

《原 著》

ポジトロン標識アミノ酸による腫瘍診断の比較研究

窪田 和雄* 松澤 大樹* 藤原 竹彦* 伊藤 健吾*
 阿部 由直* 畑沢 順* 吉岡 清郎* 福田 寛*
 伊藤 正敏* 佐藤多智雄* 清澤 源弘** 井戸 達雄***
 岩田 鍊*** 石渡 喜一*** 四月朔日聖一***

要旨 癌のポジトロン断層診断に最も適したアミノ酸を見つけるため、ラット肝癌 AH109A への in vivo での取り込みを ^{11}C 標識アミノ酸 11 種 ^{13}N 標識アミノ酸 2 種について比較した。腫瘍集積が最も高かったのは ^{11}C -ACPC (Aminocyclopentanecarboxylic acid) で投与20分後の % 投与量/g は 3.46, 次は ^{11}C -L-メチオニンで 2.74, ロイシン 2.20 の順であった。ACPC は肝に入らないという長所があるが腫瘍集積機序がよくわかっていない。腫瘍/血液比は ACPC 4.63, メチオニン 11.40 であり, 血中のクリアランスが早いこと, 必須アミノ酸であり腫瘍のアミノ酸代謝, タンパク合成に組み込まれることを考えると, ^{11}C メチオニンが腫瘍のアミノ酸代謝の指標としてポジトロン断層診断用に最適であることがわかった。また, ウサギ VX₂ 腫瘍を用いて, ポジトロン断層撮影を行い, ^{11}C メチオニン, ^{11}C -ACPC の両者で明瞭に腫瘍を描出できた。

I. はじめに

アミノ酸による核医学診断は, 従来セレンメチオニンが脾シンチグラフィーに使用され¹⁾, また悪性リンパ腫など腫瘍診断に使用されたこともあったが²⁾, 解像力の極端に悪い像しか得られず, 実用的な検査とは言い難かった。1969年ガリウム67の導入以降³⁾, 腫瘍核医学の中心はガリウムシンチグラフィーとなり, 多数の臨床研究が行われた。残念ながら, ガリウムの腫瘍集積機序は開発以来, 15年間の多数の研究にもかかわらず不明な点が多く, ガリウムの集積が腫瘍のいかなる特徴を反映しているのか, 合理的な説明はなされていない⁴⁾。

一般に腫瘍組織においては正常組織よりも糖代謝やアミノ酸代謝, 脂肪酸代謝, 核酸代謝などが亢進していると言われている。これは決して腫瘍と正常組織を分ける本質的な違いではないが, 腫瘍におけるこれらの代謝が腫瘍の生きの良さ, 増殖状態を直接反映していることは間違いない。そして, この代謝の状態を測定し, 目で見えるようにして腫瘍の診断や, 治療効果の評価に利用することが腫瘍のポジトロン診断の目的である。

ポジトロン標識アミノ酸は, その本来の構成要素である炭素や窒素をそれぞれ炭素11, 窒素13で置き換えたものであり, 生体内での挙動は非標識アミノ酸と全く同じと考えられている。特に生理的なアミノ酸では腫瘍組織の盛んなアミノ酸代謝, タンパク代謝を反映して腫瘍に取り込まれ利用され则认为られている⁵⁾。われわれは炭素11標識アミノ酸による腫瘍診断について一部はすでに報告した⁶⁾。今回新たに窒素13標識アミノ酸を加え, 前回未検討であった ^{11}C -バリン, さらにデータが不十分であった ^{11}C -ACPC 等の追加実験を加え, 新たにポジトロン標識アミノ酸13種について腫瘍

* 東北大学抗酸菌病研究所放射線医学部門

** 同 医学部眼科

*** 同 サイクロトロン RI センター

受付: 59年9月11日

最終稿受付: 60年4月3日

別刷請求先: 仙台市星陵町4-1 (☎ 980)

東北大学抗酸菌病研究所放射線医学部門

窪田 和雄

診断のための基礎的検討を行ったので報告する。

II. 方 法

1) 標識合成

^{11}C -L-メチオニン (Met) は, Comer⁷⁾ らの方法により, 炭素 11 標識ヨウ化メチルとホモシスチンから合成された。前駆体の炭素 11 標識ヨウ化メチルは新たな開発された自動合成装置により作られた⁸⁾。

必須アミノ酸3種, ^{11}C -DL-フェニルアラニン (phe), ^{11}C -DL-ロイシン (Leu), ^{11}C -DL-バリン (Val), 他のアミノ酸2種, ^{11}C -DL-フェニルグリシン (pGy), ^{11}C -DL-ノルロイシン (Nleu), 非生理的合成アミノ酸5種, ^{11}C -アミノシクロペンタンカルボキシリクアシッド (ACPC), ^{11}C -PL-3 メチルアミノシクロペンタンカルボキシリクアシッド (メチル-ACPC), ^{11}C -アミノシクロヘキサンカルボキシリクアシッド (ACHC), ^{11}C -4 メチルアミノシクロヘキサンカルボキシリクアシッド (メチル-ACHC), ^{11}C -DL-シクロヘキシルグリシン (CH-Gly) は岩田⁹⁾により開発された, 担体無添加の新合成法により作られた。その概略を次に述べる。炭素 11 標識メタンからプラチナ触媒下 950°C で ^{11}C シアンを合成し, アミノ酸前駆体をアミノサルファイトとした反応容液内へ吹き込み, 10 分間加熱し, アミノニトリルをエーテルで抽出する。加水分解の後, ^{11}C アミノ酸を精製する。全行程は約 60 分で完了し, 動物実験用には, 2~5 mCi のキャリアフリーのアミノ酸が合成された。

窒素 13 標識アミノ酸2種, ^{13}N -L-グルタミン酸 (Glu), ^{13}N -L-アラニン (Ala) は, まず水を 18 MeV の陽子線で照射し, ^{13}N アンモニアを自動合成装置で合成し, 次におのおのの酵素を固定化したカラムを通し, 精製する。グルタミン酸の場合はオキソグルタル酸と ^{13}N アンモニアを, グルタミン酸脱水素酵素を固定したカラムに通して合成する¹⁰⁾。動物実験用には 5~10 mCi が合成された。

2) 動物実験

動物はドンリユーラットオス, 体重 120~140 g を使用した。ラット腹水肝癌 AH 109A を背部皮

下に移植し, 1 週間後直径約 1 cm の皮下腫瘍ができた時, 24 時間絶食後, 尾静脈より 0.2~0.3 ml の RI 溶液を注射し, 投与後 5 分, 10 分, 20 分, 60 分で頸椎脱臼にて屠殺, 腫瘍および各臓器サンプルを摘出し, 付着血液を除いた後, ウェル型 NaI (TI) シンチレーションカウンター (オートガンマ 800 C, Packard USA) にて投与した残りの RI スタンダードとともにカウント, Decay 補正, 重量測定を行う。組織 1 g あたり投与した RI の何パーセントが分布したかを示す指標, % Administrated dose/g (% Dose) を指標として各臓器について求め, 腫瘍の血液, 肝臓, 脳, 筋肉, 心筋, 肺に対する比を計算した。各データポイントにつき 5~7 匹のラットを使用した。

3) ポジトロン断層撮影

体重 2 kg の白色家兎オス大腿に, 乳頭腫由来の VX₂ 腫瘍を移植し, 3 週間後直径 3~4 cm に達した時, 24 時間絶食後, ペントバルビタールにて麻酔した。ポジトロン断層機 (ECAT II, EG & G Ortec, USA) にウサギ腫瘍部の断面が入るようセットし, 吸収補正のための $^{68}\text{Ga}/\text{Ge}$ のリング状外部線源によるトランスミッションスキャンを行い, 続いて耳静脈より約 2 mCi の ^{11}C メチオニンまたは, ^{11}C -ACPC を投与し, エミッションスキャンを行った。スキャンは頭部用のスキャンサークルで高解像力モード (FWHM 12 mm) で行った。

III. 結 果

Table 1 に各アミノ酸の腫瘍集積性および主要臓器への集積を投与 20 分後のデータで示した。腫瘍への取り込みを % 投与量/g で見ると, 最も高いのが, ACPC で 3.46, 次はメチオニンで 2.74, ロイシン 2.20, バリン 2.02, メチル ACPC 1.79 の順となる。しかし, 腫瘍/血液比で見ると, これとは異なり, メチオニン 11.40, ACPC 4.63, グルタミン酸 4.50, フェニルアラニン 3.32 の順となる。グルタミン酸の場合, 決して腫瘍自体への集積 % Dose は 1.34 と高くないが, 血中からのクリアランスが非常に早いため, 腫瘍/血液比は高く

Table 1 Tumor uptake of various radiolabeled amino acids in male Donryu rats, bearing hepatoma AH109A

Compounds	Rat numbers	Tumor uptake at 20 min. (% Dose/g)	Tumor-to-organ ratio					
			Blood	Liver	Brain	Lung	Myo-cardium	Skeletal Muscle
^{13}N -L-glutamic acid	(5)	1.34 ± 0.47	4.50	0.80	5.60*	1.38*	1.24	1.23*
^{13}N -L-alanine	(2)	1.02 ± 0.08	2.76	0.48	3.92	0.83	0.82	—
^{11}C -L-methionine	(5)	2.74 ± 0.36	11.40	0.60	6.33*	1.93*	4.70	5.38
^{11}C -D,L-leucine	(5)	2.20 ± 0.21	2.85	0.89	4.00	1.94	2.39	—
^{11}C -D,L-valine	(5)	2.02 ± 0.18	1.15	0.70	2.50	—	1.43	—
^{11}C -D,L-phenylalanine	(5)	1.42 ± 0.25	3.32	0.77	4.43	2.03	2.67	—
^{11}C -D,L-phenylglycine	(5)	1.40 ± 0.31	2.08	1.82	5.28	1.92	2.36	—
^{11}C -D,L-norleucine	(5)	1.56 ± 0.13	2.01	1.55	3.72	1.63	1.88	—
^{11}C -D,L-cyclohexylglycine	(5)	1.24 ± 0.09	1.77	1.61	2.55	1.63	1.70	1.71
^{11}C -ACPC	(7)	3.46 ± 0.16	4.63	2.29	4.02*	3.20	3.43	3.92
^{11}C -methyl ACPC	(3)	1.79 ± 0.12	2.67	2.52	3.52	2.58	2.22	2.02
^{11}C -ACHC	(6)	1.32 ± 0.11	1.21	1.06	3.37	1.43	1.78	2.40
^{11}C -methyl ACHC	(5)	1.02 ± 0.13	1.14	1.42	3.45	1.52	1.68	1.89

* Data from separate experiment.

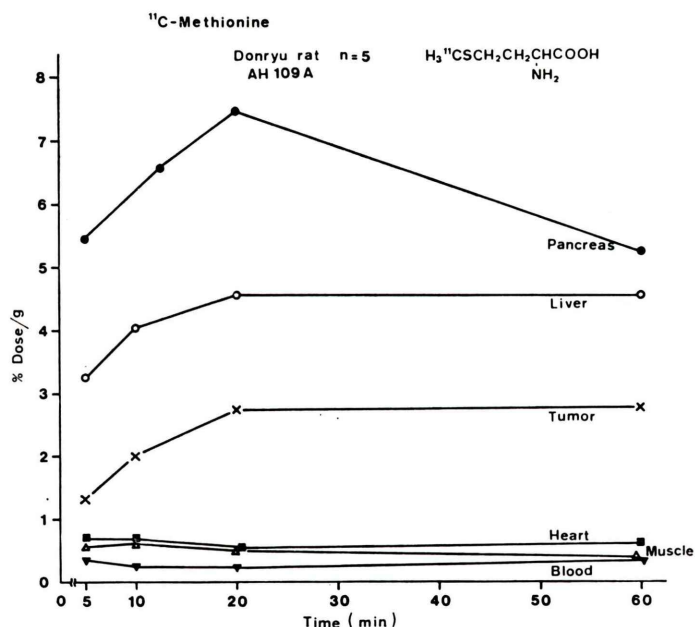


Fig. 1 Time activity curves of ^{11}C -methionine in Donryu rats with AH109A tumor. Although tumor activity was lower than those of the liver and pancreas, the tumor was clearly distinguished from the other tissues. Mean of 5 animals.

なる。特徴的なのは腫瘍/肝比であり、生理的アミノ酸、6種はすべて1以下、非生理的アミノ酸7種はすべて1以上、しかも天然には存在しないメチル ACPC が最も高く 2.52、ACPC で 2.29 の順である。

必須アミノ酸の典型として (Fig. 1) にメチオニンの体内分布曲線を示す。生理的アミノ酸では一般に、膵臓、唾液腺などで最も高い臓器を集積を示し、次に肝臓が高く、メチオニンではその次に腫瘍が来る。これらは、いずれも 20 分前後にプラ

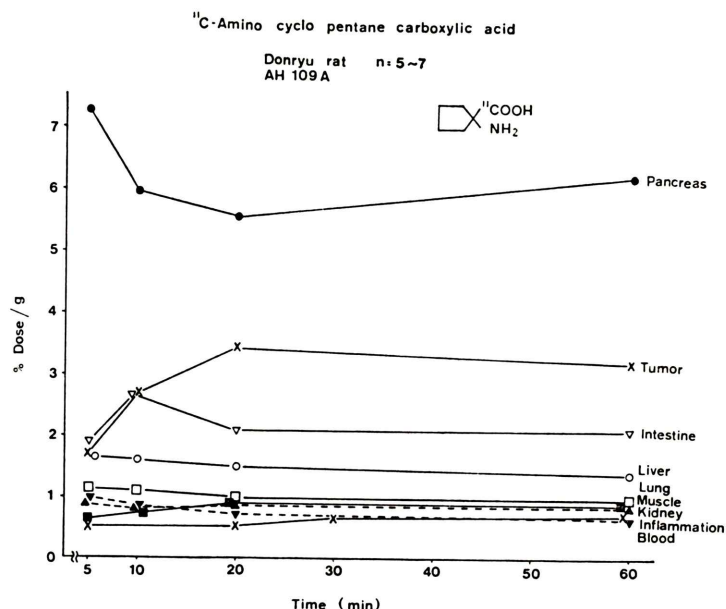


Fig. 2 Time activity curves of ^{11}C -ACPC. ACPC was shown to accumulate in the tumor and pancreas. Liver characteristically showed low activity. Aseptic inflammation induced by 0.1 ml S.C. injection of croton oil showed low activity also. Mean of 5-7 animals.

トーに達する集積形の曲線となり、このデータから考える限り、メチオニンで肝、脾の腫瘍を陽性描出することはできない。しかし、脳、心筋などへの集積は低く、頭部、胸部での腫瘍の陽性描出を可能にしている。また血液からのクリアランスが速いのがメチオニンの特徴のひとつであり、腫瘍/血液比は20分後で11.4に達する。

Figure 2 に非生理的アミノ酸の例として ACPC の体内分布曲線を示す。脾が最も高い集積を示すが、メチオニンと異なり肝にはあまり入らず、腫瘍は蓄積型の曲線となる。このため腫瘍/肝比は2.29 と高くなる。しかし血中からのクリアランスは遅く、20分後の血液の %Dose はメチオニンが0.24、ACPC は0.75 とほぼ3倍の値を示している。

Figure 3 にウサギ VX₂ 腫瘍の ^{11}C メチオニンによる ECAT II のポジトロン断層像を示す。

Figure 4 は ^{11}C -ACPC によるポジトロン断層像である。いずれも大腿部の腫瘍が高いコントラストで描出されている。腫瘍と健側大腿の比は

ACPC で4.5、メチオニンで約3であった。

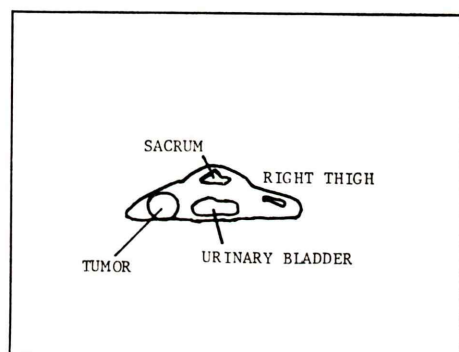
IV. 考 察

本研究の目的はポジトロン断層による腫瘍診断のために、 ^{11}C または ^{13}N 標識アミノ酸を比較検討し、最も有用なものを見つけることである。13種の生理的、非生理的なアミノ酸を比較し、生理的なアミノ酸では ^{11}C メチオニンが、非生理的なアミノ酸では ^{11}C -ACPC が最も腫瘍検出能においてすぐれていた。

炭素¹⁴標識アミノ酸の腫瘍取り込みについては Bush らの先駆的業績がある⁵⁾。しかし、ポジトロン断層を使い、臨床的応用を前提とした場合は薬剤の選択にいくつかの条件が加わる。自分の施設内でコンスタントに、一定量以上合成できること、薬剤の安全性が確立もしくは十分評価されていること、そして、 ^{13}N は10分、 ^{11}C は20分という短半減期核種を使うので長くても三半減期以内に検査を終了し、かつその間に十分な腫瘍集積性が得られることなどが重要となる。



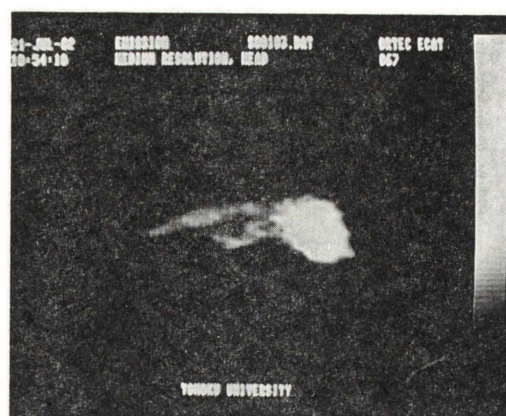
a



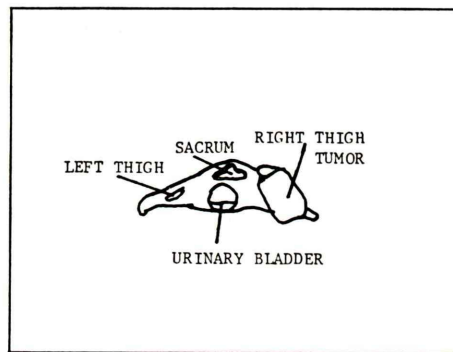
b

Fig. 3a Positron emission tomography (PET) image of the VX₂ tumor in the rabbit thigh, 40 min after injection of ¹¹C-methionine.

3b Illustration of PET image.



a



b

Fig. 4a PET image of the VX₂ tumor in the rabbit thigh, 45 min after injection of ¹¹C-ACPC.

4b Illustration of PET image.

近年ポジトロン標識薬剤の研究がさかんになり、アミノ酸については脾臓診断薬としていくつもの報告がある¹¹⁻¹³⁾。また、¹³N グルタミン酸による骨肉腫の診断¹⁴⁾ 脳腫瘍¹⁵⁾ などの症例が報告されている。また脳腫瘍では、¹¹C-DL-バリン、¹¹C-DL-トリプトファン¹⁶⁾、¹¹C-L-メチオニン¹⁷⁾ などの報告がある。また、ACPC, ACHC については Washburn ら¹⁸⁾ により報告されている。しかし、各種アミノ酸について、投与20分という、短時間を基準にして同一実験系で比較検討したのはわれわれの報告がはじめてである。これはアミノ酸による腫瘍診断をポジトロン断層で組織的に展開するためには不可欠なステップのひとつであ

り臨床研究のための重要な基礎データである。

Figures 1, 2 を比較するとメチオニンと ACPC の動態は特に肝で大きく異なる。このことから ACPC の腫瘍集積機序がメチオニンとは全く異なるのではないかと推定される。先に Berlinguet ら¹⁹⁾ は、ACPC は細胞内で代謝されることもタンパク合成に関与することもないことを示し、腫瘍への ACPC の集積は、腫瘍血管の透過性の亢進と、細胞膜のアミノ酸輸送の亢進を反映しているのだらうと推定している。しかしこれだけで、脾へは高い集積があるにもかかわらず、肝には入らない理由を説明できるのだろうか、それとも肝と腫瘍は全く異なるのだろうか。結局腫瘍細胞の生物学的な特徴と、ACPC の動態がどのように関

係しているのか、ガリウムの場合と同様、合理的な説明を与える根拠は薄弱である。

これに対し、メチオニンをはじめ他のアミノ酸の動態は腫瘍についても Bush ら⁵⁾により調べられ、タンパク合成系へ主要な部分が組み込まれることがわかっている。またわれわれの予備的な実験でも、腫瘍における ^{11}C メチオニンの酸不溶性分画への取り込みは投与30分で80%、40分で90%に達し、単なる Perfusion で腫瘍内に入り、freeのメチオニンでとどまるのは非常に少なく、大半は代謝に組み込まれてゆくことがわかる。メチオニンの取り込みと生物学的な変化については脳の老化とアミノ酸代謝の低下として古くから報告され^{20,21)} 近年ポジトロン断層と ^{11}C メチオニンを使い臨床研究が進められ、問題点はあるもののコンパートメントモデルがメチオニンについても提案されている²²⁾。これらの報告と腫瘍のアミノ酸代謝が、他臓器と本質的な違いはないということから、 ^{11}C メチオニンの取り込みは腫瘍のアミノ酸代謝を反映していることが推定される。また腫瘍の生きの良さ、悪性度をも表わしている可能性があるが、これは今後の基礎研究の課題である。なお、本研究の応用として、 ^{11}C -メチオニンによる肺癌診断の臨床研究が現在進行中であり、その一部はすでに報告した^{23,24)}。

V. 結 論

本研究ではアミノ酸による癌のポジトロン断層診断の基礎研究として、13種のポジトロン標識アミノ酸を比較検討した。その結果、 ^{11}C -ACPCの腫瘍集積が最も高く、次が ^{11}C メチオニンであった。しかし、血中クリアランスが早いということ、ポジトロン断層の特徴である生体内の代謝情報が得られるということを考えると、調べた範囲内では ^{11}C メチオニンが最も良いと思われる。

文 献

- 1) Blau M, Bender MA: ^{75}Se -Selenomethionine for visualization of the pancreas by isotope scanning. *Radiology* **78**: 974, 1962
- 2) Herrera NE, Gonzalez R, Schwartz RD, et al: ^{75}Se methionine as a diagnostic agent in malignant lymphoma. *J Nucl Med* **6**: 792-804, 1965
- 3) Edwards CL, Hayes RL: Tumor scanning with ^{67}Ga citrate. *J Nucl Med* **10**: 103-105, 1969
- 4) Hoffer P: Gallium: Mechanisms. *J Nucl Med* **21**: 282-285, 1980
- 5) Busch H, Davis JR, Hoing GR, et al: The uptake of a variety of amino acids into nuclear proteins of tumors and other tissues. *Cancer Res* **19**: 1030-1039, 1959
- 6) Kubota K, Yamada K, Fukuda H, et al: Tumor detection with carbon-11-labelled amino acids. *Eur J Nucl Med* **9**: 136-140, 1984
- 7) Comar D, Cartron JC, Maziere M, et al: Labelling and Metabolism of methionine-methyl- ^{11}C . *Eur J Nucl Med* **1**: 11-14, 1976
- 8) Iwata R, Ido T: Automated synthesis of $^{11}\text{CH}_3\text{I}$. *CYRIC Annual Report Tohoku Univ*: 135-139, 1981
- 9) Iida S, Iwata R, Ido T: A novel synthesis of non carrier added ^{11}C -DL-Amino Acid. *CYRIC Annual Report. Tohoku Univ*: 115-117, 1980
- 10) Ishiwata K, Iwata R, Ido T, et al: Synthesis of ^{13}N labeled amino acids. *CYRIC Annual Report Tohoku Univ*: 146-147, 1981
- 11) Hübner KF, Andrews GA, Buonocore E, et al: Carbon-11-labeled amino acids for the rectilinear and positron tomographic imaging of the human pancreas. *J Nucl Med* **20**: 507-513, 1979
- 12) Syrota A, Duquesnoy N, Paraf A, et al: The role of positron emission tomography in the detection of pancreatic disease. *Radiology* **143**: 249-254, 1982
- 13) Kubota K, Fukuda H, Yamada K, et al: Experimental Pancreas imaging study with ^{13}N -Glutamate using positron computed tomography. *Eur J Nucl Med* **8**: 528-530, 1983
- 14) Gelbard AS, Benua RS, Laughlin JS, et al: Quantitative scanning of osteogenic sarcoma with nitrogen-13-labeled L-glutamate. *J Nucl Med* **20**: 782-784, 1979
- 15) Reiman RE, Benua RS, Gelbard AS, et al: Imaging of brain tumors after administration of L-(N-13)-glutamate. *J Nucl Med* **23**: 682-687, 1982
- 16) Hübner KF, Durris JT, Mahaley SM, et al: Brain tumor imaging by positron emission computed tomography using ^{11}C -labeled amino acids. *J Comput Assist Tomogr* **6**: 544-550, 1982
- 17) Bergström M, Collins VP, Ehrin E, et al: Discrepancies in brain tumor extent as shown by computed tomography and positron emission tomography using ^{68}Ga -EDTA, ^{11}C -glucose and ^{11}C -methionine. *J Comput Assist Tomogr* **6**: 1062-1066, 1983
- 18) Washburn LC, Sun TT, Anon JB, et al: Effect of

- structure on tumor specificity of alicyclic α -amino acids. *Cancer Res* **38**: 2271–2273, 1978
- 19) Berlinguet L, Bégin N, Babineau LM: Autoradiographic studies of the distribution of 1-aminocyclopentane carboxylic acid in normal and cancerous mice. *Can J Biochem Physiol* **40**: 1111–1114, 1962
 - 20) Gaitonde MK, Richter K: The metabolic activity of the proteins of the brain. *Proc Roy Soc B* **145**: 83–99, 1955
 - 21) Oja SS: Studies on protein metabolism in developing rat brain. *Ann Acad Sci Fennicae A5* **131**: 1–81, 1967
 - 22) Bustary P, Sargent T, Saudubray JM, et al: Regional human brain uptake and protein incorporation of ^{11}C -L-methionine studied in vivo with PET. *J Cereb Bl Flow & Metab* **1** Supp 1: S17–S18, 1981
 - 23) Kubota K, Ito M, Fukuda H, et al: Cancer diagnosis with positron computed tomography and carbon-11-labelled L-methionine. *Lancet* **ii**: 1192, 1983
 - 24) Kubota K, Matsuzawa T, Ito M, et al: Lung tumor imaging by positron emission tomography using C11 L-methionine. *J Nucl Med* **26**: 37–42, 1985

Summary

Comparative Study of Tumor Diagnosis Using ^{11}C - and ^{13}N -labeled Amino Acids

Kazuo KUBOTA*, Taiju MATSUZAWA*, Takehiko FUJIWARA*, Kengo ITO*,
Yoshinao ABE*, Jun HATAZAWA*, Seiro YOSHIOKA*, Hiroshi FUKUDA*,
Masatoshi ITO*, Tachio SATO*, Motohiro KIYOSAWA**, Tatsuo IDO***,
Ren IWATA***, Kiichi ISHIWATA*** and Shyouichi WATANUKI***

*Department of Nuclear Medicine and Radiology, the Research Institute for Tuberculosis and Cancer,

**Department of Ophthalmology, School of Medicine,

***The Cyclotron and Radioisotope Center, Tohoku University

In order to find the most valuable ^{11}C - or ^{13}N -amino acid for the diagnosis of cancer using positron emission tomography, comparative studies were carried out with eleven ^{11}C -labeled and two ^{13}N -labeled amino acids including both essential and synthetic unphysiological amino acids. ^{11}C -aminocyclopentanecarboxylic acid (ACPC) showed the highest uptake in the rat hepatoma AH109A (3.46% dose/g) and the second was ^{11}C -methionine (2.74% dose/g). ^{11}C -ACPC characteristically showed low accumulation in liver, resulting in the high tumor/liver ratio of 2.29. ^{11}C -methionine showed the fastest blood clearance resulting in the

highest tumor/blood ratio of 11.40, although that of ^{11}C -ACPC was 4.63. Positron emission tomography of rabbit bearing VX₂ tumor showed clear tumor images by using both ^{11}C -methionine and ^{11}C -ACPC. ^{11}C -methionine seemed to be incorporated into the protein metabolism of the tumor as a essential amino acid. These data suggested that ^{11}C -methionine was one of the most useful tracer of amino acid for the diagnosis of cancer.

Key words: Tumor diagnosis, ^{11}C - and ^{13}N -Amino acids, Positron emission tomography, Rat AH109A tumor, Rabbit VX₂ tumor.