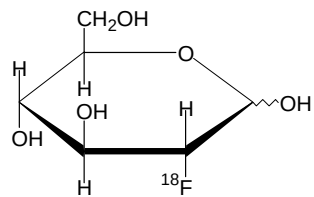
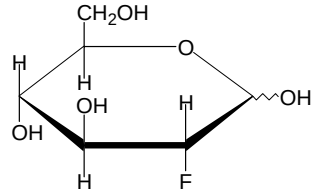
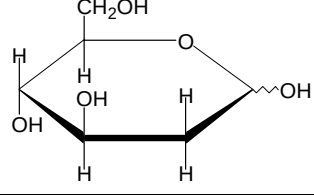
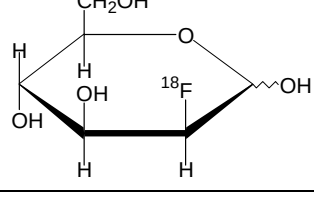


ホ．薬理作用

効力を裏付ける試験	頁
総括・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	ホ1
I．効力を裏付ける試験・・・・・・・・・・・・・・・・	ホ4
I－1 NMK56の腫瘍（コロシ26）集積性の評価・・・・・・・・	ホ4
I－2 悪性腫瘍における糖代謝とFDGの集積機序に関する論文報告について・・・・	ホ11
I－3 虚血性心筋における糖代謝とFDGの集積性に関する論文報告について・・・・	ホ25
I－4 てんかんの動物モデルにおける糖代謝研究に関する論文報告について・・・・	ホ33

ホ. 薬理作用の項の略号一覧表

略号（略称）	化学名（一般名）	構造式	由来
^{18}F -FDG	Fludeoxyglucose(^{18}F) (2-deoxy-2-fluoro- ^{18}F -D-glucopyranose)		主成分
FDG	Fludeoxyglucose (2-deoxy-2-fluoro-D-glucopyranose)		主成分の 非標識体
2-DG	2-deoxy-D-glucose		
^{18}F -FDM	[^{18}F]-2-deoxy-2-fluoro-D-mannose		代謝物

略号（略称）	内 容
NMK56, 本剤	フルデオキシグルコース (^{18}F) 注射液 (2-デオキシ-2-フルオロ- ^{18}F -D-グルコピラノース注射液)
本薬	フルデオキシグルコース (^{18}F) (2-デオキシ-2-フルオロ- ^{18}F -D-グルコピラノース)
^{18}F	フッ素18
PET	Positron Emission Tomography (陽電子放出断層撮影法)
コロシ26	マウス由来結腸癌由来の細胞株
SUV	Standard Uptake Value; 腫瘍の単位重量あたりの放射能分布率を全身の単位重量あたりの放射能分布率で除した値
%ID	%投与量, 放射能分布率; 投与放射能を100%とした時の各臓器, 組織への放射能の分布率
%ID/g	%投与量/g; 単位重量あたりの放射能分布率
T/B比	腫瘍/血液比; 腫瘍の単位重量あたりの放射能分布率を血液の単位重量あたりの放射能分布率で除した値
T/M比	腫瘍/筋肉比; 腫瘍の単位重量あたりの放射能分布率を筋肉の単位重量あたりの放射能分布率で除した値
GLUT-1	グルコーストランスポーター1
GLUT-4	グルコーストランスポーター4

総 括

I－1 NMK56の腫瘍集積性の評価

I－1－1 担癌（コロシ26）マウスにおける薬物動態

静脈内に投与された本剤の腫瘍内への集積を単位重量あたりの放射能分布率で評価した場合には、投与後1時間で最大となり、脳以外の臓器中で最大となった。この集積は、投与後3時間においてもほぼ同程度認められ、全臓器中で最大となった。

血液における放射能分布率は速やかに低下した。脳における放射能分布率は、投与後緩やかに低下した。肝臓並びに腎臓では投与後速やかに低下した。小腸の放射能分布率は緩やかな低下が認められたが、大腸では緩やかな増加傾向が確認された。筋肉の放射能分布率は、投与後緩やかに低下した。その他の臓器に特異的な集積は認められなかった。

本剤は腫瘍に投与後1時間以降まで集積するにもかかわらず、血中からの消失が速やかであることから、T/B比は、投与後1時間で約17と高値を示し、T/M比も投与後1時間において約3を、SUVも投与後1時間で約2を示した。これらのことから、本剤は腫瘍に対し高い集積性を示すものと推察された。

I－1－2 担癌（コロシ26）マウスの腫瘍内代謝物

腫瘍内に存在する放射化学的成分は、母骨格を ^{18}F -FDG及び ^{18}F -FDMとするリン酸化体として存在していた。投与後5分では腫瘍内放射化学的成分の大部分が ^{18}F -FDG-リン酸化体であったが、投与後1時間以降では ^{18}F -FDG-リン酸化体の成分比は徐々に減少し、その異性体である ^{18}F -FDM-リン酸化体の成分比が増加した。 ^{18}F -FDGの成分比は投与後5分から3時間まで3%以下と低値を示した。未同定代謝物である ^{18}F -代謝物-1は経時的な増加傾向が認められた。 ^{18}F -代謝物-2及び ^{18}F -代謝物-4は、それぞれ投与後5分及び投与後3時間のみに認められたが、その成分比は1%以下と微量であった。

これらのことから、本剤は静脈内投与後速やかに腫瘍内に取り込まれ、リン酸化体として投与後1時間以降まで滞留することが明らかとなった。

I－2 悪性腫瘍における糖代謝とFDGの集積機序に関する論文報告について

悪性腫瘍内の糖代謝の様相とFDGの腫瘍集積性に関する基礎的な薬効及び薬理について、これまでに報告された論文をまとめ、考察した。

腫瘍細胞においてはグルコーストランスポーターの発現による糖取り込み能の増加、解糖系の律速酵素であるヘキソキナーゼ活性の亢進並びに糖新生系の酵素であるグルコース-6-ホスファターゼ活性の低下によって、糖の利用率が亢進している。グルコースの動態と類似した動態を示す化合物である ^{18}F -FDGは、グルコースと同様にグルコース

トランスポーターを介して多量に腫瘍細胞に取り込まれ、ヘキソキナーゼによるリン酸化を受ける。しかし、グルコースと異なり解糖系の次の酵素であるホスホグルコースイソメラーゼによるフルクトースへの異性化反応を受けないこと、また、腫瘍細胞のグルコース-6-ホスファターゼ活性が低下していることから、リン酸化体として、細胞内に滞留することになる。したがって、その滞留した ^{18}F 由来のポジトロンをPETカメラで追跡することにより、腫瘍細胞の存在を見出すことが可能となる。

以上のことから、 ^{18}F -FDGの腫瘍グルコース代謝イメージング剤としての有用性は非常に高いと考えられる。

I-3 虚血性心筋における糖代謝とFDGの集積性に関する論文報告について

虚血性心筋における糖代謝の様相とFDGの心筋虚血部位への集積性に関する基礎的な薬効及び薬理についてこれまで報告された論文をまとめた。

虚血状態においては、グルコーストランスポーターが細胞質分画から細胞膜上に移動して、細胞膜上のグルコーストランスポーター量が増加し、グルコースの取り込み速度を高めるとともに、ヘキソキナーゼやホスホフルクトキナーゼの活性が高まり、グルコース代謝が亢進する。虚血モデル動物にグルコース誘導体である ^{18}F -FDGを投与した検討から、 ^{18}F -FDGは虚血領域に一致して集積し、更にその集積は虚血再灌流後の心機能の回復と関係があることが示されていた。

以上のことから、 ^{18}F -FDGによる心筋シンチグラフィは、虚血性心疾患における心筋バイオビリティの診断に非常に有用である可能性があると考えられる。

I-4 てんかんの動物モデルにおける糖代謝研究に関する論文報告について

てんかんの動物モデルの脳における糖代謝について、これまでに報告された論文をまとめ、 ^{18}F -FDGのてんかんの診断における有用性を基礎的な面から検討した。

^{18}F -FDGや ^{14}C -2-DGによって評価される脳内の糖代謝の値は、神経細胞のエネルギー消費を反映しているが、てんかんの脳においては、焦点及び発作に関係する部位の神経細胞の活動が増加している場合に糖代謝が亢進する一方、神経細胞の活動が減少している場合では糖代謝が低下するものと考えられている。

種々のてんかんの動物モデルを用いた糖代謝の研究も広く行われており、様々な条件において、てんかん焦点等の脳内における糖代謝の亢進や低下が認められることが報告されている。

てんかんの中でも海馬（内側側頭葉）に焦点を有し、難治化した内側側頭葉てんかんでは、その焦点が外科的切除の対象となる。この内側側頭葉てんかんの典型的な病理所見は海馬硬化（内側側頭葉硬化）であるが、慢性期において海馬硬化に類似した所見を呈する側頭葉てんかんのモデルであるカイニン酸モデルの糖代謝は、硬化側の海馬で著明な低下を認めた

この結果は内側側頭葉てんかんの焦点検出における¹⁸F-FDG PET 検査の有効性を基礎的に示唆している。

I. 効力を裏付ける試験

I-1 NMK56の腫瘍（コロシ26）集積性の評価……………添付資料ホー1-(1)

I-1-1 薬物動態試験

(1) 試験方法

マウス由来結腸癌の細胞株であるコロシ26を左肩皮下に移植した担癌マウス（BALB/c系雌）を解剖時間点ごとに1群各5例，3群に群分けし使用した。

本剤投与前6時間絶食させた後，無麻酔下で担癌マウスの尾静脈内に本剤0.1mL（検定日時に於いて9.25MBq）を急速に投与した後，投与後5分点，1時間点及び3時間点の各時間点においてエーテル麻酔を施し，腹部大動脈から採血後，放血屠殺し解剖した。死亡後速やかに以下の臓器等（腫瘍，血液及び尿を含む）を摘出又は採取し，その重量と放射能を測定した。

測定対象臓器等：腫瘍，血液，脳，心臓，肺，肝臓，腎臓，胃，小腸，大腸（糞及び盲腸を含む），卵巣，筋肉（下肢部），残全身及び尿（膀胱尿と蓄積尿を合わせたもの）

解剖時間点設定理由：先に実施したラットにおける薬物動態試験（添付資料へー(1)）を参考に以下のように設定した。

投与後5分；最大血中放射能分布率となる時間点

投与後1時間；腫瘍の放射能分布率が最大になると考えられる時間点

投与後3時間；投与後後期像となる時間点

各解剖時間点において，各臓器の放射能分布率，各臓器の単位重量あたりの放射能分布率を求め，この値を用いて腫瘍と血液との比（以下，T/B比），腫瘍と筋肉との比（以下，T/M比），更に腫瘍と全身との比（以下，SUV）を求め，本剤の腫瘍集積性を評価した。

(2) 試験結果及び考察

各臓器の単位重量あたりの放射能分布率の経時変化を表ホー1に示す。

静脈内に投与された本剤の腫瘍内への集積を単位重量あたりの放射能分布率で評価した場合には，投与後1時間で最大の約11%投与量/g（以下，%ID/g）となった。この集積は，投与後3時間においてもほぼ同程度認められ，全臓器中で最大となった。このことから，本剤は腫瘍細胞内に高率に集積することが明らかとなった。

血液における単位重量あたりの放射能分布率の低下は速やかで，投与後1時間で1%ID/g以下となった。脳における単位重量あたりの放射能分布率は，投与後緩やかに低下する傾向

が認められた．心臓における単位重量あたりの放射能分布率は投与後 3 時間までほぼ同様の値を示した．大腸では緩やかな増加傾向が確認されたが，投与後 3 時間においても約 6 % ID/gであった．卵巣における単位重量あたりの放射能分布率は高値を示したが，これは卵巣と合わせて周囲の脂肪組織を多く摘出してしまったため，見かけ上高くなったものと考えられた．その他の臓器に特異的な集積は認められなかった．

表ホー 1 担癌マウスにおける各臓器の単位重量あたりの放射能分布率の経時変化 (%ID/g)
(5 例の平均値±標準偏差)

	投与後 5 分	投与後 1 時間	投与後 3 時間
腫瘍	3.69±0.96	10.86±3.50	10.31±2.77
血液	5.91±0.95	0.62±0.16	0.37±0.09
脳	15.27±4.17	12.19±2.23	7.48±2.46
心臓	5.42±1.56	4.75±2.62	7.87±3.78
肺	6.64±1.29	4.75±0.63	4.09±0.92
肝臓	6.91±0.93	1.41±0.22	1.14±0.32
腎臓	13.99±2.60	1.83±0.22	1.61±0.59
胃	4.95±0.84	4.05±0.49	3.10±1.06
小腸	6.39±1.38	4.77±2.22	2.65±0.52
大腸	4.99±0.57	4.71±2.27	5.90±1.39
卵巣	14.24±3.49	4.85±1.27	9.09±3.55
筋肉	6.64±2.80	5.93±4.72	5.10±3.29
残全身	6.32±0.27	5.18±0.82	5.82±0.87

T/B比，T/M比及びSUVの経時変化を表ホー 2 に示す．

静脈内に投与された本剤は，投与後 1 時間以降まで腫瘍に集積するのに対して，血中からの消失は速やかであることから，T/B比は，投与後 1 時間で約 17 と高値を示した．筋肉の放射能分布率の個体差が大きかったため，T/M比にはそれに起因する群内差が認められた．SUV は投与後 1 時間で約 2 を示したことから，本剤は腫瘍への集積性を有することが示された．SUVは製剤の集積性を多種間で比較する際に用いられる数値である^{1,2)}．このことから，本剤はヒトにおいても腫瘍への集積性を有すると考えられた．

表ホー 2 T/B比, T/M比及びSUVの経時変化

(5例の平均値±標準偏差)

	投与後 5 分	投与後 1 時間	投与後 3 時間
T/B比	0.65±0.25	17.46±2.14	27.96±5.43
T/M比	0.72±0.48	2.71±1.61	2.88±2.11
SUV	0.65±0.18	1.97±0.49	1.88±0.54

I-1-2 腫瘍内代謝物の検索

(1) 試験方法

マウス由来結腸癌の細胞株であるコロシ26を左肩皮下に移植した担癌マウス（BALB/c系雌）を解剖時間点ごとに1群各3例、3群に群分けし使用した。

本剤投与後5分点、1時間点及び3時間点の各時間点において摘出した腫瘍のホモジネートから得た分析用試料について、Van Rijnら³⁾の薄層クロマトグラフ法を用いて腫瘍内代謝物の検索を行った。また代謝物のうちリン酸化体の母骨格を確認するため、アルカリホスファターゼ処理した試料についても同様に分析した。

腫瘍内代謝物の放射化学的成分比は、オートラジオグラフィにより得られる薄層板上の放射能の強度比から算出し、薄層板の放射能イメージにおいて肉眼で認められない成分を検出限界以下（N.D.）とした。また、各個体ごとにI-1-1の薬物動態試験から得られた腫瘍の放射能分布率に放射化学的成分比を乗じて放射能分布率への換算値を算出した。放射化学的成分比がN.D.のとき放射能分布率への換算値は算出しなかった。

(2) 結果及び考察

腫瘍内代謝物の放射化学的成分比を表ホー3に、その放射能分布率への換算値の経時変化を表ホー4に示す。また、投与後5分及び3時間の腫瘍内代謝物の薄層クロマトグラム代表例を図ホー1～図ホー4に示す。

腫瘍内に存在する放射化学的成分のうち、本薬の成分比はいずれの時間点とも、3%以下と低値を示した。腫瘍内に集積した放射化学的成分のほとんどは、すべての時間点でリン酸化体（90%以上）であることが明らかとなった。本剤投与後5分の腫瘍内放射化学的成分のほとんど（約88%）は¹⁸F-FDG-リン酸化体であった。このことは、腫瘍内に取り込まれた本薬が速やかにリン酸化体に代謝された結果と考えられる。投与後1時間、更に投与後3時間と時間が経過するにつれて、¹⁸F-FDG-リン酸化体の成分比は減少し、その異性体である¹⁸F-FDM-リン酸化体の成分比が増加した。この代謝経路にはホスホグルコースイソメラーゼが関与し、¹⁸F-FDG-リン酸化体と¹⁸F-FDM-リン酸化体が58：42で存在する平衡反応であると

報告されている⁴⁾。本剤投与後3時間の¹⁸F-FDG-リン酸化体と¹⁸F-FDM-リン酸化体の成分比もほぼ58：42であることから、この時間点で平衡状態に達しているものと考えられ、これ以上¹⁸F-FDM-リン酸化体が生成することはないと推察される。未同定代謝物である¹⁸F-代謝物-1は経時的な増加傾向が認められたが投与後3時間においても約6.5%であった。¹⁸F-代謝物-2及び¹⁸F-代謝物-4は、それぞれ投与後5分及び投与後3時間のみに認められたが、その成分比は1%以下と微量であった。

表ホー3 腫瘍内代謝物の放射化学的成分比(%) (3例の平均値±標準偏差)

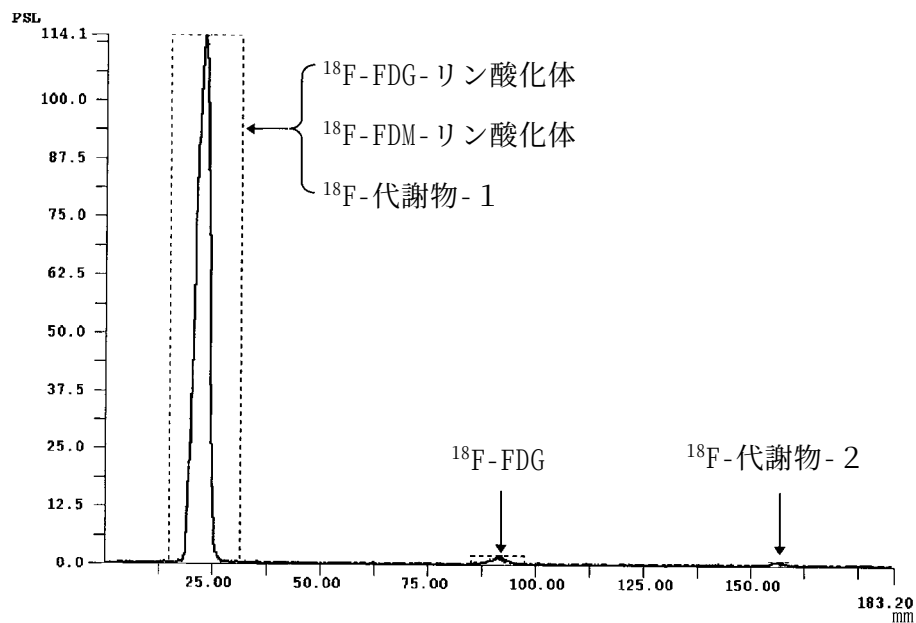
	投与後5分	投与後1時間	投与後3時間
¹⁸ F-FDG	2.57±0.42	1.03±0.25	0.93±0.21
¹⁸ F-FDM	N.D.	0.43±0.06	0.93±0.40
¹⁸ F-FDG-リン酸化体	88.37±0.65	75.20±1.69	53.28±2.28
¹⁸ F-FDM-リン酸化体	5.04±0.17	19.17±2.48	37.77±2.40
¹⁸ F-代謝物-1	3.42±0.20	4.24±0.59	6.49±1.72
¹⁸ F-代謝物-2	0.60±0.20	N.D.	N.D.
¹⁸ F-代謝物-4	N.D.	N.D.	0.60±0.20

N.D.：検出限界以下

表ホー4 腫瘍内代謝物の放射能分布率への換算値(%ID) (3例の平均値±標準偏差)

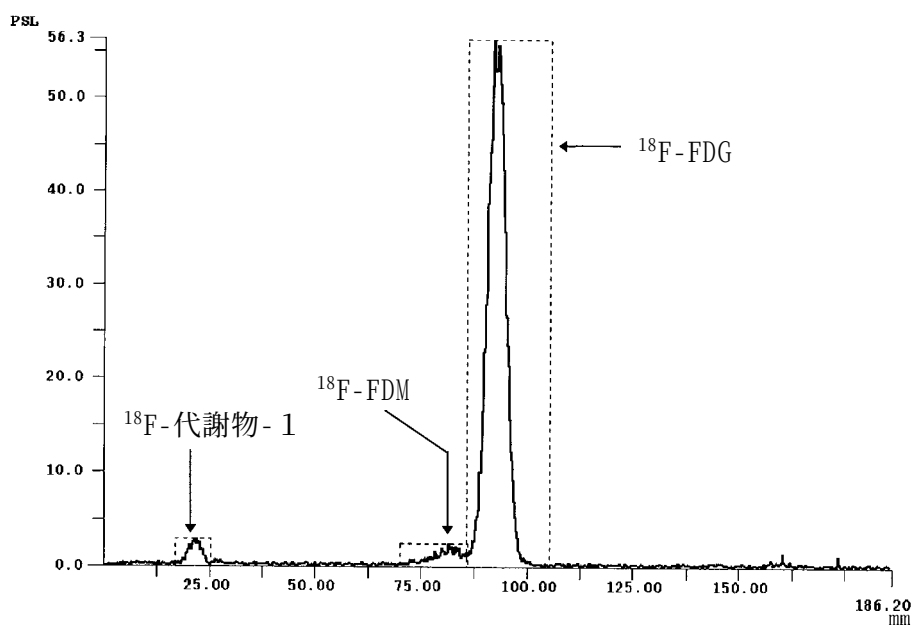
	投与後5分	投与後1時間	投与後3時間
¹⁸ F-FDG	0.08±0.01	0.10±0.02	0.08±0.02
¹⁸ F-FDM	——*	0.04±0.01	0.08±0.04
¹⁸ F-FDG-リン酸化体	2.87±0.02	6.98±0.16	4.80±0.21
¹⁸ F-FDM-リン酸化体	0.16±0.01	1.78±0.23	3.40±0.22
¹⁸ F-代謝物-1	0.11±0.01	0.39±0.05	0.58±0.15
¹⁸ F-代謝物-2	0.02±0.01	——*	——*
¹⁸ F-代謝物-4	——*	——*	0.05±0.02

*：放射化学的成分比がN.D.のため算出しなかった



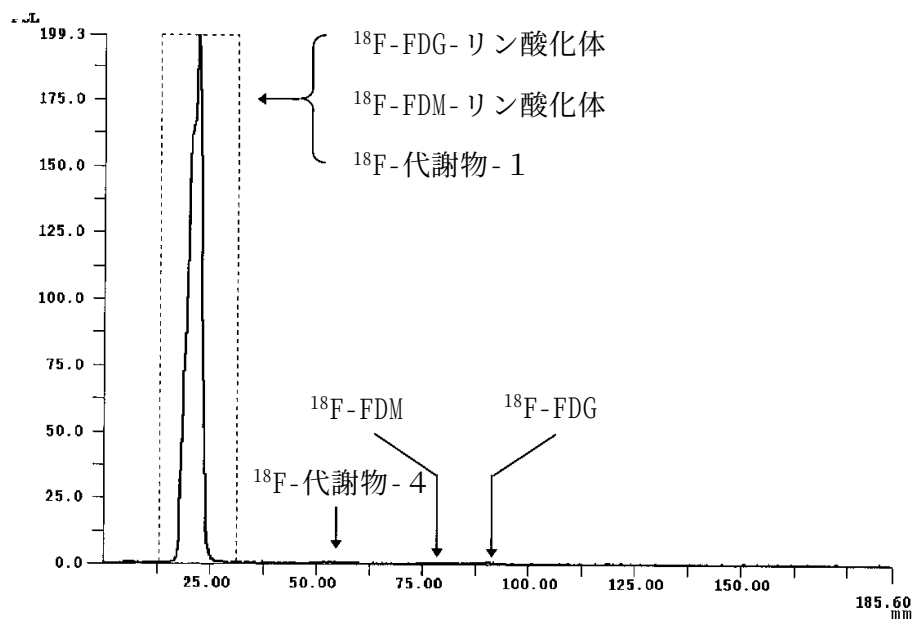
図ホー 1 投与後 5 分の腫瘍内代謝物（アルカリホスファターゼ処理前）の薄層クロマトグラム（コード番号：04-03）

分析系 支持体 : シリカゲル60 (2×20cm) (メルク社製)
 展開溶媒: アセトニトリル/水混液 (19: 1)
 検出器 : バイオイメージングアナライザー
 (富士写真フイルム株式会社製: BAS 2000型)



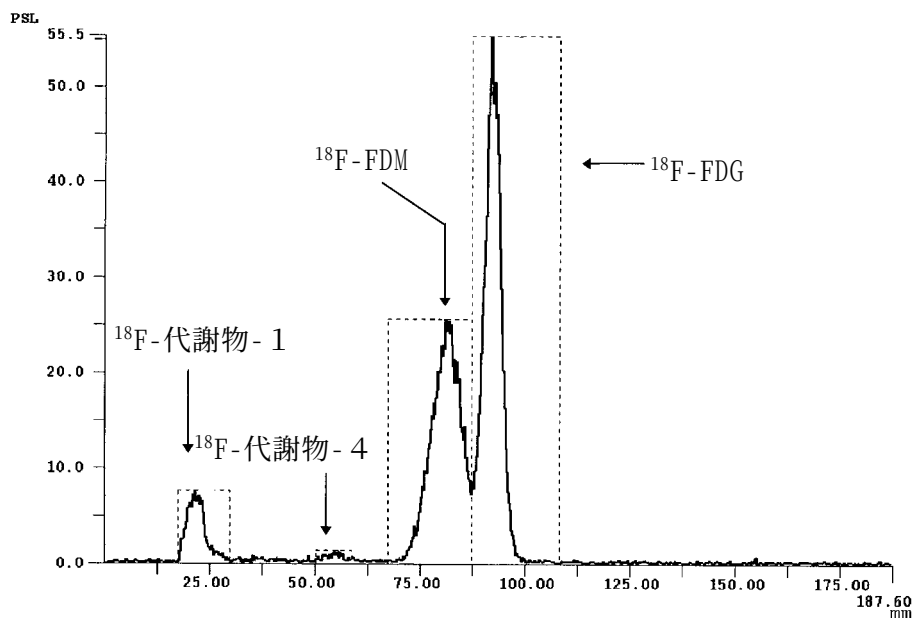
図ホー 2 投与後 5 分の腫瘍内リン酸化体の母骨格（アルカリホスファターゼ処理後）の薄層クロマトグラム（コード番号：04-03）

分析系 支持体 : シリカゲル60 (2×20cm) (メルク社製)
 展開溶媒: アセトニトリル/水混液 (19: 1)
 検出器 : バイオイメージングアナライザー
 (富士写真フイルム株式会社製: BAS 2000型)



図ホー 3 投与後 3 時間の腫瘍内代謝物（アルカリホスファターゼ
処理前）の薄層クロマトグラム（コード番号：06－03）

分析系 支持体 ：シリカゲル60（2×20cm）（メルク社製）
展開溶媒：アセトニトリル／水混液（19：1）
検出器 ：バイオイメーjingアナライザー
（富士写真フィルム株式会社製：BAS 2000型）



図ホー 4 投与後 3 時間の腫瘍内リン酸化体の母骨格（アルカリホ
スファターゼ処理後）の薄層クロマトグラム
（コード番号：06－03）

分析系 支持体 ：シリカゲル60（2×20cm）（メルク社製）
展開溶媒：アセトニトリル／水混液（19：1）
検出器 ：バイオイメーjingアナライザー
（富士写真フィルム株式会社製：BAS 2000型）

以上の薬物動態試験及び腫瘍内代謝物の検索結果から、本剤は静脈内に投与後速やかに腫瘍内に取り込まれ、リン酸化体として投与後1時間以降まで滞留することが明らかとなった。また、腫瘍集積性の指標となるT/B比、T/M比及びSUVの結果から、本剤は腫瘍イメージング剤として有用であると判断された。

I-1-3 参考文献

- 1) W.H.Oldendorf, J Nucl Med, **15**, 725-726, 1974
- 2) H.Q.Woodard, J Nucl Med, **16**, 958-959, 1975
- 3) C.J.S.Van Rijn, J.D.M.Herscheid, G.W.M.Visser et al., Int J Appl Radiat Isot, **36**, 111-115, 1985
- 4) R.Pouremad and A.M.Wyrwicz, NMR Biomed, **4**, 161-166, 1991

I-2 悪性腫瘍における糖代謝とFDGの集積機序に関する論文報告について

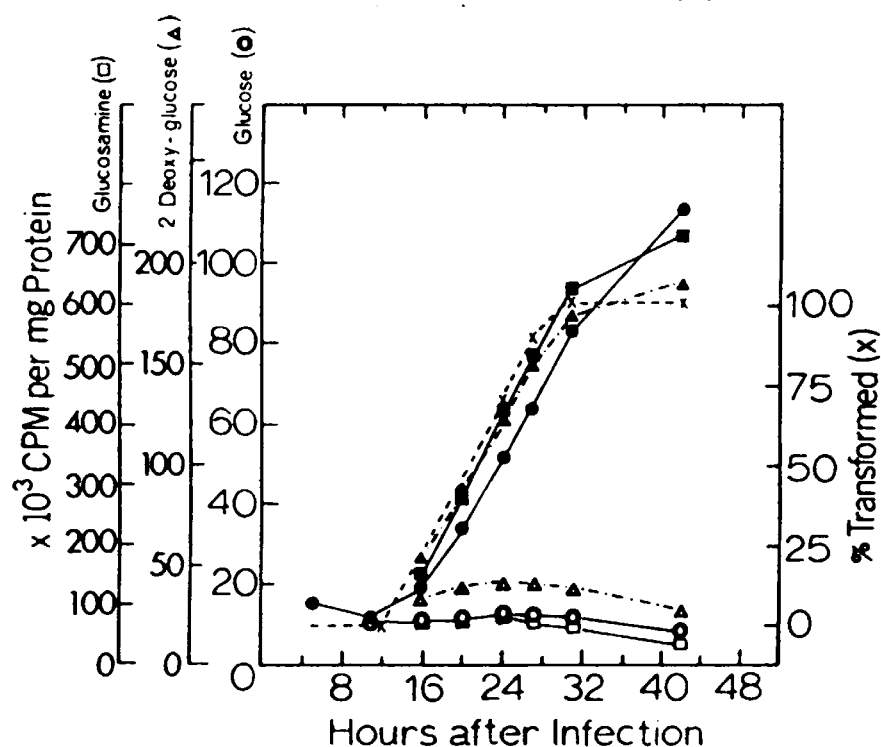
……添付資料ホ-1-(2)

悪性腫瘍内の糖代謝の様相とFDGの腫瘍集積性に関する基礎的な薬効及び薬理について、これまでに報告された論文をまとめ、考察した。

I-2-1 腫瘍細胞上のグルコーストランスポーター

腫瘍細胞における糖代謝亢進の機序の1つめとして、腫瘍細胞における糖取り込み量の増加があげられる。腫瘍細胞において増加する輸送系はグルコーストランスポーター1（以下、GLUT-1）といわれている^{1~4}。正常細胞と肉腫ウィルスを感染させ癌化させた細胞とのグルコース取り込み量を比較し、¹⁴C標識したグルコースの細胞内への取り込み量は感染後1日で約6倍、感染後2日では約10倍に亢進するとした報告もある（図ホ-5）⁵。また、ヒトの種々の臓器における正常細胞と腫瘍細胞のGLUT-1発現の有無を検討した報告では、ほとんどの腫瘍細胞上にはGLUT-1の発現が見られるとしている（表ホ-5）^{1~4}。

以上のことから、細胞の癌化によってGLUT-1を介した糖取り込み機構は亢進すると判断される。



図ホ-5 肉腫ウィルス感染による糖取り込みの変化
(M.Hatanakaら, 1974年⁵)より引用)
白抜き記号は正常細胞を, 黒塗り記号は
肉腫ウィルス感染細胞をそれぞれ表わす。

表ホー 5 ヒト正常組織と腫瘍組織におけるGLUT-1の発現
(M.Younesら, 1996年²⁾ より引用)

<i>Glut1 expression in benign and malignant tissues</i>		
Tissue	Diagnosis	Positive cases/Total
Bladder	Transitional cell carcinoma	3/3
Brain	Normal (excluding vessels)	0/2
Breast	Normal	0/5
	Carcinoma	5/11
Colon	Normal	0/8
	Hyperplastic polyp	0/3
	Adenoma	0/2
	Adenocarcinoma	7/9
Esophagus	Normal	2/4 ^a
	Adenocarcinoma	4/7 ^b
Heart (myocardium)	Normal	0/2
	Rejection	0/4
Kidney	Normal	1/4
	Renal cell carcinoma	2/4
Liver	Normal	0/3
	Cirrhosis	0/4
	Adenoma	0/2
	Hepatocellular carcinoma	0/5
Lung	Normal	0/6
	Carcinoma	11/14 ^b
Lymphoid	Lymphoma	0/7
	Reactive follicular hyperplasia	0/5
Ovary	Normal	0/2
	Carcinoma	4/7 ^b
Pancreas	Normal	0/5
	Adenocarcinoma	10/26 ^b
	Neuroendocrine tumors	0/3
Parathyroid	Hyperplasia	0/2
Placenta	Normal	2/2 ^b
Prostate	Hyperplasia	0/4
	Carcinoma	1/4
Skeletal	Muscle	0/2
Skin	Normal	0/3
	Squamous cell carcinoma	3/4 ^b
	Melanoma	0/4
Small bowel and ampulla	Normal	0/6
	Adenoma	0/3
	Adenocarcinoma	7/24
Stomach	Normal	0/4
	Chronic inflammation	0/2
	Adenocarcinoma	3/6 ^b
Testis	Seminoma	2/3 ^b
	Mixed germ cell tumor	3/3 ^b
Thyroid	Benign	0/5
	Papillary carcinoma	0/4
Uterus	Normal	0/4
	Leiomyoma	0/2
	Adenocarcinoma	2/3 ^b

^a Only the basal cell layer adjacent to Barrett's epithelium was positive.

^b Tumors (or normal tissues) in which 50% or immunoreactivity in at least 25% of the cells.

I-2-2 腫瘍細胞における解糖系

(1) ヘキソキナーゼ

腫瘍細胞における糖代謝亢進の機序の2つめとしてあげられるのがヘキソキナーゼ活性の上昇である^{6,7)}。ヒトの肺、胃及び膀胱壁の正常細胞とそれら臓器の腫瘍細胞におけるヘキソキナーゼ活性を比較すると、癌化した細胞のヘキソキナーゼ活性は約1.6倍に上昇していることが報告されている(表ホ-6)⁷⁾。更に正常細胞と比較して、腫瘍細胞のヘキソキナーゼの方がグルコースに対する親和性が増加していることも報告されている⁷⁾。その要因として、D-グルコース並びにD-ガラクトースにのみ特異的に作用し親和性の低いヘキソキナーゼIV型が、癌化によりヘキソキナーゼI型に変異し、グルコース並びにその類縁物質に対する親和性が高くなると考えられている。また、肝臓におけるグルコース親和性の高いアイソザイムの量は、癌化により約20倍から40倍に増加すること⁶⁾、腫瘍細胞の増殖速度に比例して著しく増加することが報告されている(図ホ-6)⁸⁾。

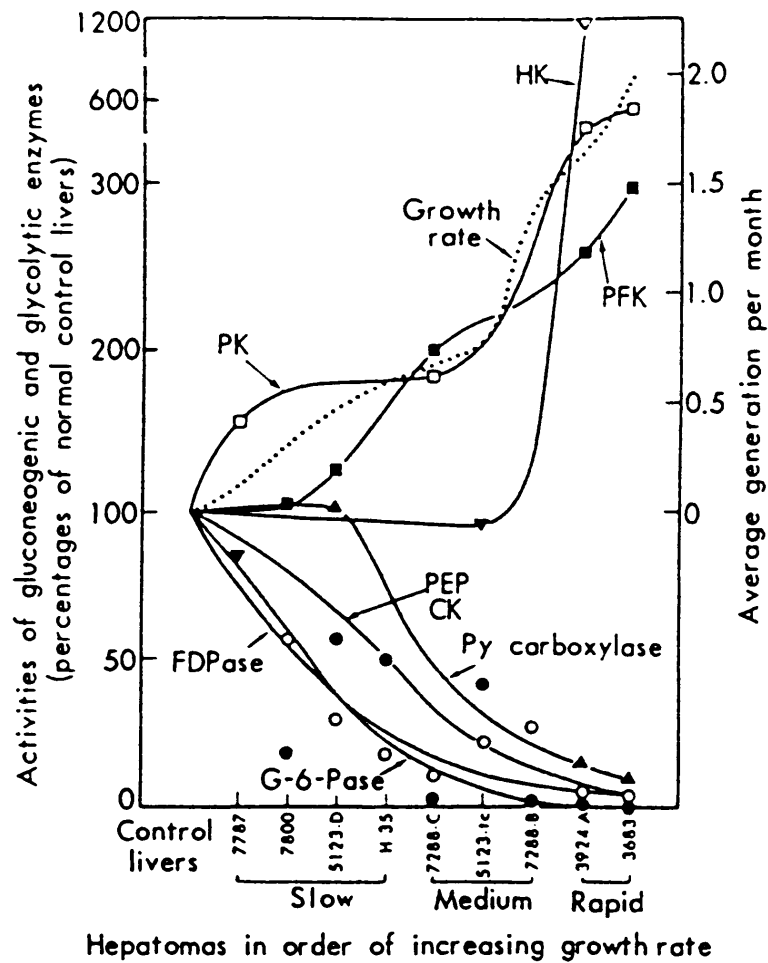
以上のことから腫瘍細胞内における解糖系の亢進は顕著であると判断される。

表ホ-6 ヒト正常組織と腫瘍組織におけるヘキソキナーゼ(HK)活性の変化
(N.K.Monakhovら, 1978年⁷⁾より引用)

<i>Effect of glucose on HK activity in the soluble fractions from various human tissues*</i>		
Tissue	HK activity, mU ^b	
	0.5 mM glucose	25 mM glucose
Normal gastric mucosa	14.5±2.2 (7)	14.8±1.8 (7)
Total lung	24.0±1.9 (3)	17.5±2.1 (3)
Normal uterus (endometrium)	15.2±1.1 (3)	15.5±1.5 (3)
Stomach cancer	22.5±2.1 (11)	22.0±1.7 (11)
Lung cancer	38.5±3.0 (3)	37.0±3.8 (3)
Cancer of the uterine body	25.5±1.7 (6)	25.8±1.1 (6)

* For details of assay of HK activity, see "Materials and Methods."

^b Values are means±SE. No. of experiments is shown in parentheses.



図ホー 6 肝腫瘍の増殖速度と解糖系の酵素活性

(G.Weberら, 1972年⁸⁾ より引用)

G-6-Pase: グルコース-6-ホスファターゼ

HK: ヘキソキナーゼ

(2) グルコース-6-ホスファターゼ

腫瘍細胞における糖代謝亢進の機序の3つめとしてあげられるのがグルコース-6-ホスファターゼ活性の低下である。肝腫瘍における本酵素活性は、正常肝細胞の100分の1以下に減少していると報告されている(表ホー7)⁹⁾。Lewis肺癌では本酵素活性が認められず、抗癌剤の投与により、本酵素活性が回復することが報告されている¹⁰⁾。腎臓、肺、乳腺及び結腸における腫瘍においても、本酵素活性の低下が確認されている^{11,12)}。本酵素活性の低下もヘキソキナーゼ活性と同様に細胞増殖速度に依存していることが報告されている(図ホー6)⁸⁾。これらの知見から、腫瘍細胞ではグルコース-6-ホスファターゼ活性の低下、いわゆる糖新生系の低下は顕著であると判断される。

表ホー 7 ヒト正常組織と腫瘍組織における糖代謝関連酵素活性の変化
(G.Weberら, 1977年⁹⁾ より引用)

Discriminating Power of Biochemical Pattern — Key Differences between Rapidly Growing Neoplastic, Fetal, New-born and Regenerating Liver.

MARKERS OF GENE EXPRESSION	SPECIFIC ACTIVITY†				
	NORMAL LIVER	NEOPLASTIC (RAPIDLY GROWING)	NEWBORN (6 DAYS OLD)	FETAL (17 DAYS OLD)	REGENERATING (24 HR)
Pyrimidine & DNA metabolism:					
Thymidine (TdR) into DNA	100	3,900	1,224‡	3,083	910‡
Thymidine to CO ₂	100	<0.1	69§	5	64§
TdR to DNA/TdR to CO ₂	100	11,500,000	1,788‡	54,550‡	1,450§
DNA/cell	100	250	87§		100§
TdR phosphorylase	100	32	55‡	2.0§	126§
Uridine phosphorylase	100	375	30§	1.8§	106§
Dihydrouracil dehydrogenase	100	<10	48‡		78§
TdR kinase/dihydro- uracil dehydrogenase	100	>1,000			<10§
Purine metabolism:					
IMP dehydrogenase	100	1,350	337‡		495‡
Adenylosuccinate synthetase	100	308	52§		113§
Adenylosuccinase	100	175	116§		115§
Glutamine PRPP amidotransferase	100	280	124§		148‡
Xanthine oxidase	100	10	11		96§
Uricase	100	4	73§		109§
Amidotransferase/ xanthine oxidase	100	2,740	1,364‡		150‡
Carbohydrate & pentose phosphate metabolism:					
Glucose-6-phosphatase (G-6-Pase)	100	<1	350§	12§	100§
Fructose-1,6-diphos- phatase (FDPase)	100	<1	175§	7.1§	100§
Phosphoenolpyruvate carboxykinase	100	<1	160§	30‡	100§
Pyruvate carboxylase	100	<1	275§	10	100§
Hexokinase (HK)	100	500	36§	83§	100§
Phosphofructo- kinase (PFK)	100	229	44§	49§	100§
Pyruvate kinase	100	499	15§	11§	100§
Glucose-6-phosphate dehydrogenase	100	751	50§	26§	100§
6-Phosphogluconate dehydrogenase (6-PG DH)	100	48	18‡	26	100§
HK/G-6-Pase	100	8,800	57§	690§	100§
PFK/FDPase	100	6,463	86§	674§	100§
G-6-P DH/6PG DH	100	1,120	288‡	100§	100§

‡Quantitative discriminant.

†Expressed as % of normal adult rat-liver values.

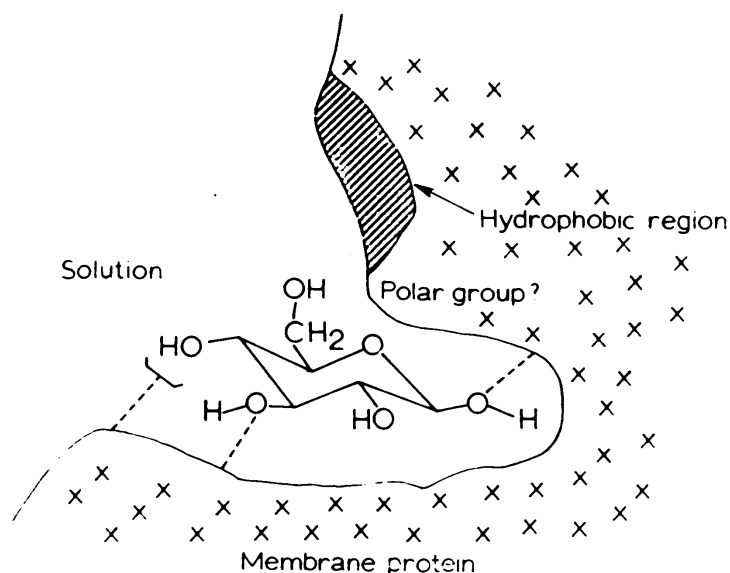
§Qualitative discriminant.

以上、I-2-1項及びI-2-2項に記載したことから、腫瘍細胞では、細胞膜上の糖の取り込み量の増加と細胞内での代謝活性の亢進により顕著な糖利用の亢進が起こっており、また、その逆反応である糖新生系はほとんど機能していないことから、細胞外から盛んにグルコースを取り込みエネルギー代謝に利用するものと考えられる。

I-2-3 グルコースアナログとしてのFDG

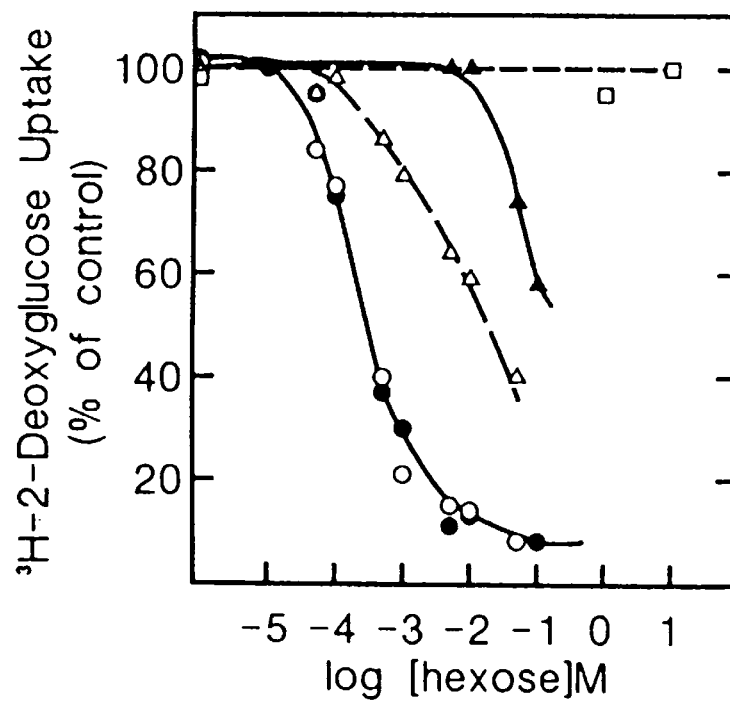
(1) FDGとグルコーストランスポーター

腫瘍細胞のグルコースの取り込みにはグルコーストランスポーターが関与している。グルコーストランスポーターによるグルコースの膜透過機構は図ホ-7のように考えられている⁵⁾。

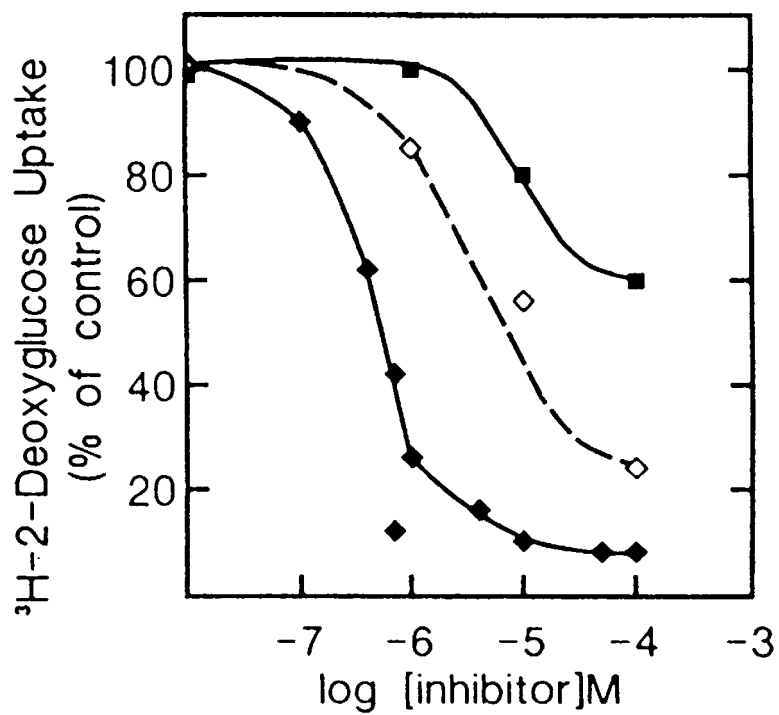


図ホ-7 グルコーストランスポーターによるグルコースの取り込み機構 (M.Hatanakaら, 1974年⁵⁾ より引用)

このグルコーストランスポーターに対する親和性にはグルコースの2位の水酸基は重要な意味を持たないと報告されている¹³⁾。FDGは2位の水酸基がフッ素に置き換えられた化合物であるため、グルコーストランスポーターに対する親和性はグルコースとさほど変わらないと考えられる。このことは、FDGとほぼ同様の動態を示すと考えられる2-デオキシ-D-グルコース（以下、2-DG）を用いた研究において証明されている^{14~16)}。培養神経細胞を用いた研究において、2-DGの細胞内への取り込みはグルコースの濃度が増加するのに伴って阻害されている（図ホ-8）¹⁶⁾。これは2-DGがグルコースと同様の機構を介して細胞内に取り込まれることを示している。更に、この2-DGの取り込みはグルコーストランスポーターの阻害剤であるサイトカラシンBによっても阻害されることから、取り込み機構にグルコーストランスポーターが関与しているものと考えられる（図ホ-9）¹⁶⁾。これらの研究を裏付ける報告として、腫瘍細胞に免疫組織学的染色を施して同定したGLUT-1の発現部位と、オートラジオグラフィによる³H-FDG（FDGの5位及び6位の水素を³Hで置換したもの）の集積部位とがほぼ一致するという報告がなされている¹⁷⁾。



図ホー 8 各種ヘキソースによる2-DGの取り込みの阻害
(K.A.Heidenreichら, 1989年¹⁶⁾より引用)
(●)D-glucose, (○)D-mannose, (△)3-O-methylglucose,
(▲)D-galactose, (□)L-glucose



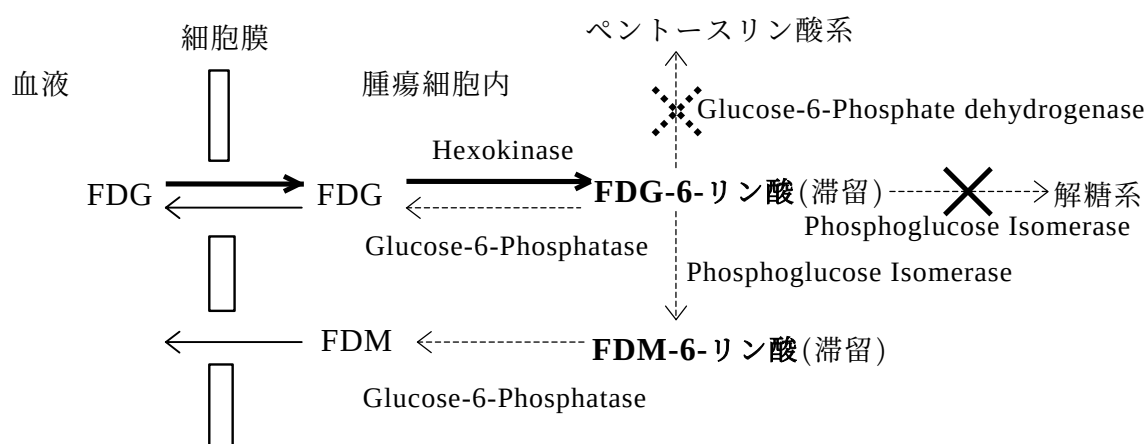
図ホー 9 グルコーストランスポーター阻害剤による2-DGの取り込み
の阻害 (K.A.Heidenreichら, 1989年¹⁶⁾より引用)
(◆)Cytochalasin B, (◇)Phloretin,
(■)Phloridzin

これらのことから、FDGはグルコースと類似した性質並びに挙動を示し、主にグルコーストランスポーターを介して腫瘍細胞内に取り込まれるものと考えられる。

I－2－1項で記載したように、腫瘍細胞上ではGLUT-1が発現しているため、グルコースの挙動と類似の挙動を示すFDGが腫瘍細胞内に多量に取り込まれることになるかと推察される。

(2) FDGと解糖系の酵素

グルコースと同様の機構で取り込まれたFDGは、細胞内に滞留する。この機序は以下のよう解釈されている（図ホー10）。



図ホー10 FDGの腫瘍細胞内滞留機構

細胞内に取り込まれたFDGは、解糖系の第1段階であるヘキソキナーゼによってFDG-6-リン酸にリン酸化される。しかし、グルコース骨格の2位の水酸基の欠如したFDG-6-リン酸は代謝中間体のエンジオール構造をとることができない。そのため、ホスホグルコースイソメラーゼによるフルクトースへの異性化反応を受けることがない^{18~20)}。しかしながら、FDG-6-リン酸の一部はホスホグルコースイソメラーゼの働きによりフルオロデオキシマンノース(以下、FDM)-6-リン酸に異性化される¹⁸⁾。また、グルコースの代謝では重要とされるペントースリン酸系への代謝は、FDG-6-リン酸がグルコース-6-リン酸デヒドロゲナーゼにほとんど親和性を持たないため、極めて行われにくい^{21,22)}。更にその逆反応、すなわち糖新生系の酵素であるグルコース-6-ホスファターゼ活性は、I－2－2の(2)項で記載したように腫瘍細胞では著しく減少しているため脱リン酸化はほとんど起こらない。むしろ、水溶性の高いFDG-6-リン酸及びFDM-6-リン酸はそのまま細胞膜を透過することはでき

ない。これらのことから、FDGは腫瘍細胞内に取り込まれた後、FDG-6-リン酸及びFDM-6-リン酸として腫瘍細胞内に滞留することになる。

これらの機構は、in vitroの実験系においても確認されており、 ^{14}C -FDG（FDGの全ての炭素を ^{14}C で置換したもの）にヘキソキナーゼ並びにリン酸基供与体となるATPを添加すると、速やかに ^{14}C -FDG-6-リン酸に代謝されると報告されている²³⁾。この代謝に関与するヘキソキナーゼのFDGに対する親和性は表ホー8²⁰⁾に示すようにグルコースに対するのとはほぼ同等であることから、細胞に取り込まれた後の代謝に関しても、FDGはグルコースと近似していると判断される²⁴⁾。

表ホー8 FDG並びにグルコースのヘキソキナーゼに対する親和性

(E.M.Bessellら, 1972年²⁰⁾ より引用)

Experimentally determined kinetic constants

For experimental details see the text. Compounds that are not substrates: α -D-glucopyranosyl fluoride, β -D-glucopyranosyl fluoride, 2-O-methyl-D-glucose, 2,2-dichloro-2-deoxy-D-arabino-hexose, 2-deoxy-2-fluoro-D-galactose, 2,3-anhydro-D-mannose (kindly provided by Professor J. G. Buchanan), 2-chloro-2-deoxy-D-mannose, 2-O-methyl-D-mannose. Compounds that are not inhibitors: α -D-glucopyranosyl fluoride, β -D-glucopyranosyl fluoride, 2-deoxy-2-fluoro-D-galactose, 2-deoxy-2,2-dichloro-D-arabino-hexose, 2,3-anhydro-D-mannose. Compounds that are inhibitors: 2-O-methyl-D-glucose (K_i 60 mM), 2-O-methyl-D-mannose (K_i 7 mM). Values are means $\pm$ S.E.M.

Compound	K_m (mM)	Relative V_{max}	K_m MgATP ²⁻ (mM)	Calculated $\frac{K'_m}{K_m}$ (glucose)	Experimental $\frac{K'_m}{K_m}$ (glucose)
D-Glucose	0.17	1.00	0.20	1	1
2-Deoxy-D-arabino-hexose	0.59 $\pm$ 0.11	0.85	0.36 $\pm$ 0.11	—	—
2-Deoxy-2-fluoro-D-glucose	0.19 $\pm$ 0.03	0.50	0.26 $\pm$ 0.05	1.14	1.36 $\pm$ 0.37
2-Deoxy-2-fluoro-D-mannose	0.41 $\pm$ 0.05	0.85	0.66 $\pm$ 0.25	2.46	0.86 $\pm$ 0.75
2-Deoxy-2,2-difluoro-D-arabino-hexose	0.13 $\pm$ 0.02	0.53	0.21 $\pm$ 0.02	0.78	0.91 $\pm$ 0.47
3-Deoxy-3-fluoro-D-glucose	70 $\pm$ 30*	0.10	2.3 $\pm$ 0.3†	—	—
4-Deoxy-4-fluoro-D-glucose	84 $\pm$ 30*	0.10	1.9 $\pm$ 0.1‡	—	—
2-Chloro-2-deoxy-D-glucose	2.1 $\pm$ 0.6	0.54	0.97 $\pm$ 0.33	12.6	9 $\pm$ 10

* Conc. of ATP, 4.1 mM.

† Conc. of 3-deoxy-3-fluoro-D-glucose, 10 mM.

‡ Conc. of 4-deoxy-4-fluoro-D-glucose, 10 mM.

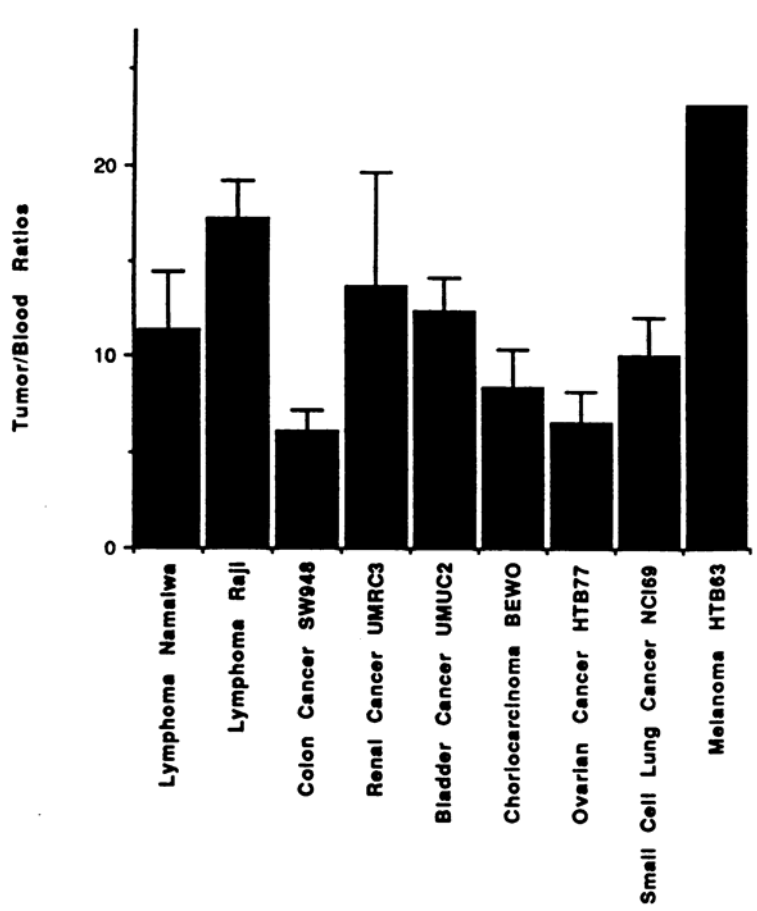
これらのことから、細胞内に取り込まれたFDGはリン酸化を受けた後、腫瘍細胞内に滞留すると考えられる。I-2-2項で記載したように、腫瘍細胞内におけるヘキソキナーゼ活性並びに同酵素のグルコースに対する親和性が増加していることから、細胞内に多量に取り込まれたFDGはそのほとんどが速やかにFDG-6-リン酸に代謝され滞留すると判断される。

上記のような機序によって腫瘍細胞内に集積した ^{18}F -FDGをPETカメラでスキャンすることによって、腫瘍細胞の存在を診断することが可能になると考えられる。

一方、細胞内に滞留したFDG-6-リン酸及びFDM-6-リン酸の細胞外への排除メカニズムは以下のとおりと考えられる。正常細胞においては、グルコース-6-ホスファターゼの働きによりFDG-6-リン酸及びFDM-6-リン酸は脱リン酸化され、それぞれFDG及びFDMの形で細胞外へ排除されると考えられる^{25,26)}。また、腫瘍細胞においても細胞内に取り込まれたFDGは、FDG及びFDMの6-リン酸体として存在することが報告されており²⁷⁾、また活性が低いながらグルコース-6-ホスファターゼが存在することが報告されていることから¹²⁾、同様のメカニズムで細胞から排除されるのと考えられる。

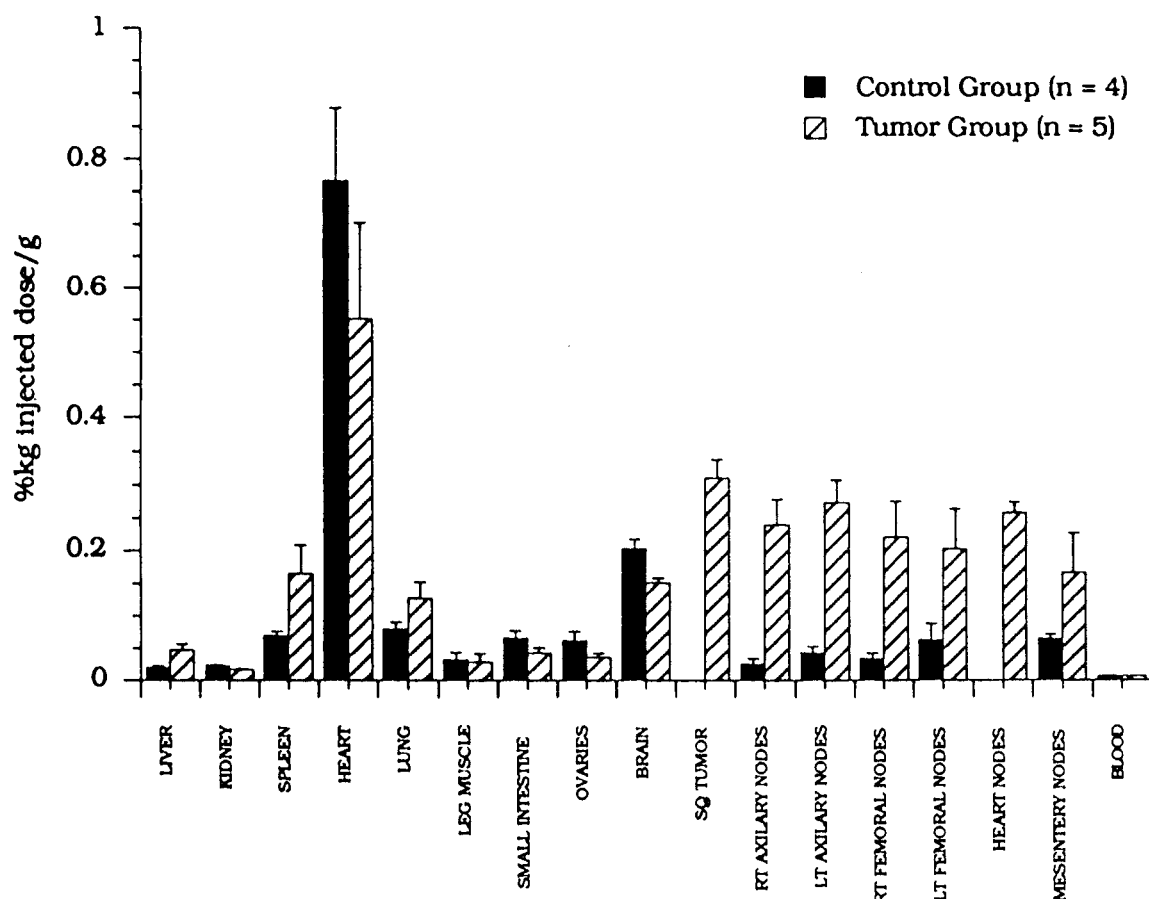
I-2-4 動物モデルにおけるFDGの腫瘍集積性

動物やヒト由来の腫瘍細胞における¹⁸F-FDGの腫瘍集積性は担癌マウスを用いて評価されている。ヒト由来の腫瘍株ではバーキットリンパ腫、悪性黒色腫、結腸癌、腎臓癌、膀胱癌、子宮癌、肺癌のヌードマウス担癌モデルによる¹⁸F-FDGの集積性が検討されており、腫瘍によって多少集積性に違いがあるものの、すべての腫瘍において高い集積性が認められている(図ホ-11)²⁸⁾。



図ホ-11 種々のヒト腫瘍担癌モデルにおけるFDGの集積性
(R.L.Wahlら, 1991年²⁸⁾ より引用)

またC57BL/6マウス由来の肺癌を担癌モデルとした ^{18}F -FDGの評価においても、腫瘍における高い集積性が確認されている¹⁰⁾。 ^{18}F -FDGの腫瘍集積は、原発巣のみならず、転移巣においても確認されている。マウス由来のリンパ腫を担癌モデルとした実験系では、リンパ節へ転移した腫瘍にも ^{18}F -FDGの集積が確認されている（図ホー12）²⁹⁾。



図ホー12 リンパ節におけるFDGの集積性
(R.L.Wahlら, 1990年²⁹⁾ より引用)

同様の結果はウサギ由来扁平上皮癌をウサギ大腿部皮下に移植したモデルにおいても確認されており、PETカメラによる撮像によって、 ^{18}F -FDGが集積している部分は原発性の腫瘍のみならず、リンパ節に転移した腫瘍にも存在していると報告されている³⁰⁾。またC57BL/6マウス由来の担癌モデルでは化学療法剤処置による腫瘍の退縮と同時に ^{18}F -FDGの集積性が低下することが報告されており、治療効果の判定に ^{18}F -FDGによる診断が有用であるとの考察がなされている（表ホー9）¹⁰⁾。なお、治療効果判定に関しては、化学療法剤同様、臨床で

用いられている放射線治療の効果についても、 ^{18}F -FDGによって判定が可能であるとする報告もある³¹⁾。

表ホー 9 化学療法剤による腫瘍の退縮とFDGの集積低下
(H.Minnら, 1992年¹⁰⁾ より引用)

Tumor volume, [^{14}C]FDG uptake, FDG phosphorylation rate and ATP content in Lewis lung carcinoma after chemotherapy						
	Volume (cm^3)	Volume change*	FDG uptake† (% ID/g) (T/B)		FDG/FDG6-P (%)	ATP‡ (mV/mg)
Control	3.4 ± 1.0 (n = 6)	2.9 ± 0.6 (n = 6)	1.2 ± 0.4 (n = 6)	6.3 ± 1.6	14.6 ± 5.7 (n = 6)	23 ± 14 (n = 5)
ADM	4.0 ± 1.3 (n = 6)	3.1 ± 0.8 (n = 6)	1.9 ± 0.4 (n = 5)	10.4 ± 3.0	10.8 ± 4.0 (n = 5)	26 ± 17 (n = 5)
BCNU	0.9 ± 0.3 (n = 6)	0.7 ± 0.2 (n = 6)	0.06 ± 0.02 (n = 4)	2.2 ± 1.1	NC§	13 ± 8 (n = 4)

*Ratio of volumes between days 14 and 10 after inoculation of tumor cells (post/pre-treatment volumes).

†% ID/g, percentage of injected dose/gram of tumor tissue; T/B, tumor-to-blood ratio.

‡Expressed as potentiometric readings of luminescence.

§NC, not calculated.

これらのことから、 ^{18}F -FDGはグルコース代謝を基にした腫瘍の検出に極めて有用な診断薬であると判断される。I-2-1項及びI-2-2項で記載したように、腫瘍細胞は概ね糖代謝が亢進しており、その中には増殖速度と糖代謝の亢進が比例する腫瘍細胞も存在する。糖代謝を反映する ^{18}F -FDGの集積を追跡することによって、腫瘍細胞の良性悪性の鑑別診断のみならず、転移巣の検出、再発の検出や治療効果の判定などの腫瘍に関連する診断に広く適用が可能であると判断される。

I-2-5 まとめ

腫瘍細胞においてはグルコーストランスポーターの発現による糖取り込み能の増加、解糖系の律速酵素であるヘキソキナーゼ活性の亢進並びに糖新生系の酵素であるグルコース-6-ホスファターゼ活性の低下によって、糖の利用率が亢進している。グルコースの動態と類似した動態を示す化合物である ^{18}F -FDGは、グルコースと同様にグルコーストランスポーターを介して多量に腫瘍細胞に取り込まれ、ヘキソキナーゼによるリン酸化を受ける。しかし、グルコースと異なり解糖系の次の酵素であるホスホグルコースイソメラーゼによるフルクトースへの異性化反応を受けないこと、また、腫瘍細胞のグルコース-6-ホスファターゼ活性が低下していることから、リン酸化体として細胞内に滞留することになる。したがっ

て、その滞留した¹⁸F由来のポジトロンをPETカメラで追跡することにより、腫瘍細胞の存在を見出すことが可能となる。

以上のことから、¹⁸F-FDGの腫瘍グルコース代謝イメージング剤としての有用性は非常に高いと考えられる。

I-2-6 参考文献

- 1) T.Yamamoto, Y.Seino, H.Fukumoto, et al., Biochem Biophys Res Commun, **170**, 223-230, 1990
- 2) M.Younes, L.V.Lechago, J.R.Somoano, et al., Cancer Res, **56**, 1164-1167, 1996
- 3) R.S.Brown and R.L.Wahl, Cancer, **72**, 2979-2985, 1993
- 4) M.Younes, L.V.Lechago and J. Lechago, Clin Cancer Res, **2**, 1151-1154, 1996
- 5) M.Hatanaka, Biochim Biophys acta, **355**, 77-104, 1974
- 6) W.E.Criss, Cancer Res, **31**, 1523-1542, 1971
- 7) N.K.Monakhov, E.L.Neistadt, M.M.Shalovskii, et al., J Natl Cancer Inst, **61**, 27-33, 1978
- 8) G.Weber, GANN Monogr Cancer Res, **13**, 47-77, 1972
- 9) G.Weber, New Eng J Med, **296**, 541-551, 1977
- 10) H.Minn, L.Kangas, P.Kellokumpu-Lehtinen, et al., Nucl Med Biol, **19**, 55-63, 1992
- 11) R.Paul, R.Johansson, P.L.Kellokumpu-Lehtinen, et al., Res Exp Med, **185**, 87-94, 1985
- 12) C.A.Nelson, J.Q.Wang, I.Leav, et al. Nucl Med Biol, **23**, 533-541, 1996
- 13) J.E.G.Barnett, G.D.Holman and K.A.Munday, Biochem J, **131**, 211-221, 1973
- 14) C.F.Burant and G.I.Bell, Biochemistry, **31**, 10414-10420, 1992
- 15) J.C.Graff, D.J.Hanson and M.Hatanaka, Int J Cancer, **12**, 602-612, 1973
- 16) K.A.Heidenreich, P.R.Gilmore and W.T.Garvey, J Neurosci Res, **22**, 397-407, 1989
- 17) R.S.Brown, J.Y.Leung, S.J.Fisher, et al., J Nucl Med, **37**, 1042-1047, 1996
- 18) R.Pouremad and A.M.Wyrwicz, NMR in Biomed, **4**, 161-166, 1991
- 19) S.Shinohara, Y.Kanazawa and M.Kojima, Magn Reson Med, **21**, 191-196, 1991
- 20) E.M.Bessell, A.B.Foster and J.H.Westwood, Biochem J, **128**, 199-204, 1972
- 21) E.M.Bessell and P.Thomas, Biochem J, **131**, 83-89, 1973
- 22) T.Nakada, I.L.Kwee and C.B.Conboy, J Neurochem, **46**, 198-201, 1986
- 23) G.Fedders, R.Kock, E.V.Leur, et al., Analytical Biochem, **211**, 81-86, 1993

- 24) E.M.Bessell and P.Thomas, Biochem J, **131**, 77-82, 1973
- 25) R.Southworth, C.R.Parry, H.G.Parkes, et al., NMR in Biomed, **16**, 494-502, 2003
- 26) Y.Kanazawa, Y.Momozono, M.Ishikawa, et al., Life Sci, **39**, 737-742, 1986
- 27) Y.Kanazawa, K.Umayahara, T.Shimmura, et al., NMR in Biomed, **10**, 35-41, 1997
- 28) R.L.Wahl, G.D.Hutchins, D.J.Buchsbaum, et al., Cancer, **67**, 1544-1550, 1991
- 29) R.L.Wahl, M.S.Kaminski, S.P.Ethier, et al., J Nucl Med, **31**, 1831-1835, 1990
- 30) H.Fukuda, T.Matsuzawa, Y.Abe, et al., Eur J Nucl Med, **7**, 294-297, 1982
- 31) K.Kubota, K.Ishiwata, R.Kubota, et al., J Nucl Med, **32**, 2118-2123, 1991