

オートラジオグラフィーによる皮下炎症への ^{18}F -FDG集積特性

原沢菜穂子 藤山博文 夏堀雅宏 山口慶一郎*¹ 伊藤正敏*¹

寺崎一典*² 畠山 智*³ 二ツ川章二*³ 伊藤伸彦

北里大学獣医畜産学部
034-8628 青森県十和田市東 23 番地 35-1

*¹ 東北大学サイクロترون RI センター
980-8578 宮城県仙台市青葉区荒巻字青葉 01

*² 岩手医科大サイクロترونセンター
020-0173 岩手郡滝沢村留が森 358-58

*³ 日本アイソトープ協会仁科記念サイクロترونセンター
020-0173 岩手郡滝沢村字留が森 348-58

1. はじめに

FDG は、悪性度が高く、細胞分裂が活発な細胞ほど多く取り込まれるため、SUV は高値を示す。このため、SUV は腫瘍の悪性度の指標となり臨床的に用いられている。しかし、炎症性組織も高率に FDG を取り込むことが知られており、臨床現場において、腫瘍と炎症とを誤診してしまう例がある。

そのため、腫瘍と炎症の鑑別診断の必要性は核医学検査の発展と共に高まっており、早急な解決が望まれ、鑑別に関する研究が多数行われている^{1,2,3)}。そこで、本研究では、腫瘍と炎症の鑑別診断に貢献できるデータとして、特に炎症性組織の病理組織学的特徴とそれに対する FDG 集積機序の違いに主眼をおき、研究を行った。

2. 材料および方法

2.1・動物

Wistar 系ラット（4 週齢 ♂）（日本エスエルシー株式会社）を購入し、3 週間馴致させた後、7 週齢で実験に用いた。本研究では合計 10 匹のラットを使用した。

2.2・炎症モデルの作成

ラットの背側部皮膚をバリカンで毛刈りし、テレピン油（和光純薬工業）10μl をマイクロシリンジを用いて皮下投与した。テレピン油投与は、FDG 投与日の 18 日前、14 日前、10 日前、7 日前、5 日前、4 日前、3 日前、2 日前に同一個体の背側皮下に投与し、時間的に 8 段階の異なった炎症ステージを作成した[図 1]。テレピン油投与後は、各炎症の肉眼所見およびサイズを記録し、最終的にはラットによる咬

傷、擦過傷等の損傷がない個体10匹をFDG投与群として使用した。

2.3・使用 RI および相互校正値 (calibration factor) の算出

ガンマカウンタによる炎症組織中 FDG 集積の定量は、北里大学 RI 棟内第 5 実験室で行い、(社) 日本アイソトープ協会・仁科記念サイクロترونセンター (NMCC) で合成された FDG を使用した。また ARG による炎症組織中 FDG 集積の定量は、東北大学サイクロترونラジオアイソトープセンター (CYRIC) 内、低レベル実験室で行い、同施設内サイクロترونで合成された FDG を使用した。定量評価を行うために、既知の RI 量と各測定装置の結果との相関を検出し、事前に相互校正値 (calibration factor :C.F.) を算出した。 ^{18}F -FDG (2mCi/ml) をマイクロチューブに分取し、生理食塩水を用いて 2 倍階段希釈を 11 段階 ($2^0 \sim 2^{10}$) 行い、これをキュリーメータおよびガンマカウンタで測定し、バックグラウンド補正を行った後、両者の結果から C.F.を算出した。

2.4・実験使用機器

ガンマカウンタによる定量法：ガンマカウンタ (AUTO WELL GAMMA SYSTEM DC-751 ; Aloka) , キュリーメータ (ICG-7B ; Aloka)

ARG による定量法：ガンマカウンタ (WALLAC1480 WIZARD) , キュリーメータ (ICG-7B ; Aloka) , クリオスタット (HM-500 カールツアイス) , BAS5000 (富士写真フイルム) , イメージングプレート (IP SR 2025 富士写真フイルム : 以下 IP と略す。)

2.5・使用個体数、FDG 投与法、炎症組織の採取

ラットはガンマカウンタによる炎症組織中 FDG 集積の定量では 6 匹、ARG による定量では 4 匹使用した。ガンマカウンタによる定量では FDG (2mCi/ml) を 100 μl 、ARG による定量では 300 μl を尾静脈より投与した。投与に用いたシリンジは、投与前にキュリーメータで RI 量 (μCi) および測定時刻を計測した。FDG 投与後にも同様の操作を行い、両者の RI 量はそれぞれ投与時間へ減衰補正し、投与前のシリンジ RI 量より投与後のシリンジ RI 量を差し引くことで、投与時における RI 量を算出し、これを投与量とした。FDG 投与 80 分後に、ペントバルビタール (ネンブタール : 大日本製薬) を生理食塩水 (大塚製薬) で 5mg/ml に希釈し、これをラット腹腔内に 1ml 投与して麻酔を行った。5 分ほど経過し、不動化を確認した後、ラットの腹腔を鉗を用いて開腹し、腹大動脈から採血し、採血後 (FDG 投与後 90 分) にラットを放血屠殺した。屠殺後、ただちにピンセット、鉗を用いて炎症組織を採取した。

2.6・ガンマカウンタによる炎症組織中 FDG 集積量の定量

ラットから取り出した炎症組織は重量測定後、試験管 (15 $\times$ 85mm) に詰めた後、ガンマカウンタを用いて FDG 集積量を 20 秒間計測した。またこの時の測定時刻を記録した。この計測値を 1 分間あたりのカウント値 (CPM) に換算し、バックグラウンドを差し引いた値を取得した C.F ($\mu\text{Ci}/\text{CPM}$) を用いて μCi に換算し、FDG 投与時刻に減衰補正した。補正値は、さらに組織重量 (g) 当たりの FDG 集積量に換算し、ラット体重、FDG 投与量を Eq.1 に代入して、SUV を算出した。

$$\text{SUV} = \frac{\text{組織中の放射能 (Bq)}}{\text{組織重量 (g)}} \div \frac{\text{トレーサの投与量 (Bq)}}{\text{体重 (g)}} \quad \dots \text{Eq.1}$$

2.7・ARG による定量法

ARG 法を用いて定量評価を行うため、既知の RI を炎症組織と同一の IP 上に設置し、露出 (コンタクト) を試みた。このため、最初に既知量の RI を濾紙にしみこませた標準線源を作製し、続いて凍結切片の作製、最後にコンタクトを行った。

濾紙 (5A, 直径 90mm, 厚さ 220 μm , ADVANTEC 社) を、約 1.5cm $\times$ 1.5cm に切り取り、既知量の RI

を希釈した水溶液 ($2^{-5} \sim 2^{-13}$) を 5 μ l ずつ滴下・風乾させ、FDG 標準線源を作製した。

ラットより摘出した炎症組織を包埋皿 (ティッシュテック包埋皿 13 号: Tissue-Tek) に 1 組織ずつ入れ、O.C.T. compound (Tissue-Tek) で浸した。この時発生した気泡は注射器を用いて取り除いた。組織の凍結時には液体窒素を用い、急激な凍結による組織の損傷を緩和するためイソペンタン (和光純薬工業) を用いた。凍結手法は、200ml ビーカーにイソペンタン約 100ml を入れ、ビーカーごと液体窒素中に入れイソペンタンの温度を約 -70 $^{\circ}$ C まで低下させた。この中へ、組織を含んだ包埋皿を約 1 分浸漬させて、組織を凍結させた。凍結ブロックは表面に付いたイソペンタンをふき取った後、クリオスタットで厚さ 20 μ m に薄切し、スライドガラスに貼り付け、凍結切片とした。凍結切片は 40 $^{\circ}$ C に設定した保温機で 1 時間乾燥させた。

凍結切片と FDG 標準線源を同一カセットの内に入れ、IP と密着させ、コンタクトを開始した。IP は、RI の汚染防止のため、事前にラップで包んだ。コンタクト時間は、60~120 分間行った。コンタクト終了後、凍結切片および FDG 標準線源から IP を取り外し、スキャナ (富士写真フイルム BAS5000) で RI 集積状況を読み取り (16bit, S10000, 0.05 $\times$ 0.05mm/pixel)、専用フォーマットの画像ファイルとして保存した。凍結切片は後日、ヘマトキシリンエオジン染色を行った。

画像ソフトウェア (HUG.OSIRIS ver4.0.) を用いて、ARG 画像の解析を行った。はじめに FDG 標準線源に関心領域 (region of interested: ROI) を設定し、これで得られた信号強度 (intensity/pixel) をバックグラウンド補正した値と既知量の RI より検量線を作製した。続いて、病理組織切片を鏡検し、位置合わせを行った後 ROI を設定し、intensity/pixel を計測した。

ROI の設定は、病理組織学的診断より得られた所見より分類された 2 つの領域をもとに行った。本研究では、テレピン油周囲に浸潤する好中球およびマクロファージから形成されるヘマトキシリンによって濃染する層を炎症細胞層と定義し、また炎症細胞層の周囲に見られる繊維芽細胞、新生毛細血管、膠原線維、線維細胞などから形成される肉芽の形成に関わる領域を肉芽組織層と定義した。本実験の解析では、炎症細胞層および肉芽細胞層に ROI を設定する方法、肉芽組織層に ROI を設定する方法、炎症細胞層に ROI を設定する方法の 3 種類行った。炎症組織の ROI 解析より得られたデータを、前述の検量線にて、RI 量に換算し、ROI 中の FDG 集積量 (μ Ci) を定量した。

さらに ROI 中の組織重量を産出するため、OSIRIS で得られた ROI 面積 (mm^2) に切片の厚さ 20 μ m を掛け、比重を 1 として重量 (g) に換算した。この重量データと FDG 集積量を Eq.1 に代入して、SUV を算出した。

2.8・炎症細胞層の画像解析ソフトウェアによる解析

それぞれのステージの炎症組織はホルマリン固定後、ミクロトームで 5 μ m に薄切し、HE 染色標本を作成した。これを光学顕微鏡 (Leica) でデジタル撮影し、画像ファイルを保存した。テレピン油周囲には好中球およびマクロファージの浸潤がおこりそれぞれテレピン油を取り囲むように層を形成する。本研究では炎症細胞層、好中球層、マクロファージ層を Eq2 のように定義し、それぞれ画像解析ソフトウェア (image tool ver2.0) を用いて厚さを計測した。

$$\text{炎症細胞層 (mm)} = \text{好中球層 (mm)} + \text{マクロファージ層 (mm)} \quad \cdots \text{Eq.2}$$

3. 結果

3.1・炎症組織の病理組織学的所見

投与後 2 日の皮下組織には投与したテレピン油の集積を中心とする大型結節状の炎症巣が存在していた。これら炎症巣はその構成する細胞成分により大きく 3 層に分類された。テレピン油周囲には好中

球およびマクロファージを主体とする炎症細胞の強い浸潤が認められ(炎症細胞層)、好中球はしばしば崩壊ないし融解に陥っていた。マクロファージはテレピン油の貪食により大型、格子状の細胞質を呈し、細胞崩壊物を頻繁に貪食していた。炎症細胞層周囲には僅かな炎症細胞の浸潤とともに紡錘形状の胞体を示す線維芽細胞と新生血管の増生からなる肉芽組織層が認められ、より中心部に近い層では膠原線維が密に増生しているのに対し、その周囲は膠原線維間における水腫により線維芽細胞と新生血管が疎に増生していた。このような炎症巣を構成する細胞層は時間の経過とともに明らかな変化を示した。すなわち投与後 2-4 日で見られる炎症細胞は好中球のみであったのに対し、投与後 5 日からマクロファージの浸潤が開始し、浸潤は時間の経過とともに増加した。一方、肉芽組織は時間の経過とともにより成熟した膠原線維層に置換される傾向を示し、そのサイズは減少した。また膠原線維間の水腫を伴う幼弱な肉芽組織層は投与後 4 日がピークで、その後随時減少し、投与後 18 日ではほとんど認められなかった。

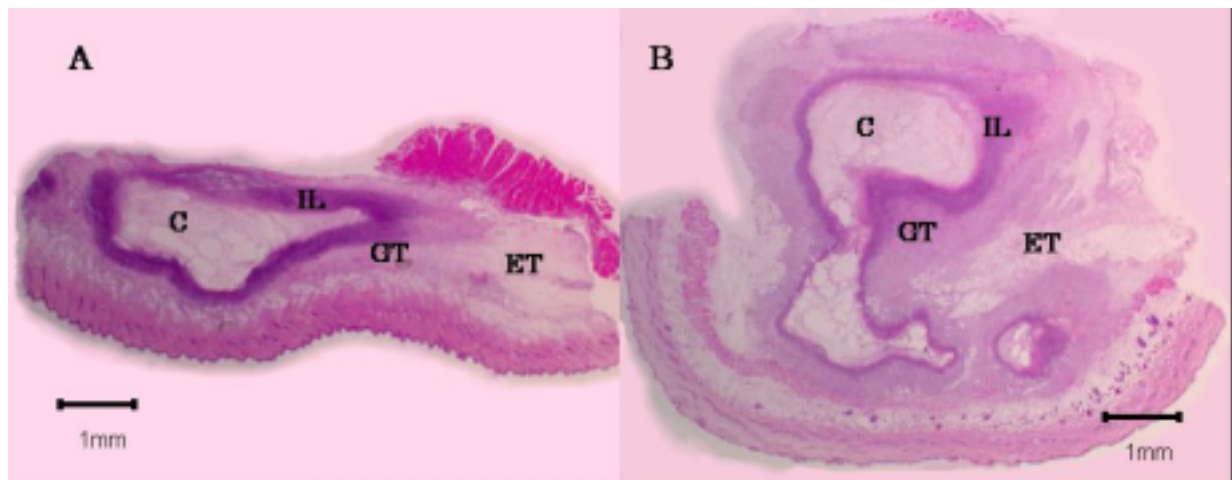


図 1. テレピン油投与後 2 日目 (A)、4 日目 (B) の炎症組織の構成

炎症の中心：Center of inflammatory tissue(C), 炎症細胞層：Inflammatory cells layer(IL)

浮腫：Edematous tissue(ET), 肉芽組織層：granulation tissue(GT)

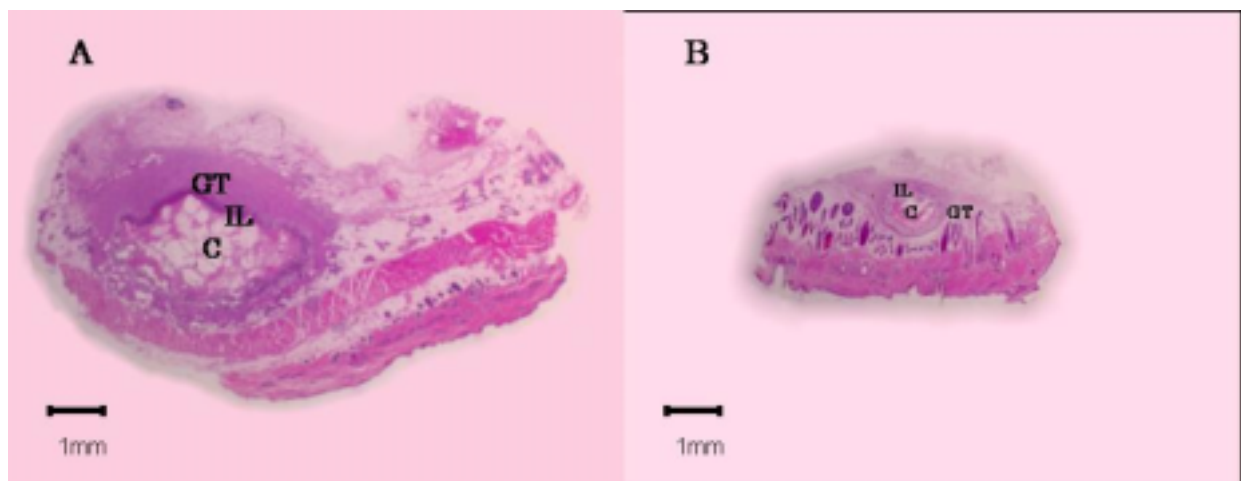


図 2. テレピン油投与後 7 日目 (A)、18 日目 (B) の炎症組織の構成

炎症の中心：Center of inflammatory tissue(C), 炎症細胞層：Inflammatory cells layer(IL)

浮腫：Edematous tissue(ET), 肉芽組織層：granulation tissue(GT)

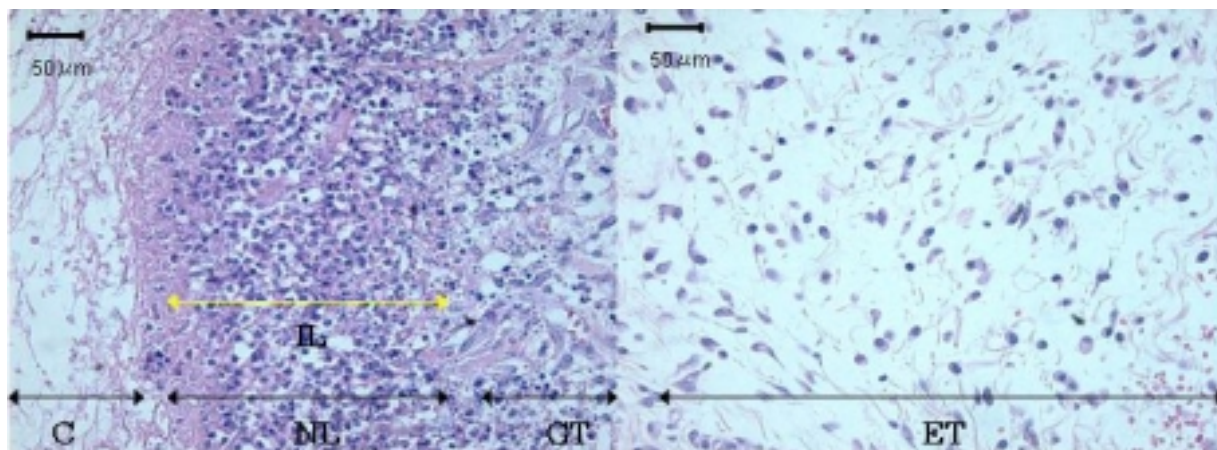


図 3. テレピン油投与後 4 日目の炎症組織

炎症の中心：Center of inflammatory tissue(C), 炎症細胞層：Inflammatory cells layer(IL)

好中球層：Neutrophil layer (NL), 浮腫：Edematous tissue(ET), 肉芽組織層：granulation tissue(GT)

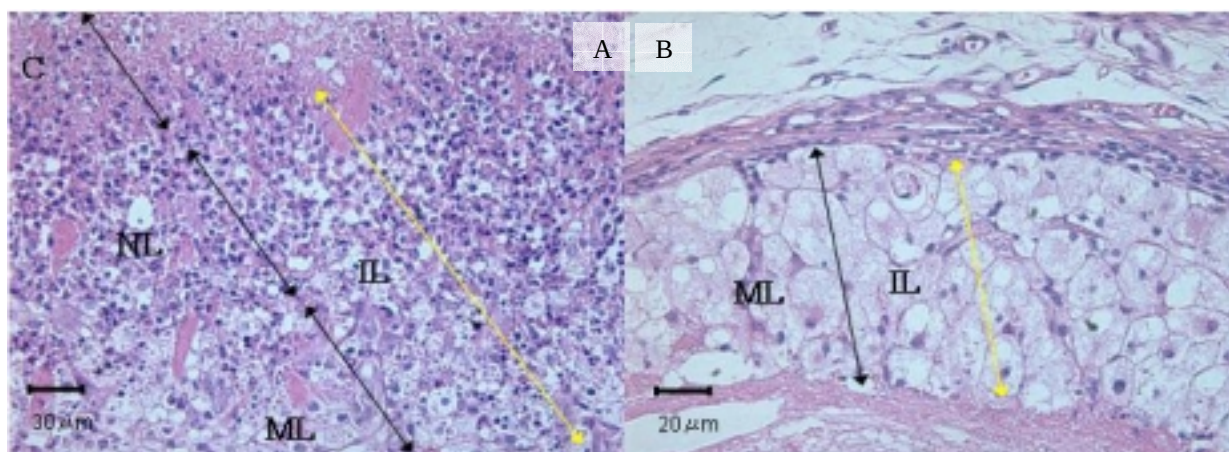


図 4. テレピン油投与後 7 日目(A)・18 日目 (B) の炎症組織の炎症細胞層

炎症の中心：Center of inflammatory tissue(C), 炎症細胞層：Inflammatory cells layer(IL)

好中球層：Neutrophil layer (NL), マクロファージ層：macrophage layer (ML), 肉芽組織層：granulation tissue(GT)

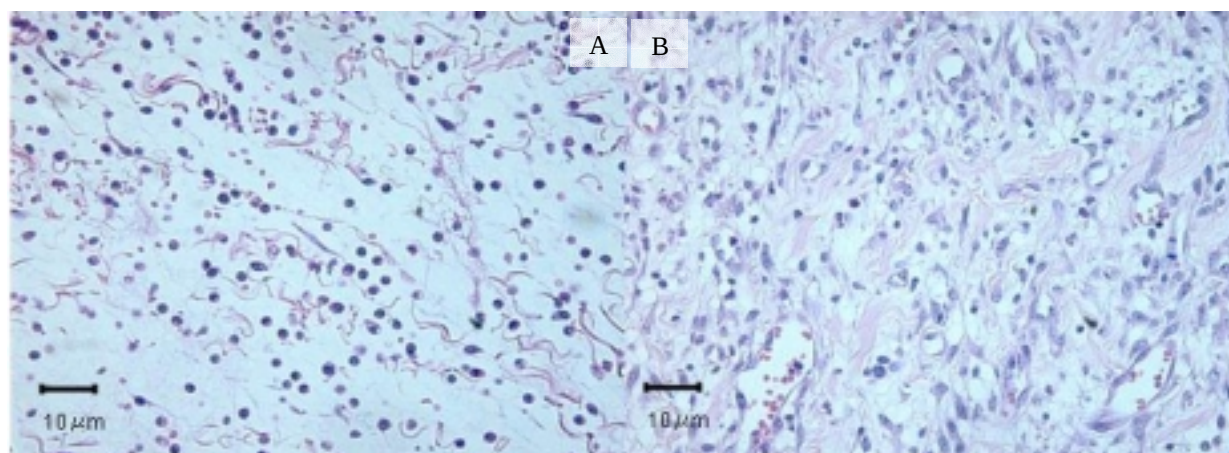


図 5. テレピン油投与後 2 日目(A)・4 日目 (B) の肉芽組織層

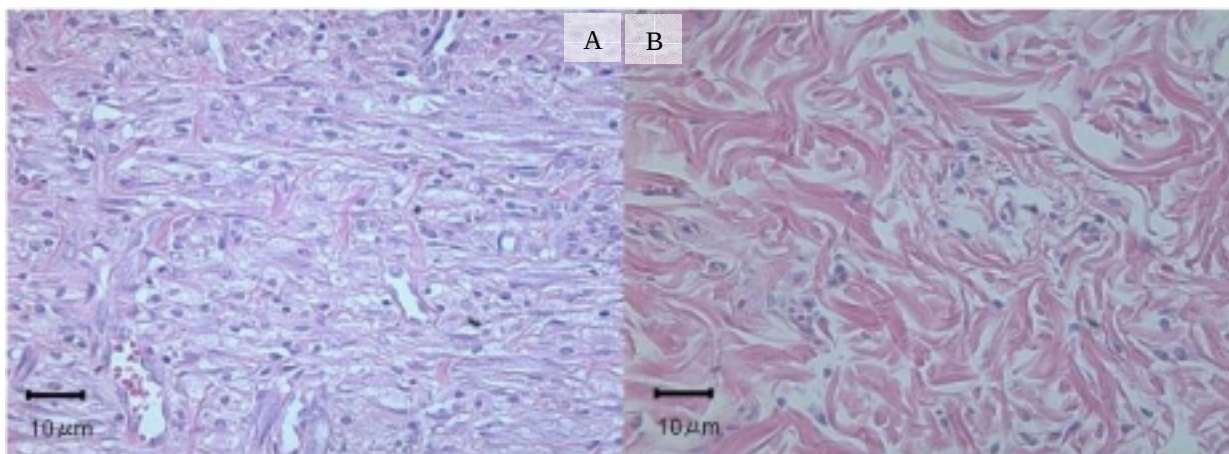


図 6. テレピン油投与後 7 日目(A)・18 日目 (B) の肉芽組織層

3.2・好中球層およびマクロファージ層の厚さの計測

好中球層の厚さはテレピン油投与後 2-4 日目にかけて上昇し、5-7 日目にかけて急激に減少し、その後は時間の経過と共に緩やかに減少していく結果が得られた。一方、マクロファージ層はテレピン油投与後 5 日目から出現し始め、18 日目にかけて厚さが緩やかに増加した。マクロファージ層の厚さ/好中球層の厚さの関係はテレピン油投与 5 日目から時間の経過とともに直線的に上昇した。

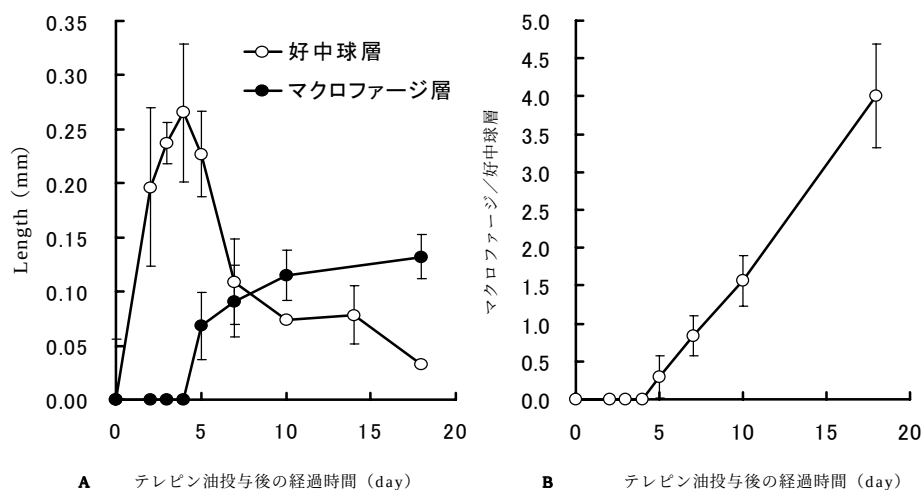


図 7. テレピン油周囲の好中球層とマクロファージ層の厚さ (A)、および好中球層の厚さに対するマクロファージ層の厚さの比 (B) の経時的変化

3.3・ガンマカウンタによる炎症組織中 FDG 集積の定量

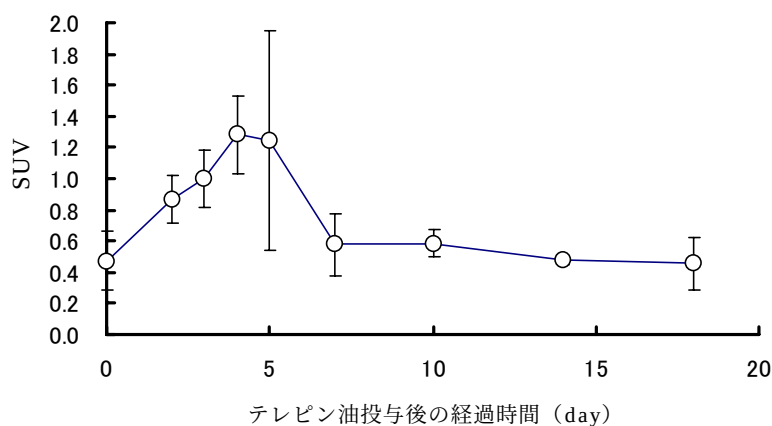


図 8. 炎症組織中 FDG 取り込みの経過時間 (ガンマカウンタによる定量評価)

SUV はテレピン油投与後 2-4 日目にかけて上昇し、5 日目から減少をはじめ、7-18 日目にわたっては変化が見られなかった。テレピン油投与後 2,3,4 日目の組織は 10,14,18 日目の組織および無処置の皮下組織より FDG 集積が有意に高値を示した。

3. 4・ARG による炎症組織中 FDG 集積の定量

3. 4. 1・FDG 標準線源による検量線

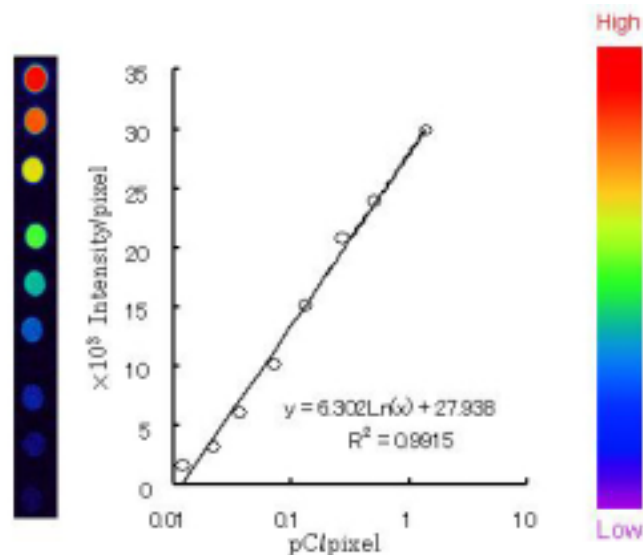


図 9.FDG 標準線源より作成した検量線

信号強度 (intensity/pixel) は RI 量 (μCi) の対数値に比例し、極めて良好な直線性を示した。検量線は各 IP ごとに作成したが、 R^2 値はすべて 0.97 以上であった。

3. 4. 2・病理組織と ARG 画像の所見

ARG 画像では、テレピン油を取り囲んでいるヘマトキシリンにより濃染している領域すなわち炎症細胞層に FDG の高い集積が確認された。またテレピン油投与後 3-4 日目の炎症では炎症細胞層の周囲にホットスポットが確認された。鏡検像よりその領域では線維芽細胞および新生毛細血管の増生、伸長の盛んに行われていることが確認された。

3. 4. 3・炎症細胞層＋肉芽組織層に ROI を選択した場合

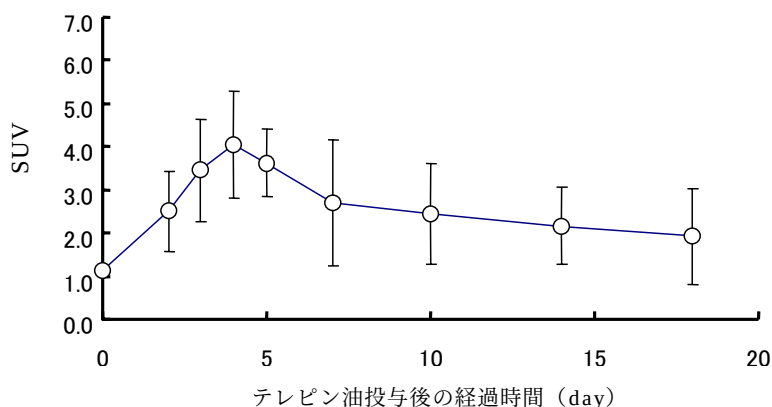


図 10.炎症組織中 FDG 取り込みの経時的変化 (ARG による定量評価：炎症細胞層および肉芽組織層に ROI を設定)

SUV はテレピン油投与後 2-4 日目にかけて上昇し、5 日目から減少をはじめ、7-18 日目にわたっては変化が見られなかった。テレピン油投与後 4,5 日目の組織は無処置の皮下組織より FDG 集積が有意に高値を示した。

3.4.4・肉芽組織層に ROI を選択した場合

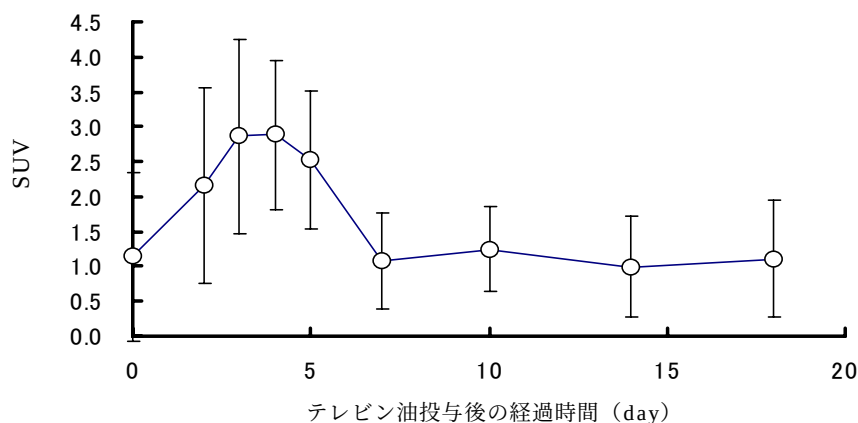


図 11.炎症組織中 FDG 取り込みの経過時間（ARG による定量評価：肉芽組織 的層に ROI を設定）

SUV はテレピン油投与後 2-4 日目にかけて上昇し、5 日目から減少をはじめ、7-18 日目にわたっては変化が見られなかった。テレピン油投与後 4 日目の組織は無処置の皮下組織より FDG 集積が有意に高値を示した。

3.4.5・炎症細胞層に ROI を選択した場合

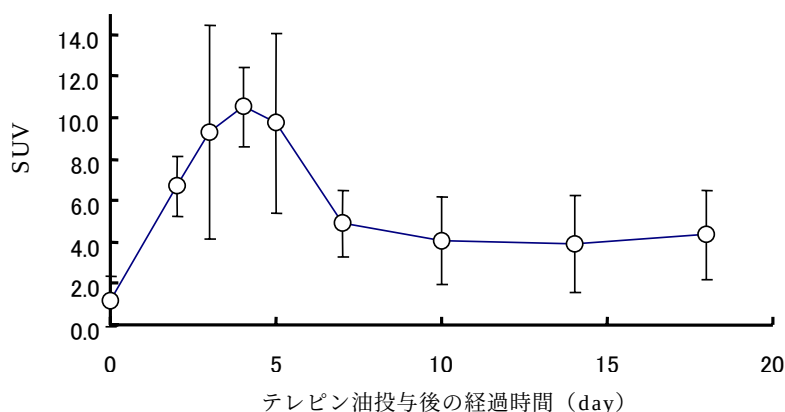


図 12.炎症組織中 FDG 取り込みの経時的変化（ARG による定量評価：炎症 細胞層に ROI を設定）

SUV はテレピン油投与後 2-4 日目にかけて上昇し、5 日目から減少をはじめ、7-18 日目にわたっては変化が見られなかった。テレピン油投与後 2,3,4,5,7 日目の組織は無処置の皮下組織より FDG 集積が有意に高値を示した。さらにテレピン油投与後 4 日目の組織は 7,10,14,18 日目の組織より FDG 集積が有意に高値を示した。

3.5・炎症関連細胞層の厚さと炎症細胞層中の FDG 集積量との関係

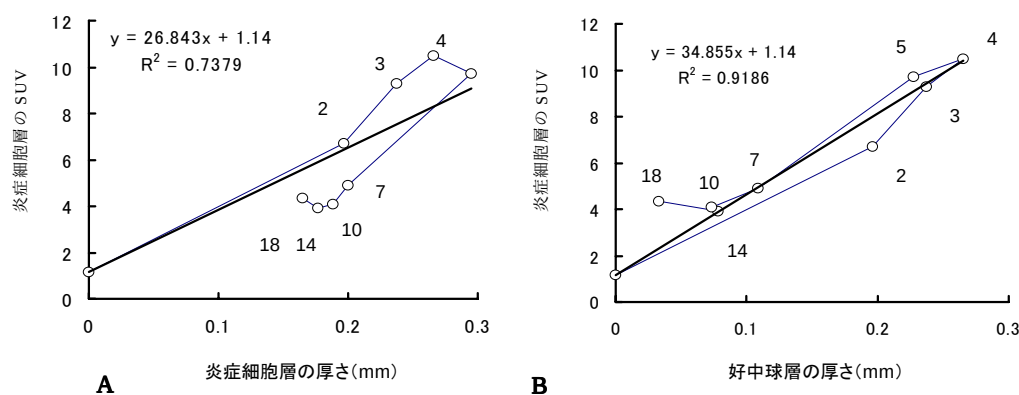


図 13.炎症細胞層の厚さと炎症細胞層の SUV との関係 (A) .好中球層の厚さと炎症細胞層の SUV との関係 (B)

グラフ中の数字はテレピン油投与後の経過時間 (day)

テレピン油投与後の炎症組織の炎症細胞層の厚さに対する炎症細胞層中の SUV の関係をグラフにしたところ、両者には直線的関係が見られた。 R^2 値は 0.7379 であり近似直線との相関はやや低かった。テレピン油投与後 2-4 日目の炎症細胞層の SUV は回帰直線より高値を示し、一方テレピン油投与後 7-18 日目の炎症細胞層の SUV は回帰直線より低い値を示した。好中球層の厚さと炎症細胞層中の SUV とを比較した結果、両者には直線的関係が見られた。 R^2 値は 0.9186 であり近似直線の信頼性が確認された。また、両グラフの傾きを比較すると、炎症細胞層の SUV を好中球層の厚さで比較したものの方が炎症細胞層の厚さで比較したものよりも回帰直線の傾きが約 1.3 倍高くなった。

4 考察

4.1・使用動物および催炎症性物質の選択

炎症については極めて古くから研究されており、臨床的には紅潮、腫脹、疼痛、発熱の 4 反応の特徴で説明されてきたが、近世になって機能障害が加えられ、いわゆる 5 主徴となった。生体局所での普遍的な、しかも複雑な防御反応である炎症には共通の基本様式があり、反応時間の長さや強度の大小を除けばほぼ一定であると考えられる。何らかの理由で生体に加わる起炎刺激が組織細胞の変性、血管透過性亢進、白血球遊走、細胞の浸潤、肉芽形成の修復へと進み、この各々独立した単位反応の集積が相互に因果関係を結びながら一つの過程としての炎症が完成する。⁴⁾

本研究は、PET における腫瘍と炎症の鑑別診断に貢献できる基礎データとして、炎症性組織の病理組織学的特徴とそれに対する FDG 集積機序の違いに主眼をおき、研究を行った。研究を行うにあたって、使用動物および催炎症性物質の選択を行った。実験の目的から様々な炎症ステージについてデータをとる必要があったが、使用動物をなるべく少なくすることを考慮し、1 個体に様々なステージからなる炎症を作成する方法を考え、使用動物としてラットを選択した。使用する催炎症性物質には、典型的な炎症像を示すこと、再現性がよいこと、また、1 個体に複数の炎症を作成する必要性から限局性であることなどの条件を満たすものが求められた。

催炎症性物質として汎用されているものに carrageenan^{4,5)}、テレピン油^{6,7,8,9)}、Staphylococcus

aureus^{10,11)}などの細菌や Blastomyces^{12,13,14)}などの真菌などがある。

carrageenan は血管透過性を亢進させる作用があり、組織広範に浮腫を引き起こす物質で、足浮腫法などによる抗炎症薬の効果判定などに用いられている⁴⁾。carrageenan により引き起こされる炎症中にも FDG の高い集積が見られることが Yamada らの実験⁵⁾により示されているが、広範におこる浮腫のため、1 個体に複数の炎症を作成すると隣接する部位の相互作用などが懸念されたため使用しなかった。

Staphylococcus aureus などの細菌は細菌自体が起炎物質となり、組織細胞の変性、血管透過性亢進、白血球遊走、細胞の浸潤、肉芽形成などの経過をたどる炎症モデルであり、また炎症が限局性におこることから本実験には適していると考えられた。しかし、Yamada らにより細菌性炎症において FDG は炎症組織のみに集積が見られるのではなく、細菌自体のエネルギー源として FDG の高い集積が見られる^{10,11)}ことが報告されているため、炎症組織自体の FDG 集積を調べるという本実験の趣旨から外れる可能性が考えられたため細菌性炎症モデルは実験に使用しなかった。真菌も細菌と同様に起炎物質となり典型的な炎症を引き起こすが真菌自体に FDG 取り込みが見られる^{12,13,14)}という同様の理由から使用しなかった。

これに対しテレピン油は細菌や真菌と同様に組織細胞の変性、血管透過性亢進、白血球遊走、細胞の浸潤、肉芽形成などの経過をたどり、再現性よく限局性の炎症が形成されるという理由から本実験の目的に合致していると考え、催炎症性物質として選択した^{6,7,8,9)}

4.2・病理組織学的変化

炎症とは、血管透過性亢進、白血球遊走、細胞の浸潤、肉芽形成の修復機転へと進む生体防御反応である。炎症は急性炎症と慢性炎症とに分類され、急性炎症は血管透過性亢進、白血球遊走、好中球の浸潤を中心とした炎症反応である。一方慢性炎症は肉芽組織の形成を特徴とし、マクロファージ、リンパ球、形質細胞に代表される炎症反応である。

テレピン油により誘発される炎症巣を構成する細胞層は時間の経過とともに明らかな変化を示した。すなわち、投与後 2-5 日では炎症細胞の主体が好中球であったのに対し、投与後 5 日からマクロファージの浸潤が開始し、投与後 10 日ではマクロファージの浸潤する割合が好中球の割合を上回った。一方、炎症細胞層の周囲はテレピン油投与後 2-5 日では線維芽細胞および新生毛細血管の増生および伸長に代表される肉芽組織の増生が盛んに行われていた。

肉芽はテレピン油投与後 10 日前後で完成に向かい、時間の経過とともにより成熟した膠原線維層に置換される傾向を示した。肉芽組織のサイズは経時的に減少していた。以上の病理組織学的診断より、テレピン油投与後 2-5 日目の好中球の浸潤に代表される炎症は急性炎症、テレピン油投与後 10 日目以降のマクロファージ、成熟した肉芽組織に代表される炎症は慢性炎症であることが確認された。

4.3・ガンマカウンタによる炎症組織中 FDG 集積量の定量

ガンマカウンタは検出感度がよく、高い定量性が得られるためトレーサー実験において汎用されている機器である。今回、炎症組織のガンマカウンタによる計測結果において、テレピン油投与後 2,3,4 日目の組織は 10,14,18 日目の組織、および無処置の皮下組織より FDG が有意に高い集積を示した。FDG 集積のピークはテレピン油投与後 4 日目であり、この時の SUV は 1.28 ± 0.25 であった。しかし、臨床現場において一般に報告される炎症領域の SUV は 9~11 と報告されており⁴⁾、これより著しく低い値を示した。

このため、後日実験に用いた組織に HE 染色を行い鏡検したところ、摘出部位は炎症性組織だけではなく、表皮、真皮、皮下脂肪、皮筋などの非炎症性の正常組織を含んでいたことが確認された。SUV は組織重量のファクターが強く影響するため非炎症組織の重量によって SUV が相対的に低く現れたと考えられる。以上の結果より、ガンマカウンタによる定量評価は臓器や腫瘍中の RI 取り込みを調べるには良い方法であるが、境界不明瞭な炎症組織では精度が低下してしまうため不向きであると考えられた。

4.4・ARGによる炎症組織中 FDG 集積量の定量

ARGは現在稼動しているPETより解像度が良く(分解能50 μ m)、かつ病理組織組織切片との比較によりROIを正確に設定することができるため、炎症性組織の病理組織学的特徴とそれに対するFDG集積機序の違いに主眼においた本実験の目的から最も適切な実験手段であると思われた。ARGは元来、脳比、筋肉比などでRI集積を相対的に評価するものであり、組織中FDG集積量を定量的に評価することは困難であった。

そこで新しい試みとして、濾紙を用いてFDG標準線源を作成し、炎症組織と同時にIPにコンタクトさせることによって、本研究においては定量化が可能となった。FDG標準線源の信号強度(intensity/pixel)はRI量(μ Ci)の対数値に比例し、極めて良好な直線性を示した。検量線は各IPごとに作成したが、 R^2 値はすべて0.97以上であった。IPを使用したARGは非常に検出感度が高く、より正確な定量評価を行うことが可能であると考えられた。

4.4.1・炎症全体(炎症細胞層および肉芽組織層)のFDG集積の経時的変化

病理組織切片との対比により、正確に炎症細胞層および肉芽細胞層に正確にROIを設定することによって、ガンマカウンタによる実験で生じた非炎症性組織の混入の問題を解決することが可能となり、炎症性組織のみを定量評価することができた。SUVはテレピン油投与後2-4日目にかけて上昇し、5日目から減少をはじめ、7-18日目にわたっては変化が見られなかった。炎症組織中FDG集積のガンマカウンタによる定量ではテレピン油投与後4日目のSUVは、 1.28 ± 0.25 であったのに対してARGによる定量ではテレピン油投与後4日目のSUVは 4.04 ± 1.23 を示した。すべての炎症ステージにおいてガンマカウンタによる定量よりSUVとARGによる定量によるSUVとの間に有意な差が見られ、ARGによる定量の方がSUVが高く評価された。この結果から、ARGによるROI解析では非炎症性組織の影響を排除できるためにSUVの正確性が高くなったと考えられた。また、テレピン油投与後4日目においてSUVが最大に達したことから炎症の急性期にFDGの高い取り込みが生じることが示された。

4.4.2・肉芽組織層のFDG集積の経時的変化

炎症細胞層の周囲はテレピン油投与後2-5日では線維芽細胞および新生毛細血管の増生および伸長に代表される肉芽組織の増生が盛んに行われていた。肉芽はテレピン油投与後10日前後で完成に向かい、時間の経過とともにより成熟した膠原線維層に置換される傾向を示した。肉芽組織のサイズは経時的に減少していた。SUVはテレピン油投与後2-4日目にかけて上昇し、5日目から減少をはじめ、7-18日目にわたっては変化が見られなかった。

肉芽の増生過程で現れる線維芽細胞および新生毛細血管の血管内皮細胞はエネルギー源としてグルコースを要求することが知られている^{15,16)}。病理組織学的診断およびSUVの結果から、線維芽細胞および新生毛細血管の増生の盛んな時期にFDGは多く取り込まれ、肉芽の完成に向かうにつれてFDGの取り込みは減少する傾向が見られた。線維芽細胞および血管内皮細胞は増殖、分裂の過程でより多くグルコースを要求することが示唆された。

4.4.3・炎症細胞層のFDG集積の経時的変化

炎症組織の病理組織学的診断より、テレピン油を取り囲むように炎症細胞が浸潤し炎症細胞層を形成することが確認された。炎症細胞層には好中球およびマクロファージが出現し、出現の割合は経時的に変化した。テレピン油投与後2-4日目までの炎症組織層には好中球しか見られなかったが、5日目からマクロファージが出現し、10日目以降は主体がマクロファージに置き換わる変化が見られた。

このような病理組織学的変化を確認できたことから、好中球層、マクロファージ層にそれぞれROIを選択し、FDG取り込みの経時的変化を調べることを試みたが、直径3~25 μ mである炎症細胞を境界

明瞭に区別することは困難であった。炎症細胞層はヘマトキシリンエオジン染色では各炎症細胞の核が濃染するため組織切片のマクロ像ではテレピン油周囲に紫の濃いバンドが形成されているのが確認される。

ROI を紫の濃いバンドすなわち炎症細胞層に選択し、FDG 集積を SUV で定量評価した。また鏡検像から確認した好中球層およびマクロファージ層の経時的变化と比較検討を行った。SUV はテレピン油投与後 2-4 日目にかけて上昇し、5 日目から減少をはじめ、7-18 日目にかけては変化が見られなかった。この SUV の変化は好中球層の厚さの経時的变化と類似していた点から、好中球層の厚さと炎症細胞層中の FDG 集積量との関係をグラフにしたところ直線関係が見られ、好中球層の厚さと炎症細胞層の SUV との間に比例関係が見られた。 R^2 値は 0.9186 であり、近似直線と高い相関が見られた。同様に炎症細胞層の厚さと SUV との関係をグラフにしたところ直線関係は見られたが、 R^2 値は 0.7379 であり近似直線との相関はあまり高くなかった。

テレピン油投与後 5-18 日目の炎症細胞層には好中球だけではなくマクロファージも含まれているが、以上の結果より、炎症細胞層の FDG 取り込みは好中球の層の厚さとより高い相関が見られ、マクロファージの出現による影響は好中球ほど高くないことが示唆された。本実験当初好中球およびマクロファージの単位面積あたりの密度と SUV との関係を明らかにしようと試みたが、好中球は高密度に浸潤しており高倍率の鏡検像でもカウントが不可能であったためそれぞれの炎症細胞が形成する層の厚さに注目して解析を行った。好中球およびマクロファージの層の厚さは単位面積あたりの密度が高くなった結果、層の厚みが増すということが考えられるため、炎症細胞層中の SUV は好中球の数との間に高い相関があり、マクロファージの取り込みの影響は好中球ほど強くないことが示唆された。好中球は消化活動や異物の取り込みのためにグルコースを要求することが知られており¹⁷⁾、また、マクロファージも消化活動や食食活動においてグルコースを要求することが知られている^{18,19,20)}。しかし、炎症細胞層中 FDG 取り込みの主因は好中球であるということが示唆された。

文献

- 1) 福田 寛,吉岡 清郎,井戸 達雄.1983.¹⁸FDG による腫瘍診断の基礎的研究 癌と炎症の鑑別診断.核医学.20(8)1189-1192.
- 2) Mochizuki,T.Tsukamoto,E.and.Tamaki,N.2001.FDG uptake and glucose transporter subtype expressions in experimental tumor and inflammation models. J Nucl Med.42:1551-1555.
- 3) Zhao,S.Kuge,Y.and.Tamaki,N.2001.Effect of insulin and glucose loading on FDG uptake in experimental malignant tumors and inflammatory lesions European. J Nucl Med. 28 (6) : 731-735.
- 4) 原幸男. Paper disk granuloma 法による fluocinolone acetonide の抗肉芽作用に関する研究. 北里大学大学院薬学研究科学位論文
- 5) Yasuda,S. Kubota,K. and Tamahashi,N. 1992. Double-tracer tissue distribution study of ¹⁸F-FDG and ⁶⁷Ga citrate in inflammatory lesion. CYRIC annual report 1992:122-123.
- 6) Yamada,S. Kubota,K. and Tamahashi,N. 1995. High accumulation of fluorine-18-fluorodeoxyglucose in turpentine-induced inflammatory tissue. J Nucl Med.36: 1331-1306.
- 7) Yamada,S. Kubota,K. and Ido,T. 1995. Double-tracer tissue distribution study of ³H-thymidine and ¹⁸F-FDG in experimental inflammatory tissue. CYRIC annual report1995: 100-1001.
- 8) Yamada,S. Kubota,K. and Ido,T. 1995.Effect of granulocyte-colony stimulating factor on ¹⁸F-FDG uptake in experimental inflammatory tissue. CYRIC annual report1995:98-99.
- 9) Yamada,S. Kubota,K. and Ido,T. 1994. Autoradiographic study of ⁶⁷Ga citrate and ¹⁸F-FDG in experimental inflammatory tissue. CYRIC annual report 1994: 171-173.

- 10) Kaim,A.H., Weber,B. 2002. Autoradiographic quantification of ¹⁸F-FDG uptake in experimental soft-tissue abscesses in rats 2002. radiology.223(2): 447-450.
- 11) Yamada,S. Kubota,K. and Tamahashi, N. 1992. ¹⁸F-FDG accumulation in experimental abscess. CYRIC annual report1992: 114-115.
- 12) Bassett,C.L., Daniel,G.B., and Bemis,D.A., 2002. A technique for Creating localized subcutaneous blastomyces granulomas in rats. American association for laboratory animal science. 41 (3) : 33-37.
- 13) Cary,L.M., Gregory,B. Daniel,B. and. Smith,G.T., 2002. Characterization of uptake of 2-deoxy-2- [¹⁸F] fluoro-D-glucose by fungal-associated inflammation : the differential uptake ratio for blastomyces-associated lesions is as high as for lymphoma and higher than for turpentine abscesses in experimentally induced lesions in rats. molecular imaging and biology . 4(3): 193-200.
- 14) Cary,L.M., Gregory,B. Daniel,B. and smith, G.T., 2002.Characterization of uptake of 2-deoxy-2- [¹⁸F] fluoro-D-glucose by fungal-assosiated uptake value is greater for lesions of blastomycosis than for lymphoma in dog with naturally occurring disease. molecular imaging and biology.4(3): 201-207.
- 15) Landea,D.B. Lemonnier,F. and. Lemonnier,A. 1987. Comparative metabolic effects of fructose and glucose in human fibroblast cultures. In vitro cellular developmental biology. 23(5): 355-360.
- 16) Mckay,N.D., Robinson,B. and Allen,N.R.,. 1983. Glucose transport and metabolism in cultured human skin fibroblasts. biochemica et biophysica Acta. 762. 198-204.
- 17) Weisdorf,D.J., Craddock,P.D., and Jacob,H.S., 1982. Glycogenolysis versus glucose transport in human granulocytes: Differential activation in phagocytosis and chemotaxis. Blood, 60(4):888-893.
- 18) Ahmed,N. Kansara,M. and Berridge,M.L.,. Acute regulation of glucose transport in amonocyte-macrophage cell line:Glut-3 affinity for glucose is enhanced during the respiratory burst. Biochem J. 327:369-375.
- 19) Kiyotaki,C. Peisach,J. and. Barry,R,Bloom,B.R. 1984. Oxygen metabolism in cloned macrophage cell lines: Glucose dependence of superoxide production,metabolic and spectral analysis. J immunologists. 132(2):857-865.
- 20) Shearer,J.D., and Caldwell,M.D.,. 1988. Glucose metabolism of injured skeletal muscle: The contribution of inflammatory cells. circulatory shock. 25: 131-138