

令和元年6月14日現在

機関番号：30110

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K10291

研究課題名(和文)EPRイメージング法による新規Theranosticsプローブの開発研究

研究課題名(英文)Development of novel theranostics probes with EPR imaging

研究代表者

江本 美穂 (EMOTO, Miho)

北海道医療大学・医療技術学部・講師

研究者番号：10578735

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：画像診断領域や分子イメージング領域では、治療Therapyと診断Diagnosticsを組み合わせるセラノスティクス(Theranostics)の実現が期待され、診断・治療・予後観察など、医療における一連の流れをセラノスティクスプローブを用いることで、個別化医療を目的とした新しい医療分野の流れである。磁気共鳴分野で利用可能なセラノスティクスのための新規プローブ開発をし、酸化ストレス状態を可視化できるEPRイメージング法により、炎症モデルマウスの脳内で生成される活性酸素種の抑制(治療としての側面)と、脳内酸化ストレス状態の画像化(診断としての側面)を同時に行える新規プローブの開発を行った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究成果によるセラノスティクスの為のプローブを開発・活用することで、個々の病状の観察と、その人にとって最もふさわしい治療を一体化して行うことを目的とした、医療における新しい流れつくる足がかりとなる。この研究により、脳内炎症モデル動物のROS生成状態や分布状況が時系列で解析可能であり、さらに抗炎症作用効果が脳内ラジカル濃度の変化として現れる事が期待される。このようなハイブリッド薬剤の効果を脳内のラジカル量やラジカル分布として計測、画像化する試みは世界初であり、成功すれば医学・薬学界に大きく貢献できるものと考えられる。

研究成果の概要(英文)：The word 'theranostic' was coined in 2002 to describe a compound that exhibits both therapeutic and diagnostic capabilities. Since then, numerous nanoparticle-based theranostics have been created that can be used for hyperthermia or radiation therapy, for example, and/or for the delivery of chemotherapeutic drugs and diagnostic imaging agents. Theranostic probes provide both therapeutic and diagnostic imaging capabilities in one molecule and show significant promise for use in magnetic resonance imaging (MRI) examinations. The present study describes for the first time the synthesis and utility of nitroxide-based contrast agents exhibiting a non steroidal anti-inflammatory drug effect.

研究分野：磁気共鳴

キーワード：EPRイメージング Theranostics 抗酸化 抗炎症作用

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

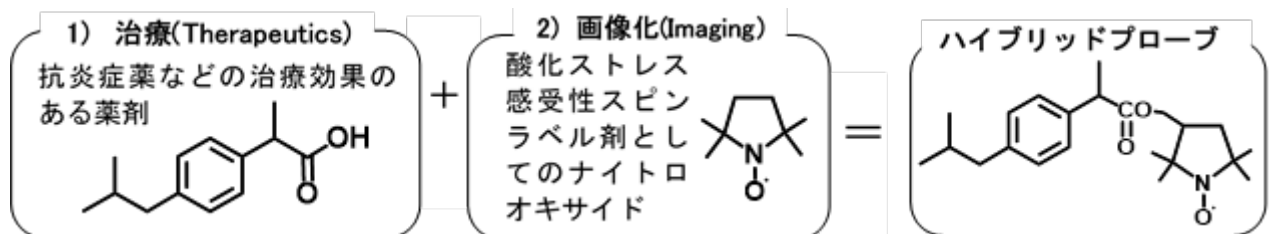
1. 研究開始当初の背景

時々刻々と変化する生体内分子の動的な変化を、そのままの状態、非侵襲的に計測可能な分子イメージング法は、生命の統合的な理解を深め、より現実に即した生命現象の解明を可能とするものである。さらには早期診断、創薬や病態進行のモニタリングなどでの応用が期待される。分子イメージング法の一つに電子常磁性共鳴 (electron paramagnetic resonance : EPR) イメージング法がある。これは、常磁性物質の空間分布を画像化できる手法で、活性酸素種 (Reactive oxygen species: ROS) などの発生を、常磁性物質であるナイトロオキシドをイメージングプローブとして利用し画像化するものである。EPR 画像の各ピクセルにおける画像強度の経時変化から、ナイトロオキシドの消失反応速度定数が算出でき、その計算結果を 2 次元画像にマッピングしたものが、酸化還元マップ(レドックスマップ)と呼ばれるものである。レドックスマップにより、どの部位で酸化ストレスに変化が生じたのかを画像から判断することが出来る。

また、近年、治療 (Therapeutics) と診断 (Diagnostics) を同時に行うことの出来るセラノスティクス (Theranostics) という手法の実現が期待されている。これは診断・治療・予後観察など医療における一連の流れを、セラノスティクスの為のプローブを活用することで、個々の病状の観察と、その人にとって最もふさわしい治療を一体化して行うことを目的とした、医療における新しい流れである。

2. 研究の目的

セラノスティクスというハイブリッドプローブが出来れば、1) 抗炎症薬として作用する、2) ナイトロオキシドは酸化還元状態に依存して常磁性から反磁性体に変化することで酸化還元(レドックス)状態の指標となるため、レドックスバランスの変化が検出可能となる、3) ナイトロオキシド自体が抗炎症作用を持つ、4) 抗炎症薬単体では親水性のため血液脳関門 (Blood-brain barrier: BBB) 透過性のないものでも、ハイブリッドプローブにすることで BBB 透過性を持たせることが可能となる、5) ハイブリッドプローブなのでこれらの事が 1 度の薬剤投与で可能となる、といった複数の特性を持ち、『治療 + 診断』を同時に行う事が出来る画期的なものになると考えられる。本研究のセラノスティクスのためのプローブ (= ハイブリッドプローブ) は下図の概念図により表すことが出来る。



よって、本研究では脳内炎症モデルマウスにセラノスティクスの為の抗炎症剤 ナイトロオキシドハイブリッドプローブを投与し、脳内の酸化ストレス動態の観察と抗炎症作用の評価の双方を同時に行う事を着想した。

3. 研究の方法

脳内炎症モデルマウスにセラノスティクスの為の抗炎症剤 ナイトロオキシドハイブリッドプローブを投与し、脳内の酸化ストレス動態の観察と抗炎症作用の評価の双方を同時に行った。

) 新規ハイブリッドプローブ合成グループ(山形大・佐藤班) : 非ステロイド系の抗炎症薬とナイトロオキシドのハイブリッドプローブの合成を行った。

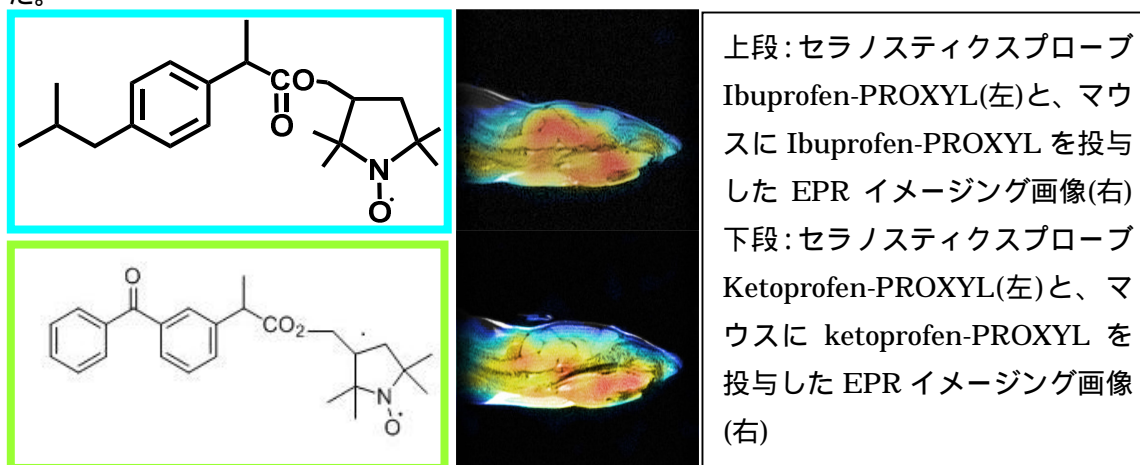
) 脳炎モデルマウスを用いた EPR イメージンググループ(札幌医大・江本班) : マウスに lipopolysaccharide (LPS) を腹腔内投与し、炎症モデルマウスを作成する。LPS 処置後、ハイブリッドプローブをマウス尾静脈より投与し、酸化ストレス状態の観察と抗炎症作用の評価を行った。

初年度の平成 28 年度は合成グループによるセラノスティクスのデザイン検討および合成を行い、合成されたセラノスティクスを用い、EPR イメージング法によりまずは脳内移行性の検討を行った。2 年目以降はセラノスティクスにもちいるナイトロオキシドの基本構造の選択を平成 28 年度とは変えて、元々は BBB を透過しない構造のナイトロオキシドに抗炎症薬を付ける事でセラノスティクスプローブとして BBB を透過できるような新規物質の合成に着手し、実効性の検証を EPR イメージング法にて行った。

4. 研究成果

初年度に BBB 透過性ナイトロオキシドをベースとしたセラノスティクスを複数デザイン、合成し、そのいくつかでマウスを用いた実証実験を行った。その結果、BBB 透過性を示しかつセラノスティクスとしても機能する、つまりは、抗炎症作用を有する新規セラノスティクスを合成することに成功した。翌年度からは平成 28 年度の合成、及びイメージングの結果から、よ

りハイブリッドプローブに適したナイトロオキシドの探索を行った。セラノスティクスに適うような構造を持つ、複数のプローブをデザインし、実際に合成を試みた。得られたセラノスティクスプローブをマウスに投与し、EPR イメージングシステムを用いて画像化の検証を行った。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 7 件)

Manabe T, Matsumura A, Yokokawa K, Saito T, Fujikura M, Iwahara N, Matsushita T, Suzuki S, Hisahara S, Kawamata J, Suzuki H, Emoto MC, Fujii HG, Shimohama S.

Evaluation of Mitochondrial Oxidative Stress in the Brain of a Transgenic Mouse Model of Alzheimer's Disease by in vitro Electron Paramagnetic Resonance Spectroscopy.

J Alzheimers Dis. 2019;67(3):1079-1087.

doi: 10.3233/JAD-180985.

Hirotsuda G, Fujii, Miho C. Emoto and Hideo Sato-Akaba. Brain Redox Imaging Using In Vivo Electron Paramagnetic Resonance Imaging and Nitroxide Imaging Probes. *magnetochemistry* 2019;5(11)

doi:10.3390/magnetochemistry5010011

Emoto MC, Sato-Akaba H, Matsuoka Y, Yamada KI, Fujii HG. Non-invasive mapping of glutathione levels in mouse brains by in vivo electron paramagnetic resonance (EPR) imaging: Applied to a kindling mouse model. *Neuroscience Lett.*2019;690:6-10

doi: 10.1016/j.neulet.2018.10.001

Emoto MC, Sasaki K, Maeda K, Fujii HG, Sato S. Synthesis and Evaluation as a Blood-Brain Barrier-Permeable Probe of 7-N-(PROXYL-3-yl-methyl)theophylline. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*. 2018;66(9):887-891.

doi: 10.1248/cpb.c18-00333.

Sato-Akaba H, Emoto MC, Hirata H, Fujii HG. Design and testing of a 750MHz CW-EPR digital console for small animal imaging. *J Magn Reson.* 2017;284:48-58.

doi: 10.1016/j.jmr.2017.09.008.

Emoto MC, Matsuoka Y, Yamada KI, Sato-Akaba H, Fujii HG. Non-invasive imaging of the levels and effects of glutathione on the redox status of mouse brain using electron paramagnetic resonance imaging. *Biochem Biophys Res Commun*

2017;485(4):802-806

doi: 10.1016/j.bbrc.2017.02.134.

Wang X, Emoto M, Miyake Y, Itto K, Xu S, Fujii H, Hirata H, Arimoto H. Novel blood-brain barrier-permeable spin probe for in vivo electron paramagnetic resonance imaging. *Bioorg Med Chem Lett.* 2016;26(20):4947-4949

doi: 10.1016/j.bmcl.2016.09.010.

〔学会発表〕(計 12 件)

藤井博匡、江本美穂、赤羽英夫、松岡悠太、山田健一 EPR イメージング法によるグルタチオンマッピング: 神経疾患動物への応用を目指して 第 57 回電子スピンサイエンス学会年会 2018 年 11 月 1~3 日

Hirotsuda Fujii, Miho Emoto, Yuta Matsuoka, Ken-ichi Yamada, Hideo Sato-Akaba Non-invasive mapping of glutathione levels in mouse brains by electron paramagnetic resonance (EPR) imaging. EPR イメージング法による脳内グルタチオンのマッピング 第 46 回日本磁気共鳴医学会大会(2018)9 月 7~9 日

Miho Emoto, Hideo Akaba-Sato, Hirotsuda Fujii Visualization of the effect of aging for oxidative stress in mouse brain by EPR imaging system. EPR イメージング法を用いたマウス脳内酸化ストレス状態の加齢による影響の可視化 第 46 回日本磁気共鳴医学会大会(2018)

9月7~9日

Hirotsada Fujii, Miho Emoto, Yuta Matsuoka, Ken-ichi Yamada, Hideo Sato-Akaba. Non-invasive mapping of glutathione levels in mouse brains by electron paramagnetic resonance (EPR) imaging. JOINT ANNUAL MEETING ISMRM-ESMRMB 2018. 16-21 June

Hirotsada Fujii, Miho Emoto, Yuta Matsuoka, Ken-ichi Yamada, Hideo Sato-Akaba Molecular imaging of glutathione in mouse brain 脳内グルタチオンの分子イメージング 第45回日本磁気共鳴医学会大会(2017) 9月14日~16日

M.C. Emoto, Hideo Sato-Akaba, H.G. Fujii, Brain redox imaging using blood-brain-barrier nitroxides by digital EPR imaging system 第25回国際磁気共鳴医学会(2017) 22-27 April

Hirotsada G Fujii, Miho C Emoto, Yuta Matsuoka, Ken-ichi Yamada. In Vivo Brain Redox Status in Diethylmaleate-Treated Mice Using EPR Imaging SfrBM's 23rd Annual Meeting(2016) 16-19 Nov

藤井博匡、江本美穂、佐藤慎吾 マウス脳内 REDOX イメージング用 Theranostics プロブの開発 第44回日本磁気共鳴医学会大会(2016) 9月9日~11日

FUJII G Hirotsada, EMOTO C Miho, SATO Shingo, Development of blood-brain Barrier permeable nitroxide-based theranostics probes. Drug Discovery and Therapy World Congress 2016 22-25 August

FUJII G Hirotsada, EMOTO C Miho, SATO Shingo, Brain Redox imaging using nitroxide-based theranostic Probes in septic mice 第17回 International Conference on Oxidative Stress Reduction, Redox Homeostasis and Antioxidants (2016) 13-15 June

M.C. Emoto, S Sato, H.G. Fujii Development of nitroxide-based theranostics probe for brain research by MRI 第24回国際磁気共鳴医学会(2016) 5-13 May

M.C. Emoto, Hideo Sato-Akaba, H.G. Fujii, Does Tempol enter the brain with an unpaired electron? 第24回国際磁気共鳴医学会(2016) 5-13 May

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

出願状況 (計 1 件)

名称：電子スピン共鳴装置

発明者：赤羽 英夫、藤井 博匡、江本 美穂

権利者：赤羽 英夫、藤井 博匡、江本 美穂

種類：特許

番号：2018 - 155518

出願年：2017

国内外の別：国内

[その他]

ホームページ等

<http://www.hoku-iryu-u.ac.jp/~emoto/>

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号 (8桁)：

(2)研究協力者

研究協力者氏名：佐藤 慎吾

ローマ字氏名：SATO, Shingo

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。