SPECT/CT によるラット嗅神経の画像評価

¹⁾金沢医科大学医学部感覚機能病態学（耳鼻咽喉科学）

²⁾金沢大学大学院医学系研究科量子医療技術学講座

³⁾金沢大学大学院自然科学研究科薬学系臨床分析科学講座

⁴⁾浜松医科大学分子イメージング先端研究センター動物イメージング研究部門

⁵⁾浜松医科大学光量子医学研究センターゲノムバイオフォトンクス研究分野

⁶⁾金沢大学

志賀 英明¹⁾, 鷺山 幸信²⁾, 小川 数馬³⁾
山口 博司⁴⁾, 間賀田 泰寛^{4,5)}, 天野 良平²⁾
古川 侃⁶⁾, 三輪 高喜¹⁾

Olfactory Nerve Imaging with SPECT/CT in Rats

Hideaki Shiga¹⁾, Kohshin Washiyama²⁾, Kazuma Ogawa³⁾,
Hiroshi Yamaguchi⁴⁾, Yasuhiro Magata^{4,5)}, Ryohei Amano²⁾,
Mitsuru Furukawa⁶⁾, Takaki Miwa¹⁾

¹⁾Department of Otorhinolaryngology, Head and Neck Surgery,
Kanazawa Medical University, Ishikawa, Japan

²⁾Department of Quantum Medical Technology, Graduate School of Medical Science,
Kanazawa University, Kanazawa, Japan

³⁾Department of Clinical and Analytical Sciences, School of Pharmaceutical Sciences,
College of Medical, Pharmaceutical and Health Sciences, Kanazawa University

⁴⁾Division of Animal Imaging, Molecular Imaging Frontier Research Center,
Hamamatsu University School of Medicine, Hamamatsu, Japan

⁵⁾Laboratory of Genome Biophotonics, Photon Medical Research Center,
Hamamatsu University School of Medicine, Hamamatsu, Japan

⁶⁾Kanazawa University, Kanazawa, Japan

Objective : To image the olfactory nerve *in vivo* using single-photon emission computed tomography (SPECT) and X-ray computed tomography (CT) after nasal thallium-201 (²⁰¹Tl) administration to rats.

Methods : Three 8-week-old female Wistar rats (Japan SLC, Shizuoka, Japan) used in this study were assessed under anesthesia (intraperitoneal administration of pentobarbital sodium; 0.05 mg/g body weight) for ²⁰¹Tl transport to the olfactory bulb 8h after nasal administration of ²⁰¹TlCl solution (50μl, 74 MBq/ml, Nihon Medi-Physics, Tokyo, Japan) using SPECT/CT (Flex X-SPECT, Gamma Medica-Ideas, USA). The heads of rats were assessed for autoradiography to confirm ²⁰¹Tl transport to the olfactory bulb after SPECT/CT.

Results : ²⁰¹Tl transport to the olfactory bulb was shown using SPECT/CT 8h after nasal administration of ²⁰¹Tl. Coronal section imaging especially indicated ²⁰¹Tl transport from the nasal cavity to the olfactory bulb. ²⁰¹Tl

(2009年3月24日受稿, 2009年7月1日受理)

連絡先, 別冊請求先: 志賀 英明 〒920-0293 石川県河北郡内灘町大学1-1 金沢医科大学医学部感覚機能病態学 (耳鼻咽喉科学) TEL: 076-218-8146 FAX: 076-286-5566 E-mail: shigah@kanazawa-med.ac.jp

志 賀 論 文 付 図 (1)

図 1 動物用 SPECT/CT 装置（浜松医科大学設置）
Flex X-SPECT, Gamma Medica-Ideas (USA)

図 2 SPECT/CT 画像（冠状断）
矢印：黒，嗅球：赤，鼻腔：橙，切断面
代表的な 2 断面の画像を提示

図3 SPECT/CT 画像 (矢状断)
矢印：黒，嗅球：赤，鼻腔：橙，切断面
代表的な2断面の画像を提示

図4 (A) 凍結切片，(B) オートラジオグラフィ，(C) 合成画像
矢印：白，嗅球；青，鼻腔

transport to the olfactory bulb was confirmed by autoradiography.

Conclusion: SPECT/CT showing ^{201}Tl transport to the olfactory bulb may be useful in visually assessing the olfactory nerve *in vivo*.

Key words: 嗅神経, SPECT/CT, タリウム, 分子イメージング, 経鼻投与, 冠状断

olfactory nerve, SPECT/CT, thallium, molecular imaging, nasal administration, coronal section

はじめに

我が国の標準的な嗅覚障害の検査法として T & T オルファクトメータ¹⁾と、静脈性嗅覚検査²⁾が存在するが、いずれも被験者の自覚的反応にもとづいた診断法である。一方で代表的な他覚的嗅覚検査法としてこれまでニオイ刺激時の脳波計測, fMRI, PET, 脳磁図などいくつかの試みがなされているが未だ研究段階にある³⁾。これらの検査はいずれも脳神経中枢における変化を測定する技術であるため、嗅粘膜や嗅神経末梢部位の障害の直接的評価は困難である。臨床において嗅神経の直接の画像化に成功した例はなく、嗅覚障害の原因として頻度の高い、鼻副鼻腔炎、感冒および頭部外傷に伴う末梢神経性嗅覚障害の原因部位の診断は困難であった⁴⁾。

新たな他覚的嗅覚検査法の開発のため、これまで我々は動物実験⁵⁻⁷⁾により明らかとなった経鼻投与後の、放射性アイソトープ、タリウム-201 (^{201}Tl) の嗅神経移行性に着目し、 ^{201}Tl をバイオトレーサーとしたガンマカメラと X 線像による生体内嗅神経イメージングの可能性について明らかにしてきた⁸⁾。

本研究においては、ガンマカメラを対象物の周囲で回転させ 3 次元情報を取得でき、より詳細な画像を再構成可能な Single photon emission computed tomography (SPECT) と X 線 CT の複合機 (SPECT/CT) を用いた生体内嗅神経イメージングを、 ^{201}Tl 経鼻投与後のラットを対象に行った。その後、ラット頭部を解剖し凍結切片に対するオートラジオグラフィにより、ラット嗅球組織中の ^{201}Tl 集積を確認した。経鼻投与後の ^{201}Tl の嗅球への移行像を SPECT/CT により明瞭に描出可能であったのでここに報告する。

対象と方法

^{201}Tl 嗅神経イメージング (SPECT/CT)

ネブタール麻酔下 (0.05mg/g body weight) に、背臥位とした Wistar ラット (3 匹; 8W, Female, 日本 SLC, 静岡) の右外鼻孔より、50 μl の塩化タリウム ($^{201}\text{TlCl}$) 溶液 (74MBq/ml, 日本メジフィジックス, 東

京) を、マイクロピペットで鼻腔内へ滴下した。 $^{201}\text{TlCl}$ 溶液投与 8 時間後、再びネブタール麻酔下 (0.05mg/g body weight) に SPECT/CT (図 1: Flex X-SPECT, Gamma Medica-Ideas, USA) を施行した。SPECT 撮影には 1 時間を要した。CT 画像は冠状断と矢状断を構成し検討した。以前の我々の報告⁸⁾を参考として、SPECT/CT 撮影はラットの嗅球への ^{201}Tl 移行が最も明らかに描出可能である、投与 8 時間後にのみ施行した。

オートラジオグラフィ

SPECT/CT 終了後、いったん室温でラット頭部を解剖し、皮膚や筋肉など頭部表面の軟部組織を除去した。その後、 -20°C において基剤 (Tissue-Tek OCT Compound, サクラ精機, 東京) に包埋した後にミクロトーム (5030 Cryostat, Bright Instrument, England) を用いて、投与側 (右) の鼻腔と嗅球を主に含む 50 μm 厚の凍結切片 (矢状断) を作成した。凍結切片作成の際には、ラットでは嗅球と脳組織が鼻腔の後方に位置するため、頭部全体における ^{201}Tl 集積分布の確認に優れた矢状断を用いた。イメージングプレート (BAS-SR2025, 富士フィルム, 東京) に標本を感光させ、フルオロ・イメージアナライザー (FLA-3000, 富士フィルム, 東京) で ^{201}Tl の集積を画像化した。

本研究の遂行にあたっては、金沢大学動物実験委員会の承認を得た。

結 果

SPECT/CT 画像 (冠状断)

$^{201}\text{TlCl}$ 溶液投与の 8 時間後の SPECT/CT 冠状断像の各スライスでは、投与側 (右) の鼻腔および嗅球部において ^{201}Tl の集積を認めた (図 2; 右側のイメージが SPECT/CT 画像, 左側のイメージが切断面の箇所を示す立体画像)。対側 (左) の鼻腔と嗅球部には ^{201}Tl 集積のアーチファクトは認めなかった。冠状断では篩板を境界として鼻腔と嗅球部の位置の同定が容易であり、鼻腔から嗅球への ^{201}Tl 移行が明らかに示された。

SPECT/CT 画像 (矢状断)

$^{201}\text{TlCl}$ 溶液投与の 8 時間後の SPECT/CT 矢状断像で

も、投与側（右）の鼻腔および嗅球部において ^{201}Tl の集積を認めた（図3；右側のイメージがSPECT/CT画像、左側のイメージが切断面の箇所を示す立体画像）。鼻腔における ^{201}Tl 集積分布の検討には矢状断像は優れるが、SPECT/CTでは冠状断と比較して篩板と嗅球の描出が明瞭ではないため、鼻腔から嗅球への ^{201}Tl 移行が判定しにくいと思われた。

オートラジオグラフィ

$^{201}\text{TlCl}$ 溶液投与後の鼻腔から嗅球への ^{201}Tl 移行を確認するため、SPECT/CT終了後にラット頭部を解剖してオートラジオグラフィを施行した。投与側（右）鼻腔において ^{201}Tl 集積を最も著明に認めたが、嗅球においても ^{201}Tl 集積を認めた（図4）。以上の結果より、SPECT/CT画像において描出された鼻腔から嗅球への ^{201}Tl 移行像は、実際の組織における ^{201}Tl 集積分布を反映していると考えられた。

考 察

本研究において ^{201}Tl をバイオトレーサーとしたSPECT/CT装置による、新たな生体内嗅神経イメージングの可能性が明らかとなった。SPECT/CTでは3次的にデータを収集し、冠状断像を容易に再構成できるため、篩板を境界とした鼻腔から嗅球への ^{201}Tl 移行を明瞭に描出することが可能と思われた。本研究を契機として、SPECT/CTが臨床試験において有用な画像検査である可能性が示唆された。

放射性アイソトープを用いた嗅神経イメージングとして、マンガンの鼻腔投与とMRIを用いた方法が動物実験で報告されているが⁹⁾、動物実験や人体においてマンガンの鼻腔からの吸入が神経毒性をもたらすことが明らかとなっている¹⁰⁾。従ってマンガンの経鼻投与による画像検査法はいまだに臨床応用には至っていない。対して、塩化タリウム（ $^{201}\text{TlCl}$ ）は経静脈的投与では人体に対する安全性が確立された薬剤である^{11,12)}。さらに我々はこれまで $^{201}\text{TlCl}$ を経鼻投与した際の化学的毒性や放射線による生物学的影響を動物実験で検討したが、嗅覚や嗅粘膜及び消化管粘膜には障害を生じないことを明らかにしている¹³⁾。

^{201}Tl が嗅神経細胞に取り込まれる機序については、 ^{201}Tl が溶液中では一価の陽イオン（ Tl^+ ）として存在し、このイオンがアルカリ金属イオンと同じ一価の陽イオンであることやイオン半径が類似していることから、 K^+ イオンに類似の動態を取ることが予想され¹⁴⁾、嗅上皮粘膜に吸収された Tl^+ イオンが嗅覚受容体細胞の膜表面のイオンチャネルを介して取り込まれ、嗅神経に

移行しているのではないかと推測されるが、詳細は明らかではなく今後の検討課題である。さらに ^{201}Tl 経鼻投与後のマウス脳組織における ^{201}Tl 集積を検討した以前の報告⁵⁾では、嗅球より中枢の脳神経領域への ^{201}Tl 移行は少なく、時間経過とともに急速に減衰してしまうことが明らかとなっており、本研究でラット嗅球に描出された ^{201}Tl 集積像は嗅神経の軸索終末に位置する可能性が示唆される。従って、 ^{201}Tl 経鼻投与とSPECT/CTを用いた嗅神経イメージングは、嗅神経末梢領域の画像診断に特に優れた検査方法と考えられ、 ^{201}Tl 経鼻投与後長時間経過した後も ^{201}Tl の嗅球より中枢領域への移行の検出は困難であることが予想される。また、神経活動が活発化した際の、 Tl^+ イオンの嗅神経移行の促進の可能性も残されており、 ^{201}Tl の嗅神経移行像が嗅神経の連続性を反映しているのみならず、嗅覚自体を表していることも考えられる。

今後臨床応用を志向するにあたり問題点は、ヒトの嗅球、嗅神経がラットと比較し、脳に対する比率が極めて低い点があげられる。従って ^{201}Tl の嗅球移行が人体においてもSPECT/CTのみで検出可能であるかは明らかではない。脳神経組織の描出に優れるMRI画像とのFusion画像の構築が詳細な位置情報の把握に有用である可能性が考えられ、今後の検討課題である。今後我々は、正常被験者および嗅覚障害者を対象に、SPECT/CTを用いた $^{201}\text{TlCl}$ の経鼻投与による嗅神経イメージングの安全性と有用性を検討する臨床試験を計画している。

謝 辞

技術協力を給りました金沢大学附属病院アイソトープ部に感謝します。本論文の要旨の一部は、第47回日本鼻科学会（2008年9月25日～27日、名古屋市）において発表した。

参 考 文 献

- 1) Takagi SF: A standard olfactometer in Japan. A view over ten years. Ann NY Acad Sci 1987; 510: 113-8.
- 2) 調所寛之：静脈性嗅覚検査（アリナミンテスト）、耳鼻咽喉科プラクティス12—嗅覚・味覚障害の臨床最前線—（池田勝久、加我君孝編）、文光堂、東京、2003、pp20-3.
- 3) 三輪高喜、志賀英明、塚谷才明、他：嗅覚研究・臨床の進歩—嗅覚検査の現状と展開—、日耳鼻 2008; 111: 399-404.
- 4) 三輪高喜：嗅覚障害の病因・病態、脳21 2006;

- 9 : 156-61.
- 5) Kanayama Y, Enomoto S, Irie T, et al : Axonal transport of rubidium and thallium in the olfactory nerve of mice. *Nucl Med Biol* 2005 ; 32 : 505-12.
 - 6) Kinoshita Y, Shiga H, Washiyama K, et al : Thallium transport and the evaluation of olfactory nerve connectivity between the nasal cavity and olfactory bulb. *Chem Senses* 2008 ; 33 : 73-8.
 - 7) Shiga H, Kinoshita Y, Washiyama K, et al : Odor detection ability and thallium-201 transport in the olfactory nerve of traumatic olfactory-impaired mice. *Chem Senses* 2008 ; 33 : 633-7.
 - 8) Shiga H, Washiyama K, Hirota K, et al : Use of thallium transport to visualize functional olfactory nerve regeneration *in vivo*. *Rhinology*, in press.
 - 9) Drobyshevsky A, Robinson AM, Derrick M, et al : Sensory deficits and olfactory system injury detected by novel application of MEMRI in newborn rabbit after antenatal hypoxia-ischemia. *Neuroimage* 2006 ; 32 : 1106-12.
 - 10) Aschner M, Guilarte TR, Schneider JS, et al : Recent advances in understanding its transport and neurotoxicity. *Toxicol Appl Pharmacol* 2007 ; 221 : 131-47.
 - 11) Iida H, Eberl S : Quantitative assessment of regional myocardial blood flow with thallium-201 and SPECT. *J Nucl Cardiol* 1998 ; 5 : 313-31.
 - 12) Higuchi T, Taki J, Sumiya H, et al : Characterization of cartilaginous tumors with 201Tl scintigraphy. *Ann Nucl Med* 2005 ; 19 : 95-9.
 - 13) 広田京子, 志賀英明, 土田明日香, 他 : タリウム-201経鼻投与における安全性. *日本味と匂誌* 2008 ; 15 : 527-8.
 - 14) Sessler MJ, Geck P, Maul FD, et al : New aspects of cellular thallium uptake : $Tl^+-Na^+-2Cl^-$ -cotransport is the central mechanism of ion uptake. *Nuklearmedizin* 1986 ; 25 : 24-7.