP 12177 at a high specific activity (913Ci/mmol) in a control study, the tracer is rapidly cleared from the blood (Δ). By contrast, the activity in the heart is very high and reaches a plateau in 10-15min. In the control curve, the radioactivity concentration remains nearly constant for about 30min, before decreasing slowly (\circ). In another subject (\bullet), a similar dose of ^{14}C -CGP 12177 was intravenously injected, but 25min later (arrow) an additional intravenous injection of unlabeled CGP 12177 (25nmol/kg) was performed. The injection of competitive inhibitor results in a binding inhibition of ^{14}C -CGP 12177 for its binding sites. The injection of unlabeled CGP 12177 leads to a rapid fall in heart rate synchronously (\square). Just after the injection of unlabeled CGP 12177 at 25min, very small increase in the blood concentration of the tracer was observed (\blacktriangle).

分 (F) を差引いた結果、犬心筋における CGP 12177 の特異的受容体結合部位密度 (B_{max}) は 113pmol/cm³と求められた (図 3, B)。

IV. 非標識 CGP 12177 による displacement study

^{14}C -CGP 12177 静注25分後に投与された非標識 CGP 12177 による displacement の大きさの程度は、非標識 CGP 12177 注射30分後の ^{14}C -CGP 12177 の心筋濃

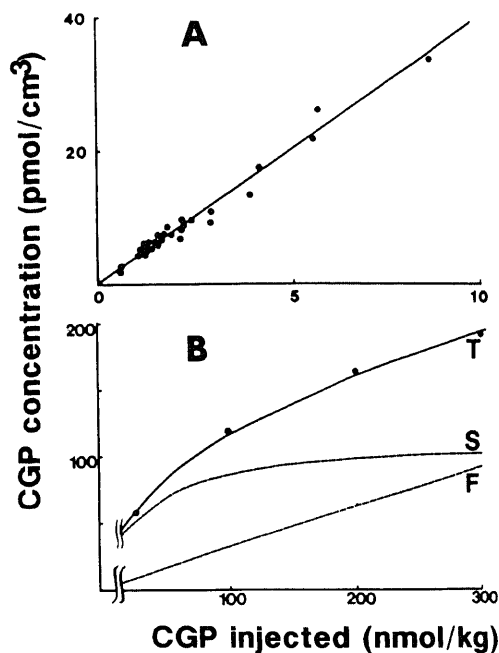


Fig. 3. ^{14}C -CGP 12177 concentration in the heart (pmol/cm³ of myocardium) vs. amount of CGP 12177 injected (nmol/kg body weight). The concentration values measured in 34 separate experiments are plotted against the amount of CGP 12177 injected as a bolus in the right atrium. The first part of the curve is enlarged (upper). The cardiac concentration of CGP 12177 is proportional to the amount injected for doses below 10nmol/kg body weight ($y = 4.04 \times 0.52$; $n = 30$; $r = 0.966$). The slope of the regression line (10^{-3}) is equal to the ratio of myocardial blood flow to cardiac out put. Above 10nmol/kg body weight, total ligand concentration in the heart (T) increased nonlinearly with the amount of ligand injected. Subtracting the fraction corresponded to circulating CGP 12177 and non-specific binding (F) from the total ligand concentration in the heart measured by PET, the curve of specific binding of CGP 12177 (S) was obtained. Beta adrenergic receptor density in the dog heart (B_{max}) was found to be 113pmol/cm³.

度と control kinetic study における同時間 (即ち ^{14}C -CGP 12177 静注55分後) の心筋濃度との差を, control kinetic study の心筋濃度に対する比 (%) で表した (表1). Displacement study のために投与された非標識 CGP 12177 の量が 4nmol/kg 以下の場合には, それぞれが増量するにつれて displacement の大きさの割合 (図4 ●……●) と CGP 12177 による薬理作用 (心拍数の低下 (図4 □……□)) とは同調して高くなった. 非標識 CGP 12177 投与量が 25nmol/kg 以上では, 投与量をそれ以上増量させても ^{14}C -CGP 12177 の displacement の割合および CGP 12177 の薬理作用ともに増加せずプラトーを示した (図4). 麻酔された犬では非標識 CGP 12177 投与後の心拍数低下は極めて小さいか, 逆に心拍数の増加を認めた (表1).

V. Pre-saturation study におけるベータアドレナリン受容体の定量的解析

非標識 CGP 12177, pindolol, propranolol による pre-saturation study, および筋弛緩群コントロール, 麻酔群コントロールにおける ^{14}C -CGP 12177 注射時の心拍数および受容体結合の指標である P_0 値を表2に示した. 麻酔群コントロールの心拍数は筋弛緩群コントロールに比して有意に低く ($p < 0.05$), 即ち冠血流量が少ないにもかかわらず, ^{14}C -CGP 12177 のベータアドレナリン受容体結合を示す volume of distribution のカーブ (●……●) は筋弛緩群コントロールのカーブと同じパターンを示し (図5), その直線部分の傾き

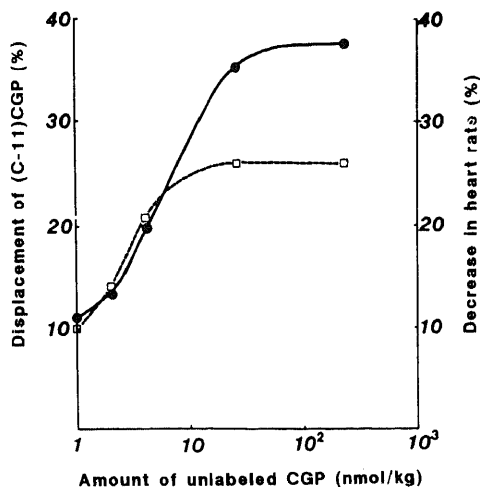


Fig. 4. The percentage of ^{14}C -CGP 12177 displacement (●) and of the decrease in heart rate(□) (%) vs amount of unlabeled CGP 12177 injected for displacement study (nmol/kg). Percentage of displacement was calculated as the ratio of the myocardial radioactivity 30min after unlabeled CGP 12177 injection and that of the control study at the corresponding time. Both the percentage of displacement and decrease in heart rate are synchronous with increasing amount of unlabeled CGP 12177 injected.

Table 1. Binding inhibition of ^{14}C -CGP 12177 by unlabeled CGP 12177

Case	Amount of unlabeled CGP 12177 injected for displacement (nmol/kg)	Heart rate before and after unlabeled CGP 12177 injection (beats/min)		Changes in heart rate after unlabeled CGP 12177 injection (%)	Binding inhibition 30 min after unlabeled CGP 12177 injection (%)
		before	after		
*CGP42	1.0	195	175	-10.3	11.0
*CGP41	2.0	150	130	-13.3	13.0
*CGP24	4.0	195	155	-20.5	20.2
*CGP21	25.0	190	140	-26.3	34.6
*CGP09	230.0	195	145	-25.6	36.0
#CGP45	4.0	160	150	- 6.3	18.7
#CGP46	25.0	170	165	- 2.9	31.2
#CGP17	77.0	160	230	+43.8	29.5
#CGP08	300.0	130	160	+23.0	32.9

*, curarized ; #, anesthetized.

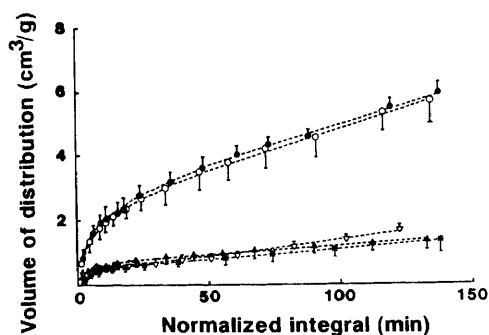


Fig. 5. Volume of distribution (tissue/blood concentration ratio) of ^{14}C -CGP 12177 in myocardium as a function of the normalized integral ($\int_0^T C(t)dt / C(T)$) in curarized control study (●), anesthetized control study (○), and pre-saturation study with unlabeled CGP 12177 (▽), pindolol (▲), and propranolol (*). In pre-saturation study, 30nmol/kg of unlabeled CGP 12177, 400nmol/kg of pindolol, or 2000nmol/kg of propranolol were injected 10min before ^{14}C -CGP 12177 injection. The slope of volume of distribution as a function of normalized integral in pre-saturation experiments with unlabeled CGP 12177, pindolol, and propranolol are 1.05 ± 0.03 , 0.55 ± 0.12 , and 0.73 ± 0.11 ($10^{-2}\text{cm}^3/\text{g} \cdot \text{min}$), respectively. All of these values are significantly low compared with that of control study (2.46 ± 0.13 , $p < 0.05$), while the slope of anesthetized control study was 2.67 ± 0.14 and the same value as curarized one in spite of significantly low heart rate.

P_3 は有意差を認めなかった(表2)。一方非標識 CGP 12177 (*……*), pindolol (▲……▲), および propranolol (▽……▽) による pre-saturation study における volume of distribution のカーブは、コントロールに比して低値をたどり(図5), その直線部分の傾き P_3 は有意に低かった(表2, $p < 0.05$)。

考 察

本研究では非侵襲的画像診断法である PET を用いて、犬心筋ベータアドレナリン受容体の分布を in vivo において示すことができた。本法においては生理的条件下で心筋受容体が画像として評価される利点がある。過去には他のベータアドレナリン受容体リガンドとして、 ^{14}C -propranolol あるいは ^{14}C -practolol と PET を用いて心筋ベータアドレナリン受容体描出が試みられた^{27,28}。親脂性のベータ1およびベータ2非選択的アンタゴニストである ^{14}C -propranolol は、静注後大部分が肺に取り込まれ、PET スキャンにて心筋は描出されなかった²⁷。 ^{14}C -practolol は ^{14}C -propranolol に比して約1000倍親水性のベータ1選択的アンタゴニストである。静注数分後の PET イメージでは心筋は良好に描出されなかったが、約 $500\text{mCi}/\mu\text{mol}$ の高特異放射能であっても心筋放射性リガンド濃度のプラトーは得られず減少し続けた。また大量の非標識 practolol 急速静注による displacement study では、放射性リガンドの displacement を認めなかった。この結果は practolol の低親和性(相対的 K_d の高

Table 2. Pre-saturation with unlabeled CGP 12177, Pindolol, and Propranolol

Case	Heart rate at the time of ^{14}C -CGP 12177 injection (beats/min) mean \pm SD	Slope of volume of distribution curve as a function of time ($10^{-2}\text{cm}^3/\text{g} \cdot \text{min}$) mean \pm SD
Curarized control (n=3)	196.7 \pm 8.5	2.46 \pm 0.13
Anesthetized control (n=5)	129.4 \pm 27.8*	2.67 \pm 0.14
Pre-saturation with CGP12177 (n=2)	142.5 \pm 7.5	1.05 \pm 0.03*
Pre-saturation with Pindolol (n=2)	152.5 \pm 7.5	0.55 \pm 0.12*
Pre-saturation with Propranolol (n=2)	113.0 \pm 15.0*	0.73 \pm 0.11*

* $p < 0.05$ vs curarized control by one way ANOVA followed by Scheffe's multiple comparison.

値, 110nmol in vitro) によるものである²⁸⁾。

CGP 12177 の長所は高度親和性のベータ 1 ベータ 2 非選択的ベータアドレナリン受容体アンタゴニストであり, in vitro 試験では親和性が高く, 非特異的結合が極めて少なく, 細胞内への侵入がほとんど無いと報告されている³⁰⁾³¹⁾。In vitro 受容体結合試験において, ³H-CGP 12177 の結合部位は特異的であり, Kd は 0.2nmol, およびラット心筋ホモジェネートにおける受容体密度 (Bmax) は 28fmol/g であった (Majiere, unpublished data)。また CGP 12177 は膜表面から細胞内の小胞内へ移動した不活化受容体 (desensitized receptor) とは結合しない¹⁰⁾²⁹⁾。よって心筋ベータアドレナリン受容体の有力なるアンタゴニストである CGP 12177 は, PET を用いた体外計測によって膜表面の機能的に活性化したベータアドレナリン受容体を, in vivo において評価するには理想的なリガンドであると言える³⁰⁾。従って本研究では, CGP 12177 に高比放射能になるよう ¹⁴C が標識され, イヌに静注し PET 検査を施行した。PET イメージ上イヌ心筋における NA 結合部位の分布が明瞭に描出された。

心筋受容体リガンド静注数分後では, その心臓における分布は局所の心筋血流を反映する³⁰⁾³¹⁾。PET により測定された心臓の CGP 12177 量は, その投与量が 10nmol/kg 以下では CGP 12177 静注量に比例した。図 3 における回帰直線の傾きは, 心拍出量 (ml/min/kg) に対する心筋血流量 (ml/min/cm²) の比を表している³⁰⁾³²⁾。30回の実験から求められたその値 4.04×10^{-3} は, Seroussi らのイヌを用いた直接法による測定値 8.5×10^{-3} よりやや少なめであった³³⁾。

CGP 12177 投与量が 10nmol/kg を越えると, その投与量を増量させるにつれて心筋濃度の増加は次第に緩やかとなったが, プラトーは得られず増加し続けた。これは CGP 12177 のベータアドレナリン受容体の特異的結合に相当する分画だけでなく, 血中リガンドに相当する分画と非特異的結合に相当する分画とを, PET では包含して検出しているためである。たとえば Syrota らの報告したムスカリン様アセチルコリン受容体リガンドである ¹⁴C-methiodide quinuclidinyl benzylate (¹⁴C-MQNB) の場合は, 静注後の放射性リガンドの血中濃度と非特異的結合は無視し得る程少なく, 従って saturation study におけるカーブは投与量の増量にてほぼプラトーが得られ, in vitro での hyperbole function をそのまま適応することができた³⁾。しかしながら ¹⁴C-MQNB の如き非特異的結合や血中リガンド濃度が無視し得る理想的リガンドは稀であり, 大部分のリガンドは非特異的結合を含有するの

が通常である。特異的受容体結合とその他の分画相当分とを PET によって区別することは困難であるといわれてきた⁴⁾。筆者は血中リガンド濃度と非特異的受容体結合とは CGP 12177 投与量に比例して増加する事実より, その相当分として P×qo の項を hyperbole function に追加した modified hyperbole function を考案した。これを用いたコンピュータフィッティングにより, 犬心筋におけるベータアドレナリン受容体密度 (Bmax) は 113pmol/cm² と求められた。³H-DHA を用いた in vitro における受容体結合試験では, 犬心筋の Bmax は 311pmol/g であったと報告されている³⁴⁾。

In vitro 受容体結合試験にて, 心臓におけるベータアドレナリン受容体密度および NA 含有量の局所的分布の違いが報告されている。ベータアドレナリン受容体密度は左室心尖部で最大であり, 心基部に近づくにつれて低下する³⁵⁾³⁶⁾。逆に NA 含有量の分布は心基部が最大で心尖部へ近づくにつれて低下する³⁷⁾。筆者の研究では PET スキャンにおいて左室中間レベルの 1 スライスのみを測定したため, in vivo 状態でのベータアドレナリン受容体の局所的分布の違いは調べられていない。将来において, より分解能の優れた PET システムを用いて, PET 検査に適用した心臓の大きさを持つヒトの心筋について検討されるであろうと期待される。

受容体リガンドの特異的受容体結合を示すための条件は以下の如くである¹⁾。

1. そのリガンドの高親和性 (Kd の低値) が示されること。即ち control kinetic study において静注後のリガンド取り込みが早く, その濃度が長時間一定して留まること。
2. 非標識リガンドやその他のアンタゴニスト投与により, 放射性リガンドとの間で同一受容体結合部位を争う競合的結合阻害 (displacement) が示されること。
3. Displacement study のために投与された非標識アンタゴニストの薬理作用は, その投与量および放射性リガンドの displacement の大きさの程度と相関を認めること。
4. 立体構造特異性が示されること。即ち薬理的に活性を持つ立体異性体のみによって, 放射性リガンドの結合阻害を受けること。CGP 12177 の立体異性体は合成されず, 立体構造特異性は検討されなかったが筆者の結果は 1, 2, 3 の条件を十分に満たした (図 2, 4)。さらに非標識 CGP 12177, pindolol, および propranolol を用いた pre-saturation study によっても, ¹⁴C-CGP 12177 の特異的受容体結合が示された (図

5). Pre-saturation study においては麻酔群および筋弛緩群 control study に比して、心筋および血液の放射性リガンドの濃度比 (volume of distribution) は25%以下に抑制され、図5におけるカーブ後半の直線部分の傾き P_3 は control study のその値に比して有意に低かった (表2)。この pre-saturation study における NA 結合部位への ^{14}C -CGP 12177 の有意な結合低下は、低心拍数 (すなわち低冠血流) によるものでなく、放射性リガンド静注前に投与された比標識アンタゴニストによる特異的結合部位の飽和によるものである。何故ならば、放射性リガンド静注時の心拍数は、麻酔群コントロールにおいては pre-saturation study と同様に、筋弛緩群コントロールの心拍数に比して有意に低いにもかかわらず、麻酔群コントロール ^{14}C -CGP 12177 の結合カーブ (volum of distribution) は筋弛緩群コントロールのそれと異ならず、 P_3 値にも有意差を認めないからであり、換言すれば ^{14}C -CGP 12177 のベータアドレナリン受容体結合は冠血流からのリガンド供給量に影響を受けないと言えるからである。

^{14}C -CGP 12177 アンタゴニストとしてだけでなく、わずかにアゴニストとして作用も持ち合わせている。displacement study におけるペントバルビタールで麻酔された2例において、非標識 CGP 12177 投与後心拍数の上昇を認めている (表1)。この場合には心拍数が相対的に低いため、NA のベータアドレナリン受容体結合が元々少なく、NA を displace することなしに投与された非標識 CGP 12177 が結合できたと考えられる。心拍数が相対的に高いクラレによる筋弛緩群の場合は、非標識 CGP 12177 の結合によって大量の NA を displace させる結果として、CGP 12177 のアンタゴニストとしての薬理効果 (心拍数の低下) を認めている (表1)。

^{14}C -CGP 12177 と PET を用いたベータアドレナリン受容体の in vivo 解析の将来における臨床応用の可能性は豊富である。In vitro 受容体結合試験では、生検によるヒトまたはイヌ心筋、あるいはラット屠殺後心筋ホモジェネートを用いて、種々の疾患の心臓病態におけるベータアドレナリン受容体変化が報告されている。たとえば長期に渡るアンタゴニストによる治療は down-regulation (ベータアドレナリン受容体密度低下) をきたし、逆にアンタゴニストによる長期治療では up-regulation を起こしベータ遮断剤による長期治療がヒト心筋のベータアドレナリン受容体密度を増加させた³⁸⁾。実験的に犬に急性心筋虚血を作ると、その間のベータアドレナリン受容体密度は増加する³⁹⁾。これは虚血によってベータアドレナリン受容体が、細胞

内小胞から膜表面へ再分布してくるためである⁴⁰⁾。陳旧性心筋梗塞モデルを作製した犬心筋においては、ベータアドレナリン受容体密度の増加は認めていない⁴¹⁾。甲状腺機能亢進症モデル作製ラットでは、コントロールに比してベータアドレナリン受容体数が有意に高かった⁴²⁾。ストレプトゾトシン誘発による糖尿病ラットにおいては、ベータアドレナリン受容体密度が低下していた。糖尿病性心筋症の進行においては、ベータアドレナリン受容体密度の変化と受容体の adnylate cyclase との coupling が重要な働きをしているらしい⁴³⁾。長期間にわたりラットに長距離走のトレーニングをさせた場合は、血中カテコールアミンは有意な高値を示したが、ベータアドレナリン受容体密度は有意に低下しており、スポーツ選手における徐脈および安静時の副交換神経優位の一因となっている⁴⁴⁾。

PET により交換および副交換神経の生理的支配下における生体心のベータアドレナリン受容体の in vivo 解析が可能となるので、本法はベータアドレナリン受容体の生理的に活性化した状態を評価するには理想的アプローチ法となりうるであろう。上述の如き種々の病態におけるベータアドレナリン受容体変化の in vitro 測定による報告を、将来はヒトの心臓疾患において in vivo で評価する場合に、 ^{14}C -CGP 12177 と PET を用いたベータアドレナリン受容体解析法は臨床的に有用であると期待される。

結 論

ベータアドレナリン受容体のアンタゴニストである ^{14}C -CGP 12177 の in vivo における心筋受容体への特異的結合性を証明することを目的として、イヌ心筋を用いた基礎的 PET study を行なったところ、以下の如き結論を得た。

1. Control kinetic study において、 ^{14}C -CGP 12177 静注後のイヌ心筋における時間-放射性曲線の心筋ラジオリガンド濃度は約10分で一定値となり、そのプラトーは30分以上持続した。一方血中ラジオリガンド濃度は静注10分以内で極めて低値となり、ラジオリガンド静注70分後の心筋と血中ラジオリガンドの濃度比は5~6倍に達した。

2. Displacement study において、 ^{14}C -CGP 12177 静注25分後に過剰量の非標識 CGP を急速静注したところ、ベータアドレナリン受容体の同一結合部位に対する競合的結合阻害を起こし、心筋ラジオリガンド濃度は急速に減少した。それに同調して CGP 12177 の薬理作用 (心拍数の低下) を同時に認めた。

3. Displacement study のために静注した非標識 CGP 12177 の投与量を増量するにつれて, displacement の大きさの程度と心拍数低下の割合は平行に増加したが, 非標識 CGP 12177 25nmol/kg 以上では displacement の程度も心拍数低下の割合もそれ以上増大せず, イヌでは 25nmol/kg が saturable dose であると考えられた。

4. Pre-saturation study においては, ^{14}C -CGP 12177 静注10分前に 25nmol/kg の非標識 CGP を投与しあらかじめベータアドレナリン受容体を飽和しておいたところ, control kinetic study に比して心筋ラジオリガンド集積は有意に低下し, 心筋と血中ラジオリガンド濃度比はコントロールの約5分の1に低下した。同様の受容体結合抑制を得るために pindolol では 400nmol/kg, propranolol では 2000nmol/kg の β ブロッカーを必要とした。

5. Modified hyperbole function の式を考案することにより, saturation study における犬心筋のベータアドレナリン受容体密度 (Bmax) は, 約 113pmol/cm³ と求められた。

以上犬を用いた基礎的 PET study にて, ベータアドレナリン受容体のアンタゴニストである ^{14}C -CGP 12177 の in vivo における特異的結合性を裏付ける条件が証明された。In vitro 受容体結合試験では, すでに種々の病態における心筋ベータアドレナリン受容体密度変化についての報告が認められるが, ^{14}C -CGP 12177 と PET によって in vivo においても同様の受容体評価の可能性が示された。よって本研究は, ポジトロン CT の受容体解析への利用法, および種々の疾患における心臓病態への, 従来の核医学における心筋血流や代謝の評価に加えて, 受容体という新しい観点からのアプローチの先導として極めて有用な研究であると結論される。

謝 辞

本稿を終えるにあたり, 研究の機会, ご校閲および多大なるご指導を賜りました金沢大学医学部核医学教室久田欣一教授に深謝申し上げます。また受容体研究薬剤およびポジトロン CT 使用の場をご提供下さりましたフランス原子力委員会生物部門フレデリック・ジョリオ病院 A. Syrota 病院長に深く感謝致します。

尚, 本論文の要旨は, 第33回米核医学会総会 (1986年度, ワシントン) に発表した。

文 献

1) Maziere, M., Comar, D., Godot, J. M., Collard, P. H., Cepeda, C. & Naguet, R.: In vivo

characterization of myocardium muscarinic receptors by positron emission tomography. Life Sci., 29, 2391-2397 (1981).

2) Syrota, A., Paillotin, G., Davy, J. M. & Aumont, M. C.: Kinetics of in vivo binding antagonist to muscarinic cholinergic receptor in the human heart studied by positron emission tomography. Life Sci., 35, 973-945 (1984).

3) Syrota, A., Comar, D., Paillotin, G., Davy, J. M., Aumont, M. C., Stulzaf, O. & Maziere, B.: Muscarinic cholinergic receptor in the human heart evidenced under physiological conditions by positron emission tomography. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82, 584-588 (1985).

4) Charbonneau, P., Syrota, A., Crouzel, C., Valois, J. M., Prenant, C. & Crouzel, M.: Peripheral type benzodiazepine receptors in the living heart characterized by positron emission tomography. Circulation, 73, 476-483 (1986).

5) Charbonneau, P., Syrota, A., Boullais, C. & Crouzel, C.: Serotonin receptors and lung phagocyte recruitment induced by cigarette smoking detected in vivo by positron emission tomography. J. Nucl. Med., 27, 950 (1986).

6) Molinoff, P. B.: Alpha- and beta-adrenergic receptor subtypes properties, distribution and regulation. Drugs, 28, 1-15 (1984).

7) Staehelin, M. & Simons, P.: Rapid and reversible disappearance of beta adrenergic cell surface receptors. E. M. B. O. J., 1, 187-190 (1982).

8) Staehelin, M., Simons, P., Jaeggi, K. & Wigger, N.: A hydrophilic beta-adrenergic receptor radioligand reveals high affinity binding of agonist to intact cells. J. Biol. Chem., 258, 3496-3502 (1983).

9) Hertel, C., Staehelin, M. & Perkins, J. P.: Evidence for intravesicular beta-adrenergic receptors in membrane fraction from desensitized cells: binding of the hydrophilic ligand CGP-12177 only in the presence of alamethicin. J. Cyclic. Nucl. Prot. Phosph. Res., 9, 119-128 (1983).

10) Hertel, C., Miiller, P., Portenier, M. & Staehelin, M.: Determination of the desensitization of beta-adrenergic receptors by (^3H) CGP-12177. Biochem. J., 216, 669-674 (1983).

11) Staehelin, M. & Hertel, C.: (^3H) CGP-12177,

- a beta-adrenergic ligand suitable for measuring cell surface receptors. *J. Receptor Res.*, **3**, 35-43 (1983).
- 12) **Portenier, M., Hertel, C., Muller, P. & Staehelin, M.**: Some unique properties of CGP-12177. *J. Receptor Res.*, **4**, 103-111 (1984).
 - 13) **Hertel, C., Affolter, H., Portenier, M. & Staehelin, M.**: Desensitized beta-adrenoceptors of C6-glioma cells have distinct binding properties. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, **328**, 51-55 (1984).
 - 14) **Affolter, H., Hertel, C., Jaggi, K., Portenier, M. & Staehelin, M.**: (-)-S-(³H) CGP-12177 and its use to determine the rate constants of unlabeled beta-adrenergic antagonists. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **82**, 925-929 (1985).
 - 15) **Cash, R., Raisman, R., Ruberg, M. & Agid, Y.**: Adrenergic receptors in frontal cortex in human brain. *Eur. J. Pharmacol.*, **108**, 225-232 (1985).
 - 16) **Hoyer, D. & Engel, G.**: Binding of ¹²⁵I-cyanopindolol to beta 1-adrenoceptors in a high and low affinity state. *J. Receptor Res.*, **3**, 45-59 (1983).
 - 17) **Petrovic, S. L., Macdonald, J. K., Synder, G. D. & McCann, S. M.**: Characterization of beta-adrenergic receptors in rat brain and pituitary using a new high affinity ligand, ¹²⁵I-iodocyanopindolol. *Brain Res.*, **261**, 249-259 (1983).
 - 18) **Toews, M. L., Harden, T. K. & Perkins, J. P.**: High affinity binding of agonists to beta-adrenergic receptors on intact cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **80**, 3553-3557 (1983).
 - 19) **Tsujimoto, G. & Hoffman, B. B.**: Desensitization of beta-adrenergic receptor-mediated vascular smooth muscle relaxation. *Mol. Pharmacol.*, **27**, 210-217 (1984).
 - 20) **Buxton, I. L. O. & Brunton, L. L.**: Direct analysis of beta-adrenergic receptor subtypes on intact ventricular myocytes of the rat. *Circ. Res.*, **56**, 126-132 (1985).
 - 21) **Hughes, B., Marshall, D. R., Sobel, B. E. & Bergman, S. R.**: Characterization of beta-adrenoceptors in vivo with iodine-131 pindolol and gamma scintigraphy. *J. Nucl. Med.*, **27**, 660-667 (1986).
 - 22) **Wesenberg, G., Schelbert, H. R., Hoffman, E. J., Phelps, M. E., Robinson, G. D., Selin, C. E., Child, J., Skorton, D. & Kuhl, D. E.**: In vivo quantitation of regional myocardial blood flow by positron emission computed tomography. *Circulation*, **63**, 1248 (1981).
 - 23) **Bergman, S. R., Fok, K. A. A., Rand, A. L., McElvany, K. D., Welch, M. J., Markham, J. & Sobel, B. E.**: Quantification of regional myocardial blood flow in vivo with H₂¹⁸O. *Circulation*, **70**, 724 (1984).
 - 24) **Boulais, C., Crouzel, C. & Syrota, A.**: Synthesis of 4-(3-t-butylamino-2-hydroxypropoxy)-benzimidazol-2(¹⁴C)-one (CGP-12177). *J. Label. Compds. Radiopharm.*, **23**, 565-567 (1986).
 - 25) **Patlak, C. S. & Blasberg, R. G.**: Graphical evaluation of blood-to-brain transfer constants from multiple-time uptake data generalizations. *J. Cereb. Blood flow and Metabol.*, **5**, 584-590 (1985).
 - 26) **Wong, D. F., Gjedde, A. & Wagner, Jr. H. N.**: Quantification of neuroreceptors in the living human brain. I. Irreversible binding of ligands. *J. Cereb. Blood Flow and Metabol.*, **6**, 137-146 (1986).
 - 27) **Pascal, O., Syrota, A., Berger, G., Sastre, J., Collard, P., Huchon, G. J. & Chretien, J.**: Lung uptake of ¹⁴C-imipramine and ¹⁴C-propranolol in patients with sarcoidosis evaluated by positron emission tomography. *Sarcoidosis*, 404-408 (1981).
 - 28) **Syrota, A., Dormont, D., Berger, G., Maziere, M., Prenant, C., Sastre, J., Davy, J. M., Aumont, M. C., Motte, G. & Gourgon, R.**: C-11 ligand binding to adrenergic and muscarinic receptors of the human heart studied in vivo by PET. *J. Nucl. Med.*, **24**, 20 (1983).
 - 29) **Lau, Y. H., Robinson, R. B., Rosen, M. R. & Bilezikian, J. P.**: Subclassification of beta-adrenergic receptors in cultured rat cardiac myoblasts and fibroblasts. *Circ. Res.*, **47**, 41-48 (1980).
 - 30) **Seto, M., Syrota, A., Crouzel, C., Charbonneau, P., Vallois, J. M., Cayla, J. & Boulais, C.**: Beta adrenergic receptors in the dog heart characterized by ¹⁴C-CGP 12177 and PET. *J. Nucl. Med.*, **27**, 949 (1986).
 - 31) **Sapirstein, L. A.**: Regional blood flow by

- fractional distribution of indicators. *Am. J. Physiol.*, **193**, 161-168 (1958).
- 32) **L'albate, A. & Maseri, A.**: Xenon studies of myocardial blood flow: theoretical, technical, and practical aspects. *Sem. Nucl. Med.*, **10**, 2-15 (1980).
- 33) **Seroussi, S., Laurent, D., Kivelitz, H. & Jacobs, G.**: Mesures simultanees a thorax ferme, des debits coronaires et ventriculaire gauche a l'aide du 85 Krypton. *J. Physiol. (Paris)*, **59**, 187-218 (1967).
- 34) **Mukherjee, A., Haghani, Z., Brady, J., Bush, L., McBride, W., Buja, L. M. & Willerson, J. T.**: Differences in myocardial alfa- and beta-adrenergic receptor numbers in different species. *Am. J. Physiol.*, **245**, H957-H961 (1983).
- 35) **Lathers, C. M., Levin, R. M. & Spivey, W. H.**: Regional distribution of myocardial beta-adrenoceptors in the cat. *Eur. J. Pharmacol.*, **130**, 111-117 (1986).
- 36) **Wei, J. W. & Sulakhe, P. V.**: Regional and subcellular distribution of beta- and alfa-adrenergic receptors in the myocardium of different species. *Gen. Pharmacol.*, **10**, 263-267 (1979).
- 37) **Pierpont, G. L., DeMaster, E. G. & Cohn, J. N.**: Regional differences in adrenergic function within the left ventricle. *Am. J. Physiol.*, **246**, H824-H829 (1984).
- 38) **Golf, S., & Hansson, V.**: Effects of beta blocking agents on the density of beta adrenoceptors and adenylate cyclase response in human myocardium: intrinsic sympathomimetic activity favours receptor regulation. *Cardiovasc. Res.*, **20**, 637-644 (1986).
- 39) **Mukherjee, A., Bush, L. R., McCoy, K. E., Duke, R. J., Hagler, H., Buja, L. M. & Willerson, J. T.**: Relationship between beta-adrenergic receptor numbers and physiological responses during experimental canine myocardial ischemia. *Circ. Res.*, **50**, 735-741 (1982).
- 40) **Maisel, A. S., Motulsky, H. J. & Insel, P. A.**: Externalization of beta-adrenergic receptors promoted by myocardial ischemia. *Science*, **230**, 183-186 (1985).
- 41) **Karliner, J. S., Stevens, F. M., Grattan, M., Woloszyn, W., Honbo, N. & Hoffman, J. I. E.**: Beta adrenergic receptor properties of canine myocardium: effects of chronic myocardial infarction. *J. Am. Coll. Cardiol.*, **8**, 349-356 (1986).
- 42) **Williams, L. T., Lefkowitz, R. J., Watanabe, A. M., Hathaway, D. R. & Besch, H. R. Jr.**: Thyroid hormone regulation of beta-adrenergic receptor number. *J. Biol. Chem.*, **252**, 2787-2789 (1977).
- 43) **Atkins, F. L., Dowell, R. T. & Love, S.**: Beta-adrenergic receptors, adenylate cyclase activity, and cardiac dysfunction in the diabetic rat. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, **7**, 66-70 (1985).
- 44) **Sylvestre-Gervais, L., Nadeau, A., Nguyen, M. H., Tancrede, G. & Rousseau-Mignerot, S.**: Effects of physical training on beta-adrenergic receptors in rat myocardial tissue. *Cardiovasc. Res.*, **16**, 530-534 (1982).

Beta Adrenergic Receptors in Dog Heart Characterised in vivo by ^{14}C -CGP 12117 and Positron Emission Tomography Mikito Seto, Department of Nuclear Medicine, School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920—J. Juzen Med. Soc., 98, 538—550 (1989)

Key words cardiac beta adrenoceptor, beta blocker, ^{14}C -CGP 12117, positron emission tomography

Abstract

Beta adrenergic receptors in the dog heart were demonstrated in vivo using a potent antagonist, ^{14}C -CGP 12117 ($K_d=0.2$ nmol/kg, in vitro), and positron emission tomography (PET). ^{14}C -CGP at a high specific radioactivity (approximately 500 Ci/mmol) was intravenously injected in dogs. Axial transverse slices of the heart were obtained. The concentration of ^{14}C -CGP 12117 in the myocardium rapidly increased and then remained nearly constant for about 30 minutes, before decreasing slowly. Designing a new method to distinguish specific receptor binding from the total ligand concentration in the heart measured by PET, beta adrenoceptor density in the dog myocardium (B_{max}) was found to be 113 pmol/cm³. Displacement and pre-saturation studies were performed to demonstrate the specificity of ^{14}C -CGP 12117 binding for noradrenaline binding sites. The bolus injection of unlabeled CGP 12177 25 min following ^{14}C -CGP 12177 injection led to a rapid decrease in the myocardial ligand concentration and a rapid fall in the heart rate. Both the pharmacological effect of CGP 12177 and the binding inhibition of radioligand were synchronous with the increasing amount of antagonist injected for displacement. In experiments of presaturation with an excessive dose of unlabeled antagonist injection 10min before ^{14}C -CGP 12177 injection, the heart/blood radioligand concentration ratio as a function of time was significantly lower than that in the control study. Thus, the specific receptor binding of ^{14}C -CGP 12177 for noradrenaline binding sites in the living heart was proved by PET, which might be the ideal method to study the physiologically active form of receptors in vivo.