

令和 5 年 5 月 27 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20H03622

研究課題名（和文）レビー小体病の診断・治療に資する シヌクレイン標的核医学イメージング法の開発

研究課題名（英文）Development of nuclear medicine imaging method targeting alfa-synuclein aggregates for diagnosis and treatment of Lewy body disease.

研究代表者

小野 正博（Ono, Masahiro）

京都大学・薬学研究科・教授

研究者番号：80336180

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,700,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、レビー小体病の脳内に発現する シヌクレイン凝集体の生体分子イメージングを可能とする新規PET/SPECT用放射性分子イメージングプローブの開発を目的として、化合物ライブラリーを用いた構造活性動態相関を検討した。その結果、シヌクレイン凝集体への優れた結合親和性および選択性を示すカルコン類縁体を見出した。本プローブはモデルマウス脳内のシヌクレイン凝集体を検出することに成功し、PET用シヌクレインイメージングプローブとしての有用性が示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で開発した新規プローブを用いたシヌクレインの生体イメージングが可能となれば、レビー小体病の早期診断への応用が期待できる。さらに、現在シヌクレインを標的とした凝集阻害剤の開発研究も活発に行われており、その生体イメージングは、治療薬のスクリーニングツールとしても応用可能であることから、シヌクレインを標的分子とするレビー小体病の創薬研究への貢献も期待できる。

研究成果の概要（英文）：In this study, I investigated structure-activity kinetic relationships using a compound library to develop novel radioligand molecular imaging probes for PET/SPECT that enable biomolecular imaging of  $\alpha$ -synuclein aggregates expressed in the brain in Lewy body disease. As a result, I found chalcone analogues that exhibit excellent binding affinity and selectivity for  $\alpha$ -synuclein aggregates. This probe was successfully performed to detect  $\alpha$ -synuclein aggregates in vivo, indicating its usefulness as an  $\alpha$ -synuclein imaging probe for PET.

研究分野：放射性薬品化学

キーワード：シヌクレイン

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

レビー小体病(LBD)は、パーキンソン病、認知症を伴うパーキンソン病、レビー小体型認知症を含む、レビー小体が関与する神経変性疾患の総称である。LBD はアルツハイマー病(AD)に次いで患者数の多い神経変性疾患であるが、現在までに、LBD の早期診断法および治療法は開発されていないことから、LBD の早期診断・治療に対する社会的ニーズは高く、その早急な開発が強く望まれている。LBD に共通する特徴的な病理学的変化として、神経細胞にレビー小体と呼ばれる細胞内封入体を認め、そのレビー小体の主要な構成成分は  $\alpha$  シヌクレインタンパク質凝集体であることが知られている。 $\alpha$  シヌクレインは、正常な状態では特定の折りたたみ構造を持たず可溶性の単量体として存在するが、 $\beta$  シート構造を形成し、高濃度に発現すると  $\beta$  シート構造に富んだ、オリゴマーおよび線維状アミロイド凝集体を形成する。細胞内封入体を形成するまでの、この凝集体の生成過程のオリゴマーや線維状アミロイドの細胞毒性が LBD の原因物質として注目されている。 $\alpha$  シヌクレイン凝集体を標的とした LBD の診断・治療法を開発する上で、その定量的生体分子イメージング法は必須であるが、現在までにそれを可能にする  $\alpha$  シヌクレイン凝集体特異的分子イメージングプローブが開発されていないことが世界的に大きな課題となっている。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、LBD 脳内に発現する  $\alpha$  シヌクレイン凝集体の定量的生体分子イメージングを可能とする新規 PET/SPECT 用核医学分子イメージングプローブの開発である。

### 3. 研究の方法

本研究は、 $\alpha$  シヌクレインの凝集阻害剤の分子構造および  $\alpha$  シヌクレイン凝集体の立体構造を基にした計算化学的手法を活用して、候補化合物の分子設計・合成を行い、 $\alpha$  シヌクレイン凝集体を用いたインビトロ結合実験による 1 次スクリーニング、正常マウスにおける体内放射能分布実験による 2 次スクリーニングを経て、 $\alpha$  シヌクレイン注入モデルマウスを用いる検討を行った。

### 4. 研究成果

(1)  $\alpha$  シヌクレイン凝集体への結合選択性の向上を目指したカルコン類縁体の合成と評価

我々はこれまでに、独自の化合物ライブラリーを用いたスクリーニングを行い、 $\alpha$  シヌクレイン凝集体への高い結合親和性を示す新規骨格としてビスキノリン(BQ)骨格を見出し、それを基盤とした PET プローブ $^{18}\text{F}$ BQ2 を開発した。しかし $^{18}\text{F}$ BQ2 は、既存の  $\alpha$  シヌクレインイメージングプローブと同様、アミロイド  $\beta$  凝集体に対しても高い結合親和性を示したことから、 $\alpha$  シヌクレイン凝集体への結合選択性が向上した新たなプローブ開発が求められた。そこで、これまでのスクリーニングにおいて  $\alpha$  シヌクレイン凝集体への結合性を認めたカルコン類縁体 IDP-3 をリード化合物とした分子設計を計画した。カルコン類縁体構造に導入する置換基を変換することによって、 $\alpha$  シヌクレイン凝集体への結合親和性を保持し、かつアミロイド  $\beta$  凝集体への結合親和性を低下させることが可能ではないかと考えた。

以上から、カルコン類縁体構造に種々のアリアル置換基を導入することで、計 9 種の $^{123/125}\text{I}$  標識カルコン類縁体を設計・合成し、 $\alpha$  シヌクレイン凝集体への結合親和性および結合選択性に関する構造活性相関を検討した。

その結果、チオフラビン T (ThT) を競合リガンドとした競合阻害実験において、カルコン骨格に導入されたアリール置換基の種類に依存して、 $\alpha$  シヌクレイン凝集体への結合親和性および結合選択性に相違が認められた。4-ジメチルアミノフェニル基を導入したカルコン類縁体は、 $\alpha$  シヌクレイン凝集体およびアミロイド  $\beta$  凝集体いずれに対しても結合親和性を示した一方、4-ニトロフェニル基を導入したカルコン類縁体は、アミロイド  $\beta$  凝集体に対する結合性を認めず、 $\alpha$  シヌクレイン凝集体への高い結合親和性および結合選択性を示した。特に、PHNP-3 は  $\alpha$  シヌクレイン凝集体への優れた結合親和性および結合選択性を示した。<sup>125</sup>I を用いて標識した [<sup>125</sup>I]PHNP-3 は、マウス血漿中で安定に存在した一方で、 $\alpha$  シヌクレイン凝集体の生体イメージングを行うためにはマウス脳移行性のさらなる向上が必要であることが示唆された。

以上の結果より、マウス脳移行性に課題を有するものの、 $\alpha$  シヌクレイン凝集体への結合親和性および結合選択性に優れるカルコン類縁体 [<sup>123/125</sup>I]PHNP-3 が、 $\alpha$  シヌクレインイメージングプローブの開発に向けた有望なリード化合物となり得ることが示された。

## (2) カルコン類縁体を基盤としたPET用 $\alpha$ シヌクレインイメージングプローブの開発

(1)において、[<sup>123/125</sup>I]PHNP-3 は  $\alpha$  シヌクレイン凝集体への優れた結合親和性および結合選択性を示し、既存プローブや BQ 誘導体に認められた問題の改善に成功した。一方、[<sup>123/125</sup>I]PHNP-3 のマウス脳移行性は未だ低値を示したことから、脳内挙動の改善が求められた。本問題を解決するため、計算科学的手法として Central Nervous System Multiparameter Optimization (CNS MPO) アルゴリズムを用いることで、マウスにおける脳内挙動を改善する合理的な分子設計を行うこととした。CNS MPO アルゴリズムは、低分子化合物を基盤とした中枢標的薬の開発研究において、化合物の脳移行性を予測する上で広く利用され、6種の物理化学的パラメーターを基に CNS MPO score を 0-6 の範囲で算出する。一般に、4以上の CNS MPO score を示す化合物は良好な BBB 透過性を示すことが知られている。(1)で見出した [<sup>123/125</sup>I]PHNP-3 は、その低い脳移行性と相関して、CNS MPO score は 4未満の値を示した。そこで、[<sup>123/125</sup>I]PHNP-3 の脂溶性・分子量の低減とそれに伴う CNS MPO score の向上を図るため、<sup>123/125</sup>I の代わりに PET 用核種である <sup>18</sup>F をプローブ内に導入することを計画した。

まず、フッ素原子およびニトロ原子団を芳香環上の異なる位置に導入した種々のカルコン類縁体を設計・合成し、その有用性を評価した。その結果、 $\alpha$  シヌクレイン凝集体への優れた結合親和性および結合選択性、良好なマウス脳移行性を示すカルコン類縁体として [<sup>18</sup>F]FPHNP-3 を見出した。脳内に  $\alpha$  シヌクレイン凝集体を接種したモデルマウスを作製し、本プローブを用いて PET イメージングを行った結果、 $\alpha$  シヌクレイン凝集体の明瞭な描出には至らなかった。

そこで次に、[<sup>18</sup>F]FPHNP-3 をリード化合物として、CNS MPO score とそれを構成する物理化学的パラメーターとの相関性に着目した構造最適化を図り、水溶性リンカーを介して <sup>18</sup>F を導入したカルコン類縁体を設計・合成し、その有用性を評価した。なかでも、[<sup>18</sup>F]FHCL-2 は  $\alpha$  シヌクレイン凝集体への良好な結合親和性および結合選択性、良好なマウス脳移行性を示した。本プローブをモデルマウスに投与した結果、マウス脳内の  $\alpha$  シヌクレイン凝集体を選択的かつ明瞭に検出することに成功した。

以上の結果より、[<sup>18</sup>F]FHCL-2 が PET 用  $\alpha$  シヌクレインイメージングプローブとして機能し得ることを見出した。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Kaide S, Watanabe H, Iikuni S, Hasegawa M, Itoh K, Ono M	4. 巻 13
2. 論文標題 Chalcone Analogue as New Candidate for Selective Detection of $\alpha$ -Synuclein Pathology	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 ACS Chem Neurosci	6. 最初と最後の頁 16-26
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1021/acchemneuro.1c00441	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 -
1. 著者名 Akasaka T, Watanabe H, Kaide S, Iikuni S, Hasegawa M, Ono M	4. 巻 64
2. 論文標題 Synthesis and evaluation of novel radioiodinated phenylbenzofuranone derivatives as $\alpha$ -synuclein imaging probes	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Bioorg Med Chem Lett	6. 最初と最後の頁 128679
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bmcl.2022.128679	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 -
1. 著者名 Kaide S, Watanabe H, Shimizu Y, Iikuni S, Nakamoto Y, Hasegawa M, Itoh K, Ono M.	4. 巻 11
2. 論文標題 Identification and Evaluation of Bisquinoline Scaffold as a New Candidate for $\alpha$ -Synuclein-PET Imaging	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 ACS Chem Neurosci	6. 最初と最後の頁 4254-4261
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1021/acchemneuro.0c00523	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 -
1. 著者名 Nakagawa K, Watanabe H, Kaide S, Ono M	4. 巻 13
2. 論文標題 Structure-Activity Relationships of Styrylquinoline and Styrylquinoxaline Derivatives as $\alpha$ -Synuclein Imaging Probes	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 ACS Med Chem Lett	6. 最初と最後の頁 1598-1605
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1021/acsmchemlett.2c00279	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 -

1. 著者名 Kaide S, Watanabe H, Iikuni S, Hasegawa M, Ono M	4. 巻 13
2. 論文標題 Synthesis and Evaluation of 18F-Labeled Chalcone Analogue for Detection of $\alpha$ -Synuclein Aggregates in the Brain Using the Mouse Model	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 ACS Chem Neurosci	6. 最初と最後の頁 2982-2990
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acscchemneuro.2c00473	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 -

1. 著者名 小野 正博	4. 巻 43巻
2. 論文標題 アミロイドイメージング剤の開発における薬学的貢献	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 核医学技術	6. 最初と最後の頁 45-49
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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7件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 小野 正博
2. 発表標題 脳タンパク質凝集体の生体イメージング技術
3. 学会等名 第40回日本認知症学会学術総会 (東京)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 貝出 翔, 渡邊 裕之, 飯國 慎平, 志水 陽一, 長谷川 成人, 伊東 恭子, 小野 正博
2. 発表標題 カルコン類縁体を基盤とした シヌクレイン標的PETイメージングプローブの開発
3. 学会等名 第61回日本核医学会学術総会 (名古屋)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 中川 航平, 渡邊 裕之, 貝出 翔, 飯國 慎平, 志水 陽一, 小野 正博
2. 発表標題 シヌクレインイメージングプローブの開発を目的とした新規18F標識スチリルキノリン/キノキサリン誘導体の合成と評価
3. 学会等名 第4回日本核医学会分科会 放射性薬品科学研究会/第19回放射性医薬品・画像診断薬研究会(仙台)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 赤坂 貴浩, 渡邊 裕之, 貝出 翔, 飯國 慎平, 小野 正博
2. 発表標題 シヌクレインイメージングプローブの開発を目的とした放射性ヨウ素標識オーロン誘導体の合成と評価
3. 学会等名 第18回次世代を担う若手のためのフィジカル・ファーマフォーラム(仙台)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 貝出 翔, 渡邊 裕之, 飯國 慎平, 小野 正博
2. 発表標題 神経変性疾患における脳タンパク質凝集体を標的とした核医学イメージング法の開発
3. 学会等名 日本薬学会 第141年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 中川 航平, 渡邊 裕之, 貝出 翔, 飯國 慎平, 長谷川 成人, 伊東 恭子, 小野 正博
2. 発表標題 シヌクレインの生体イメージングを目的とした放射性ヨウ素標識スチリルキノキサリン誘導体の合成および評価
3. 学会等名 日本薬学会 第141年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小野 正博
2. 発表標題 アミロイドメーキング剤の開発における薬学的貢献
3. 学会等名 第42回 日本核医学技術学会総会学術大会
4. 発表年 2022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	渡邊 裕之 (Watanabe Hiroyuki)  (40710786)	京都大学・薬学研究科・講師  (14301)	
研究分担者	志水 陽一 (Shimizu Yoichi)  (90634212)	京都大学・医学研究科・講師  (14301)	
研究分担者	飯國 慎平 (Iikuni Shimpei)  (70837731)	京都大学・薬学研究科・助教  (14301)	

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
---------	---------