

《原 著》

 ^{11}C -メチオニンによる癌と炎症の鑑別診断の基礎的研究

窪田 和雄* 松澤 大樹* 藤原 竹彦* 阿部 由直*
 畑澤 順* 川辺 弘明* 宮沢 英充* 佐藤多智雄*
 井戸 達雄** 石渡 喜一**

要旨 先にわれわれは、 ^{11}C -メチオニンがポジトロン断層による癌診断に有用であることを報告した。本研究は ^{11}C -メチオニンの炎症への集積を調べ、腫瘍との鑑別診断が可能か否かを明らかにするために行われた。ドンリ्यूラット背部皮下に、クロトン油およびカラゲニンを注射して無菌性炎症を作り、 ^{11}C -メチオニンを投与し体内分布と炎症巣への集積を調べた。その結果炎症巣への集積動態は緩徐な排泄型であり、肝、腎、腫瘍などに比し著明に低く、ほぼ筋肉に近い値であった。また ^{14}C -メチオニンによるマクロオートラジオグラフィーでも同様にクロトン油による炎症巣への集積はほとんどなく、腫瘍への高い集積と比べ著明なコントラストを示した。 ^{11}C -メチオニンは炎症に集まらず、腫瘍との鑑別診断が可能と思われた。

I. はじめに

ポジトロン断層による腫瘍診断薬として、各種標識アミノ酸の中では、 ^{11}C -メチオニンがすぐれていることを先に報告した¹⁾。メチオニンは必須アミノ酸であり、生理的に肝、脾、唾液腺などに非常に高い集積を示す。しかし脳、心筋、肺へはあまり入らず、腹部以外の領域での腫瘍診断に有効と考えられている。脳腫瘍の診断例が報告され²⁾、われわれも肺癌診断例を報告した³⁾。また肺癌については悪性度の区別もある程度可能であるという結果を得ている^{4,18)}。

腫瘍診断が ^{11}C -メチオニンで可能であるとわかった時、次に問題になるのが、炎症と腫瘍の鑑別診断である。ガリウム-67では炎症は腫瘍と全く区別できなかった⁵⁾。F-18-デオキシグルコースはSom⁶⁾らによれば、テレピン油による炎症には集まらないとある。福田らはクロトン油による炎症

は、集積も低く、その動態が腫瘍の漸増型に対し、炎症は一定であり、容易に鑑別できると報告した⁷⁾。

アミノ酸の炎症への集積についてはほとんど報告がなく、Se-75-セレノメチオニンについて、炎症性疾患はシンチスキャンで陰性という結果が副次的に報告されているだけであり^{8,9)}、 ^{11}C -メチオニンについてのデータはない。

今回われわれは ^{11}C -メチオニンのクロトン油およびカラゲニンによる無菌性炎症への集積を調べ、腫瘍との鑑別診断のための基礎実験を行ったので報告する。

II. 方 法

1) 標識合成

^{11}C -L-メチオニンはComarら¹⁰⁾の方法により、炭素11標識ヨウ化メチルとホモシスチンより合成された。前駆体の炭素11標識ヨウ化メチルは岩田らにより開発された自動合成装置により作られた¹¹⁾。

2) 動物実験

ドンリ्यूラットオス38匹、メス7匹、体重140-180gを使用した。腫瘍は腹水肝癌AH109Aを背部皮下に移植し、1週間後直径約1cmの皮

* 東北大学抗酸菌病研究所放射線医学部門

** 東北大学サイクロトロンRIセンター

受付：59年9月19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

下固型腫瘍となった時使用した。クロトン油(半井化学, 京都)は0.1~0.2 mlを背部皮下注射し, 4日後に使用。カラゲニン(MW 3.0×10^5 , 東京化成工業)1.5%水溶液0.1~0.2 mlを背部皮下注射24時間後に使用した。実験は24時間絶食後尾静脈より0.2~0.3 mlのRI溶液を注射し, 5分, 10分, 20分, 40分で頸椎脱臼にて屠殺, 腫瘍, 炎症および各臓器サンプルを摘出し, 付着血液を除去, 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 800C Packard USA)にてカウント, 重量測定を行った。減衰補正の後, 組織1gあたりのRIの集積を, 投与したRI量と体重で補正する指標 Differential Absorption Ratio (DAR)を求めた¹²⁾。先に使用した%投与量/gとのちがいは体重補正が加わる点である。

$$\text{DAR} = \frac{\text{組織のカウント (cpm)} / \text{組織重量 (g)}}{\text{投与 RI のカウント (cpm)} / \text{動物体重 (g)}}$$

3) オートラジオグラフィー

AH 109A およびクロトン油を投与したラットのマクロオートラジオグラフィーを佐藤ら¹³⁾の方法で行った。ただしサイクロトロンのマシンタイム等の都合で ^{11}C のかわりに, 同位置を標識した ^{14}C -メチオニン $15 \mu\text{Ci}$ (L-[methyl- ^{14}C] methionine Amersham, Japan)を投与20分後クロロホルムにて麻酔死させ, 凍結, クライオトームで薄切し, サクラ MARG フィルムに密着, 1週間露出の後現像した。

また AH 109A, クロトン油炎症, カラゲニン炎症のそれぞれを摘出, ホルマリン固定し, 組織標本作製, ヘマトキシリンエオジン染色にて鏡検した。

III. 結 果

Figure 1 に ^{11}C -L-メチオニンの体内分布の動態とカラゲニン, クロトン油の炎症への分布動態を示す。炎症巣への集積は緩徐な排泄型であり, 肝, 腎, 腫瘍などに比し著明に低く, 筋肉と比べても低い傾向がある。

Table 1 に投与20分後の各臓器への ^{11}C -L-メチオニンの取り込みを示す。膵臓の取り込みが最も

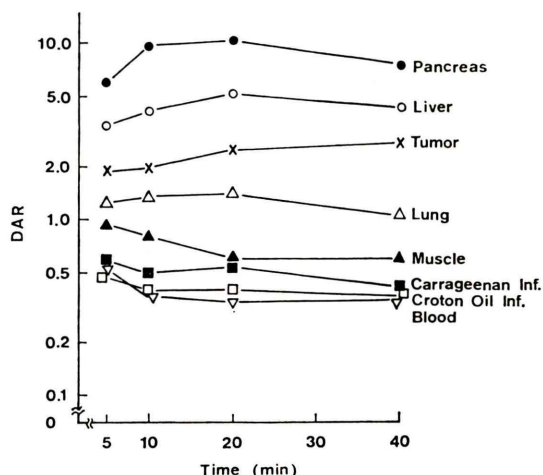


Fig. 1 Serial changes of DAR of ^{11}C -methionine in Donryu rats with AH 109A tumor, aseptic inflammations by s.c. injection croton oil and 1.5% carrageenan. The uptakes in the inflammations were significantly lower than those of tumor, liver and spleen.

Table 1 Tissue distribution of ^{11}C -L-methionine in Donryu rats at 20 min after the injection
n=7-10

Tissue	DAR (mean \pm S.D.)	Tumor/Tissue Ratio
AH 109A tumor	2.58 ± 0.48	1
Croton oil inflammation	0.40 ± 0.13	6.5
Carrageenan inflammation	0.51 ± 0.06	5.1
Blood	0.34 ± 0.05	7.6
Muscle	0.60 ± 0.05	4.3
Lung	1.40 ± 0.27	1.8
Myocardium	0.72 ± 0.11	3.6
Liver	5.22 ± 0.88	0.49
Pancreas	10.56 ± 2.20	0.24
Kidney	2.11 ± 0.21	1.2
Adrenal gland	2.13 ± 0.25	1.2
Uterus	0.79 ± 0.06	3.3
Ovary	1.81 ± 0.48	1.4

高く, 次いで肝臓, 腫瘍となるのは先の報告と同様であるが, 腫瘍/血液比 7.6, 腫瘍/筋肉比は 4.3 で, 以前より若干低かった。炎症巣はともに筋肉より低く, カラゲニン炎症の方がクロトン油炎症よりも若干高かった。その他の臓器では, 卵巣と

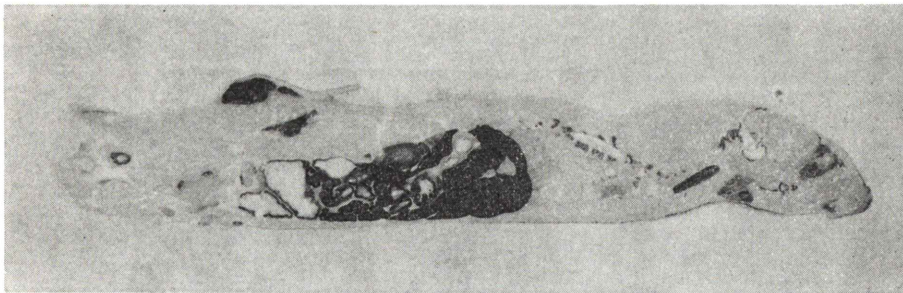


Fig. 2 A macro-autoradiograph of Donryu rat bearing AH 109A tumor and croton oil inflammations, using ^{14}C -L-methionine. AH 109A tumor on the back of tail-side (left) showed high accumulation of ^{14}C -L-methionine and blackened the film, but croton oil inflammation of head-side (right) showed negative images on the film.

副腎に若干の取り込みが認められた。

Figure 2 に ^{14}C -メチオニンによるオートラジオグラムを示す。背部の AH 109A 腫瘍には高い集積が見られるが、クロトン油炎症巣はほとんど黒化せず、 ^{14}C -メチオニンの集積は見られない。唾液腺、骨髄、肝、脾、腸、副腎などで、生理的な取り込みが見られた。

Figure 3-(a), (b), (c) にそれぞれ AH 109A, クロトン油炎症, カラゲニン炎症の組織像を示す。AH 109A は肝癌由来の腫瘍であるが腫瘍基質としても毛細血管が豊富で壊死巣が少なく、分裂像が多数見られ増殖はきわめて早い。クロトン油炎症は投与 4 日目であり、肉芽組織を形成する修復期の炎症である。注入した油の周囲には好中球、リンパ球の浸潤が強い。カラゲニン炎症は投与 1 日目であり、注入部の膿瘍を中心に、広範囲に及び浮腫状の、強い浸出性の急性炎症である。マクロファージ、好中球などの遊走性細胞が主に見られる。

IV. 考 察

本研究では ^{11}C -L-メチオニンの腫瘍と炎症への集積の違いを明らかにし、ポジトロン断層による癌と炎症の鑑別診断が ^{11}C -L-メチオニンで可能であることを示唆する基礎データを得た。

前回われわれは炭素 11 標識、窒素 13 標識アミノ酸 13 種の腫瘍検出能を同一の実験腫瘍を用いて比較し、 ^{11}C -アミノシクロペンタンおよび ^{11}C -メチ

オニンが勝れていることを報告した。この時アイソトープ集積の指標として % 投与量/組織 1 g を使用した。しかし、その後の ^{11}C -メチオニンの臨床応用のなかで、ポジトロン断層像の定量的評価のために使用できる指標は、これをさらに体重で補正した Differential Absorption (Uptake) Ratio (DAR) であることが示された¹⁸⁾。そこで、本研究では今後の臨床データとの対応を計るために、従来の指標に体重補正を加え、DAR 表示に変更した。

腫瘍は前回の比較研究に続き、実験肝癌 AH 109A を使用したが、予備実験では別の肝癌 AH 272、乳癌由来 MM 47、奇形癌腫 OTT 6050 について調べ相互に本質的な違いがないことが確かめられている。ただし、組織型の違いとアイソトープ集積の程度にどのような相関があるかという問題は本論文のテーマとは異なり、別の研究が現在進行中である。

従来腫瘍核医学の主役となっているガリウム-67 では、腫瘍だけでなく炎症に高い集積があり、これが鑑別診断上の大きな問題点となっていた⁵⁾。ガリウム-67 の炎症への集積機序は腫瘍とは異なるという報告¹⁴⁾、白血球にガリウムが取り込まれるという報告¹⁵⁾などがあるが、定説はない。 ^{75}Se -セレンメチオニンは脾シンチグラムだけでなく腫瘍診断についても以前から報告があるが、それらの中に肺炎、肺結核、膿胸、結核性リンパ節炎など

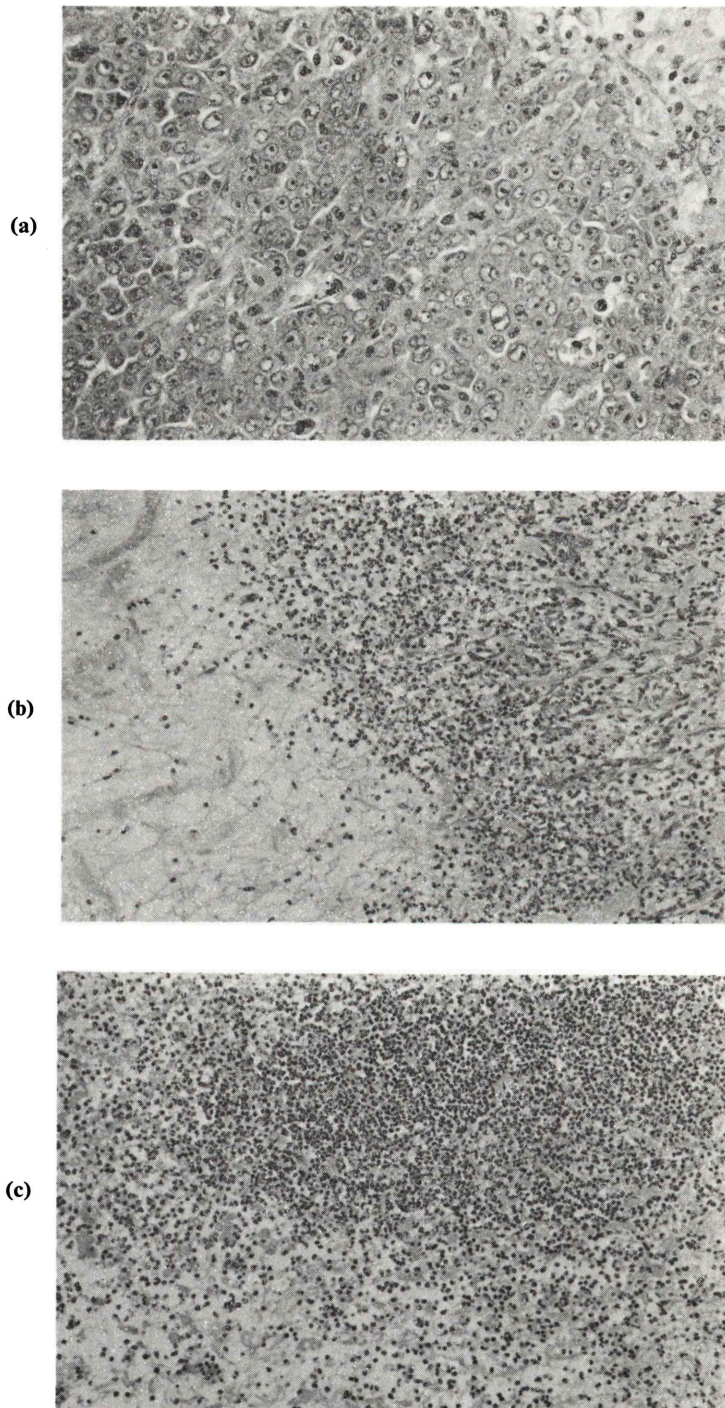


Fig. 3 Photo-micrographs of AH 109A tumor (a) $\times 400$, croton oil inflammation (b) $\times 200$, 1.5% carrageenan inflammation (c) $\times 200$. Croton oil induced granulomatous inflammation but carrageenan induced acute exudative inflammation.

の炎症性疾患では陽性像は見られなかったという記載が見られる^{8,9)}。しかし、セレン-75は物理的半減期が120日、セレンメチオニンの生物学的半減期は73.8日¹⁶⁾ときわめて長く被曝線量が増えるため250 μCi 程度しか投与されていない。このためバックグラウンドがきわめて高い。S/N比の低い劣悪なシンチグラムしか得られず、セレンメチオニンシンチグラムで炎症性疾患が陰性であったからと言って、いくら動態が似ているにせよ ^{11}C -メチオニンが炎症巣に集積しないという証明にはならなかった。

先にわれわれは ^{11}C -メチオニンとポジトロン断層による肺癌の診断を報告した³⁾が、炭素11は半減期20.38分と短く、10~20 mCiの投与が可能であり、かつポジトロンCTの定量的な検出性能と相俟って非常にS/N比の高い定量的な画像診断が可能となった。そこで問題になるのが鑑別診断であり、腫瘍と炎症にどのように違いがあるかである。本研究では刺激性物質カラゲニンとクロトン油による2種類の炎症、組織学的には急性浸出性炎症と肉芽腫性の炎症に ^{11}C -メチオニンが取り込まれないことを示し、また ^{14}C -メチオニンによるオートラジオグラムでこれを確認した。

メチオニンは腫瘍におけるアミノ酸代謝の亢進、タンパク合成の亢進に必須アミノ酸として組み込まれると考えられている¹⁷⁾。炎症に入らないということは、メチオニンが単なる血管透過性の亢進だけでは集積しないことを意味するのかもしれない。あるいは炎症性細胞にはメチオニンはあまり利用されないのかもしれない。また、無菌性ではなく、細菌性炎症ではどうなのか、また特に悪性度の低い腫瘍とはどのような違いがあるのか。現在まだこれに答えられるデータはなく、今後臨床研究で、また基礎実験で明らかにしてゆきたいと考えている。

V. 結 論

^{11}C -メチオニンはクロトン油、カラゲニンによる炎症巣には集積せず、癌との鑑別診断が可能であると考えられた。

謝辞 病理組織所見をご教示いただいた抗酸菌病研究所病理学部門助教授、玉橋信彰先生に感謝いたします。

文 献

- 1) 窪田和雄, 松澤大樹, 藤原竹彦, 他: ポジトロン標識アミノ酸による腫瘍診断の比較研究. 核医学 22: 981-987, 1985
- 2) Bergstrom 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 7: 1062-1066, 1983
- 3) Kubota K, Ito M, Fukuda H, et al: Cancer diagnosis with positron computed tomography and Carbon-11-labelled L-methionine, Lancet ii: 1192, 1983
- 4) Kubota K, Matsuzawa T, Ito K, et al: Carbon-11-L-methionine imaging in lung cancer and benign tumor; Clinical study with Positron Emission Tomography. CYRIC Annual Report Tohoku Univ, pp. 229-240, 1983
- 5) Hoffer P: Gallium and infection. J Nucl Med 21: 484-488, 1980
- 6) Som P, Atkins HL, Bandoypadhyay D, et al: A fluorinated glucose analog, 2-fluoro-2-deoxy-D-glucose (F-18): Nontoxic tracer for rapid tumor detection. J Nucl Med 21: 670-675, 1980
- 7) 福田 寛, 吉岡清郎, 四月朔日聖一, 他: ^{18}F FDGによる腫瘍診断の基礎研究: 癌と炎症の鑑別診断. 核医学 20: 1189-1192, 1983
- 8) 大澤 保, 菅野敏彦, 延澤秀二, 他: 腫瘍シンチグラム—— ^{67}Ga -Citrateと ^{75}Se -selenomethionineとの比較——. 核医学 16: 871-895, 1979
- 9) Critchley M, Testa HJ, Stretton TB: Combined use of $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -labelled macroaggregates of albumin and ^{75}Se -selenomethionine in the diagnosis of lung cancer. Thorax 29: 421-424, 1974
- 10) Comar D, Cartron JC, Maziere M, et al: Labelling and metabolism of methionine-methyl- ^{11}C . Eur J Nucl Med 1: 11-14, 1976
- 11) Iwata R, Ido A: Automated synthesis of $^{11}\text{CH}_3\text{I}$. CYRIC Annual Report Tohoku Univ, pp. 135-139, 1981
- 12) Marrian DH, Maxwell DR: Tracer studies of potential radiosensitizing agents. Tetrasodium 2- ^{14}C -methyl-1: 4-Naphthohydroquinone diphosphate. Br J Cancer 10: 575-582, 1956
- 13) 佐藤多智雄, 福田 寛, 阿部由直, 他: ポジトロン核種による全身オートラジオグラフィ. Radioisotopes 32: 612-622, 1983

- 14) Hayes RL, Rafter JJ, Carlton JE, et al: Studies of the in vivo uptake of Ga-67 by an experimental abscess. *J Nucl Med* **23**: 8-14, 1982
- 15) Burleson RL, Johnson MC, Head H: In vitro and in vivo labeling of rabbit blood leukocytes with ^{67}Ga -citrate. *J Nucl Med* **15**: 98-101, 1973
- 16) Ben-Porath M, Case L, Kaplan E: The biological half-life of ^{75}Se -selenomethionine in man. *J Nucl Med* **9**: 168-169, 1968
- 17) Busch H, Davis JR, Honig 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
- 18) Kubota K, Matsuzawa T, Ito M, et al: Lung tumor imaging by positron emission tomography using C-11 L-methionine. *J Nucl Med* **26**: 37-42, 1985

Summary

An Experimental Study on Differential Diagnosis of Cancer from Inflammation Using ^{11}C -L-Methionine

Kazuo KUBOTA*, Taiju MATSUZAWA*, Takehiko FUJIWARA*, Yoshinao ABE*,
Jun HATAZAWA*, Hiroaki KAWABE*, Hidemitsu MIYAZAWA*, Tachio SATO*,
Tatsuo IDO** and Kiichi ISHIWATA**

**Department of Nuclear Medicine and Radiology, The Research Institute
for Tuberculosis and Cancer, Tohoku University*

***The Cyclotron and Radioisotope Center, Tohoku University*

We have reported that ^{11}C -L-methionine (^{11}C -Met) was a useful labelled amino acid for the diagnosis of cancer using positron emission computed tomography. In this report, we studied whether ^{11}C -Met accumulated into inflammatory tissues or not for the differential diagnosis of cancer and inflammation. Aseptic inflammations on the back of Donryu rats produced by s.c. injections of croton oil or 1.5% carrageenan, showed a low level accumulation of ^{11}C -Met as was in the muscle or blood. Time activity curves

of inflammation showed clearance pattern and were significantly lower than that of pancreas, liver and cancer. Macro-autoradiographic studies ^{14}C -Met showed the same results and hepatoma AH 109A was clearly differentiated from the inflammation induced by croton oil. It is suggested that we can differentiate cancer from inflammation with positron emission computed tomography using ^{11}C -Met.

Key words: ^{11}C -Methionine, Tumor diagnosis, Inflammation, Rats experiment.