

分子イメージング先端研究センター 動物イメージング研究部門

1 構 成 員

	平成22年3月31日現在
教授	7人
准教授	3人
講師（うち病院籍）	0人（0人）
助教（うち病院籍）	0人（0人）
助手（うち病院籍）	0人（0人）
特任教員（特任教授，特任准教授，特任助教を含む）	3人
医員	0人
研修医	0人
特任研究員	0人
大学院学生（うち他講座から）	0人（0人）
研究生	0人
外国人客員研究員	0人
技術職員（教務職員を含む）	0人
その他（技術補佐員等）	0人
合 計	13人

2 教員の異動状況

間賀田泰寛（教授（兼））	H19. 1. 1～現職
梅村 和夫（教授（兼））	H19. 1. 1～現職
難波 宏樹（教授（兼））	H19. 1. 1～現職
渡辺 恭良（客員教授）	H19. 3. 1～現職
鈴木 正昭（客員教授）	H19. 3. 1～現職
尾上 浩隆（客員教授）	H19. 3. 1～現職
塚田 秀夫（客員教授）	H19. 3. 1～現職
和田 康弘（客員准教授）	H19. 3. 1～現職
土居 久志（客員准教授）	H19. 3. 1～現職
高松 宏幸（客員准教授）	H19. 3. 1～現職
外村 和也（特任助教）	H19. 1. 1～現職
金 勇豹（特任助教）	H19. 1. 1～H19. 3. 31
山口 博司（特任助教）	H19. 4. 1～現職
方 欣（特任助教）	H20. 4. 1～現職

3 研究業績

数字は小数2位まで。

	平成21年度
(1) 原著論文数 (うち邦文のもの)	4編 (0編)
そのインパクトファクターの合計	11.22
(2) 論文形式のプロシーディングズ数	0編
(3) 総説数 (うち邦文のもの)	0編 (0編)
そのインパクトファクターの合計	0.00
(4) 著書数 (うち邦文のもの)	0編 (0編)
(5) 症例報告数 (うち邦文のもの)	0編 (0編)
そのインパクトファクターの合計	0.00

(1) 原著論文 (当該教室所属の者に下線)

A. 筆頭著者が浜松医科大学の当該教室に所属していたもの (兼任、客員を除く)

1. Hokamura K*, Inaba H*, Nakano K*, Nomura R, Yoshioka H, Taniguchi K, Ooshima T, Wada K*, Amano A, Umemura K: Molecular analysis of aortic intimal hyperplasia caused by *Porphyromonas gingivalis* infection in mice with endothelial damage. J Periodontal Res 2009 (*equal contribution)

インパクトファクターの小計 [1.996]

B. 筆頭著者が浜松医科大学の他教室に所属し、共著者が当該教室に所属していたもの (学内の共同研究) (兼任、客員を除く)

1. Min Thura, Hokamura K, Yamamoto S, Maeda M, Furuta K, Suzuki M, Ibaraki K, Umemura K: GIF-0173 protects against cerebral infarction through DP1 receptor activation. Exp Neurology 219: 481-91, 2009
2. Sun W, Sugiyama S, Fang X, Yamaguchi H, Akamine S, Magata Y, Namba H. Different striatal D2-like receptor function in an early stage after unilateral striatal lesion and medial forebrain bundle lesion in rats. Brain Res 1317: 227-235, 2010
3. Fuchigami T, Haradahira T, Fujimoto N, Nojiri Y, Mukai T, Yamamoto F, Okauchi T, Maeda J, Suzuki K, Suhara T, Yamaguchi H, Ogawa M, Magata Y, Maeda M Development of N-[11C]methylamino 4-hydroxy-2 (1H) -quinolone derivatives as PET radioligands for the glycine-binding site of NMDA receptors. Bioorg Med Chem. 17: 5665-5675, 2009

インパクトファクターの小計 [9.226]

4 特許等の出願状況

	平成21年度
特許取得数 (出願中含む)	1件

1. 高病原性口腔内細菌の高感度検出法

5 医学研究費取得状況

	平成21年度
(1) 文部科学省科学研究費	2件 (2643万円)
(2) 厚生労働科学研究費	0件 (0万円)
(3) 他政府機関による研究助成	0件 (0万円)
(4) 財団助成金	0件 (0万円)
(5) 受託研究または共同研究	0件 (0万円)
(6) 奨学寄附金その他(民間より)	0件 (0万円)

(1) 文部科学省科学研究費

1. 外村和也, 代表 基盤研究B 継続 歯周病菌による脳梗塞増悪のメカニズム解明 143万円
2. 間賀田泰寛, 梅村和夫, 外村和也, 山口博司, 方欣 他 霊長類を中心とした疾患モデル動物を用いた分子イメージング研究に係る人材育成、文部科学省「分子イメージング研究プログラム」に関する高度専門人材育成事業、分担(代表 寺川進), 事業総計2500万円

7 学会活動

	国際学会	国内学会
(1) 特別講演・招待講演回数	0件	0件
(2) シンポジウム発表数	0件	2件
(3) 学会座長回数	0件	0件
(4) 学会開催回数	0件	0件
(5) 学会役員等回数	0件	0件
(6) 一般演題発表数	1件	

(1) 国際学会等開催・参加

5) 一般発表

ポスター発表

1. K. Hokamura, M. Thura, S. Yamamoto, H. Koyama, M. Suzuki, K. Umemurai: Neuroprotective effects of ginkgolide B in rat acute cerebral ischemia model, Neuroscience 2009, 2009. 10. 17, Chicago (USA)

(2) 国内学会の開催・参加

3) シンポジウム発表

1. 梅村和夫, 外村和也, 歯周病菌は血管肥厚を増悪する: 動物モデルから培養細胞まで, 薬理学会年会(横浜) 2009
2. 外村和也, 山口博司, 杉山憲嗣, 方欣, 難波宏樹, 梅村和夫, 間賀田泰寛, 分子イメージングプログラムにおける研究成果, 分子イメージング研究シンポジウム(東京) 2010

8 学術雑誌の編集への貢献

	国内	外国
学術雑誌編集数（レフリー数は除く）	0件	0件

9 共同研究の実施状況

	平成21年度
(1) 国際共同研究	0件
(2) 国内共同研究	3件
(3) 学内共同研究	0件

(2) 国内共同研究

和田孝一郎（大阪大学歯学部）口腔内細菌による動脈硬化発症及び脳出血のメカニズム解明

鈴木正昭（理化学研究所）脳梗塞急性期治療薬の開発

尾上浩隆（理化学研究所）サルパーキンソン氏病モデルの開発とPETによる機能評価

10 産学共同研究

	平成21年度
産学共同研究	0件

12 研究プロジェクト及びこの期間中の研究成果概要

1. 脳保護作用を持つ化合物の評価

①シクロペンテノン型プロスタグランジンシクロペンテノン型プロスタグランジンA1/J2の誘導体であるGIF0173の保護作用およびメカニズム解明を行った。ラット脳梗塞モデルにおいて効果が認められたGIF0173の作用は脳血流の改善ではなく、脳神経細胞へ直接作用していること明らかとなった。またGIF0173の作用機序はDP1受容体を介したものであり、小胞体のカルシウム貯留に関与していることが示唆された。

②プロスタサイクリン誘導体プロスタサイクリン誘導体の脳保護作用について検討を行ったところ、スルホンアミド構造を持つGIF0567が強い脳保護作用を持つ化合物であることがわかった。現在はGIF0567をPETトレーサーとして合成し、脳内イメージを検討している。

③ギンコライド誘導体銀杏の葉由来のギンコライドBを用い、脳梗塞急性期の保護作用について検討を行った。in vivo脳梗塞モデルにおいてギンコライドBは用量依存的に脳梗塞サイズを減少させ、また脳梗塞後の麻痺症状も同様に改善した。初代脳神経細胞を用いた実験では、ギンコライドはグルタミン酸刺激による細胞内へのカルシウム流入を用量依存的に抑制した。しかしNMDAおよびAMPAによる細胞内へのカルシウム流入をギンコライドBは抑制しなかった。これらの結果よりギンコライドBはカルシウムチャネルや細胞内のカルシウム貯蔵に関与し、細胞保護効果を示している可能性が示唆された。

2. パーキンソン氏病モデルラットを用いたバイオアッセイによるドパミンD₂受容体の変化

我々は6-OHDAを用いてラットパーキンソン氏病モデルを作成しているが、本モデルには線状体

に6-OHDAを注入するモデルとMFBに注入するモデルが存在する。従来これら2つのモデルの差異は単に黒質でのドパミンニューロンの破壊度の違いと考えられていた。我々はこれらの2種類のパーキンソン病モデルにおいて、 $[^{11}\text{C}]$ CFTによるドパミントランスポーター活性、 $[^{11}\text{C}]$ Racloprideによるドパミン D_2 受容体結合能を測定した。すると、 $[^{11}\text{C}]$ CFTでは両モデルともにドパミンニューロンの減少に伴ったドパミントランスポーター活性の低下が認められたが、 $[^{11}\text{C}]$ Racloprideによる D_2 受容体結合能は、線状体への6-OHDA注入モデルでは正常に比して低下、MFBへの注入モデルでは上昇と、全く正反対の結果が得られた。そして本年度、6ヶ月後には、このupregulationが低下してくることが分かった。パーキンソン病でも初期には D_2 受容体がupregulationし、続いてパーキンソン病の進行に伴って低下する事が報告されており、MFBへの6-OHDA注入モデルはよりパーキンソン病に近い動物モデルであり、線状体への6-OHDA注入モデルはパーキンソン症候群により近いモデルであることが明らかとなった。

3. パーキンソン氏病モデルサルを用いた、視床下核脳深部刺激の効果

我々はさらに、MPTPを用いたサルのパーキンソン氏病モデルを作成し、視床下核脳深部刺激を施行し、昨年まではその行動判定法を確立したが、本年度はそのうちの1頭を用いて、 $[^{11}\text{C}]$ MNPAを用いて、視床下核刺激および手の運動を付加した際の基底核での D_2 受容体の結合能の変化を測定した。その結果、基底核では、上記の付加を行った場合も特に D_2 受容体の結合能に変化がなく、同部でドパミンの放出は行われていないものと推察された。また H_2 $[^{15}\text{O}]$ を用いて、有効刺激である高頻度刺激(145 Hz)の刺激を与えた場合と、非有効刺激である低頻度刺激(30 Hz)を与えた場合の脳賦活部位の違いを見た。その結果、尾状核、前頭葉外側部などが賦活される傾向にあることが分かった。

4. パーキンソン氏病患者に対する脳深部電気刺激療法

パーキンソン氏病に対する治療は、従来よりL-dopaを中心に行われているが、罹病期間の長い重度のパーキンソン氏病患者ではL-dopaに対する抵抗性が出現し、さらにwearing off, on-offやdyskinesiaなどの副作用が報告されるようになった。このような重度のパーキンソン氏病患者に対し、視床、淡蒼球、視床下核などの脳深部構造を電気刺激することによって症状の改善を測るのが本プロジェクトの目的である。特に視床下核はパーキンソンモデルによる動物実験でもhyperactiveとなっていることが報告されており、同部の高頻度刺激によって活動が抑制され、電気刺激によりパーキンソン症状が改善することが期待された。先年に引き続き、今年度も症例数を重ね脳深部刺激施行後、6年以上経過した患者が24名となった。これらの患者の中で、現在もADLの保たれているグループとADLの保たれていないグループが存在し、これら2グループの比較検討を今年度も継続した。前年度に両グループ間でパーキンソン症状の重度の時期(off時)のUPDRS(Unified Parkinson's Disease Rating Scale)は統計的に有意差がないものの、ADLの良好なグループでは、術前からパーキンソン症状の軽度な時期(on時)のUPDRSがADL不良グループと比して統計的に有意に良好であることが判明し、さらに長期経過観察グループでは固縮、振戦などの症状に比して歩行・姿勢障害が再出現しやすいことを報告したが、さらに言語機能において、dysphoniaや構語障害など、3年を経過すると約76%の患者に何らかの言語機能の障害が出現する

ことが確認された。これらの結果から、視床下核深部刺激術は、いわゆるドーパミン系運動症状と言われる固縮、振戦、寡動には11年たっても有効であるが、いわゆる非ドーパミン系運動症状と言われる中軸症状である歩行・姿勢障害、言語機能には長期的には有効性に乏しく、また非運動症状にも効果がないことが判明した。

5. 動物用PET/SPECT/CTを用いる小動物イメージング法の確立とその利用

平成18年9月に本学RI実験施設内に米国GMI (Gamma Medica Idea) 社製動物用PET/SPECT/CT装置が導入された。本装置は一つの筐体内にPET, SPECT, CT装置を内蔵するものであり、小動物を中心として放射性薬剤の体内・脳内動態を測定出来ると共に、各モダリティの画像をコンピュータ上で融合画像として表示できるものである。これまで本装置を用いる種々の生理学的、病態機能分析学的研究を実施してきた。このようなインビボイメージング手法の特徴は個体を生かしたまま各種機能イメージングを可能とすることであり、同一個体を経時的に追跡する研究プロトコルを計画することが重要である。しかしながら、画像評価のみならず、定量的評価を行うためには通常動脈血液採取が必要であるが、日単位での長期追跡には動脈採血をすることなく、定量的あるいは半定量的評価を可能とすることが重要である。平成21年度はこうした観点から、ニコチン慢性投与時における中枢機能変化の追跡を目的として、ラットを用いた糖代謝機能変化に関する検討を行った。無採血による半定量法の確立のため、定量値との比較検討を行ったところ、投与量補正した脳内取り込み値に血糖値を加味することで、定量値と良い相関を示すことが示された。これを基礎として2週間のニコチン慢性投与モデル作成過程における脳糖代謝の経時変化について検討を行ったところ、初期に一旦増加し、その後低下して、2週間後にはコントロール群に比べて低下することが示された。また、2週間後に脳を取り出し、ニコチン受容体アッセイを行ったところ、コントロール群に比較して増加しており、内在性アセチルコリンによる刺激では糖代謝からみた活動度が上がらなくなるものと考えられた。さらに、SPECT装置とPET装置が一つの筐体内にあることを利用して、PETおよびSPECTが連続的に収集可能であることをこれまでに示してきた。I-125を核種として用いてSPECT撮像を行う場合には先にI-125によるSPECTデータ収集後に、引き続きPETイメージングプローブを投与してPET撮像が可能であり、また、I-125以外の低～中エネルギーのガンマ線を放出する核種を用いるSPECT撮像の場合には、先にPETデータ収集を行い、その後SPECTイメージングプローブを投与してSPECT撮像を行うことでデータ収集が可能であることを示した。これにより、異なる生体機能情報を個体の状態が変化しないような短時間内に連続的に評価可能となる。このことを用いて新規に開発されたI-125標識EGFR-TKイメージング剤の有用性に関する検討を行い、分子標的がん治療薬の患者適用への有用性について、通常がん診断に用いられるPETイメージングプローブであるF-18-FDGと比較した。その結果、I-125標識イメージング剤はFDGとは異なる情報を与えることが示され、分子標的治療薬による治療効果の高い腫瘍系ほど、インビボでのI-125標識イメージング剤が高く取り込まれることが示された。今後実際の治療効果との相関を追跡する必要があるが、個人情報である遺伝子検索を行うことなく、簡便に適用患者の鑑別が可能となるものと考えられる。また、今回はEGFR-TKを標的とする治療薬の効果予測であったが、本法はこれからさらに多くなると考えられる分子標的治療薬全体に対して広く適用可能な技術であると考えられた。

13 この期間中の特筆すべき業績、新技術の開発

1. 近年、様々な全身疾患に口腔内細菌が関与することが指摘されている。しかし、どのような口腔内細菌が心筋梗塞や脳出血といった致命的な疾患に関与するかを検出・特定することは困難である。そこで、脳出血など重篤な傷害の原因となる口腔内細菌を簡易にスクリーニングできる方法を開発した。
2. パーキンソン氏病モデルラットでドパミンD₂受容体の変化をバイオアッセイ、行動評価、PETの三者で検討した報告は、我々が文献を渉猟出来た限りにおいて、最初の報告であった。これらの結果から、MFBの6-OHDA注入モデルの方が、よりパーキンソン病に近いモデルであることが確認された。今後は同一個体でのドパミンD₂受容体の変化を経時的に観察、測定してゆく予定である。
3. パーキンソン氏病モデルサルを用いて、視床下核脳深部刺激中、手の運動を行っている際のPET測定を行うことが出来た。我々の予想に反し、視床下核刺激ではドパミンが基底核に対して放出促進されていない結果が示唆された。また視床下核刺激の高頻度刺激と低頻度刺激では、大脳の賦活部位が異なる可能性も示唆され、今後、さらに頭数を増やし、これらの点を統計的に解析してゆく予定でいる。
4. 重度パーキンソン氏病に対する視床下核脳深部刺激療法の長期効果とどのような症例が最も良い適応となるかを前年に検討したが、今回、我々の今回は長期観察症例で、振戦、固縮などのパーキンソン症状に比して、歩行・姿勢障害のみでなく同様に中軸症状である言語機能に関してもが戻りやすく、そのパターンが様々であることを示した。今後さらに長期予後に関する解析を行うとともに、言語障害などに対する有効なターゲットを模索してゆく必要がある。

14 研究の独創性、国際性、継続性、応用性

1. 口腔内細菌の種類による脳出血の可能性を予測するという、画期的な概念の元に作製された発明である。これまでの検討から、高病原性を持つ口腔細菌の保菌者は1-2%、中程度危険菌種の保菌者は10-12%にのぼるものと推定される。実際に本研究で高病原性株と判定されているいくつかの菌株は、菌血症やくも膜下出血をおこした患者の血液から単離された菌であり、口腔細菌が全身性の疾患を引き起こす可能性を示唆している。これまで口腔内細菌によって脳出血が引き起こされるという概念が全くないため、比較すべき従来技術自体存在しない。また、口腔内細菌による脳出血誘発の原因を解明した上で、その検出ターゲットとしてPAcとCBPを選定したことも画期的なものである。また、口腔内細菌増幅培地を使用することにより、少量の唾液で十分であり、含まれる細菌1個からでも検出できる。本発明を基盤としたスクリーニング結果をもとに、危険口腔菌種を保菌している人に対し、除菌を含めた総合的な医療指導を行うことで脳出血のリスクを大幅に減らせるものと考えられる。
2. パーキンソン氏病に対する脳深部刺激療法は当施設で以前より積極的に推進している治療法で

13.1-3共にこの数年間継続している研究である。脳深部刺激は広く施行されるようになっているが、その機序に関しては不明のところが多く、機序が解明されれば多くの他疾患への応用がさらに広まることが期待される。本年度は、ビタミンE欠乏性脊髄小脳変性症の症例や、遺伝性バリズムの患者にDBSを行い、有効な結果を出すことが出来、さらに今後DBSの有用性が高まっていくものと思われる。そのために現在、パーキンソン氏病モデル動物を用いた種々の動物実験でのDBS効果発現機序の研究は重要性を増してくるものと思われる。