

令和 4 年 5 月 25 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2021

課題番号：17K10357

研究課題名(和文) 脳神経変性疾患検出を目的としたグルタミン酸トランスポーターイメージング剤の開発

研究課題名(英文) Development of Glutamate Transporter Imaging Agents for Detection of Neurodegenerative Diseases of the Brain

研究代表者

山口 博司 (Yamaguchi, Hiroshi)

名古屋大学・アイソトープ総合センター・准教授

研究者番号：00450841

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、脳神経変性疾患に使用できるグルタミン酸トランスポーター(GLT)PETイメージング剤の開発を目的として実施した。これまでグルタミン酸受容体イメージング剤はいくつか開発されているが、GLTへの結合するような神経疾患早期検出イメージング剤は開発されていない。一方、GLTのグルタミン酸取り込み阻害作用を有する薬剤がいくつか報告されている。本研究ではこれら薬剤について計算化学的手法を用いて改変することでグルタミン酸神経伝達に深く関与する機能異常を可視化することができるイメージング剤開発に取り組んだものである。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまで、グルタミン酸神経伝達系においては[11C]ABP688および[11C]ADX88178などのグルタミン酸受容体イメージング剤しか利用されておらず、グルタミン酸トランスポーター(GLT)に結合する有用なPETイメージング剤は開発されていない。GLTは神経間隙において過剰なグルタミン酸の調節に関与している重要なトランスポーターの一種であり、これらを可視化することで神経疾患早期検出に繋がると考えている。また、こうしたイメージング剤は目的としない蛋白への結合の可能性があるが、研究手法に計算化学を用いることでこれらのスクリーニングを実施した点にも新規性があると考えている。

研究成果の概要(英文)：This study was conducted to develop glutamate transporter (GLT) PET imaging agents that can be used in neurodegenerative brain diseases. Although [11C]ABP688 and [11C]ADX88178 have been developed and used as glutamate receptor imaging agents, early detection imaging agents that bind to GLT have not been developed. Tamoxifen (Tam), β -Benzyloxyaspartate (BOA), and Tetrahydrobenzopyran (THP) derivatives have been shown to inhibit GLT glutamate uptake. In this study, we investigated the use of computational chemistry to modify these drugs and develop imaging agents that can visualize functional abnormalities closely related to glutamatergic neurotransmission.

研究分野：放射性医薬品化学

キーワード：PET グルタミン酸トランスポーター イメージング 不斉 クリック反応 18F 標識 計算化学

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

神経変性疾患は脳や脊髄の神経細胞において、ある特定の神経細胞群が徐々に障害を受け脱落してしまう病気である。病態も様々で、認知機能に関係する神経細胞が脱落するアルツハイマーなどの認知症や ALS など運動機能に関係する細胞脱落が知られているが、これら以外にも様々な病態が存在する。しかしながら、未だに明確な原因はわかっていない病態が多く、これらの解決に有効な治療法や治療薬開発が急がれている。

近年、脳変性疾患に対して、fMRI (functional Magnetic Resonance Imaging) や PET (Positron Emission Tomography) などの画像診断法が有効な病態診断に繋がると考え、様々な技術が開発されてきている。これら画像診断法を用いることで、各種疾患の予後や重症度、治療方法の判断に力を発揮するのである。とりわけ PET では受容体やトランスポーターといった特定の蛋白質に結合する薬剤を放射性標識してトレーサー化し、目的とする蛋白の発現量変化や機能変化を高感度で観察することが可能な手法である。

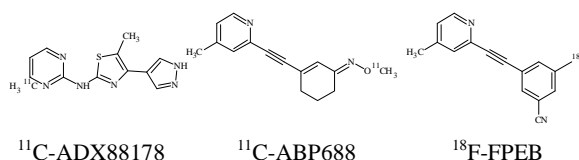
脳における神経伝達物質には様々なものがあるが、グルタミン酸は脳における神経伝達物質の代表的成分の一種である。我々は脳神経変性疾患にグルタミン酸神経伝達系におけるグルタミン酸の代謝変化を観察することは疾患の早期発見に繋がるものと考え本研究に取り組んだ。

2. 研究の目的

本研究は、脳神経変性疾患に使用できるグルタミン酸トランスポーター (GLT) -PET イメージング剤の開発を目的とする。

これまで、グルタミン酸神経伝達系においてはグルタミン酸受容体の可視化を目的として [11C]ADX88178、[11C]ABP688、[18F]FPEB などの PET イメージング剤が開発されてきた (図 1)。

Imaging agents of metabotropic glutamate receptor



Candidate agents for imaging cystine/glutamate

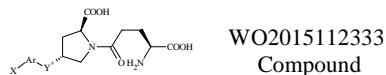


図 1 グルタミン酸神経伝達系における受容体イメージング剤

前シナプスから神経間隙に放出されたグルタミン酸は後シナプス上に発現した受容体に結合し、電気信号として伝わる。一方、GLT は前シナプスや、シナプスを取り巻くアストロサイトに発現し、グルタミン酸再取り込みや、過剰なグルタミン酸の調整をおこなっている。我々はこれら GLT を可視化可能な PET イメージング剤の開発に着目した (図 2)。

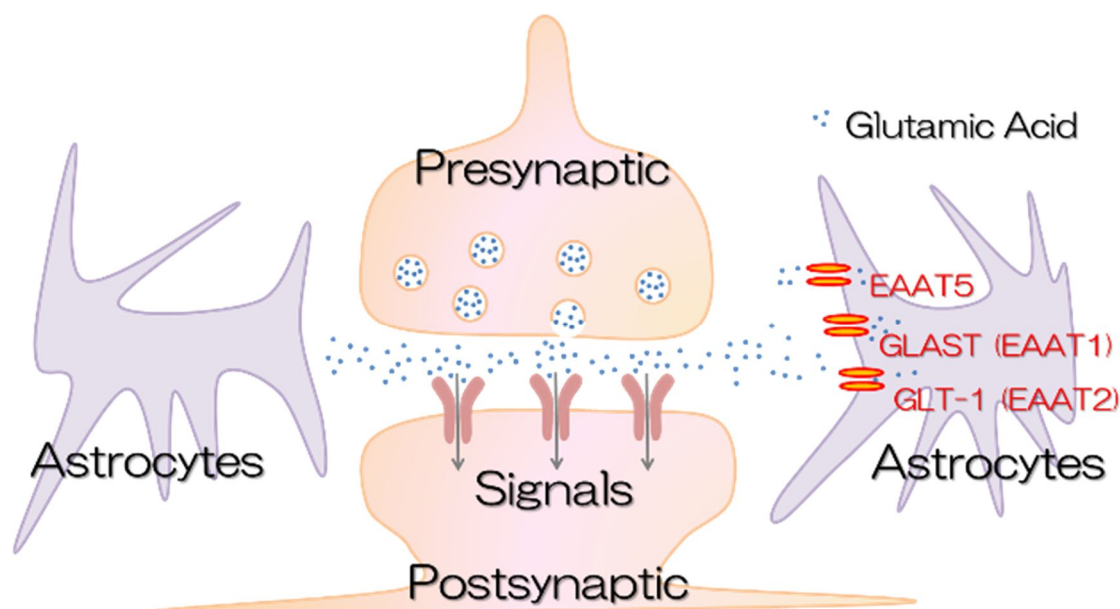


図 2 グルタミン酸神経伝達系の構造と GLT 発現

GLTに結合し、グルタミン酸取り込み阻害作用を有する薬剤としてタモキシフェン (Tam)、-ベンジルオキシアスパラギン酸(BOA)誘導体、テトラヒドロベンゾピラン(THP)誘導体などが知られている(図3)。

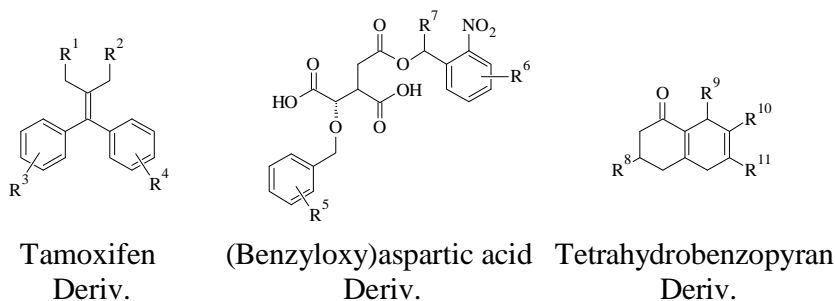


図3 グルタミン酸取り込み阻害作用を示す薬剤

しかしながら、例えば Tam はグルタミン酸取り込み阻害作用を有する一方、エストロゲン受容体 (ER) の部分作用薬でもあり、この受容体を介してステロイド作用を引き起こす事が報告されている。このような標的分子以外への結合は、一般にオフターゲット結合とよばれ、治療薬剤では副作用、イメージング剤ではノイズとなる(図4)。

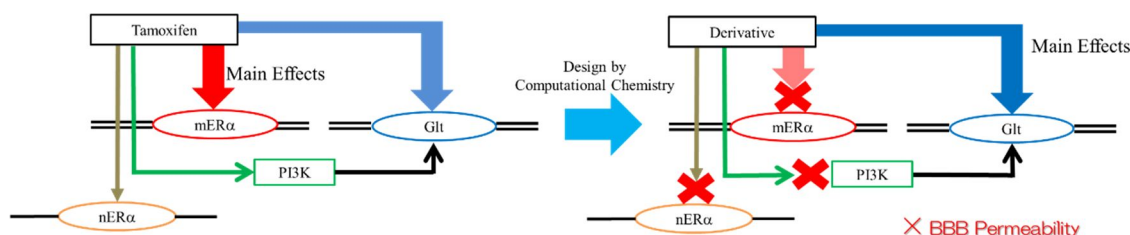


図4 オフターゲット結合の例

本研究では、これらの問題を解決するために、計算化学的手法を用いてオフターゲット結合を除外する構造スクリーニングについても検討を実施することとした。

本研究で、GLTに特異的に結合するイメージング剤を開発できれば、様々な脳変性疾患の早期発見、病態診断に大きな力を発揮する可能性があり、将来的に治療薬、治療法の開発に繋がる大きな意義になると考えた。

3. 研究の方法

(1) *In silico* ドッキングシミュレーションを用いた化合物設計

実際に標識前駆体を合成する前に GLT に結合することが知られている Tam、BOA、THP の各誘導体に標識元素を導入したモデル化合物を構築し、*In silico* ドッキングシミュレーションを用いて化合物設計を実施した(図5)。

(2) 標識前駆体の合成

In silico ドッキングシミュレーションで設計した化合物の標識前駆体合成に取り組んだ。

(3) 前駆体および標識条件の改良

前駆体構造の問題(不斉炭素位置の発生) 標識条件に大幅な変更が必要になり、この改良を実施した。

Molecules Calculated from EAAT1-TBOA Model and GLT-Binding Tracers

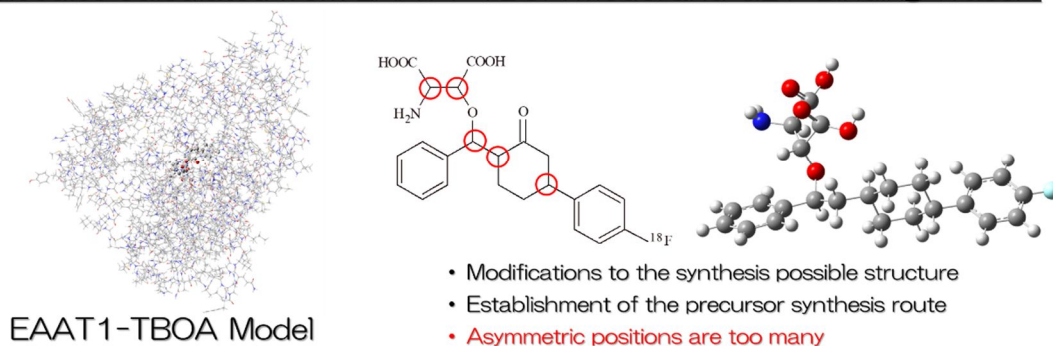


図5 *In silico* ドッキングシミュレーションと理想構造の算出

(4) 標識条件の再構築

Click 反応による標識反応を利用し、構造最適化による不斉炭素位置を減少した標識条件を再構築した(図6)

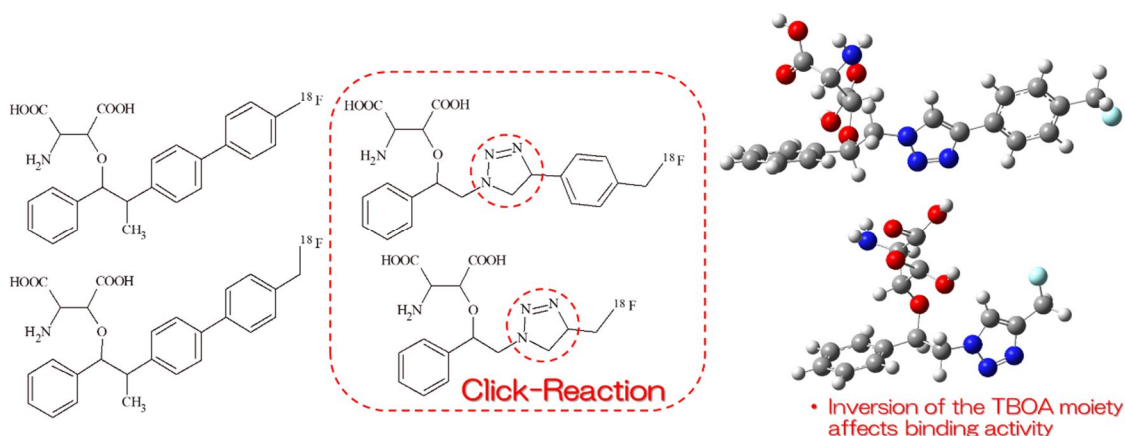


図6 Click 反応を利用した不斉炭素減少モデルと標識骨格

(5) 実験動物を用いた評価

別途、進めていたモデル動物(カニン酸もしくはピロカルピン投与のてんかんモデル)への投与と小動物イメージング装置を用いた評価を計画した。

4. 研究成果

研究期間中に GLT-PET イメージング剤として応用可能な候補薬剤をいくつか合成できたが、実験動物による検証までには至らなかった。

Tam、BOA、THP 各誘導体を元に標識基[^{11}C]もしくは[^{18}F]を導入した各イメージング剤候補化合物について Gaussian を用いて構造最適化し、各候補化合物と GLT の結合活性および ER と非結合について計算化学 ドッキングシミュレーションソフトウェア Auto Dock を用いて算出した。さらに放射性核種による標識の安定性、収率、血液脳関門 (BBB) の透過性に関する検討によりドラッグデザインを進めた。これら一連の検討により、合成可能な理想構造を分子設計することまでは構築できたものの、分子内不斉点の複数発生という新たな問題が生じた。分子中に不斉点が複数ある場合、前駆体合成が非常に困難であり、また不斉点の部位によっては標識合成時にラセミ化、ジアステレオマー化する可能性があり、さらに構造変換を加えることでクリック反応による解決法を見いだした。

本研究期間内に作成したてんかんモデル動物への投与にまでは至らなかった。しかしながら、研究の過程で得られた各核種による標識用前駆体合成法、計算化学的手法を用いた化合物のスクリーニング方法など、得られた結果は、GLT-PET イメージング剤開発の礎になると考える。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計17件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 7件）

1. 発表者名 Hiroshi Yamaguchi, Keiichi Yamashiro, Yukiko Karuo, Masaaki Omote, Kuniharu Imai, Katsuhiko Kato
2. 発表標題 Analysis of Glutamate Neurotransmitter PET Probes Using Computational Chemistry
3. 学会等名 SRSTT Radiopharmaconnect (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Hiroshi Yamaguchi, Keiichi Yamashiro, Maki Okada, Yukiko Karuo, Masaaki Omote, Katsuhiko Kato
2. 発表標題 Amino acid derivative design using computational chemistry and application to PET tracer
3. 学会等名 The 57th Japanese Peptide Symposium
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山口博司, 山城敬一, 岡田真希, 軽尾友紀子, 表雅章, 加藤克彦
2. 発表標題 計算化学手法を利用したグルタミン酸トランスポーター-18F-PETイメージング剤の設計
3. 学会等名 第60回日本核医学会学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Hiroshi Yamaguchi, Takuya Sumi, JiYoung Kang, Keiichi Yamashiro, Maki Okada, Masaru Tateno
2. 発表標題 Structural design and synthesis of glutamate transporter 18F-PET Imaging agent
3. 学会等名 International Conference on Fluorine Chemistry 2019 Himeji (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Jiyoung Kang, Ryu-ichiro Terada, Hidekazu Yasusato, Takuya Sumi, Hiroshi Yamaguchi, Masaru Tateno
2. 発表標題 Rational design of imaging drug as PET probe specific to glutamate transporter
3. 学会等名 International Conference on Fluorine Chemistry 2019 Himeji (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山口博司, 山城敬一, 軽尾友紀子, 表雅章, 舘野賢
2. 発表標題 PET薬剤の開発研究紹介 ~ GLTイメージング剤開発を例に ~
3. 学会等名 第9回フッ素化学若手の会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山口博司, 山城敬一, 岡田真希, 軽尾友紀子, 表雅章, 舘野賢
2. 発表標題 計算化学手法を用いたグルタミン酸トランスポーター結合薬剤の設計とPETイメージング剤への応用
3. 学会等名 第4回トランスポーター研究会関東部会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山口博司
2. 発表標題 PET薬剤関連研究紹介 ~ 検査から治療および教育へ ~
3. 学会等名 日本学術振興会フッ素化学第155委員会第119回研究会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Hiroshi Yamaguchi, Takuya Sumi, Jiyoung Kang, Keiichi Yamashiro, Masaru Tateno
2. 発表標題 Study on introduction of PET nuclides into glutamate transporter inhibitor.
3. 学会等名 12th Congress of the World Federation of Nuclear Medicine and Biology (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hiroshi Yamaguchi, Takuya Sumi, Jiyoung Kang, Maki Okada, Keiichi Yamashiro, Masaru Tateno
2. 発表標題 Development of imaging agent for glutamic acid transporter by off-target exclusion using computational chemical method.
3. 学会等名 European Association of Nuclear Medicine 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hiroshi Yamaguchi, Takuya Sumi, Jiyoung Kang, Maki Okada, Keiichi Yamashiro, Masaru Tateno
2. 発表標題 Development of imaging agents specific to GLT excluding the off-target binding.
3. 学会等名 第58回日本核医学会学術総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 山口博司
2. 発表標題 当院における18F-タウPETイメージング剤を用いた検討～異常変性蛋白蓄積とその上流への展開～
3. 学会等名 フッ素化学第155委員会第115回研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hiroshi Yamaguchi, Takuya Sumi, Jiyoung Kang, Keiichi Yamashiro, Maki Okada, Masaru Tateno, Katsuhiko Kato, Ming-Rong Zhang, Hirohisa Watanabe, Gen Sobue
2. 発表標題 Development of Imaging Agents for Glutamine Transporter: In silico Binding Assay and Synthesis of Derivatives Derived from Tamoxifen and Tetrahydrobenzopyran
3. 学会等名 22nd International Symposium on Radiopharmaceutical Sciences (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 山口博司, 山城敬一, 鷺見拓哉, Jiyoung Kang, 舘野賢
2. 発表標題 18F-PET薬剤の開発研究から臨床検査応用まで
3. 学会等名 第7回フッ素化学若手の会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Hiroshi Yamaguchi, Takuya Sumi, Jiyoung Kang, Masaru Tateno
2. 発表標題 Study of Introduction PET Nuclide 18F to Glutamate Transporter Inhibitors In Silico Binding Assay and Synthesis of Derivatives Derived from Tamoxifen and Tetrahydrobenzopyran
3. 学会等名 The 8th International Meeting on Halogen Chemistry (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 山口博司, 山城敬一, 鷺見拓哉, Jiyoung Kang, 舘野賢
2. 発表標題 臨床研究を目指したグルタミン酸トランスポーター阻害剤へのPET核種18F導入検討
3. 学会等名 第40回フッ素化学討論会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 山口博司
2. 発表標題 当院における18F-PETイメージング剤の現状とこれからの展開
3. 学会等名 JSPS第155委員会主催講演会「フッ素と医療の研究最前線」(招待講演)
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計4件

1. 著者名 Hiroshi Yamaguchi, Keiichi Yamashiro, Maki Okada, Yukiko Karuo, Masaaki Omote, Katsuhiko Kato (分担章共著)	4. 発行年 2020年
2. 出版社 The Japanese Peptide Society	5. 総ページ数 31-34/178
3. 書名 Peptide Science	

1. 著者名 山口博司(分担章単著)	4. 発行年 2018年
2. 出版社 シーエムシー出版	5. 総ページ数 142-150/317
3. 書名 有機フッ素化合物の最新動向(第2章2節: PET用診断薬の合成ならびにその応用)	

1. 著者名 Kang Jiyoung, Takuya Sumi, Hiroshi Yamaguchi, Masaru Tateno(分担章共著)	4. 発行年 2018年
2. 出版社 Nova Science Publishers	5. 総ページ数 49-84/274
3. 書名 Simulated Annealing: Introduction, Applications and Theory (Chapter2: Use of Simulated Annealing for Biophysical Analyses of Biological Macromolecular Systems)	

1. 著者名 Hiroshi Yamaguchi (分担章単著)	4. 発行年 2022年
2. 出版社 Royal Society of Chemistry	5. 総ページ数 440-458/500
3. 書名 Perfluoroalkyl Substances: Synthesis, Applications, Challenges and Regulations	

[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	岡田 真希 (Okada Maki) (00415407)	国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構・放射線医学総合研究所 標識薬剤開発部・研究員(任常) (82502)	
研究 分担者	舘野 賢 (Tateno Masaru) (40291926)	兵庫県立大学・生命理学研究科・教授 (24506)	

	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 協力者	山城 敬一 (Yamashiro Keiichi)	名古屋大学医学部附属病院・アイソトープ検査室・常駐職員	
研究 協力者	表 雅章 (Omote Masaaki) (90299032)	摂南大学・薬学部・教授	
研究 協力者	軽尾 友紀子 (Karuo Yukiko) (30826235)	摂南大学・薬学部・助教	

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