

# Studies on So-called Redistribution Phenomenon of Cerebral Blood Flow Imaging

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	<a href="http://hdl.handle.net/2297/8103">http://hdl.handle.net/2297/8103</a>

## 脳血流イメージングにおけるいわゆる再分布現象に関する実験的研究

金沢大学医学部核医学講座 (主任: 久田欣一教授)

大 場 洋

(平成1年2月15日受付)

N-isopropyl-p-[<sup>125</sup>I] iodoamphetamine (<sup>125</sup>I-IMP) の再分布現象とは、<sup>125</sup>I-IMP 静注20-30分後の早期像で健常部位に比べ低集積であった部位が、3-5時間後の晩期像に於て高集積または等集積となる現象である。この晩期像および再分布現象について、従来漠然と推定されているにすぎなかった脳代謝や脳組織の生存能力との関連を明らかにするため、Tamura のラット脳虚血モデルにおいて著者の開発せる定量的3核種オートラジオグラフィを施行し、IMP の晩期像および再分布を脳代謝と直接比較することが可能となった。IMP の早期像、晩期像、および蛋白合成能像または糖代謝像を得る目的で<sup>125</sup>I-IMP、<sup>123</sup>I-IMP、<sup>3</sup>H 標識混合アミノ酸または<sup>3</sup>H-2-デオキシグルコースを用い、半減期法、化学洗浄法、核種のエネルギーの差を利用する方法を組合わせることにより3核種個々の像を得た。また<sup>125</sup>I-IMP に混入する<sup>123</sup>I-IMP の影響をオートラジオグラムのデジタル処理後の画像演算により除くことにより、純粋な晩期像を得ることが可能であった。さらに画像処理により再分布指標像を作製し、統計処理ソフトウェアを開発して再分布と蛋白合成能、糖代謝および血流をそれぞれ比較検討した。再分布と蛋白合成能とは関係は無く、オートラジオグラムでは患側半球では再分布が良好にも関わらず蛋白合成能は著明な低下を示した。再分布と糖代謝率を比較検討したところ、糖代謝率が約 34 μmol/100g/min で再分布が最高値を示すゆるやかな一峰性の関係を示したが、再分布指標および晩期像と糖代謝率に正の相関は認められなかった。再分布と血流値を比較検討したところ、血流値が約 40-50ml/100g/min で再分布が最高値を示すなだらかな一峰性の関係を示した。血流値約 160ml/100g/min 以上では逆再分布を示した。IMP 投与2時間半後、脳ホモジネートを薄層クロマトグラフィにより検討したところ、患側皮質は健側皮質と同一のクロマトグラムを示し、再分布する物質はIMPの脂溶性代謝物であるp-iodoamphetamineと考えられた。またIn vitro オートラジオグラフィを用いて脳組織とIMPの結合能を検討したところ、虚血領域である患側皮質において結合能に低下は認められなかった。脳の時間放射能曲線をコンピューターにてシミュレーションしたところ、脳血液分配係数が一定とすると、投与数分後では放射能は血流値に比例したが血流値が、25ml/100g/min以上ではIMP投与後150分において放射能に殆ど差異はみられず、再分布という現象を良く説明した。以上より、IMPの再分布という現象は実験的脳虚血において脳代謝および脳機能を直接反映するものではないことが明らかになった。IMPの脳組織への結合能は高度の脳虚血においても低下せず、IMPの脳内動態は脳血液分配係数と脳血流値という独立した2成分により決定されるものであることが解明された。

---

**Key words** N-isopropyl-p-[<sup>123</sup>I or <sup>125</sup>I] iodoamphetamine, <sup>3</sup>H-amino acid mixture, <sup>3</sup>H-2-deoxyglucose, redistribution phenomenon, triple-radionuclide autoradiography

---

Abbreviations : <sup>123</sup>I-IMP, N-isopropyl-p-[<sup>123</sup>I] iodoamphetamine ; <sup>125</sup>I-IMP, N-isopropyl-p-[<sup>125</sup>I] iodoamphetamine

1980年 Winchell ら<sup>1)</sup>によって開発された N-isopropyl-p-[<sup>125</sup>I] iodoamphetamine (以下 <sup>125</sup>I-IMP と略す.) は局所脳血流量に比例して、高率に脳組織に取り込まれ、しかも長時間停滞するため、脳血流診断用剤として脳血管障害をはじめとする種々の脳疾患の診断に Single Photon Emission Computerized Tomography (SPECT) 装置とともに広く利用されている。しかし、この薬剤の脳内動態に関しては未だ不明な点が多い。その1つに、晩期像に於ける再分布現象がある。これは <sup>125</sup>I-IMP 静注20-30分後の早期像で健常部位に比べ低集積であった部位が、3-5時間後の晩期像に於て高集積または等集積となる現象である。1982年 Raynaud ら<sup>2)</sup>がこの晩期像と酸素代謝とは正の相関を示すと指摘して以来、再分布現象について組織の生存能力 (viability) との関連性が推察され、多くの施設で、<sup>125</sup>I-IMP 検査に於て晩期像が撮像されるようになった。しかし、この現象と脳代謝を始めとする脳機能との関連を詳細に検討した報告は未だみられない。本研究の目的はこの晩期像および再分布現象の病態生理学的意味ならびに検査意義を明らかにすることである。このために、ラットに実験的脳虚血を作製し定量的オートラジオグラフィ法を用いて再分布と血流および代謝の関連を検討した。また、再分布の機序に関する実験的検討を加えた。

#### 材料および方法

##### I. 脳虚血モデルの作製

24時間水以外は絶食とした 200~250g の雄性ドン

リュウラットを用い Tamura ら<sup>3)</sup>の方法に従い脳虚血モデルを作製した。0.5-1.0%ハロセン吸入麻酔下に、経眼窩的に側頭筋を圧排し、頭蓋底に達し卵円孔の前方にドリルで直径 1.5mm の穴を開け、硬膜切開し一側中大脳動脈を露出した (図1)。その後小型 Zen のクリップ (奥和通商、東京) で中大脳動脈主幹部を閉塞した (図2)。一方股動静脈にポリエチレンチューブ SP-31 (夏目製作所、東京) を挿入し、採血および薬剤注入に用いた。脳虚血モデルは計17匹作製した。実験中に動脈血ガス分析を施行し、PaO<sub>2</sub>、PaCO<sub>2</sub>、pH を測定した。また、平均動脈血圧も測定した。

##### II. 定量的3核種オートラジオグラフィ

IMP の早期像、晩期像、ならびに蛋白合成像を得る目的で <sup>125</sup>I-IMP (日本メジフィジクス社、宝塚)、<sup>125</sup>I-IMP (日本メジフィジクス社、宝塚)、<sup>3</sup>H 標識混合アミノ酸 TRK550 (フェニールアラニン、チロシン、イソロイシン、ロイシン、メチオニン) (Amersham、英国) の3核種、2種類の薬剤を用い、IMP の再分布と蛋白合成能を8匹のラットで比較した。

また IMP の早期像、晩期像、ならびに糖代謝像を得る目的で <sup>125</sup>I-IMP、<sup>125</sup>I-IMP、<sup>3</sup>H-2-deoxyglucose NET328-20 (New England Nuclear 社、米国) の3核種、2種類の薬剤を用い、IMP の再分布と糖代謝を5匹のラットで比較した。

ここで、<sup>125</sup>I は <sup>125</sup>I (p, 5n) <sup>135</sup>Xe→<sup>125</sup>I の反応によりサイクロトロンで製造され、検定日時において核的純度は <sup>125</sup>I が95.5%以上、<sup>125</sup>I が4.5%以下である。

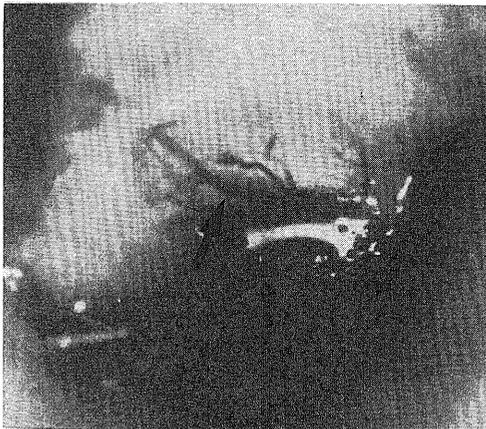


Fig. 1. A photograph of a high-power view through the operating microscope after exposure of a middle cerebral artery (arrow) of rat based on the Tamura's model.

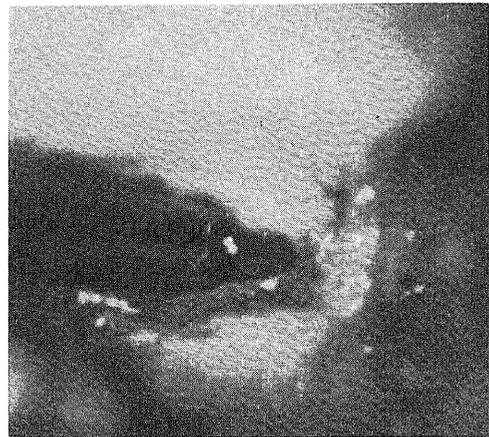


Fig. 2. A photograph of a high-power view through the operating microscope after occluding a middle cerebral artery using a small Zen clip (arrow).

脳虚血モデルラットを作製し、中大脳動脈閉塞1時間後  $^{125}\text{I}$ -IMP  $50\mu\text{Ci}$  を股静脈より静注、蛋白合成能との比較の場合にはその120分後  $^3\text{H}$ -amino acid mixture  $300\mu\text{Ci}$  投与、糖代謝との比較の場合にはその105分後  $^3\text{H}$ -2-deoxyglucose  $150\mu\text{Ci}$  投与、 $^{125}\text{I}$ -IMP 静注148分後に  $^{123}\text{I}$ -IMP  $1.5\text{mCi}$  投与した。 $^{123}\text{I}$ -IMP 投与後経時的に股動脈から  $50\mu\text{l}$  ずつ10回採血した。最初の1分は約7秒間隔で、後の1分は約20秒間隔で採血した。 $^{125}\text{I}$ -IMP 静注2分後 ( $^{125}\text{I}$ -IMP 静注180分後) に断頭した。この動脈血サンプルは局所脳血流値算出のための  $^{125}\text{I}$ -IMP の濃度測定に用いた。動脈血中の代謝されていない脂溶性の  $^{125}\text{I}$ -IMP の割合を以下の方法で求めた。動脈血  $20\mu\text{l}$  にオクタノールを  $2\text{ml}$  混ぜ、ボルテックスミキサーで1分間攪拌し2000回転/分で10分間遠心した。これにより脂溶性のIMPはオクタノール層に移行する。遠心後、オクタノール層を  $1\text{ml}$  とり全血のカウントに換算することによって代謝されない真の  $^{125}\text{I}$ -IMP の割合を求めた。また、糖代謝率の算出のために  $^3\text{H}$ -2-deoxyglucose 投与43分後まで、動脈血  $60\mu\text{l}$  ずつ経時的に14回採血を行った。動脈血サンプルは直ちに遠心して血漿を分離し、 $^3\text{H}$  の放射能とグルコースの濃度測定に用いた。血漿グルコース濃度は標準酵素反応により測定した。実験過程を図3に示す。

断頭後、脳を速やかに取り出しドライアイスを加え冷却したヘキサン (約  $-70^\circ\text{C}$ ) 中で凍結乾燥させ、クリオスタット Tissue Tec 4551 (三共、東京) を用いて厚さ  $20\mu\text{m}$  の切片を作製した。

IMP の早期像の作製にあたっては、切片を厚さ  $6$

$\mu\text{m}$  のポリエチレン製のルミラ膜で覆い  $^3\text{H}$  のベーター線を完全に遮蔽し、サクラ C type フィルム (コニカ、東京) にて36時間露光し (1回目の露光)、 $^{123}\text{I}$ -IMP のオートラジオグラムを得た。

IMP 晩期像の作製にあたっては、1回目の露光10日後  $^{125}\text{I}$  の減衰を待って、同じくルミラ膜で覆い、サクラ A type フィルム (コニカ、東京) にて2ヶ月間露光し (2回目の露光)、 $^{125}\text{I}$ -IMP のオートラジオグラムを得た。この像には  $^{123}\text{I}$ -IMP に混在する  $^{125}\text{I}$ -IMP の影響が含まれており、純粋な晩期像を得るには、これを取り除かねばならない。実際の脳組織と同程度の放射線吸収能を持つものとして水  $10\text{g}$  にゼラチン  $2.5\text{g}$  の割合で溶かし、これに既知濃度の  $^{125}\text{I}$ -IMP を加えて凍結させた厚さ  $20\mu\text{m}$  の標準線源をつくり早期像と同じフィルム上で露光、その後晩期像と同じフィルムで再度露光し得られた2つの像の黒化度の比を求めた。この比の値を補正係数  $\alpha$  とし、以下の式にて、純粋な晩期像を得た。

$$D = D' - \alpha E \quad \dots\dots(1)$$

ここで  $D$  は純粋な晩期像、 $D'$  は2回目の露光より得られた  $^{125}\text{I}$ -IMP 像、 $E$  は1回目の露光より得られた早期像である。

蛋白合成能像の作製にあたっては2回目の露光後、10% TCA (Trichloroacetic acid) 液で切片を2時間洗浄し蛋白合成に組込まれていない遊離のアミノ酸、および  $^{125}\text{I}$ -IMP を除き Hyperfilm-3H (Amersham 社、英国) で2ヶ月露光した。ここで、IMP が TCA 溶液により完全に洗い出されるか否かを検討す

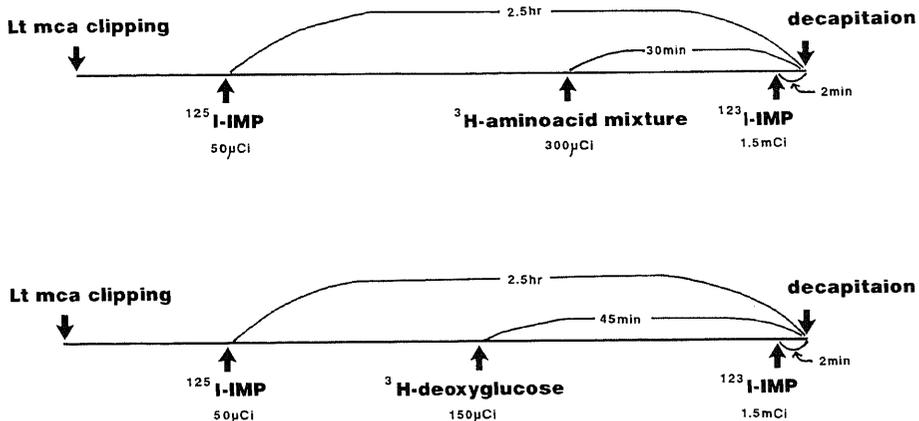


Fig. 3. Procedure of triple radionuclide autoradiographic techniques. The upper and lower procedure indicate the technique for comparing IMP redistribution with protein synthesis and glucose metabolism, respectively.

るために、 $^{125}\text{I}$ -IMP のみを投与したラット脳切片を TCA 溶液で洗浄し、放射能をウェルカウンターで測定することにより、洗浄時間と残存放射能の関連を求めた。糖代謝像の作製にあたっては 2 回目の露光後、Diemer ら<sup>4)</sup>、隅屋ら<sup>9)</sup>の方法により 2-2-dimethoxypropane で 3 時間洗浄し  $^3\text{H}$ -2-deoxyglucose を除き、Hyperfilm-3H で 2 ヶ月露光した。

得られたオートラジオグラムの定量化には以下のビデオデジタルシステムを使用した。マイクロコンピュータ PC9801 (日本電気, 東京) にイメージメモリーボード EIP98 (エーディーエス, 奈良) を装着し、CCD カメラ TI-22A II (日本電気, 東京) にて取り込んだ像をデジタル化した。イメージメモリーボードは 6 ビットのアナログデジタル変換器と 128 k バイトの記憶容量を持ち、1 画面  $256 \times 240 \times 6$  ビット (64 階調) のデータを 2 画面持つことができる。画像処理プログラムには DIAL10 (エーディーエス, 奈良) および飯田ら<sup>9)</sup>の PC-SYSTEM を用い、画像のカラー表示には PC-SYSTEM を使用した。以下の早期像、晩期像の正規化、再分布指標像の作製もこの PC-SYSTEM により行った。

再分布指標像を作製するにあたってまず早期像、晩期像を以下のように正規化した。

$$E_n = (E - \text{BKG}) \times 64 / (\text{MAX} - \text{BKG}) \quad \dots\dots(2)$$

$$D_n = (D - \text{BKG}) \times 64 / (\text{MAX} - \text{BKG}) \quad \dots\dots(3)$$

$$\text{再分布指標像} = 100 + D_n - E_n \quad \dots\dots(4)$$

ここで  $E_n$  は正規化した早期像、 $D_n$  は正規化した晩期像、 $E$  は元の早期像、 $D$  は元の晩期像を示す。 $\text{MAX}$  は画像上最もデジタル値の高い部分を示す。 $\text{BKG}$  はバックグラウンドの値を示す。再分布指標像において 100 以上の値は晩期像の方が早期像よりも集積程度が相対的に高いという再分布を示し、100 以下の値は晩期像の方が早期像よりも集積程度が相対的に低いという逆再分布を示す。

今回新たに、デジタル変換した画像上で、血流、蛋白合成能、糖代謝それぞれの再分布指標との比較を同じ切片上でピクセル毎に行う統計処理プログラムを作製した。再分布と血流の比較にはラット 13 匹、17 切片、約 300,000 ピクセルのデータを用いた。血流値はマイクロフェアに準じた次式<sup>78)</sup>により求めた絶対値を使用した。

$$F = \frac{\text{Cb}(T)}{\int_0^T \text{Ca}(t) dt} \quad \dots\dots(5)$$

ここで  $F$  は血流値 ( $\text{ml}/100\text{g}/\text{min}$ )、 $\text{Cb}(T)$  は  $T$  分におけるラットの脳組織内放射能濃度 ( $\mu\text{Ci}/\text{g}$ )、 $T$  は

IMP 静注から断頭までの時間 (ここでは 2 分)、 $\text{Ca}(t)$  は動脈血中の代謝されていない真の IMP 放射能濃度の時間的経過を示す。この血流値の定量化にあたっては前述の  $^{125}\text{I}$  の標準線源を用いた。

蛋白合成能と再分布では、ラット 8 匹、10 切片、約 180,000 ピクセルのデータを用いた。蛋白合成能はデジタル変換後の 64 階調の像から求めた相対値を使用した。糖代謝と再分布では、ラット 5 匹、7 切片、約 120,000 ピクセルのデータを用いた。糖代謝率 (regional cerebral metabolic rate for glucose,  $\text{rCMRglu}$ ) は Sokoloff ら<sup>9)</sup>の式から求めた絶対値を使用した。定量化にあたっては前述のゼラチンを用いる方法により作製した  $^3\text{H}$  の標準線源を用いた。

### III. 薄層クロマトグラフィによる検討

今回行った一連のラットを使用した実験において、再分布してくる物質は何かを確かめるため次のような実験を行った。脳虚血モデルラットを 2 匹作製し、 $^{125}\text{I}$ -IMP を静注し約 3 時間後脳を取り出した。虚血部の脳皮質と対側のそれを取り出し、5 cc の 0.32M の蔗糖でホモジナイズした。メッシュで濾過後その 20  $\mu\text{l}$  のサンプルをシリカゲルストリップ (MERCK 社, 米国) に塗布し、クロロホルム、メタノール、酢酸の比 85:14:1 の展開液で展開した。

### IV. in vitro オートラジオグラフィによる検討

脳虚血における IMP と脳組織の結合程度を評価するために in vitro におけるオートラジオグラフィを行った。この方法によれば、血流の関与を無視することができ、純粋に結合のみを評価しうる。2 匹のラットに脳虚血モデルをつくり 20  $\mu\text{m}$  の切片を作製した。この切片を、1  $\mu\text{Ci}/\text{ml}$  の  $^{125}\text{I}$ -IMP の放射能濃度を示す 50mM トリス緩衝液 (pH 7.4) 中で 1 時間水上で

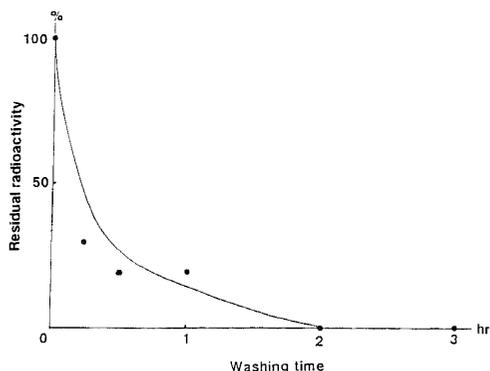


Fig. 4. Relationship between washing time (X-axis) by 10% trichloroacetic acid and residual  $^{125}\text{I}$  radioactivity (Y-axis) of brain slices.

ンキュベーションした。乾燥後、サクラ C type フィルムで1日露光した。

#### V. 時間放射能曲線のコンピューターシミュレーション

3匹のラットにおいて、股動静脈にポリエチレンチューブ SP31 を挿入し、 $^{125}\text{I}$ -IMP 20  $\mu\text{Ci}$  静注後動脈血を経時的に採取し2時間半まで採取した。前述のごとくオクタノールで抽出し、真の脂溶性の IMP 濃度を求めた。2時間半後に断頭し、脳摘出後、皮質および白質の放射能濃度 ( $\mu\text{Ci/g}$ ) とオクタノール抽出後の動脈血の真の IMP の放射能濃度 ( $\mu\text{Ci/g}$ ) を求めた。この両者の比より脳血液分配係数 ( $\lambda$ ) を求めた。脳の時間放射能を次式<sup>10</sup>によりマイクロコンピューター PC-9801 (日本電気、東京) を用いてシミュレーションした。

$$\text{Cb}(T) = F \int_0^T \text{Ca}(t) \exp \{ -F/(100 \cdot \lambda) \} dt \quad \dots\dots(6)$$

ここで  $\text{Ca}(t)$  は  $t$  分後の動脈血中放射能濃度 ( $\mu\text{Ci/ml}$ )、 $F$  は脳血流量 ( $\text{ml}/100\text{g}/\text{min}$ )、 $\lambda$  は脳血液分配係数である。

### 成 績

#### I. 脳虚血モデルの作製

一側中大脳動脈の閉塞により、すべてのラットにおいて対側半身麻痺が生じた。モデルラットの  $\text{PaO}_2$ 、 $\text{PaCO}_2$ 、 $\text{pH}$ 、平均動脈圧はそれぞれ  $92.1 \pm 2.4$   $\text{mmHg}$ 、 $35.2 \pm 0.8$   $\text{mmHg}$ 、 $7.37 \pm 0.007$ 、 $118 \pm 5$   $\text{mmHg}$  (mean  $\pm$  SEM) であった。

#### II. 定量的3核種オートラジオグラフィ

1回目の露光で得られた  $^{125}\text{I}$ -IMP のオートラジオグラムにおける  $^{125}\text{I}$ -IMP の cross contamination は3%

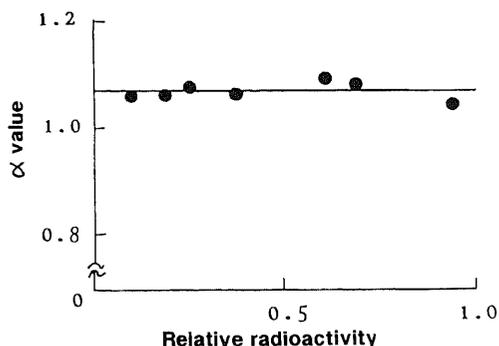


Fig. 5. Relationship between  $\alpha$ -value (Y-axis), which is a correction factor for removing an influence of  $^{125}\text{I}$ -IMP originally included in  $^{125}\text{I}$ -IMP, and relative radioactivity (X-axis).

以下であった。また、IMP は10% TCA 溶液により、1時間で100%洗い出された (図4)。従って、 $^{125}\text{I}$ -IMP は蛋白合成能に全く影響を及ぼさないことが判明した。一方、糖代謝像において、 $^{125}\text{I}$ -IMP の cross contamination は2%以下である。

図5は標準線源各濃度毎の1回目と2回目の露光での各放射能濃度における黒化度の比を示している。この比の値は全濃度にわたってほぼ一定の値を示しており (平均1.07)、式1により純粋な晩期像が得られることが証明された。

再分布指標と蛋白合成能の関連を図6に示す。縦軸は再分布指標、横軸は蛋白合成能 (相対値) を示す。散布図および蛋白合成能の各値における再分布指標の平均値と1標準偏差をみると蛋白合成能の高度に低下している所ではやや再分布する傾向を示したものの、全体的には有意な関連はみられなかった。

蛋白合成能像を含む3核種オートラジオグラムの1例を図7に示す。早期像では左半球の皮質、外側線条体に広範な血流低下を認める。晩期像では、集積低下を示す部位はなく、早期像で血流低下を示した部位は完全に再分布している。再分布指標をみると患側の皮質、線条体の一部、両側の白質に高い再分布を示す。健側の皮質では逆再分布を示す。蛋白合成能像では、患側の皮質、線条体に IMP 早期像よりも広範でしかも程度の大きい蛋白合成能の低下を認める。すなわち患側では、再分布が良好にも関わらず、高度の蛋白合成能の低下が認められ、IMP の晩期像とも明らかに異なる分布を示した。

再分布指標と糖代謝率の関連を図8に示す。縦軸は再分布指標、横軸は糖代謝率 (絶対値) を示す。散布図および糖代謝率の各値における再分布指標の平均値と1標準偏差をみると、糖代謝率が約  $34 \mu\text{mol}/100\text{g}/\text{min}$  で再分布が最高値を示すゆるやかな一峰性の関係を示した。

糖代謝像を含む3核種オートラジオグラムの1例を図9に示す。早期像、晩期像、再分布指標像は、前述の蛋白合成能像との比較の場合のそれらとほぼ同様の所見を示す。糖代謝像では患側の皮質、線条体に糖代謝の低下を認めた。

再分布指標と血流値の関係を図10に示す。縦軸は再分布指標、横軸は局所脳血流量 (絶対値) を示す。散布図および糖代謝率の各値における再分布指標の平均値と1標準偏差をみると、血流値が約  $40-50\text{ml}/100\text{g}/\text{min}$  で再分布が最高値を示すならかな一峰性の関係を示した。血流値約  $160\text{ml}/100\text{g}/\text{min}$  以上では逆再分布を示した。

### III. 薄層クロマトグラフィによる検討

脳ホモジネートの薄層クロマトグラフィによる結果を図11に示す。上段は  $^{125}\text{I}$ -IMP 液のコントロールであり Rf 値0.53に単一のピークを示す。中段は患側皮質のホモジネート、下段は健側皮質のそれを示す。両者ともほとんど一致し、IMP のピーク以外、Rf 値0.23に高いピークを示した。

### IV. *in vitro* オートラジオグラフィによる検討

*in vitro* オートラジオグラムでは、患側（左側）の線条体では軽度の結合低下を示したが、患側皮質では健側皮質と同程度の結合を示した（図12）。

### V. 脳時間放射能曲線のコンピューターシミュレーション

ラット脳皮質および白質における IMP の脳血液分配係数はそれぞれ平均15および平均25であった。この値と動脈血中の IMP の時間放射能曲線を用いて式6により、種々の脳血流量に於ける脳的时间放射能曲線のシミュレーションを図13に示す。IMP 静注数分後では、脳放射能は血流量に殆ど依存するが、150分後には血流量 25ml/100g/min 以上では、ほとんど放射能に差を認めない。図14はこのシミュレーションにより得られた再分布指標と血流値の関係を示す。ここで2分後の最高放射能は皮質の 250ml/100g/min での値とし、150分後の最高放射能は白質の 40ml/100g/min の値とした。このシミュレーションでの結果は図10に示すラット脳での結果と良く類似した。

### 考 察

血流と代謝を同時に測定することのできる多核種オートラジオグラフィの有用性は過去十分に認められ、多くの研究者により様々な核種の組合せが報告されている。これにより病的状態における血流と代謝の解離を同一モデルで捉えることができる。しかし、この殆どが2核種<sup>211</sup>、<sup>210</sup>によるものであり、3核種<sup>211</sup>、<sup>210</sup>を用いた報告は非常に稀である。本研究では、3核種として  $^{125}\text{I}$ 、 $^{125}\text{I}$ 、 $^3\text{H}$  を用いたが、この組合せは今まで報告がなく初めての試みである。この組合せを、こ

Fig. 6. Relationship between redistribution index (Y-axis) and relative protein synthesis (X-axis) obtained from ten sections on a pixel-by-pixel comparison with approximately 180,000 points (top, A). Brightness of a point indicates the number of times of occurrence. The mean values (red points) are plotted for eight animals, with 1 s. d. s indicated by the blue and green points (bottom, B).

Fig. 7. Representative autoradiograms of an early IMP image (left upper, A), a late image (right upper, B), a redistribution index image (left lower, C), and a protein synthesis image (right lower, D).

Fig. 8. Relationship between redistribution index (Y-axis) and glucose metabolism (X-axis) obtained from seven sections on a pixel-by-pixel comparison with approximately 120,000 points (top, A). Brightness of a point indicates the number of times of occurrence. The mean values (red points) are plotted for five animals, with 1 s. d. s indicated by the blue and green points (bottom, B).

Fig. 9. Representative autoradiograms of an early IMP image (left upper, A), a late image (right upper, B), a redistribution index image (left lower, C), and a glucose metabolism image (right lower, D).

Fig. 10. Relationship between redistribution index (Y-axis) and flow (X-axis) obtained from seventeen sections on a pixel-by-pixel comparison with approximately 300,000 points (left, A). Brightness of a point indicates the number of times of occurrence. The mean values (red points) are plotted for thirteen animals, with 1 s. d. s indicated by the blue and green points (right, B).

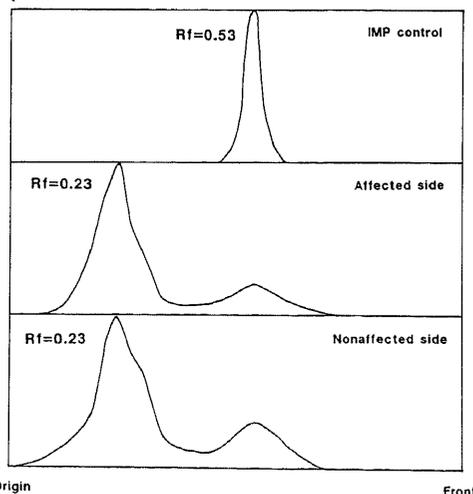


Fig. 11. Thin layer chromatograms for IMP control (top) and brain tissue homogenate of affected (middle) and nonaffected (bottom) hemisphere cortex. Values are expressed as relative front (Rf).

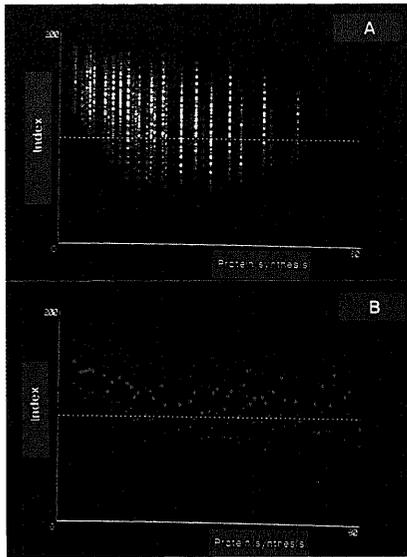


Fig. 6

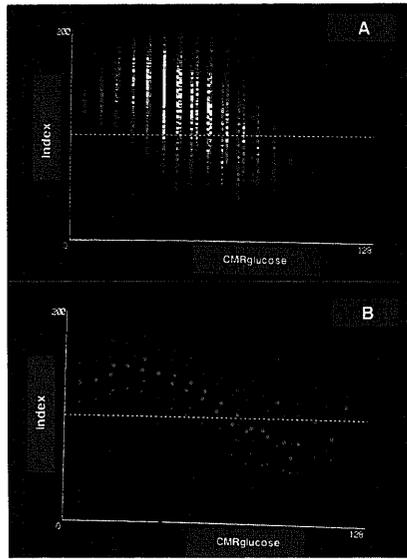


Fig. 8

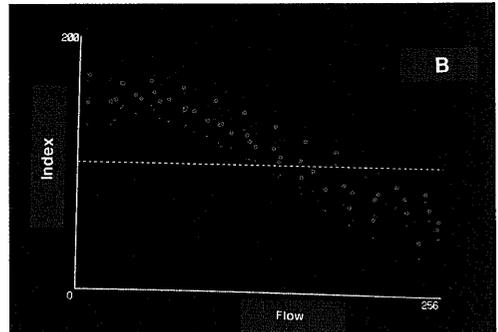
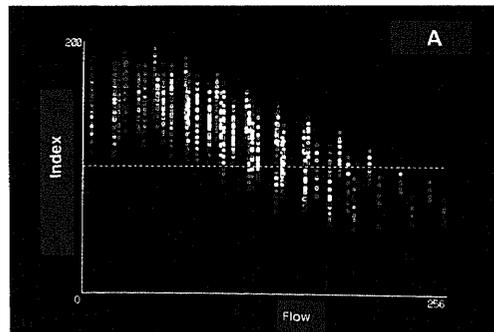


Fig. 10

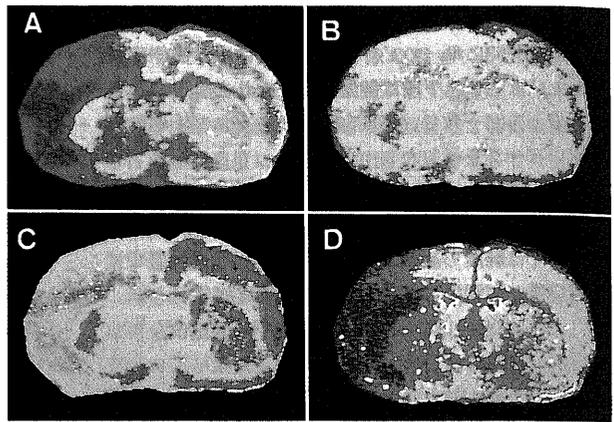


Fig. 7

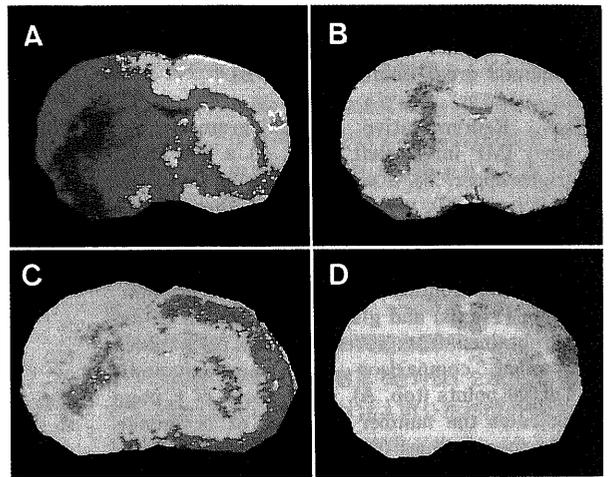


Fig. 9

の研究では IMP の脳内再分布と脳代謝の関係を検討するために用いた。 $^{125}\text{I}$ -IMP を先に投与することにより IMP の晩期像を、 $^{125}\text{I}$ -IMP を断頭直前に投与することにより早期像を得ることができる。臨床例では早期像は通常 IMP 投与20-30分後より撮像されるが、今回の実験ではより忠実に血流情報を反映させるために2分後を早期像とした。同じ薬剤を異なる核種で標識することにより、オートラジオグラフィの最大の欠点である薬剤の時間的推移を捉えることができないという欠点を補うことが可能である。

多核種オートラジオグラフィにおいて、各核種の独立したオートラジオグラムを得る方法には一般に次の

3法が知られている。1) 核種の半減期の差を利用する半減期法<sup>15)~17)</sup>。2) 一方の核種で標識されたトレーサーのみを、薬剤を用いて洗い出す化学洗浄法<sup>4)18)19)</sup>。3) 核種のエネルギーの差を利用し、低エネルギーの放出を遮蔽する方法<sup>4)5)18)20)</sup>である。今回、これらの方法をすべて用いることにより独立した各核種像を得ることが可能になった。

まず、短時間の露光で  $^{125}\text{I}$ -IMP 単独の像を得た。この短時間では  $^{125}\text{I}$  は殆ど感光せず、しかも  $^{125}\text{I}$  の投与放射能は  $^{125}\text{I}$  のそれに比べ30倍多く、cross contaminationを3%以下に抑えることができた。また、ルミラー膜で切片を覆うことにより、 $^3\text{H}$  の放射能を100%

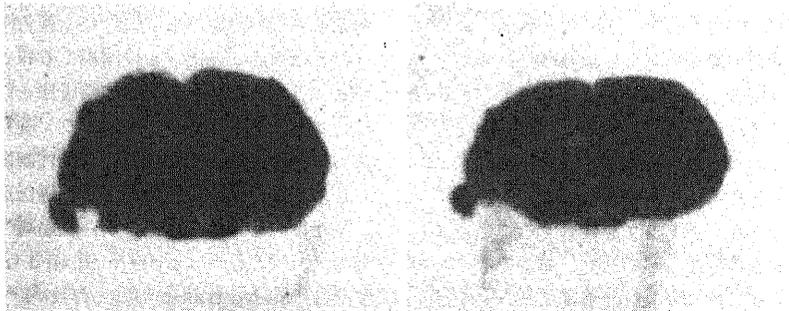


Fig.12. In vitro autoradiograms for evaluating binding ability of IMP to brain tissue in unilateral experimental ischemia.

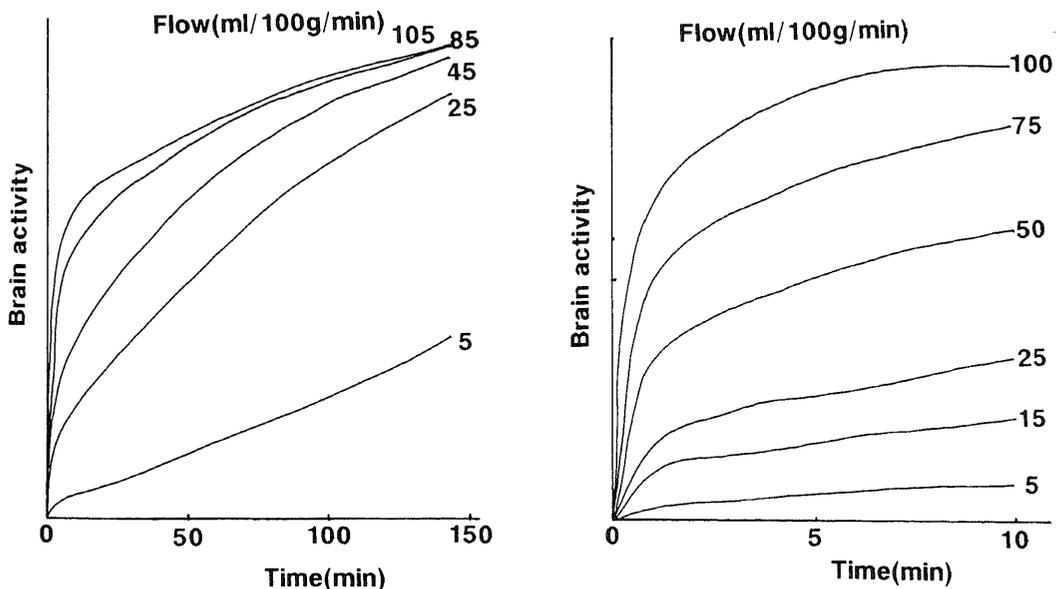


Fig.13. Computer-simulation of time-course till 10 min. (left, A) and 150 min. (right, B) of brain activity for different flow values under the fixed partition coefficient value of 15.

遮蔽し得た。2回目の露光における問題は $^{125}\text{I}$ にもと混入する $^{129}\text{I}$ の影響をいかに除くかである。1.5 mCiの $^{125}\text{I}$ -IMPにおいて混入が4%とすると60 $\mu\text{Ci}$ の $^{129}\text{I}$ -IMPが含まれることになり、 $^{125}\text{I}$ -IMPの投与量と匹敵する。従って、2回目の露光では晩期像と早期像の情報が重複している。以前のアナログ像によるオートラジオグラフィでは、この重複像から純粋な晩期像のみを抽出することは不可能であった。しかし、近年デジタル画像処理法が発達し、デジタル画像間の演算が容易に施行しうようになった。従って、前述の多核種オートラジオグラフィにおける独立した像を得る従来の3法に本法が加わることにより、より容易に多核種オートラジオグラフィが施行可能になったといえる。ただし、このサブトラクション処理における問題点は、2回目の露光における重複像において、早期像がどれぐらいの割合で関与しているかを求めることである。この解決策として、今回は $^{125}\text{I}$ -IMPの標準線源を作り、1回目、2回目ともに脳切片とともに露光し、両者の黒化度の比から係数を求め、これを早期像に乘じ晩期像からサブトラクションすることにより純粋な晩期像を求めることができた。成績で示したごとく、この黒化度の比は全放射能濃度にわたってほぼ一定であったのでこの方法は適切である。3回目の露光において、独立した蛋白合成能像、糖代謝像の作製には化学洗浄法を用いた。蛋白合成能像の場合は、切片をTCA液で洗浄することにより遊離のアミノ酸、および $^{125}\text{I}$ -IMPを除いた。 $^{125}\text{I}$ -IMPがTCA溶液中で100%洗い出されることは今まで報告されておらず、新知見である。糖代謝像では、従来の報告<sup>9)</sup>に従い切片を2,2-dimethoxypropaneで洗浄し $^{125}\text{I}$ -IMPを除いた。

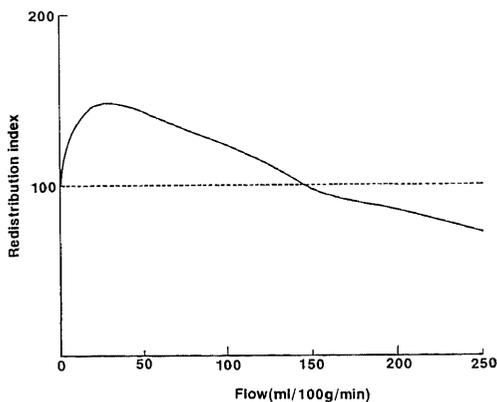


Fig.14. Computer-simulation of relationship between redistribution index and flow values.

Raynaudらにより提唱されたIMPの晩期像における再分布現象が脳組織の生存能力を示すのではないかという説はMorettiら<sup>29)</sup>やCreutzigら<sup>27)</sup>にも支持され、IMPの大きな特徴の1つとして取り上げられている。この特徴は、同種の脳血流シンチグラフィ用剤である $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -hexamethyl-propyleneamine oximeが、全く再分布を示さないことからIMPの利点の1つとして注目され、IMPでは脳血流情報のみならず、脳機能情報も得られるとする報告がみられる。確かに、再分布を示す例は軽症症例が多く、再分布を示す領域はX線CTでも正低吸収域に対応する<sup>29)</sup>。しかし、脳機能が明らかに低下しているアルツハイマー型痴呆例においても、IMPでは早期像の高度集積低下部位に晩期像で再分布が認められたという報告<sup>29)</sup>もみられ、再分布と脳機能との関連を疑問視する報告もみられる。今回著者は、ラットに実験的脳虚血を作製し前述の定量的オートラジオグラフィにより、晩期像および再分布指標像と蛋白合成能像および糖代謝像を比較した。

脳の蛋白合成は組織の保持、神経伝達機能の維持に重要な役割を果たす。血中から脳組織へのアミノ酸の移行は、大部分はcarrier mediated transportにて、一部はpassive transportで行われる<sup>30)31)</sup>。今回、蛋白合成能をみるための標識アミノ酸として、 $^3\text{H}$ -amino acid mixtureを用いた。それぞれのアミノ酸は、脳組織移行後それぞれ特異的なtRNAとアミノアシル結合をし、リボソームにて蛋白に合成される<sup>32)</sup>。また一部のアミノ酸はエネルギー代謝に使われる。脳切片を10% TCA液にて3時間処理することにより、蛋白合成に組み込まれていない遊離のアミノ酸およびエネルギー代謝に使われた部分を除き、アミノアシル結合およびポリペプチドに組み入れられた分画が残る。従ってTCA処理後のオートラジオグラムは蛋白合成能を反映したものと考えられる。アミノアシル結合した分画は正常時では数%と報告されている。しかし虚血時には蛋白分画の著明な減少に伴いアミノアシル分画は相対的に増加し、蛋白分画の1/3 - 1/5に達する。従って虚血部位での蛋白合成能の低下は多少過小評価される可能性がある。それにも関わらず今回、虚血部位での蛋白合成能の低下は、糖代謝と比べて顕著であった。虚血部位に於ける蛋白合成能の低下が大きい原因として、アミノアシル結合とポリペプチド結合はエネルギー源として高エネルギー磷酸化合物を必要とするが、脳虚血時にはエネルギー代謝障害に伴いこれらの過程が障害され蛋白結合が停止する<sup>33)34)</sup>。虚血などの危機的状況下では、防御反応として蛋白合成能が抑制されるという報告がある<sup>35)</sup>。

糖代謝像では健常部と虚血部でのコントラストが少なかった。しかし絶対値でみると健側皮質においても最大  $120 \mu \text{mol}/100\text{g}/\text{min}$  と正常値に比べ明かな低値を示し、虚血部のみでなく全脳において糖代謝の低下が示唆された。虚血部における糖代謝の低下の原因として、血流の低下に起因する血液から脳へのグルコースの供給不足、解糖系の酵素または酵素反応の障害、電子伝達系等のミトコンドリアの機能障害に伴う二次的变化、細胞壊死等が考えられる<sup>37)</sup>。虚血部位以外での糖代謝の低下の原因としては、浮腫の伝播、頭蓋内圧の亢進および神経繊維を介した代謝の抑制等が考えられる<sup>38)</sup>。

以上のごとく、蛋白合成能や糖代謝は脳組織の危機的状態および機能的状態を反映しており、今回の実験的脳虚血において明らかにこれらは虚血部で低下していた。この事実にもかかわらず、IMP は早期像では虚血部で著明な集積低下を示したものの晩期像においては再分布を示し、晩期像とこれらの脳代謝像に明かな関連はみられなかった。また、再分布指標像ではこれらの脳代謝低下部位において、むしろ再分布が亢進する傾向を示した。

ここで得られた結果を理解するためには、IMP の集積機序について言及する必要がある。この薬剤の脳組織への集積機序として、1) pH shift 薬剤として作用、2) 代謝による非透過性(水溶性)物質への変化、3) 非特異的細胞成分との結合が考えられている。1) に対しては、IMP で得られる脳組織と血液の間の分配係数が pH shift 理論<sup>39)</sup>で説明される値よりもはるかに高いこと、また2) に対しては Rapin ら<sup>40)</sup>は IMP の脳内での代謝物は、血液脳関門の破壊がなければ1種類だけであり、脂溶性の p-iodoamphetamine であると報告していることから現時点では否定的である。現在のところ3) の説が最も有力視されている。Winchell ら<sup>40)</sup>は、IMP は構造的にドーパミンやノルアドレナリンのようなアミンと近似しているため、IMP の脳内長期停滞は大容量のアミン受容体の比較的非特異的結合に関係していると推論した。森ら<sup>41)</sup>は、IMP がアミン受容体のみでなく、より大容量 ( $15.7 \mu \text{mol}/\text{mg protein}$ ) で親和性の低い細胞成分に結合しており、特に神経細胞に特有の構造物であるシナプス膜に多く分布していることを示した。

今回の実験では急性期脳虚血モデルのために血液脳関門は未だ破壊されていない。これは同モデルを作製し3-4時間後に  $^{99\text{m}}\text{Tc-DTPA}$  を投与して行ったオートラジオグラムにて確認した。また脳ホモジネートの薄層クロマトグラフィでも、患側皮質において再

分布してくる物質は健側のそれと同一であることが確認された。従って、虚血部で再分布してくる物質も脂溶性の p-iodoamphetamine と考えられる。また、この p-iodoamphetamine はその脳内挙動がほぼ IMP と同等であると報告されている。このため、IMP は拡散性の非代謝性トレーサーと数学的にはほぼみなしてよいと考えられる。この結果、コンピューターシミュレーションに用いた式6は、IMP の脳内動態を理解するうえで適切と思われる。このことは図14で示す理論上の再分布指標と血流値の関連が実際のラット脳での結果と殆ど一致することからも支持される。このシミュレーションの結果、静注後早期は脳の放射能は血流のみに依存するが、150分後では脳血液分配係数に依存するようになる。これは次式を用いて血流値および脳血液分配係数の変化が脳の放射能の変化に及ぼす影響を及ぼすかからも示される(図15)。

$$\frac{d(\text{Cb})}{\text{Cb}} = \frac{F \partial \text{Cb}(F, T) dF}{\text{Cb} \partial F F} \quad \dots\dots(7)$$

$$\frac{d(\text{Cb})}{\text{Cb}} = \frac{\lambda \partial \text{Cb}(\lambda, T) d\lambda}{\text{Cb} \partial \lambda \lambda} \quad \dots\dots(8)$$

この結果、脳血液分配係数が保たれば、早期像で高度の集積低下がみられても、晩期像では健常部の放射能とほぼ等しくなり、再分布という現象がみられことがわかる。in vitro オートラジオグラフィにおいて、患側皮質においても IMP の結合が保たれていたのは、この血液脳分配係数がかなりの虚血でも保たれていることを示唆する。言い替えれば、IMP の結合部位はかなりの虚血にも耐えうることが推察される。または、前述のごとく IMP の結合部位は大容量でありそれに対して、通常の IMP の投与量ではそのほんの一部(0.1%未満)しか占拠するにすぎず<sup>42)</sup>、かなり結合

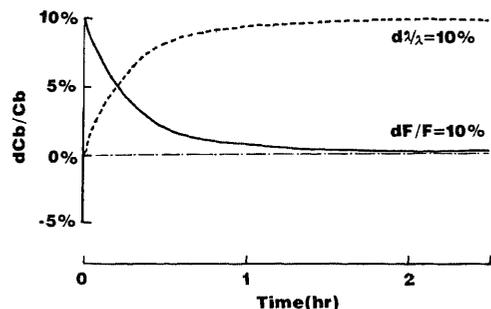


Fig.15. The percent effect of brain activity ( $d\text{Cb}/\text{Cb}$ ) owing to the 10% change in the value of flow ( $dF/F$ , solid line) and the value for  $\lambda$  ( $d\lambda/\lambda$ , dotted line) as a function of time.

部位が破壊されたとしても再分布には影響がないのかもしれない。この虚血時における脳血液分配係数の保持は、晩期オートラジオグラム像では虚血部位において集積低下がみられなかったこと、また図14で示すこの係数を一定とした場合の理論上の再分布と血流値の関連が実際の実験結果と類似したことからも明かである。

以上、実験的脳虚血において IMP の再分布は、糖代謝や蛋白合成能で示される脳代謝情報とは正の相関は認められず、脳機能と直接の関連はみられないことが判明した。IMP の脳の放射能は静注後早期は血流値に依存し、時間が経るにつれ脳血液分配係数に依存するようになる。この脳血液分配係数は虚血時でも殆ど影響を受けないため、再分布という現象が認められることが実験的に確認された。通常の  $^{125}\text{I}$ -IMP 臨床検査において晩期像を撮像する意義は、脳機能を評価することよりも、Matsuda ら<sup>49</sup>の提唱する早期像と晩期像を用いての非侵襲的脳血流評価法などにあると考えられる。

## 結 論

Tamura のラット脳虚血モデルにおいて定量的 3 核種オートラジオグラフィを施行し、IMP の晩期像および再分布を脳代謝と直接比較し以下の結果を得た。

1. IMP の早期像、晩期像、および蛋白合成能像または糖代謝像を得る目的で、 $^{125}\text{I}$ -IMP、 $^{125}\text{I}$ -IMP、 $^3\text{H}$  標識混合アミノ酸または  $^3\text{H}$ -2-デオキシグルコースを用いた。半減期法、化学洗浄法、および核種のエネルギーの差を利用する方法を組み合わせることにより 3 核種個々の像を得ることが可能であった。

2.  $^{125}\text{I}$ -IMP に混入する  $^{125}\text{I}$ -IMP の影響をオートラジオグラムのデジタル処理後の画像演算により除くことにより、純粋な晩期像を得ることが可能となった。

3. 画像処理により再分布指標像を作製し、また統計処理ソフトプログラムを開発して再分布と蛋白合成能を比較検討したところ、患側半球では再分布が良好にも関わらず、蛋白合成能は著明な低下を示した。

4. 再分布と糖代謝を比較検討したところ、糖代謝率が約  $34 \mu\text{mol}/100\text{g}/\text{min}$  で再分布が最高値を示すゆるやかな一峰性の関係を示したが、再分布指標および晩期像と糖代謝率に正の相関は認められなかった。

5. 再分布と血流値を比較検討したところ、血流値が約  $40-50\text{ml}/100\text{g}/\text{min}$  で再分布が最高値を示すなだらかな一峰性の関係を示した。血流値約  $160\text{ml}/100\text{g}/\text{min}$  以上では逆再分布を示した。

6. IMP 投与 2 時間半後、脳ホモジネートを薄層クロマトグラフィにより検討したところ、患側皮質は健側皮質と同一のクロマトグラムを示し、再分布する物質は脂溶性の p-iodoamphetamine と考えられた。

7. *in vitro* オートラジオグラフィを用いて脳組織と IMP の結合能を検討したところ、虚血領域である患側皮質において結合能に低下は認められなかった。

8. 脳の時間放射能曲線をコンピューターにてシミュレーションしたところ、脳血液分配係数が一定とすると、投与数分後では放射能は血流値に比例したが、血流値が  $25\text{ml}/100\text{g}/\text{min}$  以上では IMP 投与後 150 分において放射能に殆ど差異はみられず、再分布という現象を良く説明した。

以上より、IMP の再分布という現象は実験的脳虚血において脳代謝および脳機能を直接反映するものではないということが明らかになった。IMP の脳組織への結合能は高度の虚血においても低下せず、IMP の脳内動態は脳血液分配係数と脳血流値という独立した 2 成分により決定されるものであることが解明された。

## 謝 辞

稿を終えるに臨み、御指導、御校閲を賜りました久田欣一教授に深く感謝いたします。御協力と御支援をいただいた金沢大学アイソトープ総合センター森厚文助教授、柴和弘先生、金沢大学医学部付属病院アイソトープ部、松平正道技師、山田正人技師、河村昌明技師、魚山義則技師、また直接御指導いただいた金沢大学医学部核医学講座松田博史先生ならびに教室員各位、宮川幾代乃文部事務官に深く御礼申し上げます。

IMP を提供下さいました日本メジフィジックス社に感謝いたします。

本研究の一部は、昭和63年度文部省科学研究費、奨励研究(A) (課題番号63770773)、一般研究(A) (課題番号63440040) によったことを付記する。

本論文の要旨は第28回核医学総会(於東京, 1988)にて発表された。

## 文 献

- 1) Winchell, H. S., Baldwin, R. M. & Lin, T. H.: Development of I-123-labeled amines for brain studies: Localization of I-123 iodophenylalkyl amines in rat brain. *J. Nucl. Med.*, **21**, 940-946 (1980).
- 2) Raynaud, C. R., Rancurel, G., Samson, Y., Baron, J. C., Soucy, J. P., Kieffer, E., Cabanis, E., Majdalani, A., Ricard, S., Bardy, A., Bourguignon, Syrota, A. & Lassen, N.: Pathophysiological study of chronic infarcts with I-123 isopropyl iodo-amphetamine (IMP): The importance of

- periinfarct area. *Stroke*, **18**, 21-29 (1987).
- 3) **Tamura, A., Graham, D. I., McCulloch, J. & Teasdale, G. A.**: Focal cerebral ischemia in the rat: description of technique and early neuropathological consequences following middle cerebral occlusion. *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, **1**, 53-60 (1981).
- 4) **Diemer, N. H. & Rosenφrn, J. H.**: Determination of local cerebral blood flow and glucose metabolism or transfer by means of a double autoradiographic method. *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, **1** (Suppl. 1), S72-S73 (1981).
- 5) **隅屋 寿**: ラット脳における N-isopropyl-p-[1-25I] iodoamphetamine と 3H-deoxyglucose を用いた定量的二重標識オートラジオグラフィに関する研究. *十全医会誌*, **96**, 321-337 (1987).
- 6) **飯田素治, 松平正道, 山田正人, 河村昌明**: パーソナルコンピューターを用いた核医学 CRT 診断システムの開発と画像互換. *核医学*, **24**, 1491-1497 (1987).
- 7) **Malik, A. B., Kaplan, J. E. & Saba, T. M.**: Reference sample method for cardiac output and regional blood flow determinations in the rat. *J. Appl. Physiol.*, **40**, 472-475 (1976).
- 8) **Ishise, S., Pegram, B. L., Yamamoto, J., Kitamura, Y. & Frohlich, E.**: Reference sample microsphere method: cardiac output and blood flows in conscious rat. *Am. J. Physiol.*, **239**, H433-H449 (1980).
- 9) **Sokoloff, L., Reivich, M., Kennedy, C., Des-Rosiers, M. H., Patlak, C. S., Pettigrew, K. D., Sakurada, O. & Shinohara, M.**: The [14C] deoxyglucose method for the measurement of local cerebral glucose utilization: theory, procedure, and normal values in the conscious and anesthetized albino rat. *J. Neurochem.*, **28**, 897-916 (1977).
- 10) **Kuhl, D. E., Barrio, J. R., Huang, S. C., Selin, C., Ackermann, R. F., Lear, J. L., Wu, J. L. & Lin, T. H.**: Quantifying local cerebral blood flow by N-isopropyl-p-[123I] iodoamphetamine (IMP) tomography. *J. Nucl. Med.*, **23**, 196-203 (1982).
- 11) **Blasberg, R. G., Gazendam, J., Patlak, C. S., Fenstermacher, J. D.**: Quantitative autoradiographic studies of brain edema and a comparison of multi-isotope autoradiographic techniques. *Adv. Neurol.*, **28**, 255-270 (1980).
- 12) **Friedman, H. R., Bruce, C. J. & Goldman-Rakic, P. S.**: A sequential double-label 14C and 3H-2-DG technique: validation by double-dissociation of functional states. *Exp. Brain Res.*, **66**, 543-554 (1987).
- 13) **Gjedde, A. & Diemer, N. H.**: Double-tracer study of the fine regional blood-brain glucose transfer in the rat by computer-assisted autoradiography. *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, **5**, 282-289 (1985).
- 14) **Ginsberg, M. D., Smith, D. W., Wachtel, M. S., Gonzalez, Carvajal M. & Busto, R.**: Simultaneous determination of local cerebral glucose utilization and blood flow by carbon-14 doublelabel autoradiography: method of procedure and validation studies in the rat. *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, **6**, 273-285 (1986).
- 15) **Lear, J. L., Jones, S. C., Greenberg, J. H. & Fedora, J.**: Use of 123I and 14C in a double radionuclide autoradiographic technique for simultaneous measurement of LCBF and LCMRgl. *Stroke*, **12**, 589-597 (1981).
- 16) **Mies, G., Niebuhr, I. & Hossmann, K. A.**: Simultaneous measurement of blood flow and glucose metabolism by autoradiographic techniques. *Stroke*, **12**, 581-588 (1981).
- 17) **Sako, K., Kato, A., Diksic, M. & Yamamoto, L. Y.**: Use of short-lived 18F and long-lived 14C in double tracer autoradiography for simultaneous measurement of LCBF and LCGU. *Stroke*, **15**, 896-900 (1984).
- 18) **Sako, K., Diksic, M., Kato, A., Yamamoto, L. Y. & Feindel, W.**: Evaluation of [18F]-4-fluoroantipyrine as a new blood flow tracer for multiradionuclide autoradiography. *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, **4**, 259-263 (1984).
- 19) **Obrenovitch, T. P., Clayton, C. B. & Strong, A. J.**: A double-radionuclide autoradiographic method using N-isopropyl-iodoamphetamine for sequential measurements of local cerebral blood flow. *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, **7**, 356-365 (1987).
- 20) **Jones, S. C. & Greenberg, J. H.**: Evaluation of a double-tracer autoradiographic technique for

the measurement of both local cerebral glucose metabolism and local cerebral blood flow. *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, **5**, 335-337 (1985).

- 21) Mies, G., Bodsch, W., Paschen, W. & Hossmann, K. A.: Triple-tracer autoradiography of cerebral bloodflow, glucose utilization, and protein synthesis in rat brain. *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, **6**, 59-70 (1986).
- 22) Lear, J. L.: Quantitative local cerebral blood flow measurements with technetium-99m HM-PAO: evaluation using multiple radionuclide digital quantitative autoradiography. *J. Nucl. Med.*, **29**, 1387-1392 (1988).
- 23) Hossman, K. A., Mies, G., Paschen, W., Csiba, L., Bodsch, W., Rapid, J. R., Le Poncin-Lafitte, M. & Takahishi, K.: Multiparametric imaging of blood flow and metabolism after middle cerebral artery occlusion of cats. *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, **5**, 97-107 (1985).
- 24) Nedergaard, M., Gjedde, A. & Diemer, N. H.: Focal ischemia in the rat brain: autoradiographic determination of cerebral glucose utilization, glucose content, and blood flow. *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, **6**, 414-424 (1986).
- 25) Nakai, H., Diksic, M., Yamamoto, Y. L. & Takara, E.: Triple-tracer autoradiography for simultaneous measurement of LCBF, pHt, and LCGU. *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, **7** (Suppl. 1), S488 (1987).
- 26) Moretti, J. L., Raynaud, C., Askienazy, S., Sergeant, A., Baron, J. C., Samson, Y., Sanabria, E., Lassen, N. & Bourdoiseau, M.: Clinical applications of brain single photon emission tomography with N-isopropyl-p-iodoamphetamine I-123. *Int. Atom. Energ. Agency*, **45**, 489-502 (1987).
- 27) Creutzig, H., Schober, P., Gielow, P., Friedrich, R., Becker, H., Dietz, H. & Hundeshagen, H.: Cerebral dynamics of N-isopropyl-(123I) p-iodoamphetamine. *J. Nucl. Med.*, **27**, 178-183 (1986).
- 28) 東壮太郎, 松田博史, 藤井博之, 二見一也, 橋本正明, 黒田英一, 柏原謙悟, 池田清延, 伊藤治英, 山本信二郎, 久田欣一: N-isopropyl-p-(I-123) iodoamphetamine による虚血性脳血管障害の局所脳血流量と tissue viability の非侵襲的評価. *CT 研究*, **9** (6), 681-689 (1987).
- 29) Nishizawa, S., Yonekura, Y., Tanada, S., Fujita, T., Shibata, T., Kubo, S., Yamamoto, K., Tamaki, N., Saji, H., Ishikawa, M., Fukuyama, H. & Konishi, J.: Value and limitation of early and late SPECT of I-123 IMP in CVD: comparison with PET measurement of cerebral blood flow and oxygen metabolism. *J. Nucl. Med.*, **29** (Suppl. 428), 844 (1988).
- 30) Pardridge, W. M. & Oldendorf, W. H.: Kinetic analysis of blood-brain barrier transport of amino acids. *Biochem. Biophys. Acta.*, **401**, 128-136 (1975).
- 31) Pardridge, W. M.: Kinetics of competitive inhibition of neutral amino acid transport across the blood-brain barrier. *J. Neurochem.*, **28**, 103-108 (1977).
- 32) Ferioli, M. E., Schiaffonati, L. & Scalabrino, G.: Relationship between polyamine metabolism and RNA synthesis in postischemic liver cell repair. *J. cell Physiol.*, **103**, 121-128 (1980).
- 33) Bodsch, W., Barbier, A., Oehmichen, M., Ophoff, B. G. & Hossmann, K. A.: Recovery of monkey brain after prolonged ischemia. II. Protein synthesis and morphological alterations. *J. Neurochem.*, **6**, 22-23 (1986).
- 34) Dienel, G. A., Pulsinelli, W. A. & Duffy, T. E.: Regional protein synthesis in rat brain following acute hemispheric ischemia. *J. Neurochem.*, **35** (5), 1216-1226 (1980).
- 35) Dienel, G. D., Cruz, N. C. & Rosenfeld, S. J.: Temporal profiles of proteins responsive to transient ischemia. *J. Neurochem.*, **44**, 600-610 (1985).
- 36) Belleruche, J. S. & Bradford, H. F.: Presynaptic control of synthesis and release of dopamine from striatal synaptosomes: a comparison between the effects 5-hydroxytryptamine, acetylcholine, and glutamate. *J. Neurochem.*, **35** (5), 1227-1234 (1980).
- 37) 五味楨太郎: 一過性脳虚血後の脳グルコース代謝異常と経時的変化. *脳卒中*, **8**, 417-424 (1986).
- 38) 石原直毅: 一側半球脳虚血急性期の対側半球血流・代謝異常について. *脳卒中*, **6**, 500-509 (1984).
- 39) Kung, H. F. & Blau, M.: Regional intracellular pH shift: a proposal new mechanism for radiopharmaceutical uptake in brain and other

- tissues. *J. Nucl. Med.*, **21**, 147-152 (1980).
- 40) **Kung, H. F., Tramposch, K. M. & Blau, M.**: A new brain perfusion imaging agent: (I-123) HIPDM: N, N, N'-trimethyl-N'-(2-hydroxy-3-methyl-5-iodobenzyl)-1, 3-propanediamine. *J. Nucl. Med.*, **24**, 66-72 (1983).
- 41) **Rapin, J. R., Poncin-Lafitte, M., Duterte, D., Rips, R., Morier, E. & Lassen, N. A.**: Iodoamphetamine as a new tracer local cerebral blood flow in the rat: comparison with isopropyl-iodoamphetamine. *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, **4**, 270-274 (1984).
- 42) **Winchell, H. S., Horst, W. D., Braun, L., Oldendorf, R. & Parker, H.**: N-isopropyl-[123I]-p-iodoamphetamine: single-pass brain uptake and washout; binding to brain synaptosomes; and localization in dog and monkey brain. *J. Nucl. Med.*, **21**, 947-952 (1980).
- 43) **森 厚文, 柴 和弘, 辻 志郎, 松田博史, 久田 欣一**: N-isopropyl-p- [125I]- Iodoamphetamine のラット脳における結合部位および細胞下分布. *核医学*, **23**, 1585-1594 (1986).
- 44) 放射性医薬品・局所脳血流診断薬パービューザミン注 (1986).
- 45) **Matsuda, H., Higashi, S., Tsuji, S., Seki, H., Sumiya, H., Fujii, H., Oba, H., Terada, H., Imai, K., Tonami, N. & Hisada, K.**: A new noninvasive quantitative assessment of cerebral blood flow using N-isopropyl-(iodine 123) p-iodoamphetamine. *Amer. J. of phy. imag.*, **2**, 49-55 (1987).

**Studies on So-called Redistribution Phenomenon of Cerebral Blood Flow Imaging** Hiroshi Oba, Department of Nuclear Medicine, School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920—*J. J. J. Med. Soc.*, **98**, 336—350 (1989)

**Key words** N-isopropyl-p-[<sup>123</sup>I or <sup>125</sup>I] iodoamphetamine, <sup>3</sup>H-amino acid mixture, <sup>3</sup>H-2-deoxyglucose, redistribution phenomenon, triple-radionuclide autoradiography

#### Abstract

So-called redistribution phenomenon of N-isopropyl-p-[<sup>123</sup>I]iodoamphetamine (<sup>123</sup>I-IMP) indicates that focal decreased activities in early images 20 to 30 min. after injection are filled-in in late images at 3 to 5 hours later. To elucidate the hitherto unclear relationship between this phenomenon and metabolism or viability of brain tissue, a new quantitative triple-radionuclide autoradiography was developed, which made it possible to directly compare late images and redistribution of IMP with cerebral metabolism in unilateral experimental brain ischemia in rats of Tamura's model. The tracers of <sup>123</sup>I-IMP, <sup>125</sup>I-IMP, and <sup>3</sup>H-amino acid mixture or <sup>3</sup>H-2-deoxyglucose were used to obtain early and late images of IMP, and protein synthesis or glucose metabolism images, respectively. To obtain an independent image of each radionuclide or each tracer, combinations of multiple radionuclide techniques were used which depend different half-lives of the radionuclides, different energies of the radionuclide emission, or chemical differences between the tracers. Pure late images were obtained using a subtraction method after digital processing of autoradiograms to remove the influence of <sup>123</sup>I-IMP originally included in <sup>123</sup>I-IMP. Furthermore, a functional image of redistribution index was established. A software program was newly developed for statistically analyzing the relationship between redistribution index and protein synthesis or glucose metabolism. There was no significant relationship between them. Protein synthesis was remarkably decreased in the affected

hemisphere regardless of redistribution index values. Although the redistribution indexes showed a gentle peak at approximately  $34 \mu \text{mol}/100\text{g}/\text{min}$  of glucose metabolism, there was no obvious relationship between late images or redistribution index images and glucose metabolism images. On the other hand, redistribution indexes showed a maximum value at approximately 40 to 50 ml/100g/min of cerebral blood flow. Reverse redistribution was observed above approximately 160 ml/100g/min of flow. Thin layer chromatography using brain tissue homogenate revealed similar chromatograms in the affected and nonaffected hemispheres. This suggested that a lipophilic IMP metabolite of p-iodoamphetamine was redistributed in the affected hemisphere. In vitro autoradiography for evaluating binding of IMP to brain tissue disclosed no significant reduction of binding ability in the affected ischemic cortex. In a computer simulation study of brain time activity curve, brain activity at 150 min postinjection showed almost the same values above 25 ml/100g/min of flow in the condition of the fixed brain to blood partition coefficient. The results suggest that redistribution phenomenon of IMP has no significant relation to brain metabolism and brain function. Kinetics of IMP in brain could be determined by two independent factors of the brain to blood partition coefficient and flow. Binding ability of IMP to brain tissue is considered to be not vulnerable even in the severe ischemic condition.