脳を標的とした創薬における 分子イメージングの活用

独立行政法人理化学研究所・ライフサイエンス技術基盤研究センター・生命機能動的イメージング部門*

金山洋介・新垣友隆・尾上浩隆・渡辺恭良*

Application of Molecular Imaging Technology for Innovative Drug Development Targeting to Brain

In vivo molecular imaging is a key technology for an innovative drug development. In particular, positron emission tomography (PET) has been applied to many studies in diagnosis, PK/PD, and DDS, since PET has superior sensitivity, quantitativity, and molecular multiplicity among other molecular imaging modalities. The brain is known to be kept its homeostasis by the blood-brain barrier that strictly limits the penetration of both endogenous and exogenous substances from the systemic circulation. In the development of drug targeting to the brain, molecular imaging technique is highly useful, because it enables the analysis of drug biodistribution in the brain, non-invasively *in vivo*. Here we introduced PET studies for the analysis of drug transporters in the blood-brain barrier, the visualization and evaluation of pharmacokinetics and pharmacodynamics of drugs in the brain as examples in effective use of molecular imaging technique for the drug development.

生体分子イメージング技術は、薬剤開発における重要な技術となってきた。特に PET (Positron Emission Tomography) は高い感度と定量性、プローブの多様性から、病態の分子医学的把握による疾患診断、薬効評価を可能にし、合理的な薬物送達システム (DDS) の評価を行うことに役立つ。脳は高度な機能と複雑な構造を有し、薬剤や毒物の移行を制限する血液脳関門によって恒常性が保たれている。脳を標的とした薬剤の開発においては、非侵襲的に薬剤の脳内分布を解析可能な分子イメージング技術の必要性が高い。本稿では PET を用いた血液脳関門における薬剤トランスporter機能の解析、薬剤の脳内移行の視覚化と薬効評価の例を通して分子イメージングの有効性について概説する。

Yousuke Kanayama, Tomotaka Shingaki, Hirotaka Onoe, Yasuyoshi Watanabe*

Keywords: *molecular imaging technology, positron emission tomography (PET), pharmacokinetics, blood-brain barrier*

はじめに

脳には血液脳関門、血液脳脊髄液関門と呼ばれる堅固な薬物移行障壁が存在しており、血液と脳との物質交換を制限することで外来異物や毒物の侵入を防ぎ、脳の恒常性の維持に重要な役割を持つ。脳を標的とした薬剤開発においても、通常の投与方法では血液脳関門によって脳内移行性が妨げられ、十分な薬効を発現し得る濃度に達することができないことが多く¹⁾、如何にして血液脳関門を乗り越えるかは重要な課題である。血液脳関門の実体は脳毛細血

管内皮細胞であり、細胞同士が強固な結合 (Tight junction) により接着されていることで他臓器の血管組織に見られる有窓性と比較して物理的な物質の透過が非常に選択的である。また、近年、生体膜上皮細胞に存在する能動輸送担体に関する研究が盛んに行われており、取り込み／排出両方向のさまざまな薬物トランスporter群による細胞膜透過制御が非特異的な物質の透過性を制御する因子として働くことが明らかとなっている。このうち、特に排出方向に働く輸送担体である P 糖蛋白 (P-glycoprotein: P-gp) の基質になる化合物は血液脳関門の透過性が著しく低下することが知られており、向精神薬、脳腫瘍や痴呆症に対する有効な医薬品開発に対する問

* Division of Bio-function Dynamics Imaging,
RIKEN Center for Life Science Technologies

題点となっている。従って、血液脳関門透過機序の把握は、血液脳関門の透過性向上または回避による脳への送達効率向上を目指した創薬研究に必須であると考えられる。

薬剤の脳内移行性を *in vivo* で評価するためには、血漿中濃度のみならず脳内薬物濃度に基づいた解析が必須である。また、薬物トランスポーターは、関門組織である脳毛細血管内皮細胞や皮膚、消化管のみならず、異物排泄臓器である肝臓や腎臓にも発現しており、その同定や機能解析が進むにつれて重要性が認識されるとともに、多くの臨床事例により、その機能変動が薬物動態へ与える影響が明らかになりつつある。脳への薬剤移行に関しても、肝臓や腎臓などにおける排泄、代謝の影響や血中薬物濃度の変動を伴わない組織移行性の変動も報告されていることから、各臓器における薬物分布を踏まえた全身的な薬物動態を捉えることが必要である。こうした体内薬物分布や濃度の時間推移を定量的に解析できる手法として、生体分子イメージング技術の活用が注目を集めている。本稿では、分子イメージング技術のなかでも PET を用いた体内動態評価法として、特に血液脳関門で働く薬物トランスポーターの機能変化を解析した事例を中心に、PET 分子イメージングの有用性を概説する。

生体分子イメージング技術とは、生物が生きたままの状態では非侵襲的に生体内のさまざまな分子の挙動や分布を視覚化し、解析する手法である²⁾。表 1 に示すようにさまざまなモダリティが存在し、それぞれ長所と短所がある。イメージングを行ううえでは共通しているのは標的認識・機能を担う薬剤に観測のためのシグナル発信を担うものを標識した分子プローブを使用する点である。シグナル発信部位には PET ではポジトロン放出核種、SPECT (Single Photon Emission Computed Tomography) では低エネルギー γ 線放出核種、MRI (Magnetic Resonance Imaging) では常磁性金属、蛍光イメージングでは蛍光色素、超音波では微小気泡などが用いられる。精確なイメージングのためには、プローブ化によって薬剤の標的との結合親和性や体内動態に極力影響を及ぼさない標識法を用いることが望まれる。

我々はこれらのなかでも PET イメージング法の研究開発を中心に取り組んでいる。理由は大きく分けて 3 つあり、まず 1 つめに物理学的半減期の短いポジトロン核種 (^{11}C であれば半減期 = 20.4 分) を用いることによる超高感度分子追跡技術が可能である。高比放射能の標識分子を作製して用い (37

表 1 分子イメージングモダリティの比較

	PET	SPECT	MRI / MRS	光イメージング	超音波
分子イメージング方法	陽電子放出 RI を薬剤に標識し、消滅 γ 線同時計測から線源分布を画像化	単一ガンマ線放出 RI を薬剤に標識、コリメータを使用し線源分布を画像化	常磁性金属を造影剤として薬剤に標識、緩和時間の変化からを画像化	薬剤に蛍光 / 発光色素を結合させ、光を検出して体内分布を画像化	薬剤に微小気泡を標識し、体外より照射した超音波の反射から画像化
感度	超高感度 (1,000 ~ 10,000 個分子が集まれば視ることが可能)	高感度	中程度の感度	中～高感度	中～高感度
空間分解能	高空間分解能 (約 1.0 mm)	高空間分解能 (pinhole 使用の場合 0.1 mm → ただし、感度が落ちる)	超高空間分解能 (0.1 mm)	低空間分解能 (約 10 mm)	高空間分解能 (約 1.0 mm)
標的分子の多様性	多様	多様性は PET と比較すると劣る	標的分子は限定的	標的分子は限定的	標的分子は限定的
定量性	高い 放射能濃度を絶対値で評価可能	低い	有り 量の相対的な比較は可能 (絶対値による定量性は無い)	低い	低い
外部からヒト生体内のイメージングが可能か	可能	可能	7 テスラ程度まではヒトで実用化されているが、超高空間分解能では疑問	不可	可能

～370 GBq/ μmol)、ヒトに投与する場合、吸収線量の安全域を広くとり、1～10 nmol、すなわち、分子量が300の化合物であれば0.3～3.0 μg が一人に投与される絶対量となる。投与絶対量が少なくとも高感度に定量画像が得られることで、1画像単位あたり10～15mol以下の分子を生きて機能している細胞・組織の中で追跡可能となる。超高親和性の受容体結合や、超微量しか含まれない成分分子を追跡できる他にはできない技術と言える。

2つめに、標的分子とプローブの多様性がある。有機化合物に普遍的に含まれている炭素原子(通常自然界では ^{12}C)を ^{11}C で置き換え標識する化学合成の新技术開発により、プローブのレパートリーを飛躍的に増加させることが可能である。他のポジトロン核種も目的と必要に応じて用いられるほか、有機化学合成法による分子構造への直接標識が困難なタンパク・ペプチド・核酸塩基配列など高分子物質では、キレーター分子を介したポジトロン放出金属核種の標識法も開発されている。当然ながら、本来の機能・生理活性・結合能などを損なわない標識法開発が肝要であるが、PETに関しては分子イメージングの方法論を生体内に存在するほとんどの分子に適用する汎用化・網羅化の可能性を持つ。

さらに3つめとして、PETの測定原理による高い定量性がある。PETプローブの放射性核種が β^+ 崩壊することで放出されたポジトロン(陽電子)が近傍に存在する電子と結合し、対消滅する。この際に 180° 対方向に一对の消滅 γ 線(511keVのエネルギー)を放出する。PETの撮像原理はこの2つの消滅 γ 線の同時計測であり、3次元的に体内深部の標的分子の測定感度と定量性が維持される点においてSPECTや光イメージングより優れていると考えられる。以前は、PETカメラも空間分解能があまり良くなく、小動物への適用は困難とされてきたが、ここ20年間のさまざまな技術革新により、現時点では、最先端臨床機器で1～2 mm、動物用機器で0.7～1.0 mmの空間分解能を有する機器が開発されている。さらに、研究用では0.5 mmの空間分解能も達成されている。時間分解能は、信号(この場合はカウント)量により、0.1秒のフレームでも標的/非標的比(S/N比)の良い定量画像を作成し得る。

このことは短時間の間に大きく濃度の変動する投与直後の動態を捉えるうえで重要である。

PET分子イメージングは、上記の ^{11}C 標識による手法では、特に化合物の化学構造を変えることなく体内動態の評価を行えるため、標的臓器での薬物濃度推移の定量的測定により、標的分子の分布・機能に関わる情報を得ることができ、病態の分子医学的把握とそれら情報を有効に用いた薬効評価が可能となる。また、極少量の投与量で非侵襲的に同一個体で解析できる利点から、動物を用いた基礎研究のみならず、マイクロドーズ・早期探索的臨床試験などヒトへの応用が進められており、薬物候補物質の動態研究、DDSの開発、標的分子以外への集積を知ることによる副作用情報、治療効果の標的分子に対する定量的把握、ゲノム・遺伝子多型情報との適合と乖離、複合医薬の検定等々、さまざまな情報の解析から創薬において大きな役割を担うことが期待されている。脳を標的とした薬剤開発、DDS開発においても、組織内薬物濃度の時間推移を解析することで、血中から脳内への取り込み、代謝、脳から血中への排泄といった情報を空間的、定量的に把握することが可能となること、トランスレーショナルヒトへの応用が特に重要と考えられることから、PET分子イメージング技術の適用が非常に有効と言える。

血液脳関門の薬剤トランスポーターに関するPET研究

遺伝子改変動物や阻害剤を用いた動物実験レベルでは、血液脳関門に発現する薬物トランスポーターのなかでもP-gpが薬物や異物の脳移行性を制限する重要な排出方向のトランスポーターであることが示唆されている³⁾。この点に注目し、P-gpの阻害剤を併用することで薬剤の脳内移行を高め、治療効果を得る研究も進められている。一方、脳の容積は体重と比較して小さいことから、仮に血液脳関門におけるP-gp機能の変動により脳内薬物濃度が変動したとしても、循環血中薬物濃度にはほとんど影響を示さないと考えられている。従って、血液脳関門に存在する薬剤排出トランスポーターによる輸送機

序について精査し、これらトランスポーター機能制御による薬剤の脳内移行性を向上させるためには、ヒトに対して直接的に脳内薬物濃度に基づいた解析を行うことが可能な分子イメージング技術が非常に重要になる。

血液脳関門における P-gp の機能解析には PET 解析を用いた研究が数多く行われている。薬物の中枢移行性に関わる PET 研究では、P-gp の機能を測定できる PET プローブとして $[^{11}\text{C}]$ verapamil などを用いた PET 研究がすでに報告されている⁵⁻⁷⁾。ヒトにおける本報告では、Cyclosporin A などの P-gp 阻害活性を持つ薬剤を併用した場合、 $[^{11}\text{C}]$ verapamil の血中濃度はほとんど変動しないにもかかわらず、脳内濃度の有意な上昇が惹起されたことが明らかとなっている^{5,6)}。P-gp の遺伝子多型と機能に関する研究では、P-gp をコードする遺伝子である MDR1 の mRNA 発現量や C3435T の遺伝子多型が、*in vitro* の輸送特性の実験に基づいた仮説により *in vivo* で P-gp 輸送機能の変化をもたらすことが予想されていた。しかしながら、実際に非標識

体を用いた臨床試験や治療効果などの間接的な指標に基づいた評価においては、消化管吸収や異物排泄の過程における P-gp 機能変動、さらに P-gp 基質薬物の毒性・薬効関連には、各研究者においてさまざまな見解があり、特に MDR1 の遺伝子多型が $[^{11}\text{C}]$ verapamil の脳内濃度に与える影響を PET 試験で解析した報告では、C3435T など現在までに比較的頻度の高い遺伝子多型が脳内濃度と相関しないことが示されている⁷⁾。P-gp の薬剤排出機能がパーキンソン病、アルツハイマー病発症と関連しているとの報告もあることから、こうした PET を用いたヒト脳内の血液脳関門における P-gp の機能解析手法は、今後の中枢神経疾患の病態解明にも役立つと期待される。

血液脳関門における P-gp の薬物排出輸送機能は、単に脳内濃度に基づいた解析だけではなく、血中薬物濃度と脳内薬物濃度の実測値を用いた速度論モデルにより機能評価を行うことが多い。特に $[^{11}\text{C}]$ verapamil を用いた P-gp の薬物排出輸送機能の評価には、消失速度定数や脳取り込みクリアラン

図1 PET プローブ投与によるサル頭部の PET イメージングと P-gp 輸送機能解析

(A) R- $[^{11}\text{C}]$ verapamil および $[^{11}\text{C}]$ oseltamivir を PET プローブとして静脈内投与した際のサル頭部 PET-MRI fusion 画像。

(B) 速度論解析手法である Integration plot を用いた P-gp 輸送機能解析結果。脳への取り込みクリアランスを比較している。* 文献 8) より転載。

スなどの速度論的パラメータの有用性が示されている。このような事例の1つとして、これまでに理化学研究所で行った霊長類における血液脳関門の輸送機能に関わる研究について以下に紹介する。アカゲザルにおける R- ^{11}C verapamil や ^{11}C oseltamivir を用いた PET 研究では、これらの脳内移行性がサルの月齢の増加によって変化することが示唆された(図 1A)。つまり、これらの脳への取り込みに関わる速度論的パラメータ(脳取り込みクリアランス)が、サルの成熟とともに低下することが明らかとなった⁸⁾(図 1)。R- ^{11}C verapamil の脳内移行性の結果から、血液脳関門における P-gp の機能がサルの成熟と共に発達していくことが推測される。一方、oseltamivir (タミフル)については、異常行動などの副作用が社会的にも問題となったが、その因果関係は現時点においても結論に至っていないものの、Oseltamivir 自身は血液脳関門を透過し脳に移行すること、さらに P-gp によって脳から排出されることが非標識体を用いた研究で報告されている⁹⁾。しかしながら、げっ歯類における PET 研究では、 ^{11}C oseltamivir の脳への移行が殆ど認められていなかったことが報告されていることから¹⁰⁾、種差の問題からげっ歯類ではヒトと比較して Oseltamivir の代謝酵素である血中エステラーゼの活性が高いため、Oseltamivir が血中で速やかに脳内移行性の低い活性体(Ro64-0802)になったためと考えられる。一方で比較的血中エステラーゼ活性が低いサルの場合は、体内動態がヒトに近いと考えられる。従って、今回のようなサルを用いた PET 研究により、今後、 ^{11}C oseltamivir の脳内移行性の解析が可能であり、Oseltamivir の服用時の安全性に関する情報を得ることができるものと考えられる。以上の結果から、脳内移行性が関与する薬物服用情報を得るうえにおいては、霊長類やヒトでの PET を用いた薬物動態研究の重要性が高まるものと期待される。

現在、より効果的な P-gp 機能評価を実施するため、他の P-gp 基質や阻害剤を用いた新規 PET プローブ開発や、血液脳関門における他の薬剤排出トランスポーターの機能評価のための PET プローブ開発も進んでいることから、総合的な血液脳関門の機能解析がさらに進むことが期待される^{11~13)}。

精神・神経系の薬剤開発においては、病態に関連する受容体、酵素、神経伝達物質の輸送に関わるトランスポーターなど、脳内部の標的分子に特異的に結合する PET プローブを活用した解析が必須となる。このための PET プローブとして望まれる性質は、標的分子との選択性・高親和性などの薬理学的性質、代謝的・化学的な安定性が優れていることが重要であるが、加えて、比較的血液脳関門の透過性が良好であること、排出トランスポーターの基質でないこと、標的部位以外にはできる限り残存せず高い S/N 比が得られることなどが重要であると考えられる¹⁴⁾。このような PET プローブの開発手法の1つとして、血液脳関門のバリアー機能の性質を利用し、標的分子の画像化に成功した例を示す。

まず、血液脳関門は、薬物の膜透過速度と脂溶性ならびに分子量との間に良好な相関関係を持つことが知られている。従って、薬物の脂溶性を増加させることで、血液脳関門透過性を増加させることが可能なことから、プロドラッグの手法を用いた DDS 戦略が有用である。高島、宿里らは、シクロオキシゲナーゼ(COX)の阻害剤である非ステロイド性抗炎症薬剤(NSAIDs)を利用した、脳内移行型 COX イメージング用 PET プローブの開発において、この血液脳関門の性質を利用した脳炎症のイメージングに成功している^{17,18)}。リポポリサッカライド(LPS)を用いた脳炎症モデルラットにおける PET 解析では、NSAIDs の1つである Ketoprofen 自体を ^{11}C 標識した ^{11}C ketoprofen (^{11}C KTP)は、カルボン酸を有する構造から血液脳関門を透過しにくい性質であるため、正常脳組織側、LPS 注入の炎症領域にも集積は見られなかった。そこで脂溶性を増加させ脳内移行性を改善する目的でメチルエステル体に誘導したところ、 ^{11}C KTP メチルエステル(^{11}C KTP-Me)投与時において炎症部位への高い集積が認められた(図 2A)。これは脂溶性の改善により、受動拡散にて脳内に ^{11}C KTP-Me が移行した後、脳内の代謝酵素であるエステラーゼにより速やかに加水分解を受けて活性体である ^{11}C KTP に変換され、そこで炎症部位に多量に発現している標

的分子 COX と結合したと考えられる(図 2B)。加えて、正常部位などの非特異的部位ではシグナルの速やかな消失が見られた。これは脳内で変換された $[^{11}\text{C}]\text{KTP}$ は血液脳関門に存在する有機イオントランスポーター類により排出されやすいカルボン酸を有する構造をもつため、炎症部位へ特異的に集積しなかった $[^{11}\text{C}]\text{KTP}$ が血液側へと速やかに排出されることで、良好な S/N 比が達成されたものと考えられる。

COX は、炎症疾患等への関与とともに、最近ではパーキンソン病、アルツハイマー病などの神経変性疾患においてもその関与が報告されている酵素である。COX のイメージングにより、脳炎症診

断や関連する病態の解析や、薬剤開発における薬効評価の指標としても応用が考えられる。これまでに多数の COX 阻害剤を ^{11}C または ^{18}F で標識した PET プローブが開発されているが^{15,16)}、*in vivo* 条件下において炎症反応を特異的に捉えた報告はなかった。さらに 5 種類の NSAIDs (ibuprofen, naproxen, flurbiprofen, fenoprofen, loxoprofen) についてもメチルエステル体の ^{11}C 標識化により、 $[^{11}\text{C}]\text{ibuprofen}$ メチルエステルを除く ^{11}C 標識 NSAIDs において、脳炎症モデルラットの炎症領域への高い集積が明らかとなっている¹⁷⁾。 $[^{11}\text{C}]\text{ibuprofen}$ メチルエステルの炎症領域への集積が見られなかった理由は COX-1, COX-2 阻害活性強度だけでは説明で

図2 PET プローブ化した COX 阻害剤を用いた脳炎症モデルラットの PET イメージング
(A) LPS 左側線条体注入ラット脳における $[^{11}\text{C}]\text{KTP}$ とそのメチルエステル体である $[^{11}\text{C}]\text{KTP-Me}$ の PET 画像。
(B) $[^{11}\text{C}]\text{KTP-Me}$ の投与後 2 分におけるラット脳のラジオクロマトグラムと脳内存在比。投与後、極めて速やかに脳内で $[^{11}\text{C}]\text{KTP}$ に変換されることがわかる。*文献 17) より転載。

きないことから、血液脳関門の輸送特性の差や、化学的・代謝安定性の差など、標的への活性以外に関わる因子の影響が考えられる。以上のとおり、プロドラッグ型の PET プローブ開発の戦略はすべての薬物において必ずしもあてはまるわけではなく、適切な活性体プローブ選択の難しさがあると言える。しかしながら、上記の研究のように有用な PET プローブの開発に成功した際には、その標的分子に関わる薬剤開発において薬効評価の指標となる重要な解析技術の役割を担うと考えられる。

おわりに

本稿では、血液脳関門を介した薬剤脳内移行評価における PET イメージング技術の有効性について

述べた。PET プローブを用いた評価によって、組織中薬物濃度の情報を基に、薬物間相互作用などに関わる新たな情報が得られる可能性もあり、PET イメージング技術の更なる活用が期待される。医薬品開発や DDS 研究において、PET イメージング技術を十全に活用するためには、さまざまな薬剤候補分子を標識化する標識合成化学と生命科学間の密接なコラボレーションによるプローブ開発が重要であり、ヒトを対象としたマイクロドーズ・早期探索的臨床試験が適用可能な施設と体制をさらに増やしていくことも必要である。今後、さまざまな医薬品開発において、PET イメージング技術を用いた試験が有益な情報を提供し、創薬の加速化、医療の個別化に貢献することを期待したい。

文献

- 1) Giacomini KM, Huang SM, Tweedie DJ, Benet LZ, Brouwer KL, et al: Membrane transporters in drug development, *Nat Rev Drug Discov* (2010) 9: 215-36.
- 2) Weissleder R and Mahmood U: Molecular Imaging, *Radiology* (2001) 219: 316-33
- 3) Schinkel AH, Wagenaar E, van Deemter L, Mol CA, and Borst P: Absence of the Mdr1a P-Glycoprotein in mice affects tissue distribution and pharmacokinetics of dexamethasone, digoxin, and cyclosporin A, *J Clin Invest* (1995) 96: 1698-705
- 4) Sadeque AJ, Wandel C, He H, Shah S, and Wood AJ: Increased drug delivery to the brain by P-glycoprotein inhibition, *Clin Pharmacol Ther* (2000) 68: 231-7
- 5) Sasongko L, Link JM, Muzi M, Mankoff DA, Yang X, et al: Imaging P-glycoprotein transport activity at the human blood-brain barrier with positron emission tomography, *Clin Pharmacol Ther* (2005) 77: 503-14
- 6) Lee YJ, Maeda J, Kusuhara H, Okauchi T, Inaji M, et al: In vivo evaluation of P-glycoprotein function at the blood-brain barrier in nonhuman primates using [^{11}C]verapamil, *J Pharmacol Exp Ther* (2006) 316: 647-53
- 7) Takano A, Kusuhara H, Suhara T, Ieiri I, Morimoto T, et al: Evaluation of in vivo P-glycoprotein function at the blood-brain barrier among MDR1 gene polymorphisms by using [^{11}C]verapamil, *J Nucl Med* (2006) 47: 1427-33
- 8) Takashima T, Yokoyama C, Mizuma H, Yamanaka H, Wada Y, et al: Developmental changes in P-glycoprotein function in the blood-brain barrier of nonhuman primates: PET study with R- ^{11}C -verapamil and ^{11}C -oseltamivir, *J Nucl Med* (2011) 52: 950-7
- 9) Ose A, Ito M, Kusuhara H, Yamatsugu K, Kanai M, et al: Limited brain distribution of [3R,4R,5S]-4-acetamido-5-amino-3-(1-ethylpropoxy)-1-cyclohexene-1-carboxylate phosphate (Ro 64-0802), a pharmacologically active form of oseltamivir, by active efflux across the blood-brain barrier mediated by organic anion transporter 3 (Oat3/Slc22a8) and multidrug resistance-associated protein 4 (Mrp4/Abcc4), *Drug Metab Dispos* (2009) 37: 315-21
- 10) Hatori A, Arai T, Yanamoto K, Yamasaki T, Kawamura K, et al: Biodistribution and metabolism of the anti-influenza drug [^{11}C]oseltamivir and its active metabolite [^{11}C]Ro 64-0802 in mice, *Nucl Med Biol* (2009) 26: 47-55
- 11) Moerman L, Dumolyn C, Boon P, and De Vos F: The influence of mass of [^{11}C]laniquidar and [^{11}C]N-desmethyl-loperamide on P-glycoprotein blockage at the blood-brain barrier, *Nucl Med Biol* (2012) 39: 121-5
- 12) Kawamura K, Yamasaki T, Konno F, Yui J, Hatori A, et al: Evaluation of limiting brain penetration related to P-glycoprotein and breast cancer resistance protein using [^{11}C]GF120918 by PET in mice, *Mol Imaging Biol* (2011) 13: 152-60
- 13) Yamasaki T, Fujinaga M, Kawamura K, Hatori A, Yui J, et al: Evaluation of the P-glycoprotein- and breast cancer resistance protein-mediated brain penetration of ^{11}C -labeled topotecan using small-animal positron emission tomography, *Nucl Med Biol* (2011) 38: 707-14
- 14) Pike VW: PET radiotracers: crossing the blood-brain barrier and surviving metabolism, *Trends Pharmacol Sci* (2009) 30: 431-40
- 15) de Vries EF: Imaging of cyclooxygenase-2 (COX-2) expression: potential use in diagnosis and drug evaluation, *Curr Pharm Des* (2006) 12: 3847-56
- 16) Prabhakaran J, Majo VJ, Simpson NR, Van Heertum RL, Mann JJ, et al: Synthesis of [^{11}C]celecoxib: a potential PET probe for imaging COX-2 expression, *J Labl Compd Radiopharm* (2002) 48: 887-95
- 17) Takashima-Hirano M, Shukuri M, Takashima T, Goto M, Wada Y, et al: General method for the ^{11}C -labeling of 2-arylpropionic acids and their esters: construction of a PET tracer library for a study of biological events involved in COXs expression, *Chemistry* (2010) 16: 4250-8
- 18) Shukuri M, Takashima-Hirano M, Tokuda K, Takashima T, Matsumura K, et al: In vivo expression of cyclooxygenase-1 in activated microglia and macrophages during neuroinflammation visualized by PET with ^{11}C -ketoprofen methyl ester, *J Nucl Med* (2011) 52: 1094-101