

# ポジトロン CT を用いた心・肺受容体の In Vivo における画像評価

瀬戸 幹人

(金沢大学核医学科)

### I. はじめに

In vivo receptor binding study のために開発された radioligand が臨床応用されるようになるためには、そのリガンドの in vivo における特異的受容体結合を、犬などを用いた基礎的 PET study によって証明しておく必要がある。その基礎的 PET study の種類としては、① control kinetic study, ② displacement study, ③ pre-saturation study, ④ saturation study が挙げられる。筆者はフレデリック・ジョリオ病院において心・肺受容体のレセプターマッピングを実際に研究する機会を得たので、犬心筋ベータアドレナリン受容体の  $^{11}\text{C}$ -CGP12177 を用いた実際の解析例を中心として、上記の基礎的 PET study を紹介する。

### II. 心筋ベータアドレナリン受容体解析の今昔

In vitro においては、 $^3\text{H}$ -CGP12177,  $^3\text{H}$ -dihydroalprenolol (DHA), あるいは  $^{125}\text{I}$ -iodopindolol を用いてベータアドレナリン受容体の測定とその臨床応用の可能性が報告されている。しかしながら in vitro 受容体結合試験の問題点として、①受容体に対する親和性とそのアゴニストやアンタゴニストの薬理作用との関連を示すのが困難であること、②生理的神経支配下での受容体と in vitro での受容体結合状態とは挙動が異なること、③ in vivo における臓器とホモジェネートではノルアドレナリン結合部位の結合性が異なる点が挙げられる。

In vivo における  $^{11}\text{C}$  標識リガンドとポジトロン CT を用いたベータアドレナリン受容体マッピングは、 $^{11}\text{C}$ -propranolol,  $^{11}\text{C}$ -practolol,  $^{11}\text{C}$ -pindolol を用いて試みられた。しかしながら propranolol および pindolol は、脂肪親和性のために肺への集積が高いこと、および受容体の関与なしに細胞膜の脂肪層を自由に通過して膜表面から細胞内 vesicle へ移動した "desensitized receptor" とも結合するために、機能的に活性化した受容体のみを測定できるわけではない。一方 practolol は親水性であるという長所はあるものの親和性が低く ( $K_d=110$  nmol)、レセプターマッピングに適したリガンド

ではなかった。

CGP12177 は親水度が極めて高く、親和性が高く ( $K_d=0.3$  nmol)、非特異的結合がほとんどなく、細胞内への取り込みもない優れたリガンドであることが in vitro で報告されている。よって CGP12177 は機能的に活性化している細胞表面のベータアドレナリン受容体を、PET による体外計測で解析するには理想的なリガンドであると言える。

### III. $^{11}\text{C}$ -CGP12177 を用いた犬心筋ベータアドレナリン受容体解析の実験

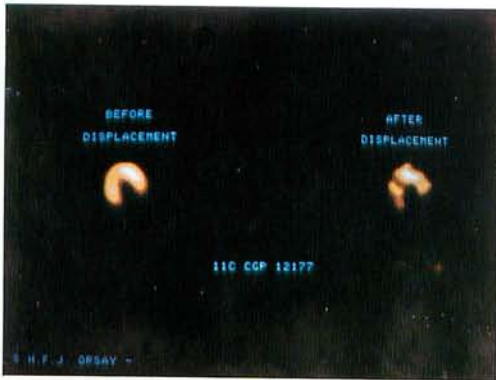
1) PET イメージによる  $^{11}\text{C}$ -CGP12177 の分布

$^{11}\text{C}$ -CGP12177 (6.2 mCi, 913 mCi/ $\mu$ mol, 0.6 nmol/kg) 静注 5 分後の PET スキャンでは、心筋が明瞭に描出されており、ベータアドレナリン受容体の心筋における局在分布を示している。右室および肺は描出されていない (図 1, 左)。Radioligand 静注 25 分後に過剰量の非標識 CGP (25 nmol/kg) を急速静注したところ、その 30 分後に得られた PET スキャンでは心筋における放射能の低下を認め、同一結合部位を求めて競合する非標識 CGP による  $^{11}\text{C}$ -CGP の結合阻害 (displacement) を示している (図 1, 右)。

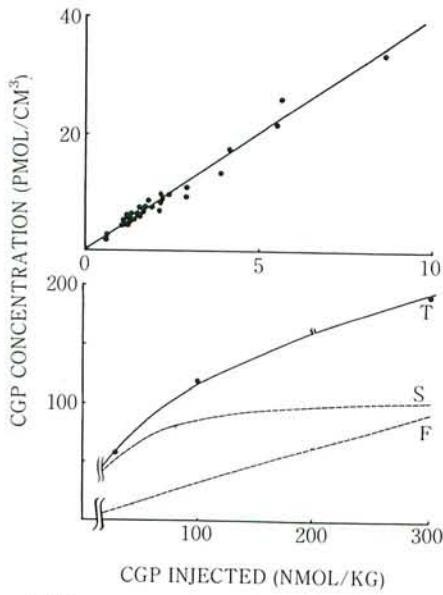
2)  $^{11}\text{C}$ -CGP12177 の時間-放射能曲線のパターン

Control kinetic study では、高比放射能 (約 900 mCi/ $\mu$ mol) の  $^{11}\text{C}$ -CGP12177 のボーラス静注後数分内で、トレーサの血中濃度は非常に低値となっている (図 2,  $\Delta$ --- $\Delta$ )。一方トレーサの心筋濃度は約 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、その後緩やかにわずかに低下している (図 2,  $\bigcirc$ --- $\bigcirc$ )。本例の如く control kinetic study において臓器のトレーサ濃度のプラトーが得られることは、その受容体リガンドの親和性と特異的結合性を裏付ける第 1 条件である。

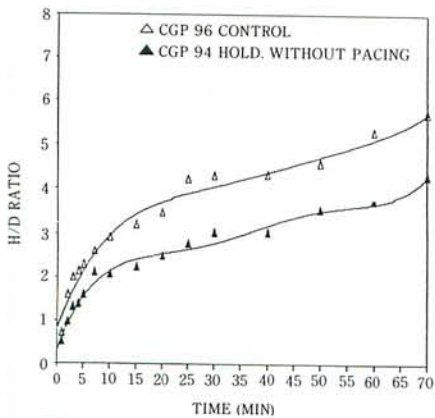
同じ犬を用いた別実験では、radioligand 静注 25



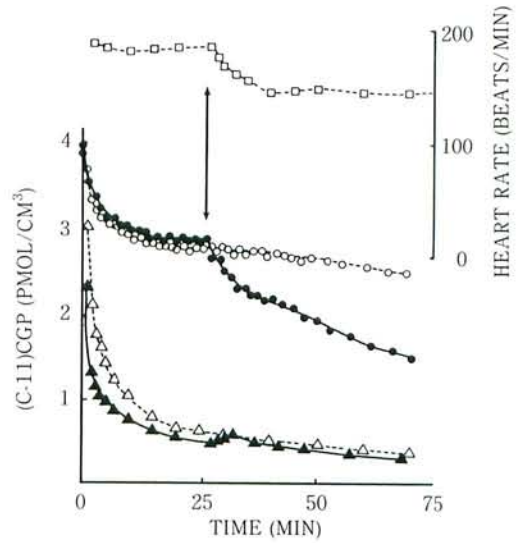
▲ □ 1



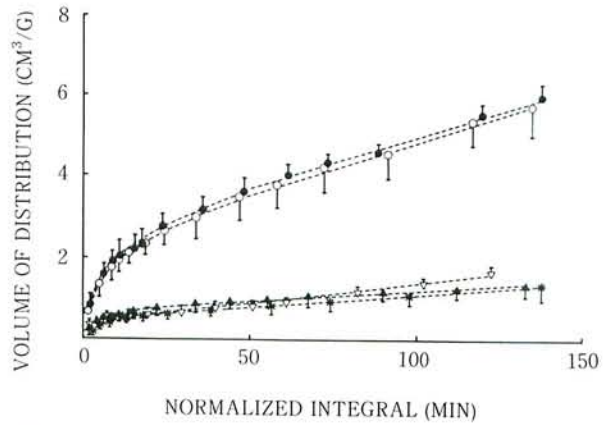
▲ □ 3



▲ □ 5



▲ □ 2



▲ □ 4

分後に大量の非標識 CGP (25nmol/kg) を急速静注したところ (displacement study)、同一結合部位を争っての標識リガンドと非標識リガンドとの競合の結果、 $^{11}\text{C}$ -CGP12177 の心筋濃度は急速に低下した (図 2, ●—●)。非標識 CGP の注射によって心拍数も同様に急速に低下し、CGP の薬理作用と radioligand の結合阻害とは同調して出現した (図 2, □---□)。Displacement study における displacement の出現と、アンタゴニストによる薬理作用と displacement との相関を認めることは、そのリガンドの特異的受容体結合性を裏付ける第 2 条件である。

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

各実験における pmol/cm<sup>2</sup> で表わされた心筋の CGP 集積濃度を様々な量の静注された CGP 量に対する function としてプロットした。CGP 静注量が 10nmol/kg 以下の場合、心筋の CGP 濃度は投与量に比例した (図 3, 上), ( $y = 4.04x - 0.52$ ,  $r = 0.966$ )。この回帰直線の傾きは心拍出量に対する心筋血流量の比を反映しており、その値  $4.04 \times 10^{-3}$  は、Seroussi らの犬を用いた直接法による測定値  $8.5 \times 10^{-3}$  よりやや少なめであった。

CGP 投与量が 10nmol/kg を越えさらに大量となっても心筋濃度は増加し続け、典型的な hyperlole function の如きプラトーに近い状態は得られなかった (図 3, 下, T)。これは CGP のベータアドレナリン受容体への特異的結合に相当する分画だけでなく、血中 CGP に相当する分画と非特異的結合に相当する分画とを、PET では各分画を包含して検出しているからであり、特異的受容体結合とその他の分画とを PET によって区別することは不可能であった。筆者らは血中リガンド濃度と非特異的受容体結合は CGP 投与量に比例して増加する事実より、それらの相当分として  $p \times q_0$  の項を hyperlole function に追加する以下の式の如き “modified hyperlole function” を考察した。

$$C = B_{\max} \times q_0 / (k_d' + q_0) + p \times q_0$$

ここで C は PET によって検出された心における CGP 総濃度、 $B_{\max}$  は心筋のベータアドレナリン受容体最高密度、 $k_d'$  は  $^{11}\text{C}$ -CGP12177 の in vivo における平衡定数、 $q_0$  は静注されたリガンド量、および p は血中 CGP 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 量に比例して増加する傾きである。この “modified hyperlole function” を用いた fitting によって、犬心筋にお

けるベータアドレナリン受容体密度 ( $B_{\max}$ ) は  $113 \text{ pmol/cm}^3$  と求められた (図 3, 下)。ちなみに  $^3\text{H}$ -DHA を用いた in vitro 測定では、犬心筋の  $B_{\max}$  は  $311 \text{ pmol/g}$  であったと報告されている。

4) 非標識アンタゴニストによってあらかじめ占拠されたベータアドレナリン受容体の解析 (pre-saturation study)。

$^{11}\text{C}$ -CGP12177 静注 10 分前に、30nmol/kg の非標識 CGP, 400nmol/kg のピンドロール、および 2,000nmol/kg のプロプラノロールを各々 2 例に投与して、radioligand 集積抑制の程度を、クラーレによる筋弛緩群およびペントバルビタールによる麻酔群の control kinetic study と比較した。図 4 における縦軸の “Volume of Distribution” は心筋と血中の radioligand の濃度比であり、横軸の “Normalized Integral” は血中 radioligand 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指標 ( $\theta = \int_0^T C(t) dt / C(T)$ ) である。Volume of Distribution ( $M(\theta) / C(\theta)$ ) を Normalized Integral ( $\theta$ ) の次式の如き関数で表わした。

$$M(\theta) / C(\theta) = P_1 (1 - e^{-p_2 \theta}) + P_3 \theta$$

ここで各群カーブを本式に fitting し、式後半部の直線成分の傾きである  $P_3$  を求め、pre-saturation 各群と control kinetic study とで比較した。麻酔群コントロールの心拍数 ( $129.4 \pm 27.8$ ) は筋弛緩群コントロールのそれ ( $196.7 \pm 8.5$ ) に比して有意に低く、即ち冠血流量が少ないにもかかわらず、 $^{11}\text{C}$ -CGP12177 のベータアドレナリン受容体結合のカーブ (●---●) 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、その直線部分の傾き  $P_3$  は有意差を認めなかった (図 4, 表 1)。一方非標識 CGP (米---米), ピンドロール (▲---▲), およびプロプラノロール (▽---▽) による pre-saturation study における受容体結合のカーブはコントロールに比して有意に低くなり、その直線部分の傾き  $P_3$  は有意に低かった (図 4, 表 1)。

5)  $^{11}\text{C}$ -CGP12177 と PET を用いたベータアドレナリン受容体解析の臨床応用

生検によるヒトまたは犬心筋、あるいはラット心筋のホモジェネートを用いた in vitro 受容体結合試験によって、たとえばアゴニストあるいはアンタゴニスト長期治療例の “down or up regulation”, 急性心筋虚血時の受容体密度変化、体力トレーニングによる徐脈の一因としてのベータアドレナリ

ン受容体密度低下などが報告されているが、これらは in vivo では未だ証明されてはいない。

In vivo においては Maze らはハロセン麻酔時のベータアドレナリン受容体変化を報告した。すなわちハロセンには従来よりベータアドレナリン受容体の薬理作用を鈍化させる効果があると言われており、その効果は膜表面の受容体密度を低下させるのかあるいは細胞内の薬理作用発現過程を阻害するのか不明であった。6例の犬を用いて  $^{11}\text{C}$ -CGP12177 による PET study を行なったところ、radioligand 静注後70分の volume of distribution (radioligand の心筋と血中の濃度比) はコントロール群が  $5.82 \pm 0.50$  (n=6) に対してハロセン麻酔  $4.65 \pm 0.69$  (n=6) と受容体密度は有意に低下していることが判明した。図5はその1例であり、 $\triangle$ — $\triangle$ はコントロール、 $\blacktriangle$ — $\blacktriangle$ は同一犬のハロセン麻酔例における心筋と血中の radioligand 濃度比 (volume of distribution) の経時的変化である。

#### Ⅳ. おわりに

$^{11}\text{C}$ -CGP12177 と PET を用いたベータアドレナリン受容体解析は、今後ヒトにおける心筋虚血や心筋症のみならず種々の心臓病態解明に有用になるであろうと期待できる。今後の受容体リガンド開発は、 $^3\text{H}$  や  $^{125}\text{I}$  標識の既存受容体リガンドの  $^{11}\text{C}$  標識化だけでなく、たとえば  $^{123}\text{I}$  標識受容体リガンドが多数開発されて一般検査にまで普及できる時代の到来が待望される。

#### 文 献

1. Seto M, Syrota A, Crouzel C, et al : Beta adrenergic receptors in the dog heart characterized by  $^{11}\text{C}$ -CGP12177 and PET. J Nucl Med 27 : 949, 1986.
2. Maze M, Marty J, Seto M, et al : Myocardial beta-adrenoceptor density is decreased by halothane in dogs as assessed by positron emission tomography. Anesthesiology : in press.

Pre-saturation with unlabeled CGP, Pindolol, and Propranolol

Experiments	Heart rate at the time of ( $^{11}\text{C}$ ) CGP injection (beats/min)	Slope of volume of distribution as a function of normalized integral ( $10^{-2} \text{ cm}^3/\text{g} \cdot \text{min}$ )
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 CGP (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)	∞∞∞∞ $113.0 \pm 15.0$	§§§§§ $0.73 \pm 0.11$

§ vs §§ N. S., § vs §§§, § vs §§§§, § vs §§§§§ p < 0.05  
 ∞ vs ∞∞, ∞ vs ∞∞∞, ∞ vs ∞∞∞∞ p < 0.05

▲表1