

國家原子能科技研究院
委託研究計畫研究報告

碘-123-ER-176 作為早期腦神經退化發炎誘發診斷藥物

**Evaluation of Iodine-123-ER-176 as an Inflammation Diagnostic
Radiopharmaceutical by Nuclear Medicine Imaging Analysis for
Early Neurodegeneration**

計畫編號：112B015

受委託機關(構)：臺北醫學大學

計畫主持人：張剛瑋

研究期程：中華民國 112 年 10 月至 113 年 01 月

研究經費：新臺幣 71.5 萬元

國原院聯絡人員：張明誠

報告日期：113 年 01 月 18 日

目 錄

目 錄	I
中文摘要	1
ABSTRACT.....	2
壹、計畫緣起與目的	4
貳、研究方法與過程	6
參、主要發現與結論	8

中文摘要

創傷性腦損傷(Traumatic brain injury, TBI)藉由 PET 與 SPECT 反映出體內功能性影像分佈，使用放射性示踪劑提供各組織/器官的功能性影像定量分析，通過動態(dynamic)掃描和藉由數學模型方式呈現注射放射性藥物的藥效分析和其藥物動力學分析研究。藉由此計劃的實施，已完成建立放射性藥物標記(F-18-FEPPA)和動物 PET 與專一性的 TSPO 腦部發炎檢測放射性藥物，藉此評估 TBI 腦部發炎的變化。腦部發炎是由於神經免疫細胞激活的神經發炎，神經膠質瘤細胞在腦部損傷時被激活，被激活膠質細胞/巨噬細胞與易位蛋白(Translocator Protein, TSPO)的表達顯著增加有關，放射性標記的 TSPO 放射性示踪劑(F-18-FEPPA)提供早期診斷和療效評估工作。

本項目已完成建立 F-18-FEPPA/PET 於腦部創傷動物模式(TBI animal model)影像分析，結果可顯示 TBI 後腦部各區域累積量的變化，結果於創傷後第七天腦部結合放射性 TSPO 核醫藥物量與對側比較約1.556倍(紋狀體)與1.212倍(皮層)位置，且此影像可經由 MRI T2影像觀測到其對於腦部創傷的結構性影像。目前動物影像仍持續進行 I-123-ER176/SPECT 影像分析，並已將腦部檢體委請民間公司進行 TSPO 免疫螢光染色分析中，相信將來的成果將更能確認 TSPO 的結合效果。

關鍵詞：正電子發射斷層掃描(PET)、創傷性腦損傷(TBI)、單光子發射斷層掃描(SPECT)

Abstract

Traumatic brain injury (TBI) based on Positron emission tomography (PET) and Single photon emission computed tomography (SPECT) are molecular imaging technique that reflects in vivo spatial distribution provided functional/quantitative information using radiotracer molecules that enable us to realize its pharmacodynamics and pharmacokinetics through dynamic PET and SPECT scans and mathematical modeling.

Across this plan will gradually research in the field for nuclear medicine preparation, analysis and application for Translation Medicine. Conducted with the functional imaging of animal PET and SPECT, to provide precision medical and personalized medical. Brain inflammation seems to be a common denominator among brain injury survivors. Experiencing brain inflammation after a traumatic brain injury (TBI) is virtually inevitable. Neuroinflammation by activated by neuroimmune cells and implicated in the pathogenesis of several neurodegenerative diseases. Glial cells are activated in response to brain injury, and activated microglial/macrophages are associated with dramatically increased expression of translocator protein (TSPO), radiolabeled-TSPO could improve early diagnosis and therapeutic follow-up.

In this project plans, we established the animal model of traumatic TBI animal model (Day 0, 1, 7, 30, 60, 90), and established TSPO second-generation nuclear medicine (F-18-FEPPA) in PET image analysis. In the result, at day 7 showed the significant accumulation of F-18-FEPPA in striatum and cortex (the ratio were 1.556 and 1.212 folds). And we also observant by MRI T2 image, to show the structural imaging of brain trauma.

We also continued take the animal on I-123-ER176/SPECT image, and also take the brain specimens have been commissioned with TSPO immunohistochemically

fluorescence staining analysis (IHC). We believe that future results will confirm the binding effect of TSPO with radiopharmaceuticals.

Key words : Positron emission tomography (PET), Traumatic brain injury (TBI), Single Photon Emission Tomography (SPECT)

壹、計畫緣起與目的

創傷性腦損傷 (TBI) 被定義為大腦直接機械性破壞，導致神經、行為和認知功能損傷[1]。由於高發病率、高死亡率和長期併發症，世界衛生組織將 TBI 列為高度優先的研究領域和嚴重的醫療保健問題[2]。腦震盪可能會導致直接和間接（即繼發性或遲發性）腦損傷[3-4]。包括急性發炎過程在內的繼發機制進一步導致血腦屏障破壞、腦水腫和腫脹[2]。臨床上，即使是輕微的創傷性腦損傷也常被視為「腦震盪」。格拉斯哥昏迷量表、新奧爾良標準或加拿大頭部 CT 規則 [1] 是臨床上用於評估損傷嚴重程度的工具，然而，分子成像可能作為一種方法來深入了解中樞功能障礙的機制。解剖/結構破壞。TBI 或 mTBI 的相關症狀，如憂鬱、記憶和認知障礙、衝動、情緒波動、藥物濫用最近成為一個問題。它在急性階段可能是免費的，但在未來會發生不可預測的情況[2]。現有研究表明，TBI 患者患有神經退化性疾病的風險很高，例如阿茲海默症 (AD)、帕金森氏症和運動神經元疾病[3]。所有這些疾病的病理生理機制均可歸因於 TBI 併發症[4]。

腦部發炎似乎是腦損傷倖存者的一個共同點[4]。腦外傷後出現腦部發炎（也稱為「腦腫脹」）幾乎是不可避免的[4]。神經發炎由神經免疫細胞活化並參與多種神經退化性疾病的發病機制[5]。神經膠質細胞因腦損傷或神經發炎而被激活，激活的小膠質細胞/巨噬細胞與易位蛋白 (TSPO) 表達顯著增加相關[6]。

放射性標記的 TSPO 配體可以改善早期診斷和治療追蹤。一氧化氮 (NO) 是多種生理和病理過程的另一個重要且獨特的媒介。iNOS 不在細胞中組成型表達，僅在細胞受到刺激時才會被誘導，通常是促發炎細胞因子和/或細菌脂多醣 (LPS) [7]。因此，用於評估體內 iNOS 活性的誘導型一氧化氮合成酶 (iNOS) 放射性配體可能作為區域 iNOS 表現的特定生物標記 [7]。

正子斷層掃描 (PET) 和單光子發射斷層掃描 (SPECT) 是利用放射性示踪劑

分子反映體內空間分佈並提供功能/定量資訊的分子成像技術，使我們能夠透過動態 PET、SPECT 掃描和數學了解其藥效學和藥物動力學。模型[3]。代謝參數可以使用 PET 的動態腦 F-18 FDG 和 SPECT 的 Tc-99m HMPAO/ECD（一種特定的腦灌注配體）來收集，是臨床上評估與腦血流變化相關的 TBI 的有用手段。越來越多的證據支持 TBI 與分子影像之間的關聯[4]。

早期檢測 mTBI 的嚴重程度並預測其結果對於那些可以從早期幹預中受益的人來說非常重要[8]。使用功能性、定量分子影像來繪製大腦功能圖對於探索疾病病理生理學並幫助診斷和治療評估似乎是合理的[8]。使用目前可用的分子影像方式進行體內診斷影像可以幫助解決病因學爭論，並為改善 mTBI 的診斷和評估 mTBI 療法的療效提供有用的工具。核子醫學在診斷上的應用 正子斷層掃描 (PET) 和單光子發射電腦斷層掃描 (SPECT) 是核子造影模式中使用的功能性儀器，可提供有關疾病病理生理過程的功能資訊[9]。PET、SPECT 和核磁共振成像 (MRI) 等不同互補方式的結合，將更描述更多的生理過程和結構，並成為藥物研發階段的關鍵要素[10]。

在本研究中，我們嘗試使用 F-18-FDG 治療腦葡萄糖代謝，使用 F-18-FEPPA 和 I-123-ER176 治療 TSPO 的神經元發炎。使用最大/平均比攝取值 (SUVmax/mean) 自動（透過軟體）或手動描繪感興趣的體積或區域（VOI 或 ROI），實現動力學速率常數及其分佈。其中，鑑定 I-123-ER176 可取代 F-18 FDG、F-18-FEPPA 易於臨床使用。我們的子項目可以與其他主題相關聯，以驗證活組織中相關生物標誌物的概念，此外，使用示踪劑方法開發潛在的放射性生物標誌物，以實現其生物動力學和動力學，最終用於臨床早期診斷和治療監測。

貳、研究方法與過程

1. 動物

本研究使用 Crl:CD (Sprague Dawley, SD) 雄性大鼠 (BioLASCO 台灣有限公司, 台灣台北)。研究時大鼠約 6 週大, 體重範圍為 164~204g。體重變化不超過平均體重的 $\pm 20\%$ 。將大鼠維持在 $21\pm 2^{\circ}\text{C}$ 、 $50\pm 20\%$ 相對濕度和 12 小時光照/12 小時黑暗/自動光照循環。治療前, 對所有動物進行稱重並觀察生命徵象和日常活動。顯示出疾病跡象的動物被從研究中剔除。所用動物的體重變化不超過平均體重的 $\pm 20\%$ 。所有動物程序和實驗方案均獲得台灣台北醫科大學 (TMU) 動物使用倫理委員會的批准。

2. 創傷性腦損傷 (TBI) 的外科手術

手術, 大鼠以 5% 異氟醚麻醉, 並以 70%/30% 氣體混合物 (N₂O/O₂) 中的 1.5-2.5% 異氟醚維持麻醉。使用反饋調節加熱系統將體溫始終保持在 $37\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 。不斷檢查呼吸並根據麻醉程度進行調整。進行矢狀切口 (不是中線切口以避免大出血) 以暴露顱骨。將小鼠放置在立體定位框架上, 並使用鼻桿和耳桿保持頭部。使用 3 厘米高的盒子將整個身體抬高, 以限制對沖傷害。然後, 用棉花棒清潔左側頂骨。使用由電磁控制衝擊裝置 (ImpactOne, Leica 20) 驅動的直徑為 3 mm 的剛性衝擊器誘發近頭控制皮質衝擊 (CCI) 腦損傷, 該衝擊器以與垂直面成 20 角的角度剛性安裝, 並施加在前囟和前囟之間。左側暴露頭骨的 lambda (對於中度 TBI (modTBI), 變形深度為 2 mm; 速度: 5.0 m/s; 衝擊時間: 0.2 s。將小鼠縫合並放置在單獨的盒子中, 直至恢復 (即恢復假手術動物接受相同的程序, 只是它們沒有受到任何影響。

3. 放射性藥物製備

本計劃使用核醫放射性藥物，其中[F-18]FEPPA 委請三軍總醫院核子醫學部協助製備；[I-123]ER176 委請國家原子能研究院負責製備。

4. 正電子發射掃描儀

將用於注射 F-18 標記化合物的導管插入尾靜脈。在頭部固定器限制運動的情況下，將大鼠放置在小動物 PET 掃描儀的床上，使用 SuperArgus PET 掃描儀 (Sedecal Medical Solutions, Inc.) 進行掃描。軸向 FOV 長度為 7 厘米，橫軸直徑為 10 厘米。掃描儀在視場中心的空間解析度為 1.5 毫米，由於視差效應，空間解析度在視場邊緣沿徑向增加到 3.5 毫米。在掃描之前，使用 68Ge-68Ga 針源 (37MBq；西門子醫療系統) 進行傳輸掃描 30 分鐘進行衰減校正。F-18 標記化合物以 0.39-0.88 MBq/g 體重的劑量溶解在 0.1 mL 生理食鹽水中，透過插入尾靜脈的插管自動注射，然後使用 3 秒採集器 60 分鐘取得發射資料。維列表模式方法。這些數據被分類為 45 幀 (10 × 3 s、3 × 10 s、6 × 30 s、11 × 60 s 和 15 × 180 s)。影像在 128 × 128 × 159 矩陣中重建，x、y 和 z 方向的體素大小分別為 0.776 × 0.776 × 0.796 mm。

5. 影像分析

在使用者定義的時間範圍內重建 PET 和 SPECT 數據，並使用 AsiProVM (擷取正弦圖影像處理軟體, CTI Concorde Microsystems) 透過感興趣區域 (ROI) 分析來評估影像檔案。在立體定位座標的引導下，在所有大腦冠狀影像上繪製與大腦切片和小腦 (CB) 相關的 ROI。衰減校正時間活性曲線以標準化攝取值 (SUV) 為單位呈現，併計算為 (%注射劑量/cm³) 體重 (g)，以標準化大鼠體重和施用劑量的差異。

參、主要發現與結論

1. TBI 動物模式建立

如圖一所示。進行 TBI 手術前，先以 5% 異氟烷麻醉大鼠，並以 70%/30% 氣體混合物 (N₂O/O₂) 中的 1.5-2.5% 異氟烷維持麻醉。整個過程中使用回饋調節加熱系統將體溫維持在 37±0.5°C。不斷檢查呼吸並根據麻醉程度進行調整。頭部以剪刀剪開並進行矢狀切口(不是中線切口以避免大出血)以暴露顱骨。將大鼠放置在立體定位架上，並使用鼻桿和耳桿維持頭部。使用 3 公分高的盒子將整個身體抬高，以限制反擊傷害。然後，用棉花棒清潔左側頂骨。

使用由電磁控制衝擊裝置(ImpactOne, Leica 20)驅動的直徑為 3 mm 的剛性衝擊器誘發近頭控制皮質衝擊(CCI)腦損傷，該衝擊器以與垂直面成 20 角的角度剛性安裝，並施加在前囟和前囟之間。左側暴露頭骨的 lambda(中度 TBI (modTBI) 的深度為 2 mm；速度：5.0 m/s；衝擊時間：0.2 s)。將大鼠縫合並放置在單獨的盒子中直至恢復(即恢復正常步態)。假手術動物接受相同的程序，只是它們沒有受到任何影響。

2. TBI 動物模式於 F-18-FEPPA/PET 影像分析

目前已完成 sham control 3 隻動物、24hr TBI 3 隻動物、7D TBI 3 隻動物、30D TBI 3 隻動物、60D TBI 3 隻動物、90D TBI 3 隻動物影像分析。圖二為截取其中 sham control、24hr、7D 之 F-18-FEPPA/PET 影像結果。表一為其中腦部各區域之 F-18-FEPPA SUV 值(Striatum-R, Striatum-L, Cortex-R, Cortex-L, Hippocampus, Thalamus, Hypothalamus, Pons, Cerebellum)。圖三為選定其中特殊腦部區域(Striatum-R, Striatum-L, Cortex-R, Cortex-L, Hippocampus)，分析於 sham control、24hr TBI、7D TBI、30D TBI、60D TBI、90D TBI 影像結果分析。表二與圖四為分析於紋狀體與皮層左右側 F-18-FEPPA SUV 比值。

3. TBI 動物模式於 T2 MRI 影像分析

為了確定試驗動物 TBI 後腦部蛛網膜下腔的改變，TR/TE 為 513/46ms，Voxel Size 為 0.19x0.39x1.5 mm³，利用 Multi-slice 的 TSE(turbo spin echo)序列，TR/TE 為 3760/114ms，以及 FLAIR(fluid attenuation inversion recovery)，TR/TE/TI 為 8420/155/2500ms，進行成像得到 T2 加權影像，Voxel Size 皆為 0.19x0.39x1.5 mm³，觀察腦室長期變化。試驗已完成 sham control 4 隻動物、24hr TBI 7 隻動物、7D TBI 6 隻動物影像，影像結果分別下圖五~十所示。

肆、參考文獻

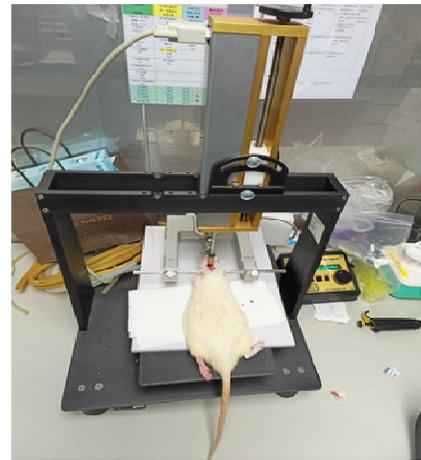
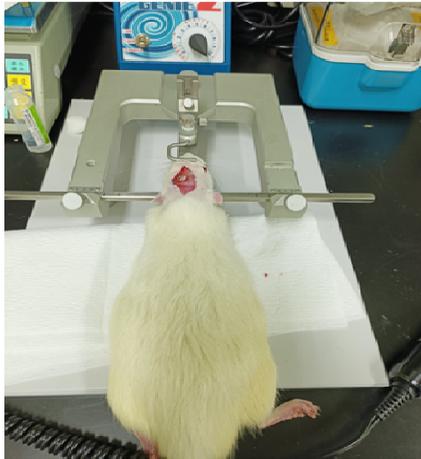
References:

- [01]. McKee, A.C. and D.H. Daneshvar, *The neuropathology of traumatic brain injury*. Handb Clin Neurol, 2015. **127**: p. 45-66.
- [02]. Skye Hsin-Hsien Yeh, Wen-Sheng Huang, Chuang-Hsin Chiu, Chuan-Lin Chen, Hui-Ting Chen, Dae Yoon Chi, Zhengxing Ge, Tsung-Hsun Yu, Pao-Yeh Wang, Yu-Yeh Kuo, Chun-Tse Hung, Geng-Ying Li, Chi-Wei Chang. Automated Synthesis and Initial Evaluation of (4'-Amino-5',8'-difluoro-1'H-spiro[piperidine-4,2'-quinazolin]-1-yl) (4-[¹⁸F]fluorophenyl) methanone for PET/MR Imaging of Inducible Nitric Oxide Synthase. *Mol Imaging*. 2021 Jul 8;2021:9996125.
- [03]. Chi-Wei Chang, Chuang-Hsin Chiu, Ming-Hsien Lin, Hung-Ming Wu, Tsung-Hsun Yu, Pao-Yeh Wang, Yu-Yeh Kuo, Ya-Yao Huang, Chyng-Yann Shie, Wen-Sheng Huang, Skye Hsin-Hsien Yeh. GMP-compliant fully automated radiosynthesis of [¹⁸F]FEPPA for PET/MRI imaging of regional brain TSPO expression. *EJNMMI Res*. 2021 Mar 16;11(1):26.
- [04]. Cyrus Ayubcha, Mona-Elisabeth Revheim, Andrew Newberg, Mateen Moghbel, Chaitanya Rojulpote, Thomas J Werner, Abass Alavi. A critical review of radiotracers in the positron emission tomography imaging of traumatic brain injury: FDG, tau, and amyloid imaging in mild traumatic brain injury and chronic traumatic encephalopathy. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2021 Feb;48(2):623-641.
- [05]. Shun-Tai Yang, Ing-Tsung Hsiao, Chia-Ju Hsieh, Yung-Hsiao Chiang, Tzu-Chen Yen, Wen-Ta Chiu, Kun-Ju Lin, Chaur-Jong Hu. Accumulation of amyloid in cognitive impairment after mild traumatic brain injury. *J Neurol Sci*. 2015 Feb 15;349(1-2):99-104.
- [06]. Michael C Dewan, Abbas Rattani, Saksham Gupta, Ronnie E

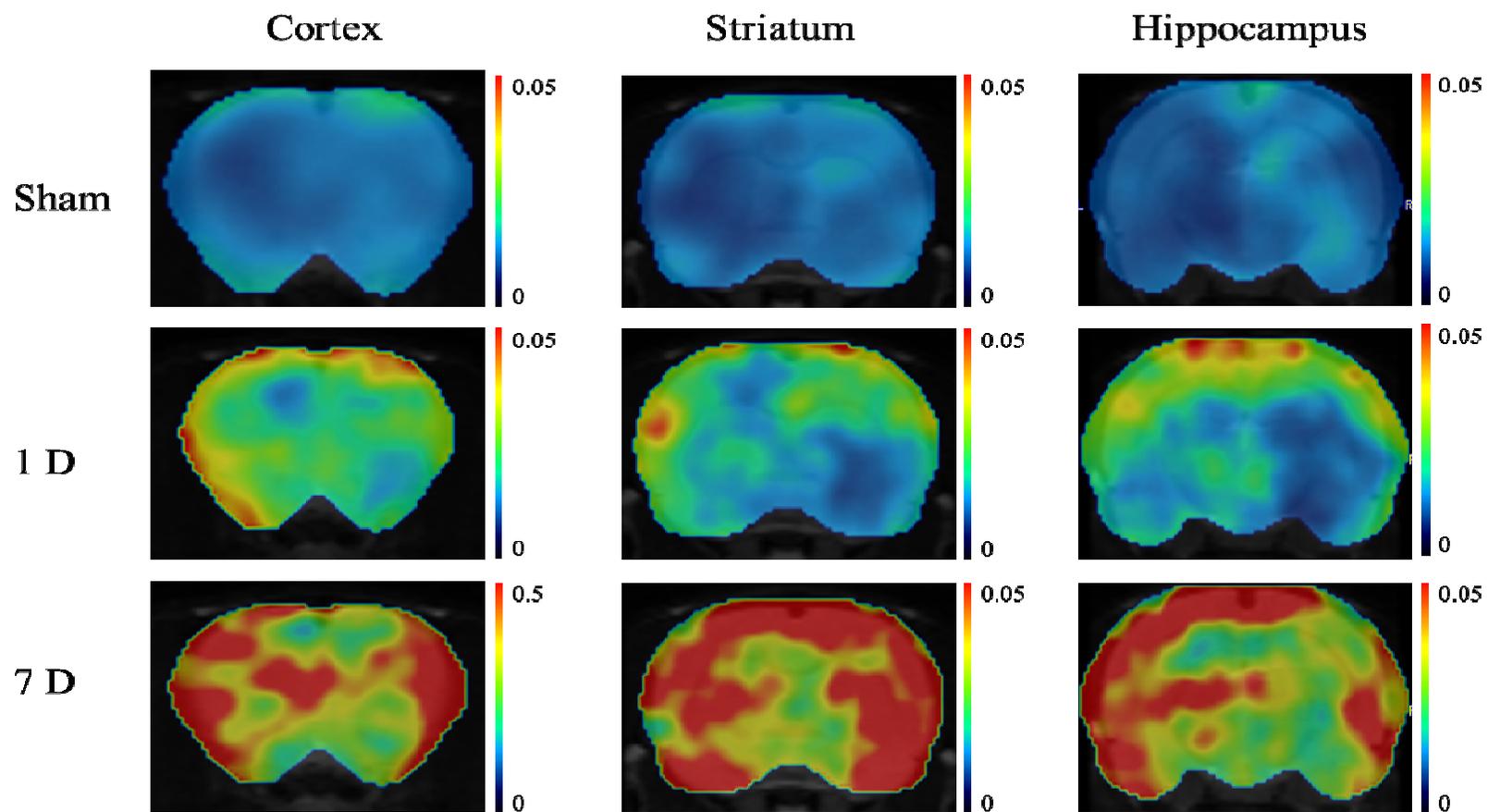
Baticulon, Ya-Ching Hung, Maria Punchak, Amit Agrawal, Amos O Adeleye, Mark G Shrime, Andrés M Rubiano, Jeffrey V Rosenfeld, Kee B Park. *Estimating the global incidence of traumatic brain injury*. J Neurosurg, 2018: p. 1-18.

- [07]. Kaibin Shi, Jianning Zhang, Jing-Fei Dong, Fu-Dong Shi. *Dissemination of brain inflammation in traumatic brain injury*. Cell Mol Immunol, 2019. **16**(6): p. 523-530.
- [08]. Samira Parhizkar, David M Holtzman. *APOE mediated neuroinflammation and neurodegeneration in Alzheimer's disease*. Semin Immunol. 2022 Jan;59:101594.
- [09]. Shenbin Xu, Jianan Lu, Anwen Shao, John H Zhang, Jianmin Zhang. *Glial Cells: Role of the Immune Response in Ischemic Stroke*. Front Immunol, 2020. **11**: p. 294.
- [10]. Maris A Cinelli, Ha T Do, Galen P Miley, Richard B Silverman. *Inducible nitric oxide synthase: Regulation, structure, and inhibition*. Med Res Rev, 2020. **40**(1): p. 158-189.

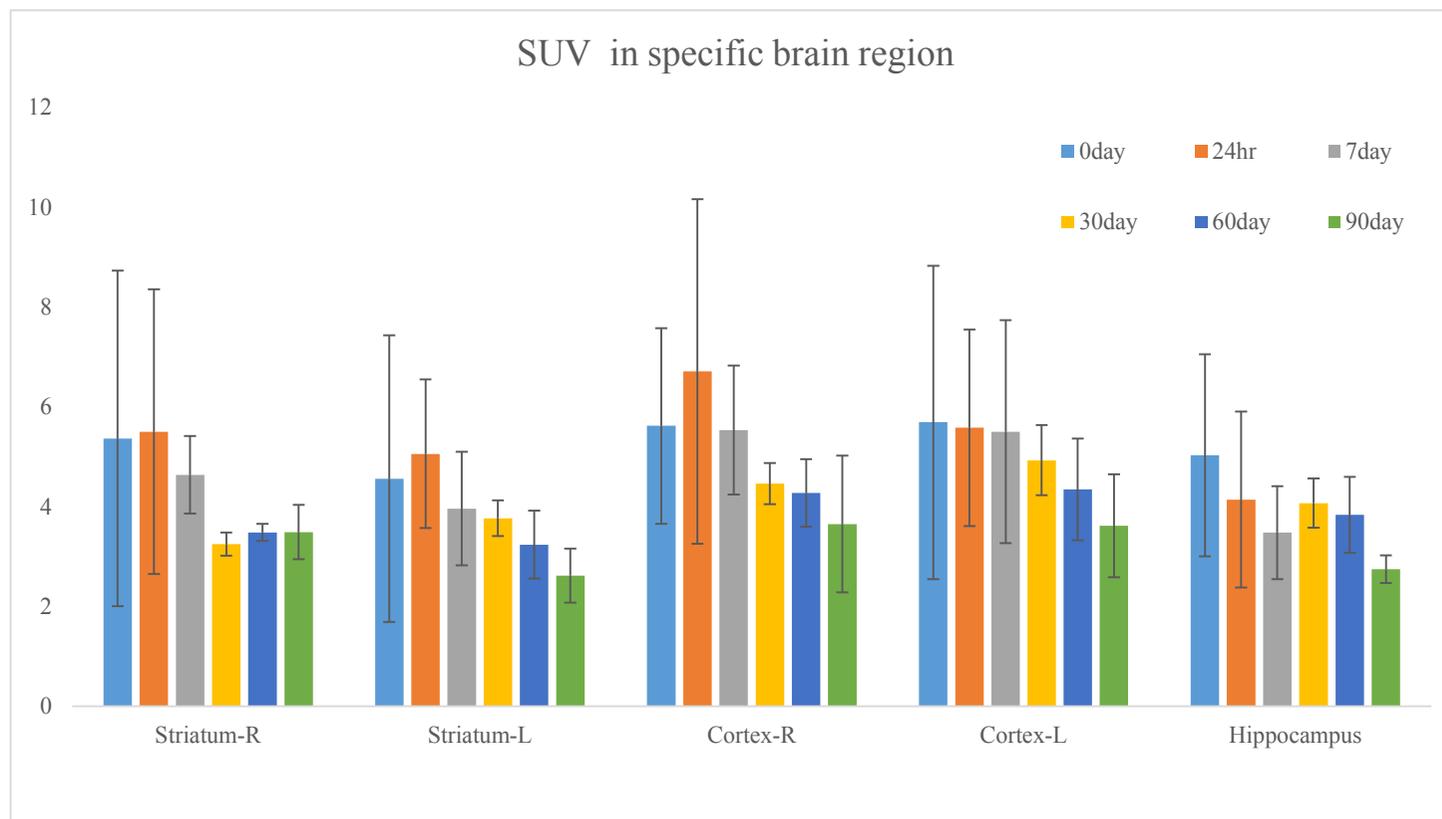
圖一、實驗動物 TBI 流程圖



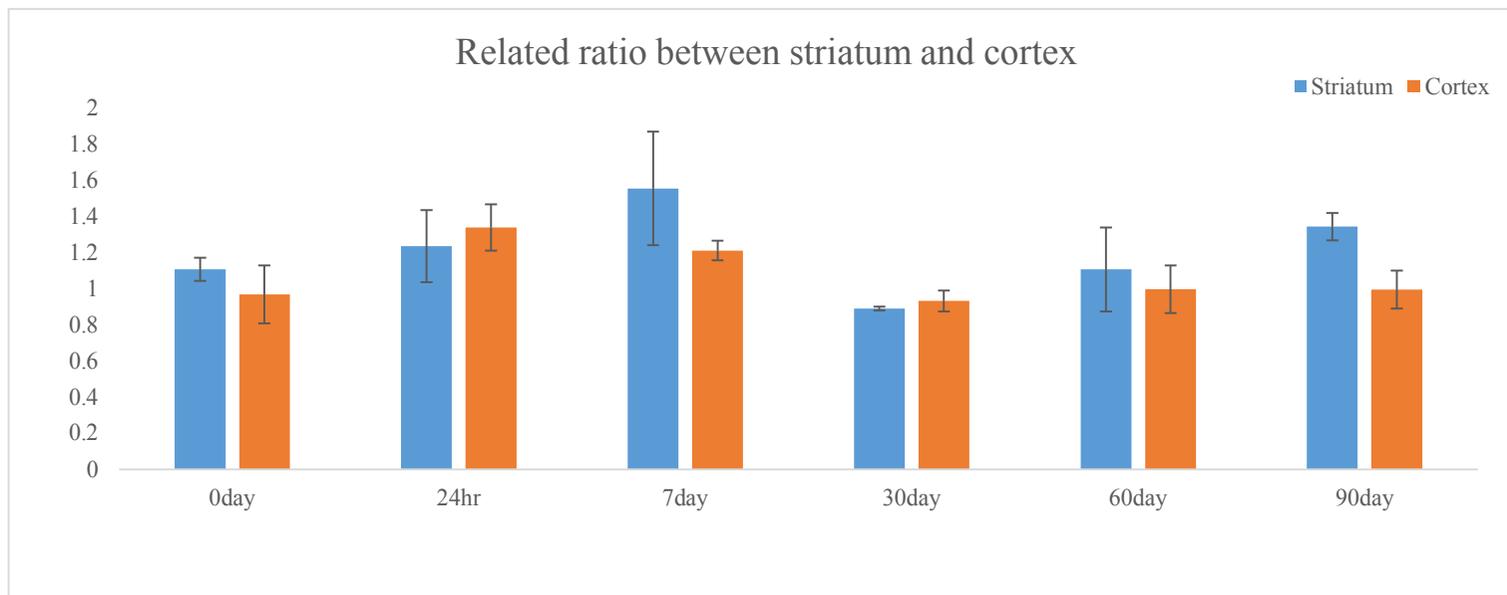
圖二、sham control、24hr、7D 之 F-18-FEPPA/PET 影像結果



圖三、sham control、24hr、7D、30D、60D、90D 之 F-18-FEPPA/PET 影像結果

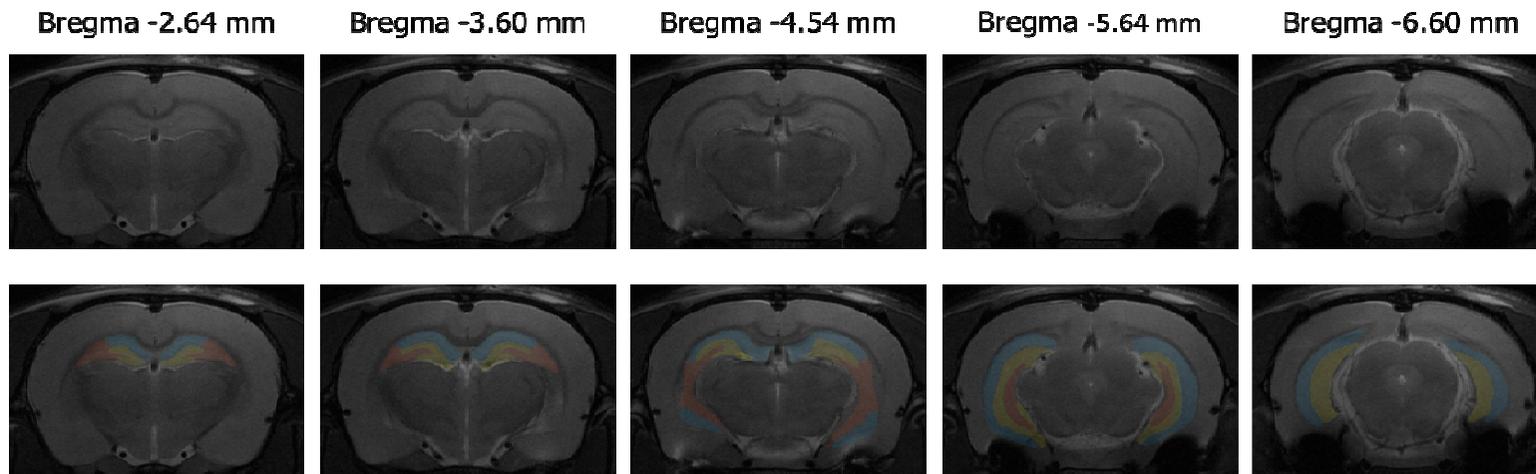


圖四、分析於紋狀體與皮層左右側 F-18-FEPPA SUV 比值



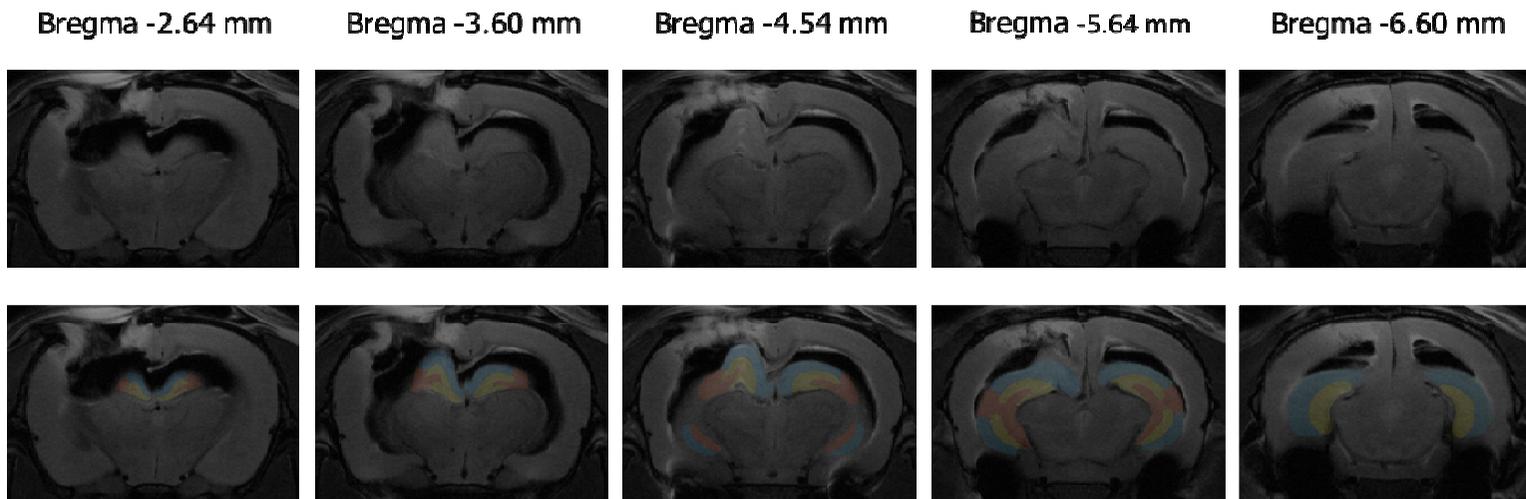
圖五、sham 組於 T2 MRI 影像分析結果

Sham control MRI image



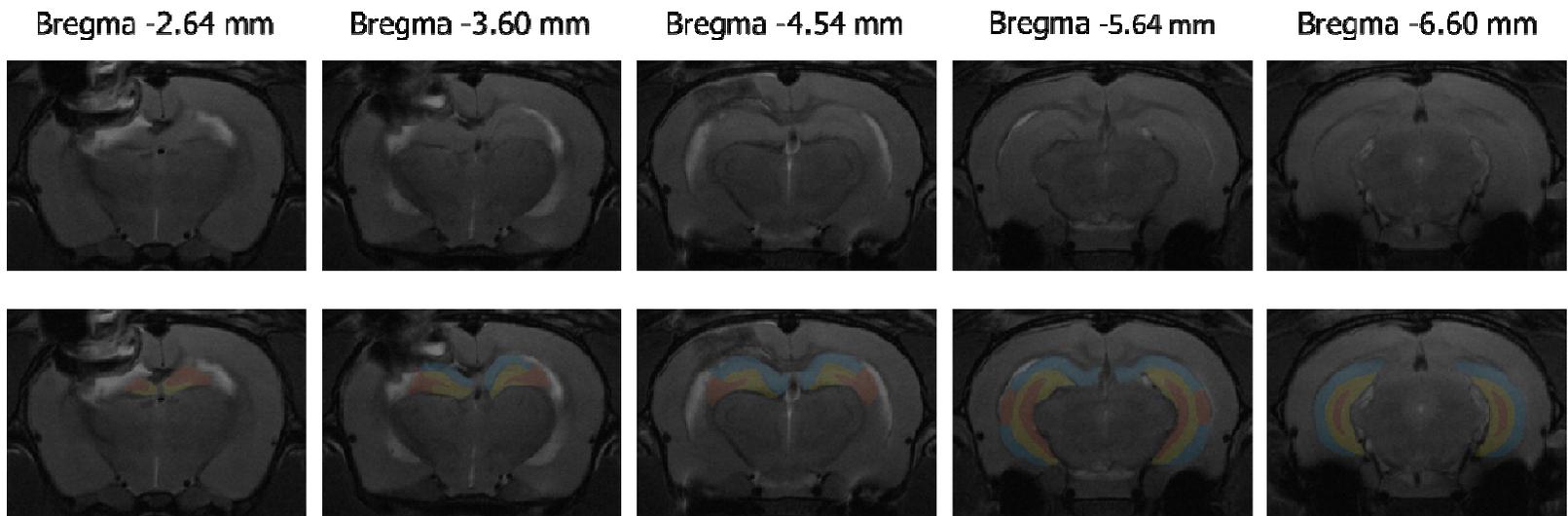
圖六、24hr TBI 組於 T2 MRI 影像分析結果

24hr TBI MRI image



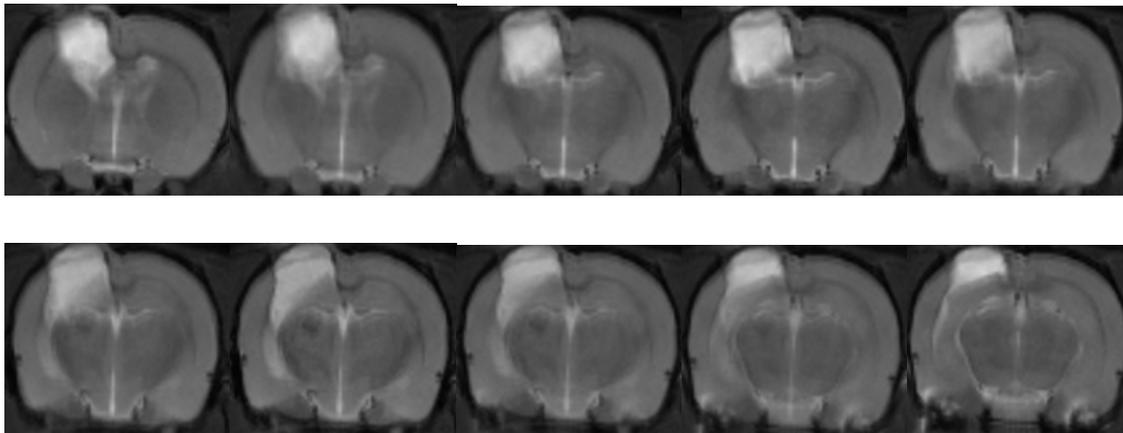
圖七、7D TBI 組於 T2 MRI 影像分析結果

7D TBI MRI image



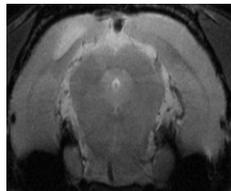
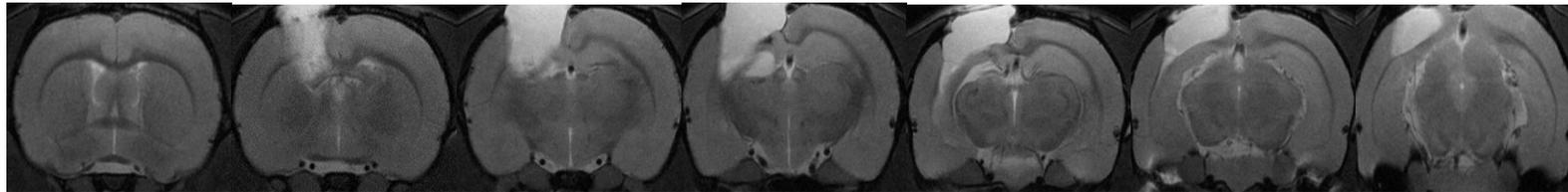
圖八、30D TBI 組於 T2 MRI 影像分析結果

30D TBI MRI image



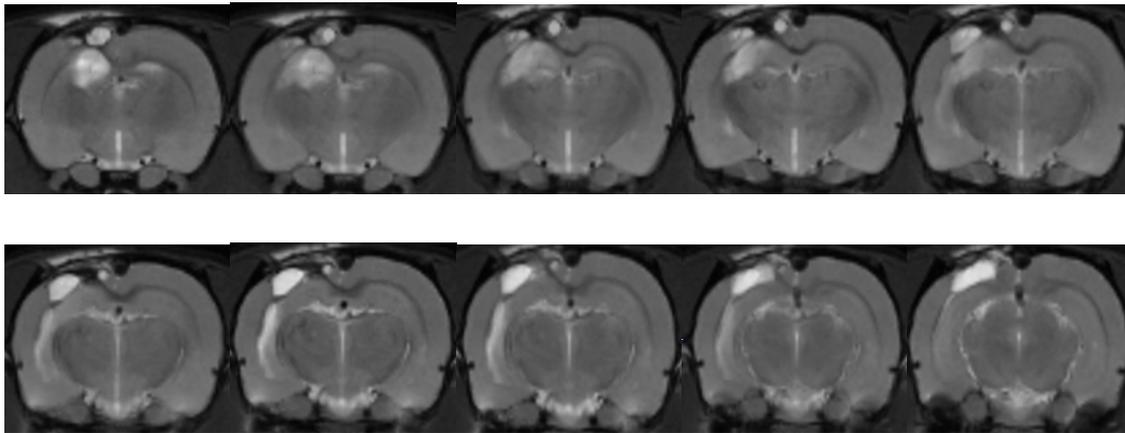
圖九、60D TBI 組於 T2 MRI 影像分析結果

60 D TBI MRI image



圖十、90D TBI 組於 T2 MRI 影像分析結果

90 D TBI MRI image



表一、腦部各區域之 F-18-FEPPA SUV 值

<i>SUV average</i>	<i>0day</i>	<i>24hr</i>	<i>7day</i>	<i>30day</i>	<i>60day</i>	<i>90day</i>
<i>Striatum-R</i>	5.368±3.360	5.501±2.852	4.641±0.776	3.250±0.231	3.487±0.172	3.492±0.544
<i>Striatum-L</i>	4.562±2.869	5.059±1.486	3.964±1.138	3.770±0.357	3.241±0.681	2.618±0.540
<i>Cortex-R</i>	5.616±1.957	6.709±3.449	5.535±1.289	4.465±0.411	4.277±0.680	3.654±1.372
<i>Cortex-L</i>	5.687±3.135	5.579±1.965	5.504±2.230	4.931±0.700	4.349±1.020	3.620±1.030
<i>Hippocampus</i>	5.029±2.023	4.141±1.762	3.481±0.932	4.072±0.492	3.837±0.762	2.751±0.278
<i>Thalamus</i>	5.381±2.357	4.471±1.505	2.991±0.831	3.754±0.393	3.547±0.176	3.168±0.461
<i>Hypothalamus</i>	5.270±2.869	3.771±1.311	4.224±0.655	3.797±0.463	3.221±0.444	3.337±0.703
<i>Pons</i>	6.091±4.284	3.896±1.920	3.530±1.541	4.702±1.065	3.635±0.589	3.631±0.986
<i>Cerebellum</i>	6.734±4.112	5.318±4.351	3.626±1.516	4.493±0.475	5.247±1.239	4.401±1.092

表二、分析於紋狀體與皮層左右側 F-18-FEPPA SUV 比值

<i>SUV R to L</i>	<i>0day</i>	<i>24hr</i>	<i>7day</i>	<i>30day</i>	<i>60day</i>	<i>90day</i>
<i>Striatum</i>	1.107±0.064	1.236±0.200	1.556±0.314	0.890±0.012	1.107±0.233	1.344±0.076
<i>Cortex</i>	0.968±0.161	1.340±0.128	1.212±0.054	0.932±0.058	0.997±0.133	0.996±0.105

