

令和 6 年 4 月 22 日現在

機関番号：83903

研究種目：若手研究

研究期間：2022～2023

課題番号：22K15874

研究課題名（和文）分子シャペロンHSP90を標的とする新規脳PETイメージングの開発

研究課題名（英文）Research on Development of Novel Brain PET Imaging Targeting Molecular Chaperone HSP90

研究代表者

境 崇行（Sakai, Takayuki）

国立研究開発法人国立長寿医療研究センター・研究所 認知症先進医療開発センター・研究員

研究者番号：40881925

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000円

## 研究成果の概要（和文）：

HSP90阻害剤B11B021をリード化合物として選定し、PETイメージングリガンドを設計・合成した。目的のPETイメージングリガンドは良好な収率で合成され、ラット脳ホモジェネートのHSP90に特異結合し、HSP90 および に高い親和性が認められた。また、ラット脳に良好な取り込みと特異結合を示した。以上より、本研究で創生したPETイメージングリガンドはHSP90を標的とする有望なプローブであると考えられる。

## 研究成果の学術的意義や社会的意義

ヒートショックプロテイン（HSP）90はタンパク質代謝に直接関与するシャペロンタンパク質であり、神経変性疾患の脳では発言量に変化が生じることや、疾患関連タンパク質と共局在することなどが報告されている。よって、本研究で開発した<sup>111</sup>C]B11B021を用いることにより、アルツハイマー病やレビー小体病などの病理学的所見と相関した生体イメージングができる可能性がある。<sup>111</sup>C]B11B021は、ヒトを対照とした新規のPETイメージングリガンドとして活用できる可能性があり、HSP90と各疾患の関係について評価するツールとなりえる。よって、本研究は学術的・社会的意義を有する。

研究成果の概要（英文）：We focused on B11B021's structure as a lead compound among a group with high HSP90 inhibitory activity, designing and synthesizing the PET imaging ligand <sup>111</sup>C]B11B021. We assessed <sup>111</sup>C]B11B021's affinity for HSP90 through a binding assay and evaluated brain uptake and specific binding via in vivo PET imaging and blocking studies. Subsequently, we evaluated the specific binding of <sup>111</sup>C]NCGG801 through autoradiography of rat and human brain sections. As a result, <sup>111</sup>C]B11B021 was successfully synthesized and found to bind specifically to HSP90 in rat brain homogenate with high affinity to HSP90 and HSP90 using recombinant proteins. <sup>111</sup>C]B11B021 showed good uptake and specific binding to rat brain. Autoradiography revealed high-affinity binding of <sup>111</sup>C]B11B021 to rat and human brain slices, with particularly increased affinity observed in multiple system atrophy. These findings suggest that <sup>111</sup>C]B11B021 is a promising brain PET imaging ligand targeting HSP90.

研究分野：核薬学

キーワード：ヒートショックプロテイン90 HSP90 PETイメージング 神経変性疾患

## 1. 研究開始当初の背景

年齢に比例して発症率が上昇する神経変性疾患は社会の高齢化に伴う健康上の課題の一つである。その中でも、アルツハイマー病およびレビー小体病は、タンパク質のフォールディング不全と凝集が共通して起こり、それぞれの疾患の病因となっていることが知られている。アルツハイマー病の神経病理学的特徴は、アミロイド  $\beta$  やリン酸化されたタウの凝集体を主成分とする老人斑と神経原線維変化である。また、レビー小体病の特徴は、 $\alpha$  シヌクレイン凝集体の異常沈着によるレビー小体である。これらのタンパク質の凝集や沈着は、分子シャペロンと総称されるタンパク質が密接に関わる。シャペロンは、その機能を支援するコ・シャペロンなどとシャペロームと呼ばれる複合体を形成し、変性タンパク質に結合し、リフォールディングすることでタンパク質の品質の管理を行う。このようなシャペロンの種々のサブタイプの中でも HSP90 は中心的な役割を果たすことから、異常タンパク質の発生頻度が高いことで知られるがん研究の分野では創薬標的として注目されている。また、HSP90 を標的とした非侵襲的な PET イメージングバイオマーカーの開発研究も行われている。神経変性疾患においても、アミロイド  $\beta$ 、タウおよび  $\alpha$  シヌクレインに代表されるタンパク質が直接、疾患に関わることから、HSP90 は創薬標的として注目されている。現在までに、病気の早期発見や病状進行のモニターを可能にするような非侵襲的かつ PET イメージングバイオマーカーの開発研究が広く行われているが、HSP90 などのシャペロンを標的とした PET リガンドの報告例は少ない。さらに、アルツハイマー病では、HSP90 の発現量がそれぞれ健常より低下し、レビー小体病では上昇することが報告されている (Koopman, M. B. et al., Uryu, K. et al.).

## 2. 研究の目的

HSP90 を標的とした PET イメージングリガンドは臨床および新薬開発上のツールとなりえる可能性があり、HSP90 を標的とした脳 PET イメージングの開発研究を行うこととした。

## 3. 研究の方法

HSP90 リガンド前駆体 DM-BIIB021 の合成および標識合成法の確立

HSP90 に高い親和性を示すと考えられる  $[^{11}\text{C}]$ BIIB021 の合成を目指し、市販のメトキシ体 1 の脱メチル化を行い、ヒドロキシ体 2 とし、続いて、市販のプリン体 3 をヒドロキシ体 2 でアルキル化し、標識合成前駆体であるデスメチル体の DM-BIIB021 を得た。そして、適切な溶媒、塩基および反応温度を検討し、フェノール性の水酸基の  $^{11}\text{C}$  メチル化を行なった (図 1)。

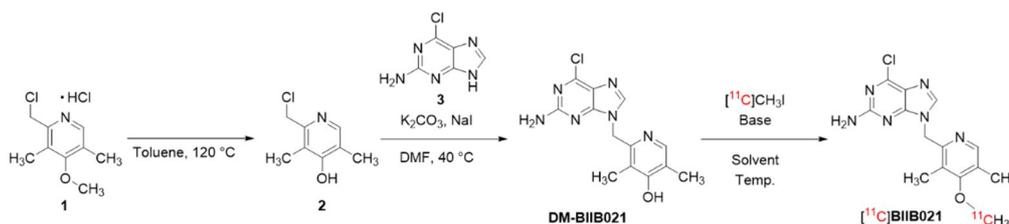


図 1  $[^{11}\text{C}]$ BIIB021 の合成スキーム

### $[^{11}\text{C}]$ BIIB021 の機能評価

まず健常ラットに投与し、PET イメージングによる脳移行性を評価した。次に、特異結合についてバインディングアッセイや PET イメージングにおけるブロック試験を行った。そしてラットやヒトの脳切片を用いて、オートラジオグラフィーを行い、特異結合について評価した。

## 4. 研究成果

### 合成

BIIB021 をリード化合物として、Hsp90 を標的とする PET イメージングリガンド  $[^{11}\text{C}]$ BIIB021 を得ることに成功した (図 2)。

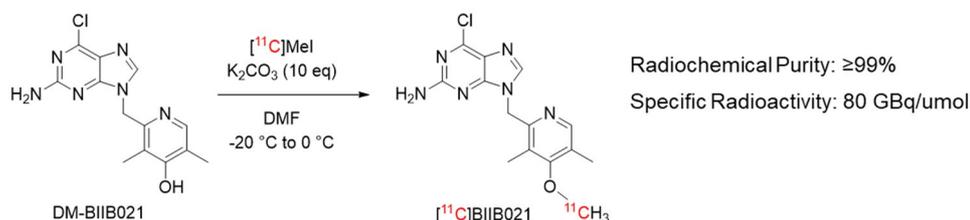


図 2  $[^{11}\text{C}]$ BIIB021 の合成

## バインディングアッセイ

ラット脳ホモジネートとヒト組換え HSP90 および タンパク質の結合アッセイ  
 $[^{11}\text{C}]$ BIIB021 の結合親和性を評価するために、健康なラットの脳ホモジネートとヒト組換え HSP90 および HSP90 タンパク質を用いてバインディングアッセイを行った。全結合量のカーブフィッティングにより、ラット脳ホモジネートの  $K_D$  値は 2.1 nM と安定に推定された (図 3)。HSP90 のアイソフォームである HSP90 および のレコンビナントタンパク質についての  $K_D$  値は、HSP90 で 2.0 nM、HSP90 で 15 nM であった (図 3)。以前に報告された親和性測定は、HSP90 に対して  $K_i = 2$  nM、HSP90 に対して 4 nM、GRP94 に対して 176 nM、TRAP1 に対して 62 nM であった (Ernst et al.)。したがって、 $[^{11}\text{C}]$ BIIB021 は HSP90 および HSP90 アイソフォームに選択的に結合する可能性が高い。

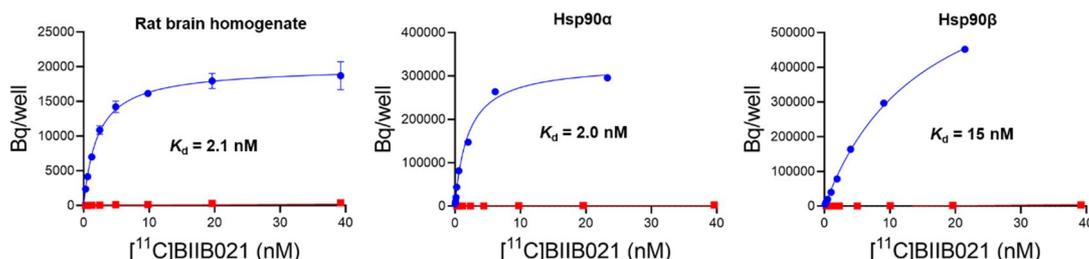


図 3  $[^{11}\text{C}]$ BIIB021 のバインディング

## PET イメージング

健康ラットに  $[^{11}\text{C}]$  BIIB021 を静脈内投与した後、ベースライン実験と標準化合物 (2 mg / kg BIIB021) を前投与したブロッキング実験を行った。 $[^{11}\text{C}]$  BIIB021 は脳取り込みを認め、ベースライン条件では、脳内放射能は 4 分でピークに達し (SUV 1.4)、その後ゆっくりと消失した。標準化合物の前投与によるブロッキング条件では、時間活性曲線はより速いウォッシュアウトを示し、局所的な放射能差は小さく、脳全体における特異的結合の存在を示した (図 4)。

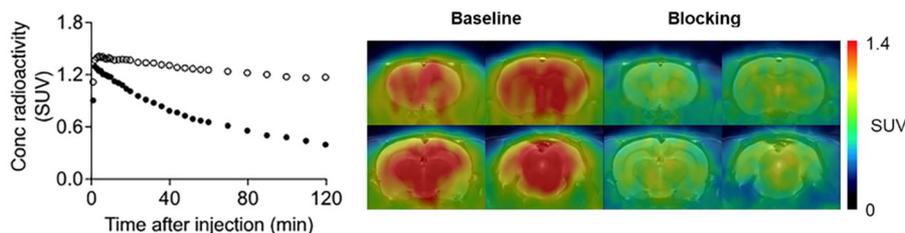


図 4  $[^{11}\text{C}]$ BIIB021 の PET イメージング

## オートラジオグラフィ

健康ラットと健康ヒト脳切片を用いてオートラジオグラフィを行った。ラット脳切片およびヒト前頭部切片では、灰白質で高活性、白質で低活性を示し、脳内に放射能のシグナルが確認された。この放射能のシグナルは非標識体の BIIB021 の添加でほぼ完全にブロックされ、健康ラットとヒトの脳で特異的な結合が存在することが示された。

	Healthy rat	Human
Baseline		
Block BIIB021		

図 5 健康ラットの冠状脳切片と健康ヒトの前頭部切片のオートラジオグラフィ

## 結論

PET イメージングリガンド<sup>[11C]</sup>BIIB021 はラットにおいて脳取り込みを認め、また HSP90 に対する特異結合を示している可能性が高い。よって、HSP90 を標的とする脳 PET イメージングリガンドとして有用である可能性があり、疾患モデルでの検討、がんなど他の疾患への応用、ヒトを対象とした臨床試験などさらなる検討が求められる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1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 Sakai Takayuki, Ogata Aya, Ikenuma Hiroshi, Yamada Takashi, Hattori Saori, Abe Junichiro, Imamura Shinichi, Ichise Masanori, Tada Mari, Kakita Akiyoshi, Koyama Hiroko, Suzuki Masaaki, Kato Takashi, Ito Kengo, Kimura Yasuyuki	4. 巻 9
2. 論文標題 A novel PET probe to selectively image heat shock protein 90 / isoforms in the brain	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 EJNMMI Radiopharmacy and Chemistry	6. 最初と最後の頁 19
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s41181-024-00248-0	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 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 境 崇行、池沼 宏、山田貴史、服部沙織、小縣 綾、戸次雄一、阿部潤一郎、市瀬正則、鈴木正昭、加藤隆司、伊藤健吾、木村泰之
2. 発表標題 ヒートショックプロテイン90を標的とする脳PETイメージングリガンドの開発研究
3. 学会等名 第63回日本核医学会学術総会
4. 発表年 2023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
---------	---------