

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 27 日現在

機関番号：82502

研究種目：新学術領域研究（研究領域提案型）

研究期間：2011～2015

課題番号：23111009

研究課題名（和文）毒性伝達機構の分子イメージングを基軸とした神経変性疾患研究

研究課題名（英文）Molecular imaging of neurotoxic signaling in neurodegenerative disorders

研究代表者

樋口 真人 (Higuchi, Makoto)

国立研究開発法人放射線医学総合研究所・分子イメージング研究センター・チームリーダー

研究者番号：10373359

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 98,400,000 円

研究成果の概要（和文）：毒性因子イメージングとして、各種疾患のタウ病変をPETで可視化することに、世界に先駆けて成功し、アミロイドのイメージングも、普及性の高いSPECTのプロープを開発しえた。神経炎症イメージングとして、トランスロケータタンパク（TSPO）の新規PETプロープ開発を実現させ、TSPOが中枢ステロイド産生に中心的役割を担うことも明らかにした。神経伝達PETとして、代謝賦活型グルタミン酸受容体、AMPA受容体、ヒスタミンH3受容体プロープ開発とPETを成し得た。脳内に発現させた受容体型レポーターのPETと、同受容体による神経機能制御を実現した。

研究成果の概要（英文）：We provided the first successful demonstration of in-vivo PET imaging of tau protein lesions in diverse neurological disorders. A new, widely available SPECT tracer for amyloid-beta peptide aggregates was also developed and applied to animal models. Novel radioprobes for translocator protein (TSPO), a biomarker for neuroinflammation, enabled high-contrast PET imaging, and essential roles of TSPO in neurosteroid production were revealed using knockout and transgenic models. Progresses in neurotransmission PET imaging in this project include development of imaging agents for metabotropic glutamate receptors, AMPA receptors and histamine H3 receptors. We also enabled reporter imaging in the brains of living rodents and monkeys by visualizing Designer Receptors Exclusively Activated by Designer Drugs (DREADD), along with chemogenetic controls of neuronal activities via DREADD systems.

研究分野：神経科学

キーワード：神経科学 生体分子 認知症 脳疾患研究 薬学

1. 研究開始当初の背景

神経系の恒常性維持や疾患の発症機構として、当該新学術領域では脳内環境の恒常性維持とその破綻という新しい概念を提唱している。すなわち 神経細胞の恒常性維持に必要な(a) タンパク分解系による異常タンパクの蓄積防止、(b) ミトコンドリアなどのオルガネラの機能保持と品質管理、(c) 神経細胞特有の突起と末端における伝達機能、(d) カルシウムシグナリングのバランスが、相互促進する形で障害をきたし、神経外環境において毒性シグナルの増加と神経傷害性グリアの活性化を連鎖的に誘発し、さらに周辺の神経細胞において恒常性維持の破綻が生じると考えている。研究代表者らは、核磁気共鳴撮影 (MRI) およびポジトロン断層撮影 (PET) によりアルツハイマー病中核病理であるアミロイドβペプチド(Aβ)とタウタンパク蓄積、および神経免疫担当細胞であるミクログリアの毒性転換を、疾患モデル動物で世界に先駆けて生体で可視化することに成功し、この技術を活用して異常タンパク蓄積が神経傷害性ミクログリアを誘導する様子や、こうした「悪玉化」したミクログリアが神経変性と異常タンパク蓄積をさらに加速する病態を明らかにした。MRI や PET のような分子イメージングにより、神経細胞内の恒常性維持を担う主要プロセスや、神経外環境の鍵分子を網羅的にモニタリングし(マルチプロセス・モニタリング) これらがいかなる相互作用を有するかを時空間的な相関解析を通じて解明できる。

2. 研究の目的

本研究では神経変性疾患モデルマウスと各種 PET プローブを利用して、神経細胞内の恒常性維持とその障害の鍵となるプロセスを生体脳で捉え、マルチプロセス・モニタリングによりプロセス間の因果関係を明らかにする。また、神経外環境においてグリア細胞の毒性変換マーカーや毒性因子受容体を可視化し環境アセスメントを実現することで、環境の破綻と毒性増加が空間的に伝播する状況を経時的に解析する。加えて神経細胞内メカニズムと神経外環境のクロストークを可視化し、神経細胞傷害の空間的拡大に神経外環境がどのように関わるかを解明する。

3. 研究の方法

(1) 毒性因子の可視化：モデルマウスひいてはアルツハイマー病をはじめとする認知症患者で、Aβ およびタウの蓄積を PET により可視化し、蓄積の空間的伝播や、タウと Aβ の相互作用を明らかにする。

(2) 脳内環境制御分子の可視化：Translocator protein (TSPO) がミクログリアの毒性転換のマーカーとなることを利用して、炎症性ミクログリアで増加する TSPO を高感度で可視化する PET プローブを開発す

る。TSPO の PET イメージングにより、認知症モデルマウスにおける A およびタウ病態と、神経炎症の相互作用を明らかにする。さらに TSPO の脳内環境制御因子としての役割を調べる。

(3) 神経内外の恒常性維持と破綻機構を網羅するイメージングシステムの構築：興奮性神経毒性による恒常性破綻に着目し、グルタミン酸神経伝達受容体の PET イメージングを、モデル動物ひいてはヒトで実現する。受容体のシナプスにおける局在様式を、薬剤負荷時の PET イメージングを通じて解析する。特定の細胞を可視化し、その興奮性を制御する手段として、受容体型レポーターである Designer Receptors Exclusively Activated by Designer Drugs (DREADD) の PET イメージングと、同受容体を通じた chemogenetic な細胞活性制御を実現する。

4. 研究成果

(1) 毒性因子の可視化：脳内環境汚染物質である神経毒性因子として、アルツハイマー病をはじめとする各種神経変性疾患で脳内に蓄積するタウタンパクの凝集体を、新規イメージング薬剤 PBB3 を用いて PET によりモデルマウスひいてはヒトの生体で可視化することに、世界に先駆けて成功した (Neuron 2013; 特許登録)。これにより、タウが Aβ とは独立に加齢に伴い蓄積することと、Aβ はタウの蓄積部位の拡大を加速し、アルツハイマー病発症に導く作用があることが示された。PBB3 は蛍光物質でもあることから、モデルマウスの生体二光子レーザー顕微鏡にも利用された。この技術によって、個々のタウ病変を長期間にわたってモニタリングすることが可能となった。その結果、タウ病変の新生速度や、タウ病変を有する神経細胞の消滅速度の計測が実現した。

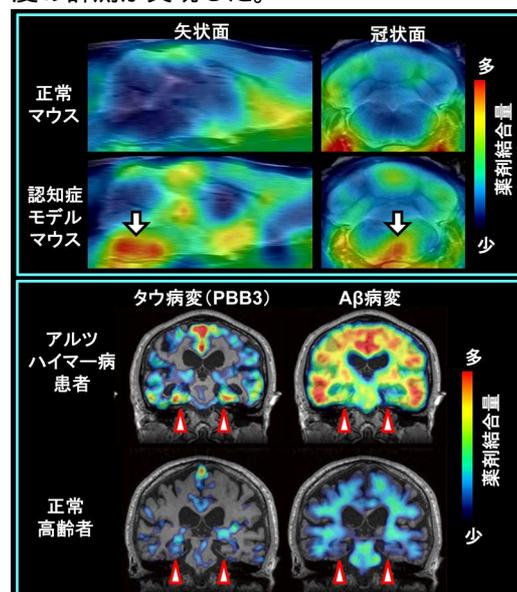


図1 新規プローブ PBB3 を用いた、モデルマウスおよびヒトにおけるタウ PET イメージング

タウと並んでアルツハイマー病の毒性因子と考えられている β については、ポジロン断層撮影以上に普及性の高い単一光子放射断層撮影 (SPECT) で β 凝集体の生体イメージングを可能にする、新規放射性薬剤を富士フィルム RI ファーマ株式会社との共同研究により開発した (J Nucl Med 2015)。

(2) 脳内環境制御分子の可視化：認知症モデルマウスの TSP0 を PET で可視化することを通じて、TSP0 がミクログリアの毒性転換のマーカーであることと、TSP0 が陽性となる炎症性ミクログリアの増加は、 β よりもタウと密接なつながりがあることが示された (J Neurosci 2011)。TSP0 は放射性リガンドを用いて PET で画像化できるが、これまでの PET プロブは TSP0 検出のコントラストがあまり高くなく、TSP0 遺伝子多型の影響を受けることが知られていた。本研究では TSP0 遺伝子多型の影響を受けず、しかも高コントラストで TSP0 の増加を検出する新規リガンド FEBMP の開発に成功した (Theranostics 2015)。

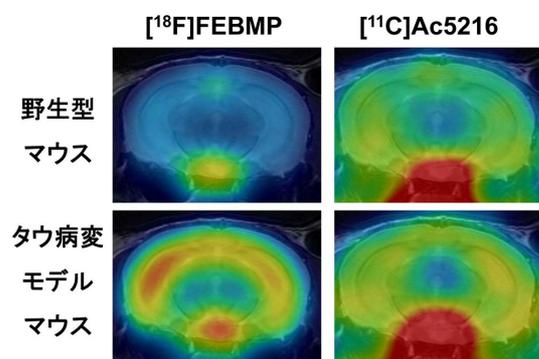


図2 新規 TSP0 プロブ FEBMP と既存プロブ Ac5216 による PET イメージング

(3) 神経内外の恒常性維持と破綻機構を網羅するイメージングシステムの構築：グルタミン酸神経伝達の PET イメージングとして、代謝賦活型グルタミン酸受容体 5 型 (mGluR5) の新規 PET プロブ開発を行い、モデルマウスひいてはヒトで PET による受容体可視化を可能にした。AMPA 受容体に関して、新規プロブをエーザイ株式会社との共同研究で開発し、モデルマウスひいてはヒトでイメージングを実現した (J Med Chem 2015; 特許出願)。AMPA 受容体プロブは、同じ領域の公募班員である横浜市立大学の高橋教授らとの連携でも開発を進め、モデルマウスとヒトでイメージングを実施した。さらにグルタミン酸やドーパミン神経伝達を調節する、ヒスタミン H3 受容体についても、PET プロブを大正製薬との共同で開発し、げっ歯類およびヒトでの PET イメージングに成功した (Eur J Nucl Med Mol Imaging 2016; 特許出願)。神経興奮性の制御に関しては、DREADD の PET イメージングと (特許出願) マウス・サルでの DREADD を用いた神経機能制御を実現した (Nat Neurosci 2016)。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 56 件)

- 1) Kimura, Y., 他 7 名, Higuchi, M., Zhang, M. R., Suhara, T. (2016) A new method to quantify tau pathologies with ¹¹C-PBB3 PET using reference tissue voxels extracted from brain cortical gray matter. EJNMMI Res. 6: 24.
- 3) Kimura, Y., 他 12 名, Higuchi, M., Zhang, M. R., Suhara, T. (2016) [¹¹C]TASP457, a novel PET ligand for histamine H3 receptors in human brain. Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging Published online, DOI:10.1007/s00259-016-3332-6
- 4) Koga, K., Maeda, J., 他 11 名, Suhara, T., Higuchi, M. (2016) Development of TASP0410457 (TASP457), a novel dihydroquinolinone derivative as a PET radioligand for central histamine H3 receptors. EJNMMI Res. 6: 11.
- 5) Eldrige, M. A. G., 他 6 名, Higuchi, M., Minamimoto, T., Richmond, B. J. (2016) Chemogenetic disconnection of monkey orbitofrontal and rhinal cortex reversibly disrupts reward value. Nat. Neurosci. 19: 37-39.
- 6) Oi, N. 他 5 名, Maeda, J., Minamimoto, T., Zhang, M. R., Suhara, T., Higuchi, M. (2015) Development of novel PET probes for central 2-amino-3-(3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolyl)propionic acid (AMPA) receptors. J. Med. Chem. 58: 8444-8462.
- 9) Ji, B., 他 12 名, Suhara, T., Higuchi, M. (2015) Distinct binding of amyloid imaging ligands to unique amyloid-deposited in the presubiculum of Alzheimer's disease. J. Neurochem. 135: 859-866.
- 10) Kimura, Y., 他 11 名, Suhara, T., Higuchi, M. (2015) PET quantification of tau pathology in human brain with ¹¹C-PBB3. J. Nucl. Med. 56: 1359-1365.
- 11) Tiwari, A., 他 10 名, Maeda, J., Higuchi, M., Wang, F., Zhang, M. R. (2015) [¹⁸F]FEBMP: Positron emission tomography imaging of TSP0 in a model of neuroinflammation in rats, and in vitro autoradiograms of the human brain. Theranostics 5: 961-969.
- 12) Endo, T., 他 8 名, Suhara, T., Higuchi, M. (2015) Quantification of central substance P receptor occupancy by aprepitant using small animal positron emission tomography. Int. J. Neuropsychopharmacol. 18: 1-10.

- 14) Chen, C. J. 他 16 名, Suhara, T., Higuchi, M., Yamada, K., Ji, B. (2015) In vivo SPECT imaging of amyloid- β deposition with radioiodinated imidazo[1,2-a]pyridine derivative DRM106 in a mouse model of Alzheimer's disease. *J. Nucl. Med.* 56: 120-126.
- 15) Chen, C. J., 他 13 名, Higuchi, M., Suhara, T., Yamada, K., Ji, B. (2014) Synthesis and biological evaluation of novel radioiodinated imidazopyridine derivatives for amyloid- imaging in Alzheimer's disease. *Bioorg. Med. Chem.* 22: 4189-4197.
- 16) Hashimoto, H., 他 15 名, Suhara, T., Higuchi, M., Zhang, M. R. (2014) Radiosynthesis, photoisomerization, biodistribution, and metabolite analysis of ^{11}C -PBB3 as a clinically useful PET probe for imaging of tau pathology. *J. Nucl. Med.* 55: 1532-1538.
- 17) Hattori, S., 他 4 名, Suhara, T., Higuchi, M., Miyakawa, T. (2013) In vivo evaluation of cellular activity in CaMKII heterozygous knockout mice using manganese-enhanced magnetic resonance imaging (MEMRI). *Front. Integr. Neurosci.* 7: 76.
- 23) Maruyama, M., Shimada, H., Suhara, T., Shinotoh, H., Ji, B., Maeda, J., 他 18 名, Higuchi, M. (2013) Imaging of tau pathology in a tauopathy mouse model and in Alzheimer patients compared to normal controls. *Neuron* 79: 1094-1108.
- 24) Ji, B., 他 9 名, Suhara, T., Higuchi, M. (2013) Assessment of radioligands for PET imaging of cyclooxygenase-2 in an ischemic neuronal injury model. *Brain Res.* 1533: 152-162.
- 25) Oi, N., 他 7 名, Suhara, T., Higuchi, M. (2013) Synthesis and evaluation of novel radioligands for positron emission tomography imaging of the orexin-2 receptor. *J. Med. Chem.* 56:6371-6385.
- 26) Kanekiyo, K., 他 3 名, Maeda, J., Higuchi, M., Kizuka, Y., Korekane, H., Matsuo, I., Honke, K., Taniguchi, N. (2013) Loss of branched O-mannosyl glycans in astrocytes accelerates remyelination. *J. Neurosci.* 33: 10037-010047.
- 28) Takao, K., 他 10 名, Maeda, J., 他 8 名, Higuchi, M., Usuda, N., Suhara, T., Nishi, A., Matsumoto, M., Ishii, S., Miyakawa, T. (2013) Deficiency of Schnurri-2, an MHC enhancer binding protein, induces mild chronic inflammation in the brain and confers molecular, neuronal, and behavioral phenotypes related to schizophrenia. *Neuropsychopharmacology* 38: 1409-1425.
- 29) Iwata, N., 他 5 名, Higuchi, M., Staufenbiel, M., Muramatsu, S., Saido, T. C. (2013) Global brain delivery of neprilysin gene by intravascular administration of AAV vector in mice. *Sci. Rep.* 3: 1472.
- 30) Yamada, M., 他 10 名, Higuchi, M., Suhara, T. (2013) Superiority illusion arises from resting-state brain networks modulated by dopamine. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* 110:4363-4367.
- 31) Harada, R., 他 4 名, Higuchi, M., Yoshikawa, T., Arai, H., Iwata, R., Kudo, Y., Yanai, K. (2013) Comparison of the binding characteristics of [^{18}F]THK-523 and other amyloid imaging tracers to Alzheimer's disease pathology. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* 40: 125-132.
- 33) Saijo, T., Maeda, J., 他 7 名, Suhara, T., Higuchi, M. (2012) Presynaptic selectivity of a ligand for serotonin 1A receptors revealed by in vivo PET assays of rat brain. *PLoS ONE* 7: e42589.
- 35) Kobayashi, K., Haneda, E., Higuchi, M., Suhara, T., Suzuki, H. (2012) Chronic fluoxetine selectively upregulates dopamine D1-like receptors in the hippocampus. *Neuropsychopharmacology* 37: 1500-1508.
- 37) Yasuno, F., Kosaka, J., Ota, M., Higuchi, M., 他 6 名, Suhara, T. (2012) Increased binding of peripheral benzodiazepine receptor in mild cognitive impairment-dementia converter measured by positron emission tomography with [^{11}C]DAA1106. *Psychiatry Res.* 203: 67-74.
- 38) Higuchi, M., 他 4 名, Maeda, J., Ji, B., Ono, M., Staufenbiel, M., Suhara, T., Saido, T. C. (2012) Mechanistic involvement of the calpain-calpastatin system in Alzheimer neuropathology. *FASEB J.* 26: 1204-1217.
- 40) Yamasaki, T., Fujinaga, M., Maeda, J., 他 6 名, Higuchi, M., Suhara, T., Fukumura, T., Zhang, M. R. (2012) Imaging for metabotropic glutamate receptor subtype 1 in rat and monkey brains using PET with [^{18}F]FITM. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* 39: 632-641.
- 41) Fujinaga, M., Maeda, J., 他 7 名, Higuchi, M., Suhara, T., Fukumura, T., Zhang, M. R. (2012) Characterization of 1-(2-[^{18}F]fluoro-3-pyridyl)-4-(2-isopropyl-1-oxoisindoline-5-yl)-5-methyl-1H-1,2,3-triazole, a PET ligand for imaging the metabotropic glutamate receptor type 1 in rat and monkey brains.

- J. Neurochem. 121: 115-124.
- 42) Takeuchi, H., Iba, M., Inoue, H., Higuchi, M., 他 4 名, Miyakawa, T., Sahara, T., Trojanowski, J. Q., Lee, V. M. Y., Takahashi, R. (2011) P301S mutant human tau transgenic mice manifest early symptoms of human tauopathies with dementia and altered sensorimotor gating. PLoS ONE 6: e21050.
- 43) Maeda, J., 他 14 名, Sahara, T., Higuchi, M. (2011) In vivo positron emission tomographic imaging of glial responses to amyloid- β and tau pathologies in mouse models of Alzheimer's disease and related disorders. J. Neurosci. 31: 4720-4730.

〔学会発表〕(計 13 件)

- 1) Higuchi M, "Conformational heterogeneity of tau lesions captured by PET and its clinical significance", 14th Athens/Springfield Symposium on Advances in Alzheimer Therapy, March 9-12, 2016.
- 2) Higuchi M, "Imaging tau: lessons learned relevant to alpha-synuclein imaging", Workshop on In vivo molecular imaging of alpha-synuclein, Stockholm, Sweden, December 18, 2015.
- 3) Higuchi M, "New Neuroimaging Tools For FTD Syndromes And Their Clinical Application", Asia pacific FTD & MND Meeting, Sydney, Australia, October 8-9, 2015.
- 4) Higuchi M, "Tracking tau pathogenesis in living brains", 9th International Congress of the Asian Society Against Dementia, Kumamoto, Kumamoto, September 14-16, 2015.
- 5) Higuchi M, "Novel proteinopathy based tracers for diagnosis" (Plenary Lecture), 19th International Congress of Parkinson's Disease and Movement Disorders, San Diego, USA, June 14-18, 2015.
- 6) Higuchi M, "Translational Molecular Imaging of Alzheimer's disease and related neurodegenerative disorders", Seminar at Neurocentrum Ulm, Ulm, Germany, December 8, 2014.
- 7) Higuchi M, "Imaging distinct strains of tau fibrils in Alzheimer's disease and related neurodegenerative disorders", Brain Conference 2014, Seoul, Korea, November 7, 2014.
- 8) Higuchi M, "Imaging diverse tau fibril strains in tauopathies", 9th International Conference on Frontotemporal Dementias, Vancouver, Canada, October 23-25, 2014.

- 9) Higuchi M, "Tau PET imaging in animal models and humans", Alzheimer's Association International Conference 2014, Copenhagen, Denmark, July 12-17, 2014.
- 10) Higuchi M, "Visualization of reciprocal links between inflammation and neurodegenerative pathogenesis in Alzheimer's disease", International Symposium on Inflammation and Disease, Taipei, Taiwan, September 8-9, 2011.

〔図書〕(計 3 件)

- 1) 佐原成彦、樋口真人 (2015) タウ PET イメージングによる認知症研究の新展開、認知症の脳画像診断 早期検出と鑑別をめざして、西村恒彦・他編、メジカルビュー社 pp162-167
- 2) 樋口真人 (2014) 毒性因子の伝達機構を標的とした脳内環境の分子イメージング、高橋良輔・他編、メディカルドゥ社 pp170-177
- 3) 丹羽文俊、島田斉、樋口真人、須原哲也 (2014) 新しい画像診断 - アミロイド・タウイメージング -, 最新医学別冊 新しい診断と治療の ABC 82/神経 3 アルツハイマー型認知症 改訂第 2 版、田平武編、最新医学社 pp109-118

〔産業財産権〕

出願状況 (計 2 件)

名称: H3 受容体の放射性標識リガンド
 発明者: 船越竹雄、古閑一実、大道満里、中村年男、須原哲也、福村利光、破入正行、樋口真人、前田純
 権利者: 同上
 種類: 特許
 番号: 特願 2012-194480
 出願年月日: 2012 年 9 月 4 日
 国内外の別: 国内特許出願

名称: [^{11}C] and [^{18}F] Labeled 1,3-Diphenyl-5-(pyrimidin-2-yl)-pyridin-2(1H)-one Derivatives and Their Use For Imaging of The AMPA Receptor
 発明者: 大井紀人、山本昇、鈴木成教、中谷陽介、須原哲也、張明榮、福村利光、樋口真人、南本敬史、前田純、徳永正希、永井裕司
 権利者: 同上
 種類: 特許
 番号: PCT/JP2014/060233
 出願年月日: 2014 年 2 月 4 日
 国内外の別: 国際特許出願

取得状況 (計 1 件)

名称: 脳内に蓄積したタウタンパク質をイメージングするための新規化合物
 発明者: 樋口真人、須原哲也、丸山将浩、張

明栄、島田齊
権利者：同上
種類：特許
番号：第 5422782 号
取得年月日：2013 年 11 月 29 日
国内外の別：国内特許

〔その他〕
ホームページ等
<http://www.nirs.go.jp/rd/bfi/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

樋口 真人 (HIGUCHI, Makoto)
放射線医学総合研究所・分子イメージング
研究センター・チームリーダー
研究者番号：10373359

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

須原 哲也 (SUHARA, Tetsuya)
放射線医学総合研究所・分子イメージング
研究センター・プログラムリーダー
研究者番号：90216490

前田 純 (MAEDA, Jun)
放射線医学総合研究所・分子イメージング
研究センター・主任研究員
研究者番号：30415426

吉山 容正 (YOSHIYAMA, Yasumasa)
独立行政法人国立病院機構・千葉東病院臨
床研究センター・室長
研究者番号：50292701