

Positron Emission Tomography (PET) イメージング法による小動物用 インビボ局所脳酸素代謝率測定法の開発に関する研究

天満 敬

In Vivo Positron Emission Tomography (PET) Measurement of Cerebral Oxygen Metabolism in Small Animals

Takashi TEMMA

Department of Patho-Functional Bioanalysis, Graduate School of Pharmaceutical Sciences,
Kyoto University, 46-29 Yoshida Shimoadachi-cho, Sakyo-ku, Kyoto 606-8501, Japan

(Received April 22, 2008)

The cerebral metabolic rate for oxygen (CMRO₂) and cerebral oxygen extraction fraction (OEF) are two fundamental parameters used to characterize the pathophysiologic status of cerebral tissues. Although the O-15-labeled gas inhalation method is used to measure these parameters in clinical studies, applying this method to small animals requires many intensive procedures. Thus the development of a new method to measure CMRO₂ and OEF in small animals is of interest. This study aimed to develop a method to assess CMRO₂ and OEF using intravenously injectable oxygen (injectable ¹⁵O-O₂) and Positron Emission Tomography (PET) for small animals such as rats. Injectable ¹⁵O-O₂ was obtained after ¹⁵O-O₂ gas circulation into an artificial lung. The OEF in normal rats was calculated using the same equation as that used for the bolus inhalation in the ¹⁵O-O₂ gas method. The obtained value of 0.54±0.11 of OEF was similar to the value determined from the arterial-venous difference in the oxygen concentration. Furthermore, we evaluated the usefulness of the injectable ¹⁵O-O₂ system in rats occluded in the right middle cerebral artery. A decrease in cerebral blood flow (CBF) and compensatory increase in OEF were observed 1 h after occlusion. In contrast, a marked decrease in CBF and CMRO₂ and a collapse of the compensatory OEF mechanism were found 24 h after occlusion. Thus injectable ¹⁵O-O₂ with PET can be used to estimate oxygen metabolism reliably in stroke animal models, and may be useful for accelerating basic research on cerebral diseases.

Key words—cerebral metabolic rate for oxygen; oxygen extraction fraction; small animals; positron-emission tomography (PET); injectable ¹⁵O-O₂; stroke

1. はじめに

脳の活動は、血液から摂取したグルコースと酸素との好氣的解糖系により産生されるエネルギーを主な源として営まれている。そのため脳の活動状態を知るには、脳血流量 (Cerebral Blood Flow; CBF)、酸素摂取率 (Oxygen Extraction Fraction; OEF)、酸素代謝率 (Cerebral Metabolic Rate for Oxygen; CMRO₂)、グルコース代謝率 (Cerebral Metabolic Rate for Glucose; CMRglc) 等の脳循環代謝パラメータを調べるのが有効である。¹⁾ 事実、これら脳循

環代謝パラメータの変動と脳梗塞等の脳循環疾患の障害程度は密接に関連していることから、疾患の確定診断、治療方針の決定、治療の効果判定を目的として脳循環代謝パラメータ測定が行われており、²⁻⁵⁾ 臨床診断上の意義は極めて高い。また、アルツハイマー病等の脳神経疾患の病態生理学的研究や、新規治療薬の開発・評価等においても、脳循環代謝パラメータ測定は重要な基本的情報を与え得る。

臨床における OEF, CMRO₂ の測定には、半減期 2 分のポジトロン放出核種である O-15 で標識された酸素ガス (¹⁵O-O₂) を吸入し、脳内放射能分布をポジトロン断層撮像装置 (Positron Emission Tomography; PET) により撮像する方法が用いられている。しかしながらこの ¹⁵O-O₂ ガス吸入法は、ラット等の小動物への応用は技術的に困難であり、脳循

京都大学大学院薬学研究科病態機能分析学分野 (〒606-8501 京都市左京区吉田下阿達町 46-29)

e-mail: ttemma@pharm.kyoto-u.ac.jp

本総説は、平成 19 年度日本薬学会近畿支部奨励賞の受賞を記念して記述したものである。

環境の基礎研究進展の妨げとなってきた。

そこでわれわれは、ラット等の小動物における OEF, $CMRO_2$ 測定を可能とする新たな手法を開発することを計画した。以下本稿では、臨床における OEF, $CMRO_2$ 測定法について概略を示したのち、小動物でのわれわれの検討について述べる。

2. 臨床での酸素代謝測定

臨床における OEF, $CMRO_2$ の測定は、前述の通り $^{15}O-O_2$ ガスの吸入とそれに引き続く頭部 PET 撮像により行われている。

近年では Blood oxygenation level-dependent (BOLD) 効果に基づく機能的磁気共鳴撮像法 (functional Magnetic Resonance Imaging; fMRI) を用いた $CMRO_2$ 測定法も開発されてきており、その有用性が示されつつある。⁶⁾ しかしながら BOLD 法の原理は、反磁性体である酸化ヘモグロビンと常磁性体である還元ヘモグロビンの存在割合に基づく磁気共鳴信号の変化を捉えることで間接的に $CMRO_2$ を算出するものであり、多くの演算処理を経ることや、そもそも BOLD 信号が $CMRO_2$ だけでなく、CBF, 脳血液量, 神経活動と血管床との間の相互作用など多くの因子の影響を合算して検出しているという問題点がある。⁷⁾ 一方、酸素分子の放射性同位体 ($^{15}O-O_2$) 自身のベータプラス壊変に伴って放出される 2 本の消滅放射線を定量性・検出感度に優れた PET 装置により直接測定する PET 法は、現在の臨床診断において OEF, $CMRO_2$ 測定の標準法として広く認められている。

$^{15}O-O_2$ ガスの吸入に基づく PET 法では、 $^{15}O-O_2$ ガスを吸入したのち、頭部 PET 撮像を行い、同時に、採血した動脈血液中の O-15 放射能を測定する。これまでに、ガス吸入や撮像のタイミングの異なる種々の撮像プロトコルが考案されてきている。 $^{15}O-O_2$ ガスを持続的に吸入し放射能強度が一定になったときに PET 撮像を行う steady-state 法^{8,9)} や、 $^{15}O-O_2$ ガスを単回吸入すると同時にダイナミックな PET 撮像を行う bolus inhalation 法^{1,10)} はその 1 例である。いずれにおいても OEF に従って動脈から脳組織へ抽出された $^{15}O-O_2$ が、ミトコンドリアでの電子伝達系の働きにより速やかに $^{15}O-H_2O$ に代謝され、脳組織中を自由に拡散したのち静脈から洗い出される動的変化を、動脈血中時間放射能濃度曲線を入力関数として解析することにより OEF,

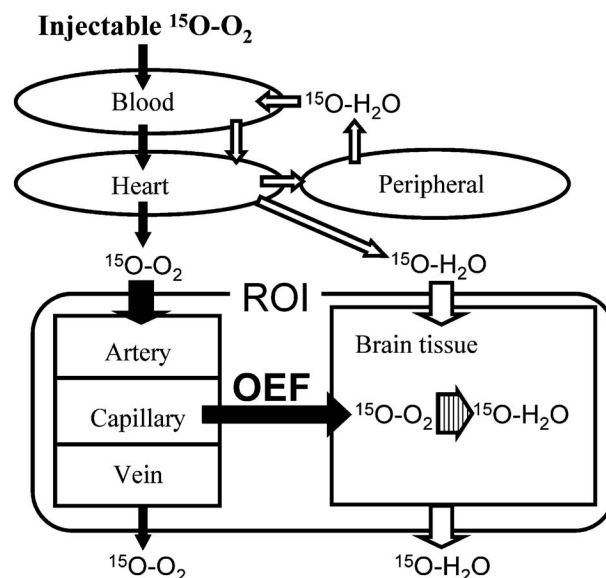


Fig. 1. The Pharmacokinetic Scheme for Injectible $^{15}O-O_2$. OEF: oxygen extraction fraction, ROI: region of interest.

$CMRO_2$ が算出されている (Fig. 1)。

3. 小動物での酸素代謝測定

最近、遺伝子技術の発展などによりラットやマウス等の小動物において様々な疾患モデルの作製が可能となったことに伴い、小動物モデルにおける OEF, $CMRO_2$ の測定が強く望まれるようになってきている。しかし、臨床で広く用いられている $^{15}O-O_2$ ガス吸入法を小動物に用いることは技術的に困難である。なぜなら、ラットなどの小動物ではヒトと比べ、 $^{15}O-O_2$ ガスを送達する吸入チューブ及び吸入口と、PET 撮像対象である脳とが空間的に非常に近接するため、脳内の O-15 から放出される消滅放射線に由来する真の同時計数のほかに、吸入チューブ及び吸入口中に存在する高い放射能がランダム同時計数を増加させアーチファクトの原因となることで、算出されるパラメータの測定精度を著しく低下させ得るからである。また、サイクロトロンにより産生される $^{15}O-O_2$ ガスは 99.5% 以上が担体の窒素ガスであることから、吸入に適した空気に近いガス組成に変える必要があり、また、小動物の呼吸量に合わせたガス流速に調節し、さらに、用いる小動物用 PET 装置の感度域において定量的に放射能を供給する必要があるなど解決すべき要件が数多い。

そこでわれわれは $^{15}O-O_2$ ガス吸入法に代わり小動物において精度の高い OEF, $CMRO_2$ の算出が可

能な新規測定法の開発を目的として、血液中への放射能のインプットを高精度で行うことのできる静脈内投与型 $^{15}\text{O-O}_2$ ガス剤 (injectable $^{15}\text{O-O}_2$) の開発とそれをういた局所 OEF, CMRO₂ の定量解析法の構築を計画した.¹¹⁾

4. 静脈内投与型 $^{15}\text{O-O}_2$ ガス剤 (injectable $^{15}\text{O-O}_2$)

静脈内投与型 $^{15}\text{O-O}_2$ ガス剤 (injectable $^{15}\text{O-O}_2$) の開発に当たり、血液へ $^{15}\text{O-O}_2$ ガスを溶解させる必要があるが、直接血液に $^{15}\text{O-O}_2$ ガスをバブリングする方法では血中タンパク質の存在のため血液が泡立つことからそのまま動物に静脈内投与できない。また、O-15 は半減期 2 分の超短半減期核種であるため PET 撮像に必要な放射能が保たれるごく短時間で泡を除去することは極めて困難であり、バブリング法の実施は現実的でない。

そこでわれわれは、血液への $^{15}\text{O-O}_2$ ガスの効率的な溶解 (赤血球中へヘモグロビンとの結合) のため人工肺を利用することを考え、泉工医科工業の協力を得て膜面積 0.1-0.13 m² のポリプロピレン中空糸の束を有する中空糸内部還流型のラット用小型人工肺を作製した。作製した人工肺は、テルモ社製インフュージョンラインキットのリザーバー部とシリコンチューブを用いて閉鎖系につなぎ、蠕動ポンプをシリコンチューブにセットした。ラット複数個体より採取した血液は血餅を除去したのち、約 18 ml を回路内に添加し、さらに $^{15}\text{O-O}_2$ ガスの導入・排出

ラインを人工肺に接続することで、血液循環型の閉鎖系回路として injectable $^{15}\text{O-O}_2$ 標識システムを構築した (Fig. 2)。

サイクロトロンを用いて製造した $^{15}\text{O-O}_2$ ガスの放射能濃度及び人工肺へ送り込むガス流速は、供給装置の最大値に固定して実験を行った。 $^{15}\text{O-O}_2$ ソースとして供給されるガスは窒素を主成分とし酸素濃度は 0.5% であることから、 $^{15}\text{O-O}_2$ ガスの酸素分圧を高めることでヘモグロビン酸素解離曲線上、右にシフトした結合特性を示し、より多くの $^{15}\text{O-O}_2$ の血液への取り込みが期待される。しかし $^{15}\text{O-O}_2$ ガスに酸素ガス又は空気を添加しても標識効率は向上せず、 $^{15}\text{O-O}_2$ ガスの比放射能減少が顕著に影響したものと考えられた。また $^{15}\text{O-O}_2$ ガスは血漿に溶解したのち赤血球中へ移行するため、標識率向上には血液温度を下げるのが有効であると考えられる。しかし O₂ ガスの水への溶解度は 0°C と 25°C で 1.8 倍程度しか変わらず、また、標識後、動物へ投与するには常温に戻す必要があり、O-15 の半減期 (2 分) を考慮すると放射能減衰の影響が強いことが予想されることから、標識温度は 27°C に固定した。

この条件下で、標識システムにおける血液循環速度を 20, 50, 100 ml/min に変化させて検討を行ったところ、いずれにおいても生成した injectable $^{15}\text{O-O}_2$ の放射能濃度は経時的に上昇した。特に 100

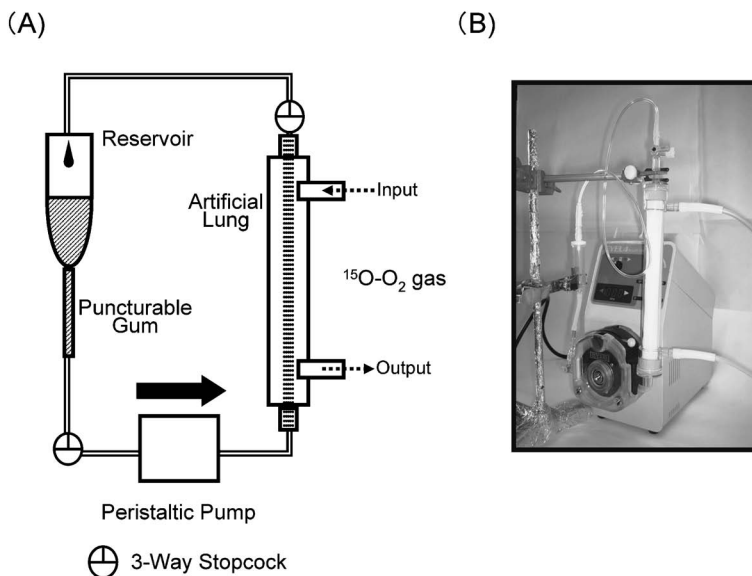


Fig. 2. (A) Diagram and (B) Photograph of the Injectable $^{15}\text{O-O}_2$ Preparation System

ml/min のとき最も高い標識効率を示し、標識開始から約 15 分後にプラトーに達した。このときの放射能濃度は 130 MBq/ml に達したことから、15 分間の $^{15}\text{O-O}_2$ ガス供給により PET 画像解析を実現するのに十分な放射能濃度を有する静脈内投与型 $^{15}\text{O-O}_2$ ガス剤を調製することに成功した。

そこで次に injectable $^{15}\text{O-O}_2$ による OEF, CMRO_2 算出の可能性について、正常ラットを用いて評価した。

5. 正常ラットでの有効性評価実験

5-1. 方法 PET 実験は浜松ホトニクス社製小動物用 PET 装置 (SHR-7700L) を用いて行った。最大半値幅 (full width at half maximum; FWHM) は、断面画像上で 2.7 mm、矢状方向で 3.3 mm である。¹²⁾

$^{15}\text{O-O}_2$ は組織に取り込まれると速やかに $^{15}\text{O-H}_2\text{O}$ に代謝され体内を再分布する¹⁾ため、PET 画像解析にはこの両者の寄与を考えなければならない (Fig. 1)。したがって OEF, CMRO_2 を算出するためには、 $^{15}\text{O-O}_2$ 投与後の脳内放射能分布とともに、CBF の測定を兼ねた $^{15}\text{O-H}_2\text{O}$ の分布データを得る必要がある。そこでまず麻酔下、ラット大腿動脈にカニューレを挿入し動物用固定台に仰臥位で固定したのち、 $^{15}\text{O-H}_2\text{O}$ (148 MBq) を尾静脈より投与し PET 撮像を行った。同時に大腿動脈より経時的採血を行い、コンパートメント解析 [(A)式] により CBF を算出した (Fig. 3)。¹³⁾ さらに PET 撮像終了後、約 200 μl の血液を採取・遠心分離し血漿中と血液中との放射能濃度の比を算出した。

ついで体内残存放射能の減衰を待ったのち (約

20 分後)、injectable $^{15}\text{O-O}_2$ (74 MBq) を尾静脈より投与し PET 撮像と経時的動脈採血を行った。投与 30, 60, 90, 120 秒後に採取した血液を遠心分離し血漿中及び血液中放射能濃度を測定し、得られた血漿中放射能濃度に、CBF 測定実験で得られた「血漿中放射能濃度に対する血液中放射能濃度の比」を掛けることで、動脈血中 $^{15}\text{O-H}_2\text{O}$ 時間放射能曲線 (TAC) を得た。動脈血中 $^{15}\text{O-O}_2$ TAC は動脈血中全放射能の TAC から $^{15}\text{O-H}_2\text{O}$ TAC を減ずることで得た。Fick の原理に従って $^{15}\text{O-O}_2$, $^{15}\text{O-H}_2\text{O}$ についての時間変化を表す微分方程式を立て、さらに脳血管内に存在する放射能成分の寄与を含めて式を構築した [(B)式] (Fig. 3)。^{1,10)} PET 画像から算出した脳 TAC 及び上述の血中 TAC を用いて、脳と採血点とのタイムラグを補正した解析を行い OEF, CMRO_2 を算出した [(C)式] (Fig. 3)。また、外科的に全脳の OEF を算出するため、PET 撮像後速やかに大腿動脈及び上矢状静脈洞より採血しそれぞれの酸素分圧を測定した。

5-2. 結果 Injectable $^{15}\text{O-O}_2$ を正常ラットに投与したところ、投与 30 秒後では血中放射能の 90 % 以上が $^{15}\text{O-O}_2$ であったが、90 秒後にはほぼ 100 % が $^{15}\text{O-H}_2\text{O}$ に代謝されていた (Fig. 4)。また PET 撮像終了時点である投与 120 秒後には、動脈血中放射能濃度と PET 画像より得た脳内放射能濃度がほぼ同じ値を示したことから、脳組織内での水の自由拡散を考慮すると本実験系が確かであることが認められた。

尾静脈より投与した放射性薬剤は心臓へ移行したのち、体循環へと移行する。そのため、採血点を大

$$(A) R(t) = CBF \cdot A_w(t) * e^{-\left(\frac{CBF}{p} + \lambda\right)t}$$

$$(B) R(t) = OEF \cdot CBF \cdot A_o(t) * e^{-\left(\frac{CBF}{p} + \lambda\right)t} + CBF \cdot A_w(t) * e^{-\left(\frac{CBF}{p} + \lambda\right)t} + V_B \cdot R \cdot (1 - V_V' \cdot OEF) \cdot A_o(t)$$

$$(C) \text{CMRO}_2 = \frac{(1.39 \times \text{Hb} \times \% \text{Sat})}{100} \times OEF \times CBF$$

Fig. 3. Equations for Calculating (A) CBF, (B) OEF and (C) CMRO_2

$R(t)$: tissue concentration of ^{15}O -radioactivity, $A_w(t)$: arterial concentration of $^{15}\text{O-H}_2\text{O}$ radioactivity, $A_o(t)$: arterial concentration of $^{15}\text{O-O}_2$ radioactivity, p : partition coefficient of water between the brain and blood (0.8^{13,17)}, λ : physical decay constant of ^{15}O , V_B : cerebral blood volume (0.04 ml/g⁹⁾, R : central to peripheral hematocrit ratio (0.85¹⁸⁾, V_V' : effective venous fraction in the brain (0.835¹⁾, Hb : gram hemoglobin/ml blood, %Sat: percent saturation of O_2 , *: convolution operator, t : time after injection.

腿動脈カニューレ端とする動脈血中 TAC と脳 TAC との間にはタイムラグが生じることとなり、これを補正することが重要となる。そこで、ラットの安静時心拍数、拍出量、循環血液量、カニューレの内径、長さ等の諸条件から、動脈血中 TAC と脳 TAC とのタイムラグは 4-8 秒程度であると推測し、コンピュータシミュレーションにより妥当性を評価した。実測した脳 TAC にタイムラグ補正を行い、動脈血中 TAC を用いてモデル解析により CBF, OEF を算出した。さらに算出した CBF, OEF を用いて脳 TAC をシミュレートしたところ、得られたシミュレーションカーブは補正後の脳 TAC とよく一致するとともに、CBF, OEF の算出に関する解析時間範囲依存性も消失した (Fig. 5)。このことから、タイムラグの設定及び解析式に用いた各種パラメータの妥当性が示された。

以上の解析に関する検討を基に、正常ラット (n

=13) の全脳について CBF, OEF, $CMRO_2$ を算出した (Table 1)。その結果、OEF は動静脈酸素分圧格差から直接求めた値と一致し、また、その OEF より算出した $CMRO_2$ は外科的な直接測定法により測定した既報¹⁴⁾と一致した。したがって、開発した静脈内投与型 $^{15}O-O_2$ ガス剤 (injectable $^{15}O-O_2$) は、小動物実験におけるガス吸入に起因する問題点を解決し、OEF, $CMRO_2$ の定量評価を可能とし得ることが示された。

6. 脳循環障害モデルラットを用いた検討

前項までに正常ラットにおける injectable $^{15}O-O_2$ の有効性を示した。そこで次に病態モデルでの有用性を調べるため、栓子法により右中大脳動脈永久閉塞 (middle cerebral artery occlusion; MCAO) ラットを作製し、閉塞早期 (1 時間後, $n=7$)、後期 (24 時間後, $n=6$) の個体を用い、injectable $^{15}O-O_2$ による PET 撮像実験を行った。¹⁵⁾

その結果、障害側である右脳は、閉塞 1 時間後において CBF 減少 (右脳: 0.44 ± 0.17 ml/min/g, 左

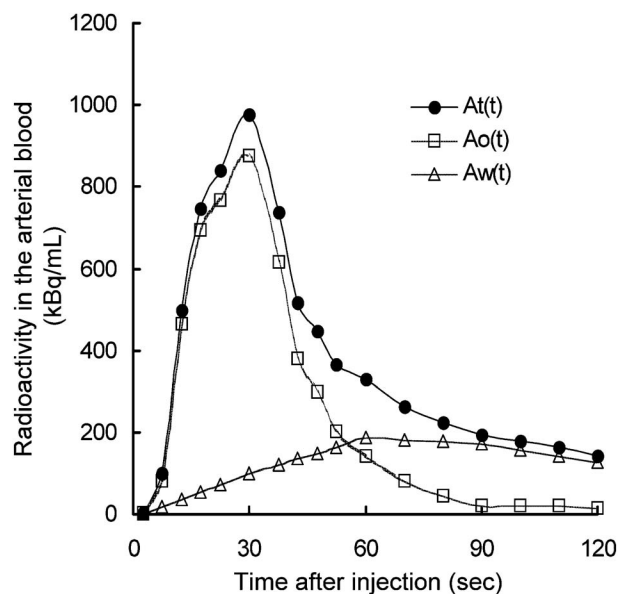


Fig. 4. Decay-corrected Time Curve Showing Radioactivity in Arterial Blood after Administration of Injectable $^{15}O-O_2$. At(t): total radioactivity concentration in the blood, $A_o(t)$: $^{15}O-O_2$ fraction in the blood, $A_w(t)$: $^{15}O-H_2O$ fraction in the blood.

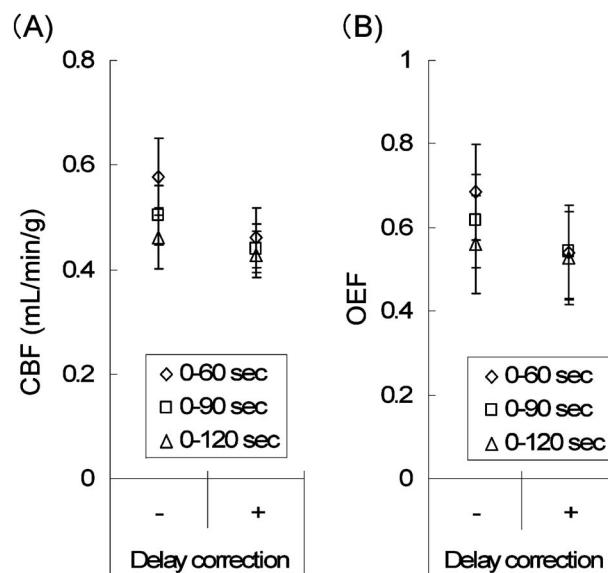


Fig. 5. Time-range Dependence of Estimated (A) CBF and (B) OEF

Table 1. Averaged Values of CBF (ml/min/g), OEF and $CMRO_2$ (ml/min/100 g) in Normal Rats

CBF (ml/min/g)	OEF		$CMRO_2$ (ml/min/100 g)	$CMRO_2^{13)}$ (ml/min/100 g)
	Kinetic	Surgical		
44 ± 4.5	0.54 ± 0.11	0.57 ± 0.13	4.3 ± 1.3	3.7 ± 1.2

脳： 0.67 ± 0.22 ml/min/g, $p < 0.05$) と代償的な OEF 上昇 (右脳： 0.50 ± 0.19 , 左脳： 0.42 ± 0.13 , $p < 0.05$) を示したが、24 時間後では著しい CBF 減少 (右脳： 0.26 ± 0.07 ml/min/g, 左脳： 0.50 ± 0.08 ml/min/g, $p < 0.05$) とともに OEF の代償的上昇は消失 (右脳： 0.49 ± 0.19 , 左脳： 0.51 ± 0.12 , not significant) していた。CMRO₂ は正常側である左脳において 1 時間後、24 時間後で変化しなかった (1 時間後： 6.2 ± 1.3 ml/min/100 g, 24 時間後： 6.2 ± 1.4 ml/min/100 g)。一方、右脳の CMRO₂ は左脳と比べて有意に小さく、さらに、24 時間後では 1 時間後と比べて有意に低下していた (1 時間後： 4.5 ± 1.1 ml/min/100 g, 24 時間後： 2.9 ± 0.8 ml/min/100 g)。障害側/正常側比を調べたところ (Fig. 6)、すべてのパラメータにおいて 1 時間後と 24 時間後との間に有意差が検出され、進行性の障害を捉えることに成功したことが示された。以上、injectable ¹⁵O-O₂ を用いた PET 法により障害側において閉塞早期での OEF の代償的上昇を捉え、閉塞後期ではこの代償機構が破綻することで顕著な CMRO₂ 低下へ至ることを示した。また正常側 CMRO₂ は、閉塞 1 時間後、24 時間後とも外科的手法により求めたラット正常脳の値¹⁶⁾と同等であったことから、脳循環障害モデルにおける本法の妥当性が示された。

7. おわりに

以上、本研究では静脈内投与型 ¹⁵O-O₂ ガス剤 (injectable ¹⁵O-O₂) を開発することにより、ラット等の小動物に使用可能なインビボ局所 OEF, CMRO₂ 測定法を開発することに成功した。本研究成果は、様々な脳疾患の病態解明において脳活動の基幹である脳エネルギー代謝測定からのアプローチ法を提供するものであり、脳虚血のみならず脳神経疾患、痴呆症などの基礎研究の発展に大いに貢献し得ると考えられる。また、開発した injectable ¹⁵O-O₂ は、従来の吸入法では周囲肺組織の高放射能のため測定が極めて困難であった心筋酸素代謝測定をも可能とすると期待される。

謝辞 本研究の遂行に当たり、終始懇篤なる御指導、御鞭撻を賜りました京都大学大学院薬学研究所・佐治英郎教授に衷心より深甚なる謝意を表します。同時に、懇切なる御指導と御教示を戴きました

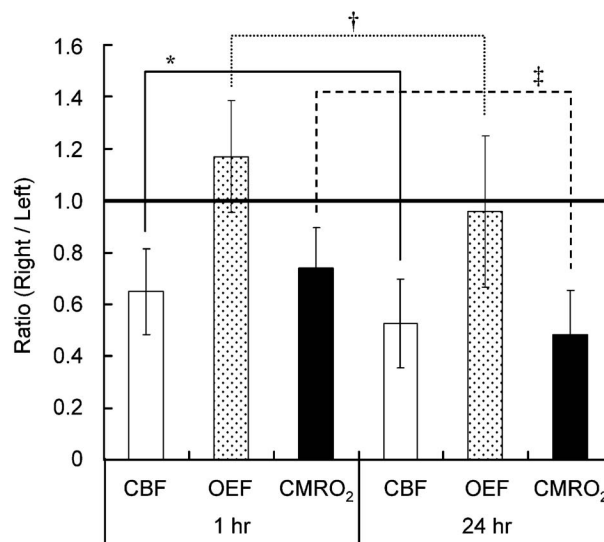


Fig. 6. Right to Left Hemisphere (Lesion to Normal) Ratios of CBF, OEF and CMRO₂ after Onset of Middle Cerebral Artery Occlusion

Significant differences for each parameter were determined using the Mann-Whitney U test, * $p < 0.05$, † $p < 0.01$, ‡ $p < 0.001$.

浜松医科大学光量子医学研究センター・間賀田泰寛教授に深く感謝申し上げます。PET データの解析や動物実験に関しては、国立循環器病センター研究所放射線医学部・飯田秀博部長、渡部浩司室長、寺本昇室員、国立循環器病センター研究所放射線医学部の皆様に御助力を頂きました。ここに深く感謝いたします。また終始有益な御指導と御協力を頂きました北海道大学大学院医学研究科・久下裕司教授、京都大学大学院薬学研究所病態機能分析学分野、京都大学医学部附属病院サイクロトロン室の皆様から心より感謝いたします。

REFERENCES

- 1) Mintun M. A., Raichle M. E., Martin W. R., Herscovitch P., *J. Nucl. Med.*, **25**, 177-187 (1984).
- 2) Grubb Jr. R. L., Derdeyn C. P., Fritsch S. M., Carpenter D. A., Yundt K. D., Videen T. O., Spitznagel E. L., Powers W. J., *JAMA*, **280**, 1055-1060 (1998).
- 3) Yamauchi H., Fukuyama H., Nagahama Y., Nabatame H., Nakamura K., Yamamoto Y., Yonekura Y., Konishi J., Kimura J., *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*, **61**, 18-25 (1996).
- 4) Yamauchi H., Fukuyama H., Nagahama Y.,

- Nabatame H., Ueno M., Nishizawa S., Konishi J., Shio H., *J. Nucl. Med.*, **40**, 1992–1998 (1999).
- 5) Yamauchi H., Fukuyama H., Nagahama Y., Nishizawa S., Konishi J., *Stroke*, **30**, 1424–1428 (1999).
- 6) Ito H., Ibaraki M., Kanno I., Fukuda H., Miura S., *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, **25**, 371–377 (2005).
- 7) Iannetti G. D., Wise R. G., *Magn. Reson. Imaging*, **25**, 978–988 (2007).
- 8) Lammertsma A. A., Jones T., *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, **3**, 416–424 (1983).
- 9) Lammertsma A. A., Wise R. J., Heather J. D., Gibbs J. M., Leenders K. L., Frackowiak R. S., Rhodes C. G., Jones T., *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, **3**, 425–431 (1983).
- 10) Shidahara M., Watabe H., Kim K. M., Oka H., Sago M., Hayashi T., Miyake Y., Ishida Y., Hayashida K., Nakamura T., Iida H., *Ann. Nucl. Med.*, **16**, 317–327 (2002).
- 11) Magata Y., Temma T., Iida H., Ogawa M., Mukai T., Iida Y., Morimoto T., Konishi J., Saji H., *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, **23**, 671–676 (2003).
- 12) Watanabe M., Okada H., Shimizu K., Omura T., Yoshikawa E., Kosugi T., Mori S., Yamashita T., *IEEE Trans. Nucl. Sci.*, **44**, 1277–1282 (1997).
- 13) Iida H., Itoh H., Bloomfield P. M., Munaka M., Higano S., Murakami M., Inugami A., Eberl S., Aizawa Y., Kanno I., et al., *Eur. J. Nucl. Med.*, **21**, 1072–1084 (1994).
- 14) Sinha A. K., Chi O. Z., Weiss H. R., *Brain Res.*, **591**, 146–150 (1992).
- 15) Temma T., Magata Y., Kuge Y., Shimonaka S., Sano K., Katada Y., Kawashima H., Mukai T., Watabe H., Iida H., Saji H., *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, **26**, 1577–1583 (2006).
- 16) Kozniwska E., Szczepanska-Sadowska E., *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, **15**, 579–585 (1990).
- 17) Huang S. C., Carson R. E., Hoffman E. J., Carson J., MacDonald N., Barrio J. R., Phelps M. E., *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, **3**, 141–153 (1983).
- 18) Grubb Jr. R. L., Raichle M. E., Higgins C. S., Eichling J. O., *Ann. Neurol.*, **4**, 322–328 (1978).