

令和 6 年 6 月 4 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21H02869

研究課題名（和文）オレキシン系の機能解明に資するPETプローブの開発とその応用

研究課題名（英文）Development of PET probes for elucidation of orexin systems

研究代表者

渡邊 裕之（Watanabe, Hiroyuki）

京都大学・薬学研究科・講師

研究者番号：40710786

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）：1) OXRを標的とした分子イメージングプローブの開発、では、OX1RおよびOX2Rそれぞれの選択的な描出を可能とするPET用プローブを設計・合成し、その有用性評価を行うことで、Oレキシン受容体を描出可能な複数の候補化合物を見出した。  
2) GHSRを標的としたPETプローブの開発、では、GHSRを標的としたPET用プローブを設計・合成しその有用性評価を行った。その結果、生体内でグレリン受容体に結合性を示す候補化合物を見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

生体内におけるオレキシン系の可視化は精神疾患や睡眠障害などの病態解明、治療薬開発につながり、さらには、その下流に位置する報酬系に関連する神経伝達物質との関連性を明らかにすることで、精神構造の解明の一端を担うことができると考えられる。さらにオレキシン系の解明のみならず、様々な疾患への予防診断を含めた新たな診断基準の発見や新規治療薬開発の進展へ寄与し得ることも期待される。  
本研究で得られた成果は、これらへの足がかりになるものと考えられる。

研究成果の概要（英文）：In this study, we developed novel PET probes targeting OX1R, OX2R, and GHSR in the brain.

In the development of OX1R targeting PET probes, further modifications for improvement of the pharmacokinetics are needed, but the [18F]PBC-2 has potential for the development of useful PET probes targeting OX1R in the brain.

In the development of GHSR targeting PET probes, although further improvement of the pharmacokinetics is needed, the diaminopyrimidine scaffold, the backbone of [18F]BPP-2, has potential for the development of useful GHSR-targeting PET probes.

研究分野：放射性医薬品学

キーワード：オレキシン グレリン PET イメージング

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

オレキシン系は睡眠障害や精神疾患、薬物依存、さらには食欲や意欲といった報酬系にも大きく関与している。オレキシン受容体(OXR)は、オレキシン1受容体(OX<sub>1</sub>R)及びオレキシン2受容体(OX<sub>2</sub>R)の2種のサブタイプが脳内に発現しており、OX<sub>1</sub>Rは、主に摂食量や覚醒、ストレスの調整、薬物中毒など、OX<sub>2</sub>Rは、睡眠障害などとの密接な関与が示唆されている。OX<sub>1</sub>R及びOX<sub>2</sub>Rは、オレキシンニューロンより産生される神経ペプチドであるオレキシン-A(OXA)及びオレキシン-B(OXB)によって活性化される。これまでの研究では、主に各受容体の欠損マウスを用いた検討を行うことで、オレキシン系といくつかの疾患などとの関連が見出されてきた。しかしながら、脳内のOXR及びオレキシンニューロンを非侵襲的に可視化する手法がないことから、生体内においてOX<sub>1</sub>RやOX<sub>2</sub>R、オレキシンニューロンの機能及び発現の変化は未だ明らかになっていない。そのため、生体内におけるオレキシン系の可視化は精神疾患や睡眠障害などの病態解明、治療薬開発につながり、さらには、その下流に位置する報酬系に関連する神経伝達物質との関連性を明らかにすることで、精神構造の解明の一端を担うことができると考えられる。

Positron emission tomography (PET)は、定量性及び解像度に優れることから脳内の受容体やタンパク質等の可視化に適した手法とされ、様々なPETプローブの開発及びそれを用いた生体イメージング研究が行われている。実際、報酬系に関与するセロトニン(5-HT<sub>1R</sub>)やドパミン(DR)受容体、ノルエピネフリントランスポーター(NET)を標的としたいくつかのPETプローブの開発及びそれを用いた生体イメージング研究が報告されている。OX<sub>1</sub>R及びOX<sub>2</sub>Rの間では、脳内の分布やOXA、OXBに対する親和性に違いがあることが知られていることから、オレキシン系の機能解明のためには、それぞれを個別に可視化することが求められる。申請者は、OX<sub>1</sub>Rを標的としたPETプローブの開発研究を世界で初めて報告している。また、OX<sub>2</sub>Rに関して、<sup>18</sup>F(t<sub>1/2</sub>=110 min)を標識核種としたPETプローブを世界で初めて報告している。しかしながら、これらのPETプローブは*in vitro*において各受容体への選択的結合性を示した一方で、その生体内挙動は脳内のOXRを可視化するには不十分であった。また、オレキシンニューロンにおいても、GHSRをはじめとしたいくつかの受容体の発現が知られているものの、これらを標的とした生体イメージング法は未だ確立されていない。このようにOXRおよびオレキシンニューロンを生体内において可視化した例はこれまでに報告されていないことから、本研究を計画した。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、OXRおよびオレキシンニューロンに発現するグレリン受容体(GHSR)を選択的に描出可能なPETプローブを新たに開発し、それらを用いた生体イメージングによって、オレキシン系の機能を解明することにある。パニック障害や不安障害などの精神疾患や薬物依存に関わるOX<sub>1</sub>R、睡眠障害との密接な関与が示唆されるOX<sub>2</sub>Rというように、OXRは先進諸国に罹患者が多い疾患や障害に深く関わっているとされており、いくつかの治療薬が開発されている。そのため、OXRを標的としたPETプローブの開発が実現すれば、オレキシン系の解明のみならず、様々な疾患への予防診断を含めた新たな診断基準の発見や新規治療薬開発の進展へ寄与し得ることも期待される。一方、GHSRに関しては、脳腸相関の鍵分子の一つとして考えられており、脳腸相関が影響する疾患として近年注目されているパーキンソン病など脳腸相関に関連する疾患の病態解明への応用も期待できる。

### 3. 研究の方法

本研究では、1) OX<sub>1</sub>RおよびOX<sub>2</sub>Rを標的としたPETプローブの開発、2) オレキシンニューロンに発現するGHSRを標的としたPETプローブの開発を行った。具体的には、

#### 1) OXRを標的とした分子イメージングプローブの開発

OX<sub>1</sub>RおよびOX<sub>2</sub>Rそれぞれの選択的な描出を可能とするPET用プローブを設計・合成した。*In vitro*における親和性評価および小動物を用いた体内放射能分布実験やPETイメージングなどの検討を行った。

#### 2) GHSRを標的としたPETプローブの開発

オレキシンニューロンに発現するGHSRを標的としたPET用プローブを設計・合成した。*In vitro*における親和性評価および小動物を用いた体内放射能分布実験やPETイメージングなどの検討を行った。

### 4. 研究成果

以下にはOX<sub>1</sub>RおよびGHSR標的PETプローブの成果を示す。

#### 1) OX<sub>1</sub>R標的PETプローブ

- ・設計および合成

これまでに申請者が開発してきた $^{18}\text{F}$ PBC-1 を母格とした新規 PET プローブとして $^{18}\text{F}$ PBC-2 を設計した。脳移行性を推測できる計算値である CNS MPO score は 4.542 と算出され、脳移行性が期待できる値であった。

PBC-2 は、パラニトロアニリンを出発原料として 4 段階の反応を経て総収率 2.6% で合成した。また、標識前駆体はパラフルオロニトロベンゼンを出発原料として、4 段階の反応を経て総収率 8.0% で合成した。

$^{18}\text{F}$ PBC-2 は放射化学的収率 9.4%、放射化学的純度 95% 以上で得た。

#### ・結合性評価

OX1R もしくは OX2R 高発現細胞を用いた結合阻害実験を行うことで  $K_i$  値を算出した。その結果、PBC-2 は OX1R に対しては 79nM の  $K_i$  値を示し、中程度の結合親和性を有することが示唆された。一方、OX2R に対しては 390nM の  $K_i$  値を示し、結合親和性の比が 4.9 倍となったことより、高い結合選択性を有することが示唆された。

#### ・体内放射能分布実験

$^{18}\text{F}$ PBC-2 をマウス尾静脈より投与し、投与 2, 10, 30, および 60 分後に屠殺、臓器を摘出後、放射能と臓器重量を測定した(図 1)。その結果、脳における放射能集積は投与 2 分後に 3% Injected dose/g を上回り、良好な脳移行性を有することが示された。一方、骨における放射能集積は経時的に増加しており、脱フッ素化代謝が生じている可能性が高いことが示唆された。

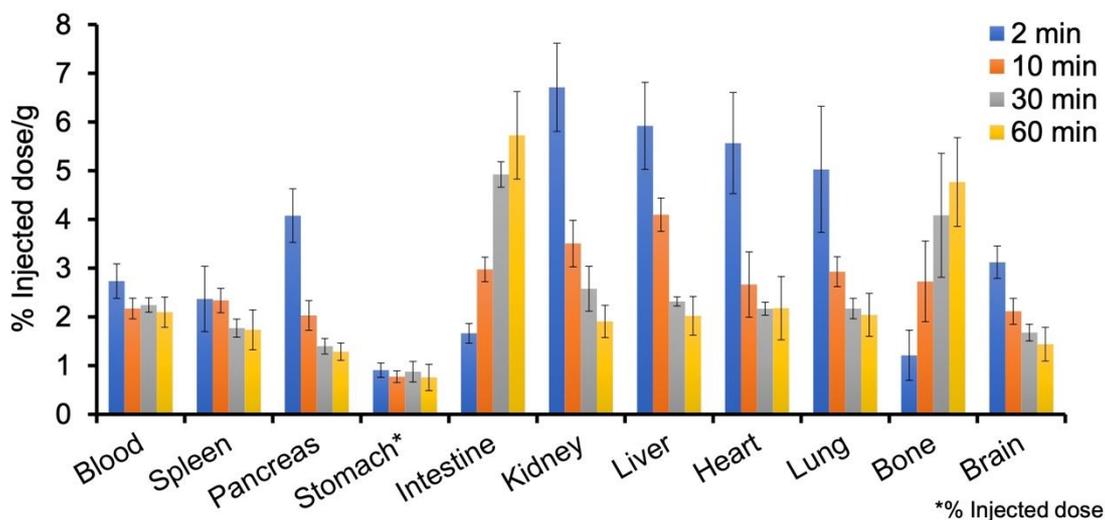


図 1.  $^{18}\text{F}$ PBC-2 の体内放射能分布実験の結果

## 2) GHSR 標的 PET プローブ

#### ・設計および合成

GHSR アンタゴニストとして報告されている diaminopyrimidine 骨格に fluoroethoxy 基を導入した新規  $^{18}\text{F}$  標識 diaminopyrimidine 誘導体( $^{18}\text{F}$ BPP-1 および $^{18}\text{F}$ BPP-2)を設計した。BPP-1 および BPP-2 をそれぞれ総収率 4.11%, 5.97% で合成した

また、 $^{18}\text{F}$ BPP-2 を放射化学的収率 2.75%、放射化学的純度 95% 以上で得た。

#### ・結合性評価

競合リガンドに $^{125}\text{I}$ Ghrelin を用いた競合阻害実験を BPP-1, BPP-2, およびリード化合物である Abb8a に対して行った。BPP-1 は GHSR に対する  $\text{IC}_{50}$  値が 5000 nM 以上と低い結合親和性を示した一方で、BPP-2 は 277.1 nM であり、Abb8a と同程度の結合親和性を示した。

#### ・体内放射能分布実験

$^{18}\text{F}$ BPP-2 をマウス尾静脈より投与し、投与 2, 10, 30, および 60 分後に屠殺、臓器を摘出後、放射能と臓器重量を測定した。正常マウスにおいて、 $^{18}\text{F}$ BPP-2 は投与 10 分後までに脳にわずかに取り込まれ(0.52 %ID/g)、投与 60 分後まで保持されていた(0.48 %ID/g)。その一方で、血液では投与 2 分後から徐々にクリアランスされており脳血液比は経時的に向上した。しかし、骨への集積が経時的に増加し、投与 60 分後に高値を示したことから(24.1 %ID/g)、 $^{18}\text{F}$ BPP-2 は生体内で脱フッ素化代謝を受けることが示唆された。

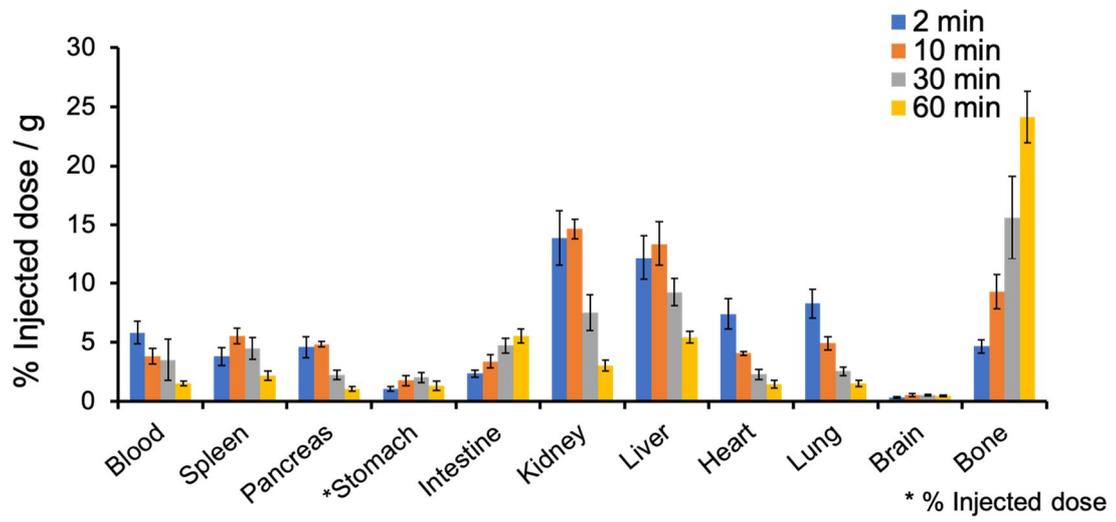


図 2. [<sup>18</sup>F]BPP-2 の体内放射能分布実験の結果

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3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 Saito Haruka, Watanabe Hiroyuki, Ono Masahiro	4. 巻 99
2. 論文標題 Synthesis and biological evaluation of novel 18F-labeled 2,4-diaminopyrimidine derivatives for detection of ghrelin receptor in the brain	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters	6. 最初と最後の頁 129625 ~ 129625
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bmcl.2024.129625	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 Watanabe Hiroyuki, Ide Takuji, Ono Masahiro	4. 巻 71
2. 論文標題 Synthesis and Characterization of Novel Radioiodinated Triazole-Pyrolidine Derivative to Detect Orexin 2 Receptor in the Brain	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Chemical and Pharmaceutical Bulletin	6. 最初と最後の頁 234 ~ 239
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1248/cpb.c22-00770	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 Watanabe Hiroyuki, Idoko Yuki, Iikuni Shimpei, Ide Takuji, Shimizu Yoichi, Nakamoto Yuji, Ono Masahiro	4. 巻 43
2. 論文標題 Synthesis and biological evaluation of novel 18F-labeled phenylbenzofuran-2-carboxamide derivative for detection of orexin 1 receptor in the brain	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters	6. 最初と最後の頁 128098 ~ 128098
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bmcl.2021.128098	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5件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 齋藤 晴香, 渡邊 裕之, 小野 正博
2. 発表標題 中枢グレリン受容体のPETイメージングを目的とした新規18F標識ジアミノピリミジン誘導体の合成と評価
3. 学会等名 第20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
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 渡邊 裕之, 小野 正博
2. 発表標題 病態機能分析のための新規放射性プローブの開発研究
3. 学会等名 第16回日本分子イメージング学会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 渡邊 裕之, 井出 卓志, 小野 正博
2. 発表標題 オレキシン2受容体を標的としたトリアゾール-ピロリジン類縁体の合成と評価
3. 学会等名 第62回日本核医学会学術総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 石坂 優衣, 渡邊 裕之, 小野 正博
2. 発表標題 オレキシン1受容体イメージングを目的とした新規18F標識ベンゾフラン誘導体の合成と評価
3. 学会等名 第19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
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 渡邊 裕之
2. 発表標題 Development of PET probes targeting orexin receptors in the brain
3. 学会等名 第61回日本核医学会学術総会
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
--	---------------------------	-----------------------	----

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