

令和 4 年 6 月 13 日現在

機関番号：13401

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2018～2021

課題番号：18H02764

研究課題名（和文）発達障害の病態解明・治療法開発に資するPET分子イメージングプローブの開発

研究課題名（英文）Development of PET molecular imaging probes for elucidation of pathophysiology and development of treatment for developmental disorders

研究代表者

清野 泰（Kiyono, Yasushi）

福井大学・高エネルギー医学研究センター・教授

研究者番号：50305603

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,400,000円

研究成果の概要（和文）：発達障害の中でも注意欠陥・多動性障害（ADHD）と自閉症スペクトラム障害（ASD）が特に注目されており、その病態解明や新規治療法の開発が社会的に求められている。この社会的要請に応えるためには、PET分子イメージング法が有効であると考え、ADHDに関してはノルエピネフリン・トランスポーター（NET）が、ASDに対してはオキシトシン受容体（OXTR）が重要であると考え、それぞれに対するPET分子イメージングプローブの開発を行った。その結果、NETに対して強い結合能力を持つ化合物の合成に成功し、OXTRに関しては数種類のプローブ候補化合物を合成し、その結合能を評価するためのOXTR発現細胞を開発した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

発達障害の子どもは、学校・社会生活において困難を抱えており、親や支援者を含め社会全体で解決する必要がある。しかし、発達障害の原因は未だ明らかとなっておらず、有効な治療法がないのが現状である。そのような状況下、病因解明と治療法の開発の手がかりとなる特定の脳内タンパク質をPETを用いてイメージングすることができる方法の開発は、非常に社会的な意義が大きいと考える。

研究成果の概要（英文）：Among developmental disorders, attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD) and autism spectrum disorder (ASD) have attracted particular attention, and there is a social need to elucidate their pathophysiology and develop new treatment methods. In order to respond to this social demand, PET molecular imaging methods are effective, and we have developed PET molecular imaging probes for norepinephrine transporter (NET) for ADHD and oxytocin receptor (OXTR) for ASD, considering the importance of each. We developed PET molecular imaging probes for each of them. As a result, we succeeded in synthesizing compounds with strong binding ability to NET, and for OXTR, we synthesized several candidate probes and developed OXTR-expressing cells to evaluate their binding ability.

研究分野：分子イメージング

キーワード：PET 放射性薬剤 発達障害 ノルエピネフリン・トランスポーター オキシトシン受容体

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 発達障害の子どもは、行動の抑制が出来ない、対人関係が苦手であるなど学校・社会生活において困難を抱えており、親や支援者を含め社会全体で解決する必要がある。しかし、発達障害の原因は未だ明らかとなっておらず、治癒を目指した有効な治療法がないのが現状である。発達障害の中でも注意欠陥・多動性障害 (ADHD) と自閉症スペクトラム障害 (ASD) が特に注目されており、その病態解明や新規治療法の開発が社会的に求められている。この社会的要請に応えるためには、患者脳内の特定の受容体やトランスポータの発現量を非侵襲的かつ定量的に解析可能な PET 分子イメージング法が有効であると研究代表者は考えた。

(2) ADHD に関しては、シナプス間隙中のノルエピネフリン (NE) 濃度を高めることにより症状が改善することから、間隙中の NE 濃度を調節する NET が病因あるいは治療標的部位として注目されているが[1]、患者脳内での NET の評価は困難で有り、NET に対する最適な分子イメージングプローブが存在せず、その開発が重要な課題となっている。

(3) ASD に関しては、オキシトシンの経鼻投与により社会性が向上したとの報告などがあり[2,3]、治療標的部位として OXTR に関心が高まっているが、この OXTR を画像化する分子イメージングプローブは存在しない。

2. 研究の目的

本研究は、発達障害の中でも ADHD と ASD に着目し、その病態解明や新規治療法の開発に最適な PET 分子イメージングプローブを開発することを目的とする。具体的には、ADHD に関しては、生体内安定性の高い NET イメージングプローブを、ASD に関しては、OXTR をイメージングするプローブを開発することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) NET イメージングプローブに関しては、海外において、2種類のプローブが開発され臨床研究に用いられているが、半減期の短さや生体内での不安定性などの問題点が報告されており、更なる改良型プローブの開発が望まれている[4,5]。研究代表者は F-18 を導入した生体内安定性の高いプローブを開発することにより、現在の NET イメージングの問題点を解決できると考えた。研究代表者はこれまでに様々な NET プローブの開発を行い、その構造-活性相関に関する知見を蓄積している。そこで NET との結合に重要な部位に、F-18 を直接導入あるいは生体内脱フッ素反応に強い官能基を導入することにより、生体内安定性の高い F-18 標識 NET プローブを開発し、その有効性を評価することを試みた。

(2) 社会的孤立モデルラットを用いて、ASD と関連のある社会的孤立とノルアドレナリン作動性神経との関係を評価した。

(3) 脳内 OXTR イメージングプローブに関しては、2012年に初めて報告され、現在までに2つの研究グループから数報の報告があるが、脳内への集積が低く、最適なプローブとは言い難い。近年オキシトシンと自閉症との関連が注目され、OXTR に結合する低分子化合物が報告され始めている。そこで、これらの低分子化合物と OXTR との構造-活性相関を検討することにより、新規 OXTR イメージングプローブを開発し、その有効性を明らかにすることを試みた。

4. 研究成果

(1) Nisoxetine 骨格に生体内脱フッ素抵抗性を有する官能基を導入した化合物を8種類設計、合成した(正式名称と構造式は非表示)。次いでラット粗シナプス画分を用いて NET に対する結合能力を測定した。図1の阻害曲線より親和性の指標である K_i 値を算出した。その結果、NET に対する親和性は、(R)-MFPP \approx Desipramine $>$ (S)-MFPP \approx Reboxetine $>$ (S)-FPP $>$ (R)-DMFP $>$ (R)-FPP $>$ (R)-TMFP $>$ (S)-DMFP $>$ Fluoxetine $>$ (S)-TMFP $>$ GBR-12909 の順に強く、FPP 以外の化合物は S 体より R 体の方が親和性が強いことが示された。合成したもののうち NET への親和性が最も強い(R)-MFPP は K_i 値 2.6 nM と NET 阻害剤であ

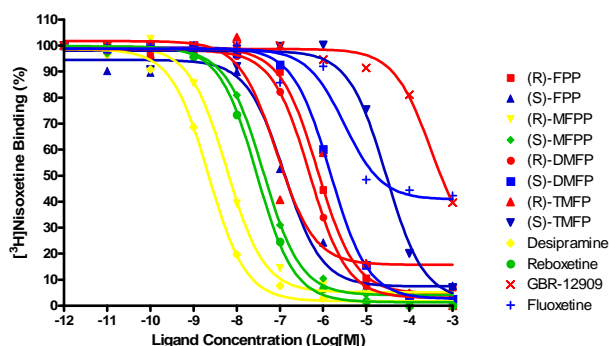
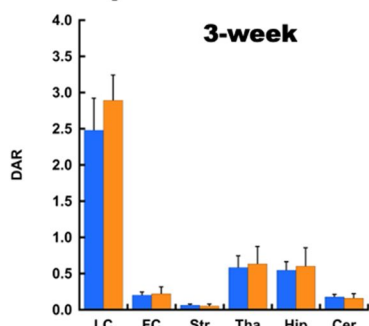


図1 阻害曲線

る desipramine の 2.0 nM と同等であったことから、(R)-MFPP が NET イメージングプローブの候補として有望であることが示された。そこで、この(R)-FPP の F-18 標識を試みたが標識反応が進行しなかったため、今後新たな標識法の開発が必要である。

(2) 社会的孤立モデルラットを用いた研究では、以前に開発した NET イメージング剤である Br-77 標識 BPBM を用いて脳内 NET の変化を検討した。社会的孤立モデルラットとしては、3 週間および 8 週間単独で飼育したラットを用いた。高架式パルス迷路試験と強制水泳試験を行いモデルラットの不安関連行動を評価した。その結果、3 週間の社会的孤立では鬱的行動が増加し、8 週間の社会的孤立では躁的行動が増加していた。次いで図 2 に示すように、それぞれのモデルラットの脳内 NET の発現量を ⁷⁷Br-BPBM を用いた autoradiography 法により定量評価した。その結果、どちらのモデルにおいてもコントロール (青色) に比べてモデルラット (オレンジ色) において、脳内の様々な部位で NET の発現量に変化は認められなかった。同時にノルエピネフリンの代謝物である MHPG の血中濃度を測定したが、こちらも有意な差は認められなかった。以上の結果より、社会的孤立モデルラットにおいては、社会的孤立の期間に応じて鬱的あるいは躁的な行動が現れたが、その変化と NET の発現量や MHPG 濃度には関連が認められなかった。

NET Expression



MHPG Concentration

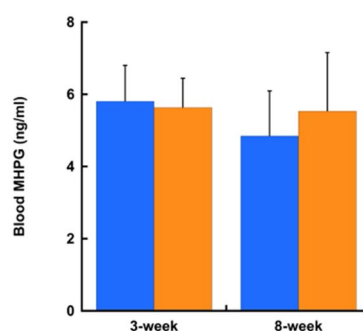


図 2 NET の発現と血中 MHPG 濃度

(LC: Locus Ceruleus, FC: Prefrontal Cortex, Str: Striatum, Tha: Thalamus, Hip: Hippocampus, Cer: Cerebellum)

(3) OXTR イメージングプローブに関しては、OXTR に結合するアンタゴニストの構造を元に、新たに 4 種類のフッ素誘導体を設計・合成した (正式名称と構造式は非表示)。OXTR はバソプレッシン受容体 (AVPR) との相同性が非常に高い受容体であり、この AVPR も脳内に発現している。このため OXTR イメージングプローブを開発するときには、OXTR に強く結合し、かつ AVPR には結合しない化合物の開発が必要になってくる。言い換えると、OXTR に対して高い親和性と選択性を有することが必要になる。従来の齧歯類の脳組織から膜画分を調整し、それを利用して親和性と選択性を測定する結合実験は、膜画分に OXTR も AVPR も発現し、かつ選択的な放射性リガンドが存在しないために利用することが難しい。そのために、OXTR や AVPR をそれぞれ別々に発現する細胞を用いた結合実験が必須となる。そのため、研究代表者はヒトの OXTR と 3 種類の AVPR (1a, 1b, 2) の遺伝子を HeLa 細胞に導入し、これらの受容体と蛍光物質である GFP を同時に安定発現する細胞株を作製した (図 3)。今後この系を用いて親和性の検討を行う必要がある。

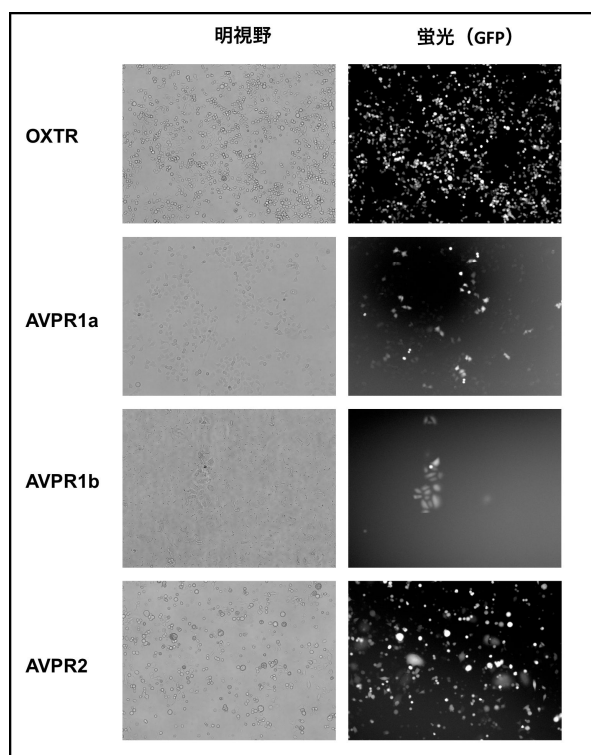


図 3. OXTR および AVPR 発現細胞

< 引用文献 >

Hohmann et al., Psychiatry Res. 226(2-3) 425-33 (2015)

Parker et al., Proc Natl Acad Sci USA. 114(30) 8119-8124 (2017)
Donaldson et al., Science. 322(5903) 900-4 (2008)
Logan et al. Nucl Med Biol. 34 667-79 (2007).
Takano et al. Eur J Nucl Med Mol Imaging. 36 1885-91 (2009)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Mizuno T., Matsumoto H., Mita K., Kogauchi S., Kiyono Y., Kosaka H., Omata N.	4. 巻 124
2. 論文標題 Psychosis is an extension of mood swings from the perspective of neuronal plasticity impairments	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Medical Hypotheses	6. 最初と最後の頁 37 ~ 39
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.mehy.2019.02.001	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Matsumoto Hiyori, Omata Naoto, Kiyono Yasushi, Mizuno Tomoyuki, Mita Kayo, Kosaka Hiroataka	4. 巻 239
2. 論文標題 Paradoxical changes in mood-related behaviors on continuous social isolation after weaning	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Experimental Brain Research	6. 最初と最後の頁 2537 ~ 2550
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00221-021-06149-x	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Kiyono Y, Mori T, Asai T, Okazawa H
2. 発表標題 Evaluation of radiobromine-labeled (SS)-BPBM for imaging of the brain norepinephrine transporter
3. 学会等名 Brain&Brain PET 2019（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kiyono Y, Omata N, Matsumoto H, Mizuno T, Mita K, Kosaka H, Okazawa H
2. 発表標題 Analysis of the expression of norepinephrine transporter and neuronal plasticity-related proteins in social isolation model rats.
3. 学会等名 NRM2021（国際学会）
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	牧野 顕 (Makino Akira) (00566226)	福井大学・高エネルギー医学研究センター・准教授 (13401)	
研究分担者	小俣 直人 (Omata Naoto) (30334832)	福井大学・学術研究院医学系部門・客員教授 (13401)	
研究分担者	徳永 雄次 (Tokunaga Yuji) (80250801)	福井大学・学術研究院工学系部門・教授 (13401)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------