

実験脳腫瘍の増殖能及び局所循環・代謝に およぼす放射線照射の影響

新潟大学脳研究所脳神経外科学部門（主任：田中隆一教授）

伏 島 徹

Changes of DNA Synthesis, Blood Flow and Metabolism
in Experimental Brain Tumors after Irradiation

Toru FUSEJIMA

*Department of Neurosurgery,
Brain Research Institute, Niigata University
(Director: Prof. Ryuichi TANAKA)*

The growth rate, local cerebral blood flow (LCBF), local cerebral glucose utilization (LCGU), local cerebral protein synthesis (LCPS) or DNA synthesis of brain tumors were studied in experimental rat brain tumors before and after irradiation, using quantitative autoradiography and immunohistochemical techniques. Two strains of rat brain tumor induced by Rous sarcoma virus were used. Strain A was biologically more malignant and less sensitive to radiation than strain B.

The LCGU, LCPS and DNA synthesis reduced after irradiation but the LCBF changed little in both A and B tumors. The value of LCGU in the tumor decreased slowly after irradiation. The reduction rate was greater in strain B tumor than in strain A tumor. The value of LCPS decreased rapidly after irradiation in both tumors. The reduction rate was greater in strain B tumor than in strain A tumor. The labeling index of S-phase cells (LI) decreased rapidly, as much as that of LCPS, after irradiation in both tumors and the reduction rate of LI was also greater in strain B tumor than in strain A tumor.

These findings indicate that the reduction of LCPS, DNA synthesis and LCGU may represent the radiosensitivity of these tumors. The reduction of LCPS and LI occurred earlier than those of LCGU and tumor size. The radiosensitivity of tumors could be

Reprint requests to: Toru FUSEJIMA,
Department Neurosurgery, Brain
Research Institute, Niigata University,
Asahimachi-dori 1, Niigata City, 951,
JAPAN.

別刷請求先：〒951 新潟市旭町通1番町
新潟大学脳研究所脳神経外科学部門

伏 島 徹

predicted by measuring the changes in LI and LCPS before recognition of the reduction in tumor size.

Key words: cell proliferation, CBF and metabolism, irradiation, rat brain tumor
細胞増殖能, 循環代謝, 放射線照射, 実験脳腫瘍

緒 言

悪性脳腫瘍の予後決定因子の一つに、治療感受性がある。すなわち同じ悪性神経膠腫であっても、その予後は放射線治療や化学療法に対する感受性の程度に影響される。この感受性を、腫瘍の縮小が観察される前に、できるだけ早期に *in vivo* で観察し予測できれば不必要な治療を行わず、最良の治療法を選択することができる。従来の実験動物や *in vitro* による治療感受性試験では、生体の免疫反応などの影響を考慮に入れることはできず、また *in vitro* という特殊環境の中での試験の為、腫瘍全体としての治療感受性を正確に予測することはできなかった。今回我々は、同じ Rous Sarcoma Virus (RSV) で誘発して株化した脳腫瘍細胞の中に、放射線感受性の異なる2種類の細胞を見出し、これを使用して実験脳腫瘍を作成し、放射線照射を行ない、腫瘍の大きさや腫瘍における循環・代謝、腫瘍増殖能の各パラメーターを経時的に観察し、どのパラメーターが腫瘍の感受性を良く、またより早く反映するかを検討した。

研究材料および方法

1. 移植脳腫瘍モデルの作製

Watanabe らが RSV で Fishser 344/DuCrj ラットに誘発・株化した²⁰⁾ 2種類の脳腫瘍細胞A株とB株を使った。これらの細胞を $4 \sim 5 \times 10^5$ 個を同系の雄の Fisher ラットの右脳半球内に注入接種し、脳腫瘍モデルを作製した。予備実験にて、腫瘍移植後の生存期間は、A株が 12.7 ± 1.5 日 ($n=10$)、B株が 14.5 ± 1.4 日 ($n=10$) であった。移植後5日目に 15 Gy を全脳照射した。照射後の生存期間はA株が 20.3 ± 3.5 日 ($n=10$)、B株が 30.5 ± 11.4 日 ($n=10$) であった (図 1)。つまりA株はB株より生物学的に悪性で、放射線感受性が低いと思われた。

2. 定量的オートラジオフィー

これらの結果に基づき以下の実験を行なった。放射線照射直前、照射後1, 2, 3, 5, 10, 15日目にA株B株とも各々3匹ずつオートラジオグラフィ (ARG) による局所循環 (LCBF), 糖代謝 (LCGU), 蛋白代謝

(LCPS) を測定した。血流量の測定は Sakurada ら¹⁷⁾ の方法で、糖代謝は Sokoloff ら¹⁸⁾ の方法、蛋白代謝は Dwyer ら³⁾ や Kirikae ら⁹⁾ の方法に準じて行なった。

Halothane 吸入麻酔下にラットの大腿動・静脈に PE 50 ポリエチレンチューブを挿入し、四肢及び下半身を固定し、ラットが完全に覚醒した後に静脈路からアイソトープを注入した。LCBF 測定に際しては、 $100 \mu\text{Ci/kg}$ の ^{14}C -iodo-antipyrine (IAP) (Amersham 社) を60秒かけて静注し、経時的に動脈採血した。静注終了時に断頭し、脳を取り出し凍結した。LCGU 測定には $100 \mu\text{Ci/kg}$ の ^{14}C -2-deoxy-D-glucose (2DG) (Amersham 社) を、LCPS 測定では $100 \mu\text{Ci/kg}$ の L-[1- ^{14}C] valine (LV) (Amersham 社) を各々のラットに静注し、45分後に断頭、脳を取り出し凍結した。この間、同様に経時的に動脈採血した。

凍結脳のクリオスタットを用い、ARG 用に $20 \mu\text{m}$ の厚さで、また次ぎに述べる免疫組織化学用に $6 \mu\text{m}$ の厚さで冠状断連続切片を作製した。ARG 用切片は標

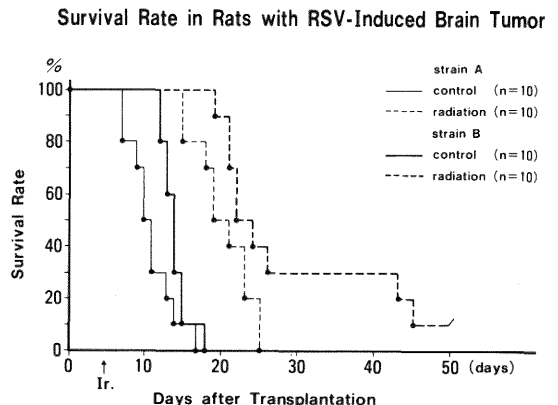


Fig. 1 Survival rates in rats with RSV induced brain tumors. Strain A was more biologically malignant ($P < 0.01$) and more resistant to radiation than strain B.

Ir.: irradiation

準線量板 (Amersham 社) とともに, X線フィルム (Fuji Type 150) に密着させ, -20°C 下で約2週間感光させた後, 現像した. 血中 RI 濃度をシンチレーションカウンターで測定し, 画像の定量化には, ユニークメディカル社の自動画像解析装置を使用した.

3. DNA 合成細胞の観察

DNA 合成細胞の観察を ARG に使用したラットと同一個体で行なった. 2DG や LV の静注と同時に, 10 mg/kg の bromodeoxyuridine (BrdU) を注入した. $6\text{ }\mu\text{m}$ の厚さに切った凍結切片に avidine-biotin-peroxidase complex (ABC) 法で BrdU 染色を行なった⁴⁾⁵⁾. すなわち, 切片を 4°C , 70%エタノールで30分間固定し, ついで, DNA 鎖を開くため, 2N HCl で60分間処理し,

ついで, $0.1\text{ M Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ (pH 8.5) で中和, 更に, 内因性ペルオキシダーゼ活性を阻止するため, 0.3% H_2O_2 加メタノールで60分間処理した. 一次抗体は, PBS で20倍に希釈した抗 BrdU 抗体 (Becton Dickinson 社) を用い, 60分間反応させ, 二次抗体は, 200倍希釈 biotiny 化抗マウスウマ血清 (Vector 社) を用い30分間, ついで調整済みの ABC (Vector 社) を30分間反応させ, 最後に 0.02% diaminobenzidine tetrahydrochloride を用い発色させた. BrdU 陽性細胞 (S期細胞) のできるだけ密な部位を数カ所見つけ, labeling index (LI) を求めた.

腫瘍の大きさは, 最大横径 \times 最大縦径で計算した. 特にA株で腫瘍内壊死が認められたが, この部位はこれら一連の検討から除外した.

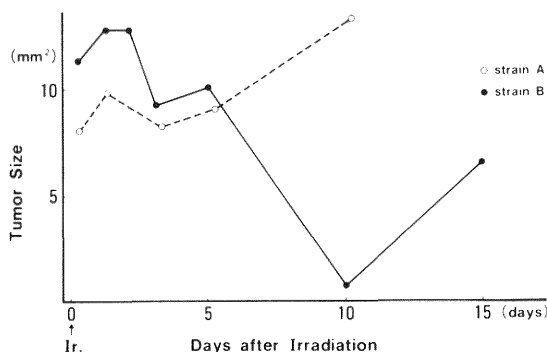


Fig. 2 Change in tumor size before and after irradiation. Tumor size is represented by the maximum horizontal length \times the maximum vertical length.

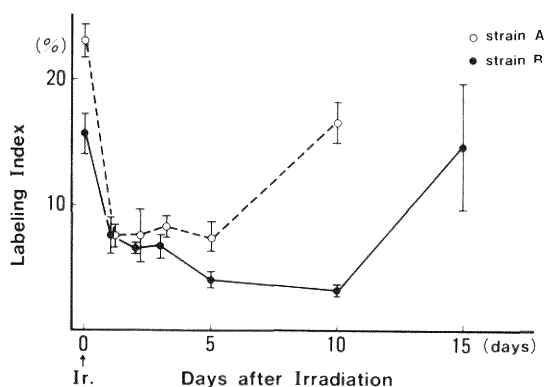


Fig. 3 Change in labeling index before and after irradiation.

Table 1 Changes in labeling index and tumor size after irradiation in rat brain tumors

Time(Day)	before	1st	2nd	3rd	5th	10th	15th
Strain A							
no. of rats	3	3	3	3	3	3	—
LI	23.2 ± 2.3	7.6 ± 1.6	7.6 ± 3.6	8.3 ± 1.4	7.4 ± 2.3	16.7 ± 3.0	—
size	7.0	9.3	12.2	7.6	8.0	12.4	—
Strain B							
no. of rats	—	—	—	—	—	—	—
LI	15.7 ± 2.8	7.6 ± 2.5	6.5 ± 0.7	6.7 ± 1.6	4.0 ± 1.1	3.1 ± 0.6	14.7 ± 8.8
size	11.7	13.3	13.4	9.3	10.1	0.75	6.7

Values are the average of individual mean values \pm S.D..

Tumor size is expressed by the maximum vertical length \times the maximum horizontal length.

結 果

1. 腫瘍の大きさ

A株では放射線照射後も徐々に腫瘍は増大し続けた。B株では照射後徐々に縮小し、10日目に最小となり、その後は増大した（図 2）。この結果より、A株はB株より放射線感受性が低いと思われた。

2. Labeling Index (LI)

S期細胞はA、B株ともに腫瘍全体に分布していたが、その分布は不均一で疎密があった。A株のLIは照射前には $23.2 \pm 2.3\%$ あり、照射後1日目に急激に減少し $7.6 \pm 1.6\%$ となり、その後は5日目まで同様の値を取り、10日目には再上昇した。B株のLIは照射前には $15.7 \pm 2.8\%$ あり、照射後1日目に急激に減少して $7.6 \pm 2.5\%$ となり、その後も緩徐に減少し10日目に $3.1 \pm 0.6\%$ となり15日目には急増した（表 1, 図 3）。

3. 局所循環 (LCBF)

A、B両株ともにLCBFは不均一に分布していた。LCBFはA株では照射前に 93 ± 9 ml/100 gm/min、B株で 83 ± 4 ml/100 gm/min あった。その値は、両株ともに照射前後ではば一定の値を示し、変化はなかった（表 2, 図 4）。

4. 局所糖代謝 (LCGU)

LCGUの不均一な分布がA、B両株に認められた。A株のLCGUは、照射前には $127 \pm 10 \sim 220 \pm 9$ μ mol/

100 gm/min あり、その最大値は照射後緩徐に減少、5日目に最小となり、その後再上昇した。B株では照射前には $112 \pm 12 \sim 197 \pm 31$ μ mol/100 gm/min あり、その最大値は照射後徐々に減少し、10日目に最小となり、その後は上昇した。A株でのLCGUの減少率はB株でのそれよりも少なかった（表 3, 図 5）。

組織学的検討では、両株で照射前後とも、糖代謝亢進部位とS期細胞の高密度分布部位とはある程度一致していた。

5. 局所蛋白代謝 (LCPS)

腫瘍のLCPSは、A、B両株とも健側大脳皮質よりもはるかに高値を示した。LCPSの最大値は照射前には

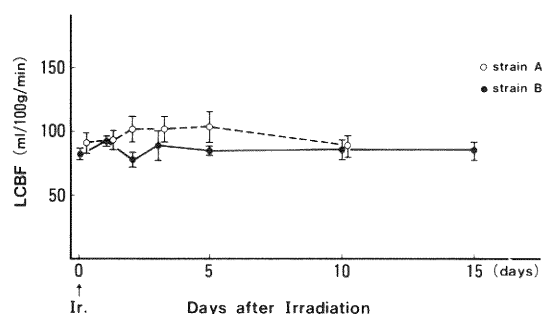


Fig. 4 Change in local cerebral blood flow before and after irradiation.

Table 2 Change in local cerebral blood flow after irradiation in rat brain tumors

Time (Day)	Blood flow (ml/100g/min)						
	before	1st	2nd	3rd	5th	10th	15th
Strain A							
no. of rats	3	3	3	3	3	3	—
tumor maximum	93±9	94±8	102±10	103±10	104±12	86±6	—
minimum	49±10	53±6	30±4	60±4	42±13	N.E.	—
gray matter*	140±3	137±11	142±12	144±5	132±6	134±7	—
white matter*	43±2	54±6	48±3	51±4	48±3	51±2	—
Strain B							
no. of rats	3	3	3	3	3	3	3
tumor maximum	83±4	93±4	77±5	90±11	85±2	85±7	86±6
minimum	54±5	44±6	32±5	44±15	N.E.	N.E.	N.E.
gray matter*	142±12	137±4	130±12	143±2	145±5	132±4	141±8
white matter*	51±6	49±2	53±2	53±2	54±3	48±4	47±6

Values are the average of individual mean values±S.E..

*: contralateral gray matter and white matter.

N.E.: not examined

A株で 24.4 ± 2.9 nmol/gm/min, B株で 12.5 ± 1.6 nmol/gm/min あり, 両株においてそれは照射後1日目に急激に減少した. 腫瘍の LCPS は照射後も健側皮質より高値を示した. LCPS の減少率はA株の方がB株より少なかった (表 4, 図 6).

6. LCBF, LCGU, LCPS, LI 各々の関係

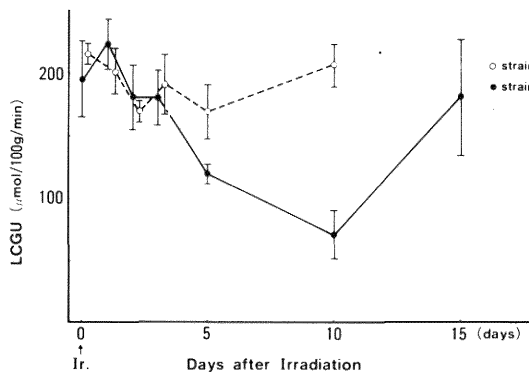


Fig. 5 Change in local cerebral glucose utilization before and after irradiation.

LI, LCGU, LCPS の放射線照射による変化を図 7 に示してある. LCGU の変化は腫瘍の大きさの変化とよく相関していた. LI の変化は LCPS のそれとよく相関していた. LI, LCPS, LCGU の照射前後の変化率は, 放射線感受性を示す腫瘍の大きさの変化率とよく

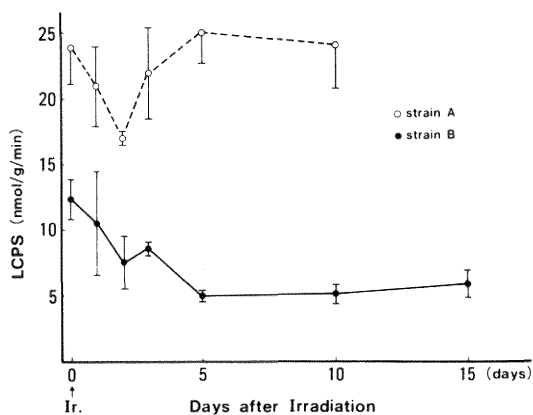


Fig. 6 Change in local cerebral protein synthesis before and after irradiation.

Table 3 Change in local cerebral glucose utilization after irradiation in rat brain tumors

Time (Day)	Glucose utilization ($\mu\text{mol}/100\text{g}/\text{min}$)						
	before	1st	2nd	3rd	5th	10th	15th
Strain A							
no. of rats	3	3	3	3	3	3	—
tumor							
maximum	220 ± 9	203 ± 32	171 ± 8	192 ± 24	171 ± 22	207 ± 18	—
minimum	127 ± 10	155 ± 16	94 ± 8	126 ± 15	121 ± 9	111 ± 15	—
gray matter*	102 ± 9	100 ± 17	106 ± 14	110 ± 9	103 ± 6	99 ± 5	—
white matter*	32 ± 3	31 ± 8	41 ± 7	47 ± 4	30 ± 5	33 ± 5	—
Strain B							
no. of rats	3	3	3	3	3	3	3
tumor							
maximum	197 ± 31	226 ± 24	182 ± 28	182 ± 22	121 ± 9	$72 \pm 21^*$	183 ± 48
minimum	112 ± 12	134 ± 21	113 ± 21	122 ± 4	87 ± 2		95 ± 26
gray matter*	109 ± 8	114 ± 2	117 ± 5	116 ± 4	111 ± 7	109 ± 6	109 ± 5
white matter*	34 ± 8	41 ± 2	44 ± 2	44 ± 3	40 ± 1	32 ± 4	35 ± 2

Values are the average of individual mean values \pm S.E..

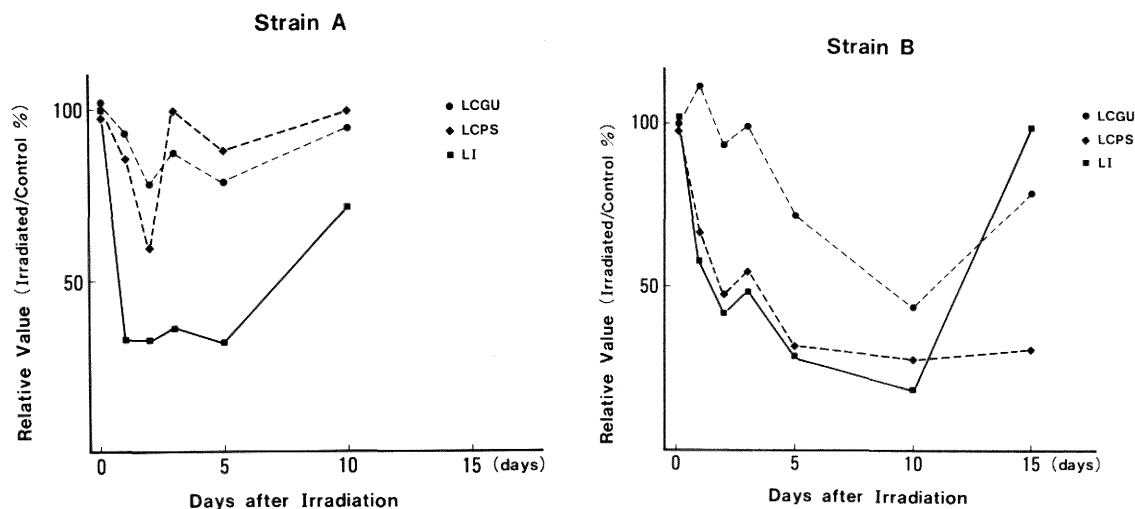
※: The tumors were too small to measure the maximum value and the minimum value severally.

*: contralateral gray matter and white matter.

Table 4 Change in local cerebral protein synthesis after irradiation in rat brain tumors

Time (Day)	Protein synthesis (nmol/g/min)						
	before	1st	2nd	3rd	5th	10th	15th
Strain A							
no. of rats	3	3	3	3	3	3	—
tumor (maximum)	24.4±2.9	21.1±3.0	17.1±0.4	22.6±3.5	25.2±2.2	24.2±3.3	—
cortex	2.6±0.4	2.9±0.5	2.3±0.2	2.6±0.3	2.6±0.4	2.9±0.5	—
(contralateral)							
Strain B							
no. of rats	3	3	3	3	3	3	3
tumor (maximum)	12.5±1.6	10.7±4.3	7.6±2.1	8.8±0.4	5.1±0.3	5.2±0.6	5.9±1.0
cortex	2.7±0.4	3.0±0.4	2.9±0.6	2.7±0.4	3.0±0.1	2.8±0.3	3.0±0.2
(contralateral)							

Values are the average of individual mean values±S.E..

**Fig. 7** Reduction of labeling index, blood flow and metabolism after irradiation.

a; strain A tumor b; strain B tumor

相関していた。LI と LCPS の変化は LCGU や腫瘍の大きさの変化よりも早期に認められた。

LCBF は他のどのパラメーターとも相関しなかった。

考 察

近年脳腫瘍の循環代謝に関する基礎的¹⁾⁶⁾⁹⁾²⁰⁾、あるいは臨床的報告²⁾⁷⁾¹⁰⁾¹²⁾¹³⁾¹⁵⁾¹⁹⁾が多くなされている。これらの検討は脳腫瘍の病態を把握し、治療を考える上で大切であり、更に、治療による脳腫瘍の循環代謝の変化の観察も、治療感受性を検討する際に重要な点となる。

しかしながら、これまでに治療による循環代謝の変化に言及した報告は少なく¹⁴⁾¹⁶⁾、実験脳腫瘍における検討でも経時的変化について述べたものはなかった。本研究では生物学的悪性度も放射線に対する感受性も異なる2種類の移植脳腫瘍モデルを使い、腫瘍の放射線照射を行ない、腫瘍の局所循環、糖代謝、蛋白代謝の変化を観察し、更に臨床ではCTを使い評価される腫瘍の大きさの変化を検討した。また、悪性度とよく関連するといわれるS期細胞の割合(LI)も測定し⁴⁾⁵⁾、これらすべての相互関係も検討した。

Positron emission tomography (PET) を利用した臨床的研究では、悪性神経腫瘍の LCBF は同じ組織型・悪性度であっても様々であり、両者間には相互関係はないとされている¹⁰⁾¹³⁾¹⁹⁾。これはラットを使った実験脳腫瘍にても証明されている²⁰⁾。今回の検討では放射線照射後も脳腫瘍の LCBF はほとんど変化せず、また、LCGU, LCPS, LI といった他のパラメーターとも相関関係は認められなかった。この結果は、放射線治療に対する感受性は LCBF から予測できないということを示唆する。

脳腫瘍の糖代謝は、幾つかの異論もあるが¹¹⁾¹³⁾¹⁹⁾、その悪性度を示すものとして注目されている²⁾²⁰⁾。今回の実験に用いた2種類の脳腫瘍株のうち、より生物学的悪性度が高いA株において、より糖代謝率が亢進していた。LCGU は、放射線照射後2種類の脳腫瘍において緩徐に減少したが、その減少率は、放射線感受性の低いA株で21.2%、感受性の高いB株で63.5%であった。この結果から、放射線感受性が、LCGU の減少率から推察できるのではないかと考えられた。

脳腫瘍の蛋白代謝についての論文も近年散見される。Kirikae らは、実験脳腫瘍において valin が健側脳皮質よりはるかに高濃度に取り込まれることを報告している⁹⁾。Hubner らは PET を用いて、¹⁴C でラベルしたアミノ酸が脳腫瘍に高濃度に取り込まれることを報告している⁷⁾。更に片倉らは、PET に ¹¹C-methione, ¹⁸F-fluorodeoxyuridine (18FdUrd) といったトレーサーを用い、high grade glioma と low grade glioma での集積度の差を報告し、PET にて LI の測定の可能性を示した⁸⁾。今回の実験では、washing method³⁾⁹⁾ で検討したが、やはり同様の結果が得られた。腫瘍の LCGU と同様に、LCPS は悪性度がより高いA株でB株より高値を示した。LCPS の定量的測定により腫瘍の生物学的悪性度が推測できる可能性が示唆された。悪性度を示す LI と同様に、LCPS は放射線照射後急激に減少し、その減少率はA株で30%、B株で59%あった。このLCPS や LI の減少率から、LCGU の変化率と同様に、放射線感受性が推測できる可能性があり、更に、LCPS や LI の変化は、LCGU や腫瘍の大きさの変化より早期に出現するので、LI や LCPS の変化の観察が放射線感受性をより早期に知る上で有用と思われた。

従来、in vitro で治療感受性を正確にしかも早期に予測することは不可能であったが、近年著しい進歩を見せる PET を利用することにより、脳腫瘍の病態が解明され、更に治療効果の判定に利用される時に、今回の

結果が有用な基礎的データとなると思われた。

稿を終えるにあたり、御指導を賜りました田中隆一教授ならびに武田憲夫助教授に深謝いたします。また、実験に協力いただいた教室の諸先生方ならびに上杉 清、関川和代、木山信子諸氏に感謝致します。

尚、本研究の概要は、第49回日本脳神経外科学会総会（東京、1990）および第2回日本脳循環代謝学会総会（東京、1990）において発表した。

参 考 文 献

- 1) Blasberg, R.G., Groothuis, D. and Molnar, P.: Application of quantitative autoradiographic measurements in experimental brain tumor models. *Semin in Neurol*, 1: 203~221, 1981.
- 2) Di Chiro, G., DeLaPaz, R.L., Brooks, R.A., Sokoloff, L., Kornblith, P.L., Smith, B.H., Patronas, N.J., Kufta, C.V., Kessler, R.M., Johnston, G.S., Manning, R.G. and Wolf, A.P.: Glucose utilization of cerebral gliomas measured by [¹⁸F] fluorodeoxyglucose and positron emission tomography. *Neurol*, 32: 1323~1329, 1982.
- 3) Dwyer, B.E., Donatoni, P. and Wasterlain, C.G.: A quantitative autoradiographic method for the measurement of local rates of brain protein synthesis. *Neurochem Res*, 7: 563~576, 1981.
- 4) Gratzner, H.G.: Monoclonal antibody of 5-Bromo- and 5-Iodo-deoxyuridine: A new reagent for detection of DNA replication. *Science*, 218: 474~475, 1982.
- 5) Hoshino, T., Nagashima, T., Murovic, J.A., Levin, E.M., Levin, V.A. and Rupp, S.M.: In situ cell kinetics studies on human neuroectodermal tumors with bromodeoxyuridine labeling. *J Neurosurg*, 64: 453~459, 1986.
- 6) Hossmann, K.A., Niebuhr, I. and Tamura, M.: Local cerebral blood flow and glucose consumption of rats with experimental gliomas. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2: 25~32, 1982.
- 7) Hubner, K.F., Purvis, J.T., Mahaley, S.M. Jr., Robertson, J.T., Rogers, S., Gibbs, W.D., King, P. and Partain, C.L.: Brain tumor imaging by positron emission computed tomography using

- ^{14}C -labeled amino acids. *J Comput Assist Tomogr*, **6**: 544~550, 1982.
- 8) 片倉隆一, 亀山元信, 吉本高志, 嘉山孝正: グリオーマにおける代謝動態—PET による検討. 第7回日光脳腫瘍カンファランス抄録集: 21, 1989.
- 9) Kirikae, M., Diksic, M. and Yamamoto, Y.L.: Quantitative measurements of regional glucose utilization and rate of valine incorporation into proteins by double tracer autoradiography in the rat brain tumor model. *J Cereb Blood Flow Metab*, **9**: 87~95, 1989.
- 10) Lammertsma, A.A., Wise, R.J.S. and Jones, T.: In vivo measurements of regional cerebral blood flow and blood volume in patients with brain tumours using positron emission tomography. *Acta Neurochir*, **69**: 5~13, 1983.
- 11) Lichtor, T. and Dohrmann, G.J.: Oxidative metabolism and glycolysis in benign brain tumors. *J Neurosurg*, **67**: 336~340, 1987.
- 12) Mineura, K., Yasuda, T., Kowada, M., Shishido, F., Ogawa, T. and Uemura, K.: Positron emission tomographic evaluation of histological malignancy in gliomas using oxygen-15 and fluorine-18-fluorodeoxyglucose. *Neurol Res*, **8**: 164~168, 1986.
- 13) 水川典彦, 日野明彦, 今堀良夫, 天神博志, 吉野英二, 矢野一郎, 平川公義, 山下正人, 沖 史也, 中橋弥光: 脳腫瘍および腫瘍周辺浮腫部の positron emission tomography (PET) による脳循環およびブドウ糖代謝の検討. *脳神経*, **41**: 251~258, 1989.
- 14) Ogawa, T., Uemura, K., Shishido, F., Yamaguchi, T., Murakami, M., Inugami, A., Kanno, I., Sasaki, H., Kato, T., Hirata, K., Kowada, M., Mineura, K. and Yasuda, T.: Changes of cerebral blood flow, and oxygen and glucose metabolism following radiochemotherapy of gliomas: A PET study. *J Comput Assist Tomogr*, **12**: 290~297, 1988.
- 15) Patronas, N.J., Di Chiro, G., Kufta, C., Bairamian, D., Kornblith, P.L., Simon, R. and Larson, S.M.: Prediction of survival in glioma patients by means of positron emission tomography. *J Neurosurg*, **62**: 816~822, 1985.
- 16) Rozental, J.M., Levine, R.L., Nickles, R.J. and Dobkin, J.A.: Glucose uptake by gliomas after treatment. A positron emission tomographic study. *Arch Neurol*, **46**: 1302~7, 1989.
- 17) Sakurada, O., Kennedy, C., Jehle, J., Brown, L.D., Carbin, G.L. and Sokoloff, L.: Measurement of local cerebral blood flow with iodo [^{14}C] antipyrine. *Am J Physiol*, **234**: 59~66, 1978.
- 18) Sokoloff, L., Reivich, M., Kennedy, C., Des Rosiers, H., Patlak, C.S., Pettigrew, K.D., Sakurada, O. and Shinohara, M.: The [^{14}C] deoxyglucose method for the measurement of local cerebral glucose utilization: Theory, procedure, and normal values in the conscious and anesthetized albino rat. *J Neurochem*, **28**: 897~916, 1977.
- 19) Tyler, J.L., Villemure, D.J.G., Evance, A.C., Meyer, E., Yamamoto, Y.L. and Feindel, W.: Metabolic and hemodynamic evaluation of gliomas using positron emission tomography. *J Nucl Med*, **28**: 1123~1133, 1987.
- 20) Watanabe, A., Tanaka, R., Takeda, N. and Washiyama, K.: DNA synthesis, blood flow, and glucose utilization in experimental rat brain tumors. *J Neurosurg*, **70**: 86~91, 1989.

(平成3年12月25日受付)