

《短報》

I-123-BMIPP の心筋機能診断薬としての 臨床的有用性に関する基礎検討

—脂肪酸代謝阻害剤による影響—

藤林 靖久* 米倉 義晴*
玉木 長良* 小西 淳二*

川井 恵一** 山本 和高*
横山 陽** 鳥塚 莞爾***

I. 序論

^{123}I - β -methyl-p-iodophenylpentadecanoic acid (以下 BMIPP, Fig. 1 (A)) は、ベータ酸化をうけないようデザインされた脂肪酸であり心筋において持続的な集積を示すことから、心筋イメージングに適した放射性医薬品としての可能性が示唆されている¹⁾。一方、C-11 標識脂肪酸が主として心筋エネルギー代謝との関連において診断に利用されている²⁾点を考慮すると、BMIPP における集積挙動と心筋代謝機能との関連は現在のところ明確ではなく、その機能診断への利用には議論の余地がある。本研究では、脂肪酸代謝阻害剤のひとつである 2-tetradecylglycidic acid (以下 TDGA, Fig. 1 (B))³⁾ の BMIPP 集積挙動に与える影響を検討することにより、BMIPP による脂質代謝機能診断の可能性について考察を行うこととした。特に BMIPP の存在状態に関する検討において、BMIPP が脂肪酸として細胞内に取り込まれた後、主としてトリグリセリド合成への代謝過程をたどることが示されている⁴⁾ことから、トリグリセリドを中心とする脂質プールとの関連において評価を行った。

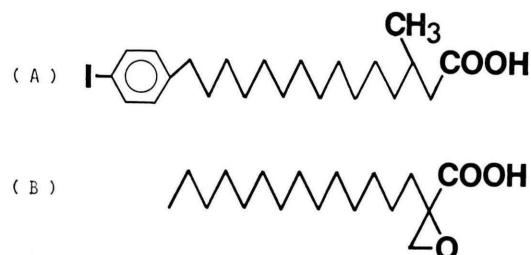


Fig. 1 Structure of ^{123}I -beta-methyl-para-iodophenylpentadecanoic acid (BMIPP) (A) and 2-tetradecylglycidic acid (TDGA) (B).

II. 試薬および実験法

^{123}I -BMIPP (比放射能 : 3.1 Ci / mmole, 放射化学的純度 >99% (TLC 法による), 6% HSA 生理食塩水溶液), ^{125}I -BMIPP (比放射能 : 0.5 Ci/mmole, 放射化学的純度 >99% (TLC 法による), 6% HSA 生理食塩水溶液) は、日本メジフィジックス社より、TDGA は McNeil Pharmaceutical 社より供給されたものを用いた。その他の試薬は、試薬特級を用いた。

1) ラット体内分布実験

ウイスター系雄性ラット (約 200 g) に TDGA (2 mg/kg⁵⁾) を尾静脈投与し、30 分後に ^{123}I -BMIPP (50 μCi , 0.1 ml) を尾静脈投与した。BMIPP 投与後経時的に屠殺解剖し、血液および各臓器の重量、および放射能を測定した。コントロール群には TDGA を含まないコントロール溶液を投与し、以下同様の検討を行った。

2) 心筋集積 BMIPP 代謝分析実験

心筋における BMIPP 代謝に対する TDGA の

* 京都大学医学部核医学教室

** 同 薬学部放射性薬品化学教室

*** 福井医科大学

受付 : 63 年 1 月 22 日

最終稿受付 : 63 年 6 月 28 日

別刷請求先 : 京都市左京区吉田下阿達町 (番 606)

京都大学薬学部放射性薬品化学教室

横山 陽

Table 1 TDGA effect on BMIPP biodistribution in rats*

TDGA treated		Heart	Blood	Liver	Kidney	Lung
Time (min)						
5	5.10 (0.03)	1.12 (0.37)	2.42 (0.43)	1.14 (0.27)	1.54 (0.40)	
10	4.79 (0.40)	1.35 (0.12)	1.64 (0.30)	1.90 (0.22)	1.39 (0.32)	
30	4.42 (0.60)	1.08 (0.20)	1.25 (0.11)	2.03 (0.31)	1.05 (0.10)	
60	4.46 (0.49)	0.81 (0.14)	1.05 (0.22)	1.98 (0.12)	0.86 (0.10)	

Control						
Time (min)	Heart	Blood	Liver	Kidney	Lung	
5	4.77 (0.96)	1.28 (0.27)	2.74 (0.46)	1.55 (0.12)	1.41 (0.28)	
10	4.60 (0.67)	1.34 (0.17)	1.57 (0.22)	2.68 (0.59)	1.23 (0.14)	
30	3.52 (0.47)	1.14 (0.27)	0.97 (0.14)	1.60 (0.47)	0.90 (0.20)	
60	3.25 (0.48)	1.52 (0.33)	1.03 (0.16)	1.65 (0.40)	0.96 (0.13)	

*% dose/g, average of 4-5 rats (1 S.D.).

影響を検討した。前記1)と同様の前処理を行ったラットに ^{125}I -BMIPP (150 μCi , 0.1 ml) を尾静脈より投与し、30分後に屠殺解剖し、心臓を摘出秤量した。氷冷下細切し、生理食塩水 1 ml を加えてホモジナイズした後、Folch の方法⁶⁾に従い $\text{CHCl}_3 : \text{MeOH}$ (2:1) 溶液にて脂質の抽出を行った。抽出液は容量を測定した後シリカゲル薄層クロマトグラフィー (Merck Art. 5553, 展開溶媒・petroleum ether : diethyl ether : acetic acid = 80 : 20 : 1)⁴⁾ にて分析を行った。薄層板を乾燥後、5 mm ごとに切断し放射能を測定した。遊離脂肪酸、ジグリセリド、トリグリセリドの展開位置は、palmitic acid, dipalmitin, tripalmitin を標品に用いて決定した。

3) 心筋脂質量分析実験

心筋脂質量に対する TDGA の影響を検討した。ラットに前記1)と同様の処理を行い、30分後に屠殺解剖した。心臓を摘出秤量した後、前記2)と同様の方法で脂質の抽出を行った。抽出液は容量を測定した後シリカゲル薄層クロマトグラフィー (Merck Art. 3770, 展開溶媒・petroleum ether : diethyl ether : acetic acid = 80 : 20 : 1) にて展開しセリウム硫酸にて呈色させた後、デンシトメータ (島津、反射式) にて脂質の同定ならびに定量を行った。

III. 結 果

Table 1 に、TDGA 処理ラットにおける BMIPP の体内分布を検討した結果を、コントロール群とあわせて示す。BMIPP はコントロール群の心筋において血液あるいは肝臓に比較して高い集積を示したが、TDGA 前処理群ではさらに高く集積し、かつ心筋からの消失が遅延する傾向が観察された。その結果、心筋対血液比 (H/B)、心筋対肝臓比 (H/L) は投与後 60 分においてそれぞれ 5.54 ± 0.79 (平均 ± 1 S.D.), 4.41 ± 1.23 と、コントロール群 ($H/B = 2.18 \pm 0.39$, $H/L = 3.22 \pm 0.72$) に比較して大きく増加した。

このような TDGA の効果を詳しく検討するため、心筋中における BMIPP の存在状態について TLC による分析を行った (Fig. 2). Knapp ら⁴⁾ が報告したように、コントロール群心筋において BMIPP のほとんどは遊離脂肪酸としてではなくトリグリセリド画分に存在したが、TDGA 前処理群においても同様にその放射能はトリグリセリド画分中に見いだされた。

心筋脂質量含有量に関する検討において TDGA はジグリセリド、遊離脂肪酸に関しては影響を与えたなかったが、トリグリセリドに関しては有意に増加させる傾向を示した (Fig. 3).

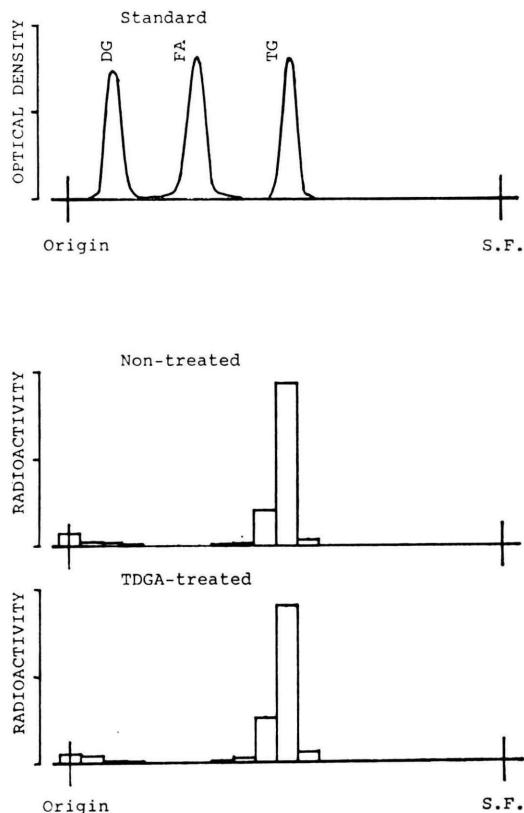


Fig. 2 TLC radioactivity profile of BMIPP injected rat heart extract. Standard profile, detected by densitometer. DG: diglyceride, FA: free fatty acid, TG: triglyceride.

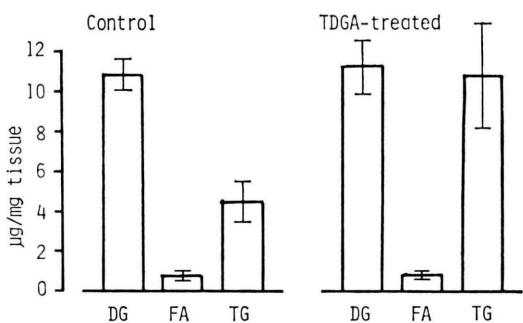


Fig. 3 Lipid contents in rat heart. Mean of 3 animals (1 S.D.). DG: diglyceride, FA: free fatty acid, TG: triglyceride.

IV. 考 察

TDGA は、Fig. 1 (B) に示す構造をもつ脂肪酸

誘導体である。その脂肪酸代謝阻害機序は、ミトコンドリア膜にある脂肪酸輸送機構の構成酵素であるカルニチンアシルトランスフェラーゼを非可逆的に阻害することによる、ミトコンドリア内ベータ酸化機構への脂肪酸供給阻害を機序とする間接的ベータ酸化阻害とされている³⁾。本検討で行ったような急性のベータ酸化阻害によって BMIPP の集積自体に有意な変化が観察された (Table 1) ことは、BMIPP 集積を指標とする脂肪酸代謝機能診断の可能性を期待させるものであると考えられる。そこで、TDGA の脂肪酸代謝への影響を BMIPP 集積機序との関連において、より詳細に検討することとした。BMIPP の集積機序としてはトリグリセリド合成経路への親和性が考えられる。脂質プール代謝に与える TDGA の影響を分析的手法を用いて検討したところ、Knapp らの報告⁴⁾と同じく BMIPP は正常心筋においてはトリグリセリドとして滞留しており、BMIPP がトリグリセリド合成の基質となることが示されたが、TDGA 前処理を行ったラットにおいても放射能はトリグリセリド画分にあり、TDGA がトリグリセリド合成過程を阻害しないことが明らかとなった (Fig. 2)。さらに脂質プールにおける各脂質含有量を測定したところ (Fig. 3)，トリグリセリド含有量が TDGA 処理によって大きく増加する結果を得た。したがって、本検討において行ったような TDGA 处理によるベータ酸化阻害が、結果的にはトリグリセリド合成活性を高めることになったと考えられる。BMIPP はトリグリセリド合成基質となるため、合成活性の増加とともに集積の増加を示したものと考えられる。一方、ジグリセリド含有量は、トリグリセリド含有量が大きく変化した条件下においてもほとんど変化はなく (Fig. 3)，また BMIPP 放射能もジグリセリド画分にはほとんど存在しなかったこと (Fig. 2) を考えあわせると、ジグリセリドが、トリグリセリドに比較して合成、分解代謝の遅い脂質貯留形態であり、BMIPP の集積に対する関与の小さいことが示唆された。

トリグリセリドは脂肪酸代謝において基質貯留

プールとして重要な役割を果たしており、その合成過程が心筋脂肪酸代謝機能の一要素として評価し得る可能性が高いと考えられる。実際、本検討で検討されたような急性のベータ酸化機能低下においても心筋トリグリセリド量に大きな変化が観察された。また、BMIPPがこのような心筋トリグリセリド量の変化に対応すると考えられる心筋集積の相違を示したことは、BMIPPがトリグリセリド合成基質として、脂肪酸代謝機能を反映する挙動を示す放射性医薬品であることを強く示唆している。トリグリセリドはその存在意義から考えて本検討のような急性脂肪酸代謝異常のみでなく慢性的異常によっても変化する可能性が期待される。われわれのこれまでの慢性心筋代謝機能低下モデルを用いる検討において、本検討とは異なりBMIPP心筋集積の減少を観察しており^{7,8)}、トリグリセリド合成と種々の急性、慢性的病態における心筋代謝との関連については興味をひくところである。

文 献

- 1) Goodman MM, Kirsh G, Knapp FF Jr: Synthesis and evaluation of radioiodinated terminal p-iodophenyl-substituted α - and β -methyl branched fatty acids. *J Med Chem* **27**: 390-397, 1984
- 2) Shelbert HR, Henze E, Keen R: C-11-palmitate for the noninvasive evaluation of regional myocardial fatty acid metabolism with positron-computed tomography. IV. In vivo evaluation of acute demand-induced ischemia in dogs. *Amer Heart J* **106**: 736-750, 1983
- 3) Tutwiler GF, Mohrbacher R, Ho W: Methyl 2-tetradecylglycidate, an orally effective hypoglycemic agent that inhibits long chain fatty acid oxidation selectively. *Diabetes* **28**: 242-248, 1979
- 4) Knapp FF Jr, Ambrose KR, Goodman MM: New Radioiodinated Methyl-Branched Fatty Acids For Cardiac Studies. *Eur J Nucl Med* **12**: S39-S44, 1986
- 5) Caterson D, Fuller J, Randle PJ: Effect of the fatty acid oxidation inhibitor 2-tetradecylglycidic acid on pyruvate dehydrogenase complex activity in starved and alloxan-diabetic rats. *Biochem J* **208**: 53-60, 1982
- 6) Folch J, Lees M, Stanley HS: A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem* **226**: 497-509, 1957
- 7) Yonekura Y, Brill AB, Som P, et al: Regional myocardial substrate uptake in hypertensive rats: A quantitative autoradiographic measurement. *Science* **227**: 1494-1496, 1985
- 8) Yamamoto K, Som P, Brill AB, et al: Dual tracer autoradiographic study of β -methyl-(1-¹⁴C)-heptadecanoic acid and 15-p-(¹³¹I)-iodophenyl- β -methylpentadecanoic acid in normotensive and hypertensive rats. *J Nucl Med* **27**: 1178-1183, 1986

Summary

Basic Studies on I-123-beta-methyl-p-iodophenylpentadecanoic Acid (BMIPP) for Myocardial Functional Diagnosis: Effect of Beta-oxidation Inhibitor

Yasuhide FUJIBAYASHI*, Yoshiharu YONEKURA*, Keiichi KAWAI**,
Kazutaka YAMAMOTO*, Nagara TAMAKI*, Junji KONISHI*,
Akira YOKOYAMA** and Kanji TORIZUKA***

*Department of Nuclear Medicine, School of Medicine, Kyoto University

**Department of Radiopharmaceutical Chemistry, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Kyoto University

***Fukui Medical School

To clarify the availability of I-123-beta-methyl-p-iodophenylpentadecanoic acid (BMIPP) as myocardial metabolism diagnostic agent, the effect of beta-oxidation inhibitor on BMIPP metabolic behavior was studied in relation to lipid pool. As for inhibitor, tetradecylglycidic acid (TDGA), mitochondrial carnitine acyltransferase I inhibitor, was used. Both in TDGA pre-treated and control rats, BMIPP was found in TG fraction of the heart, showing no inhibitory effect of TDGA on TG-synthesis. In TDGA pre-treated rats, BMIPP ac-

cumulation in the heart was greatly increased together with triglyceride (TG) content; free fatty acid and diglyceride content had no remarkable change. So, TG synthesis, which acts as substrate-storage, can be evaluated as an index reflecting the changes of fatty acid metabolism. BMIPP is a plausible radiopharmaceutical for myocardial fatty acid metabolism study, as a substrate of triglyceride synthesis.

Key words: BMIPP, Fatty acid, Myocardial metabolism, Beta-oxidation inhibitor.