

平成22年 4月 30日現在

研究種目：基盤研究（C）  
 研究期間：2007～2009  
 課題番号：19591405  
 研究課題名（和文） 認知症及びストレス性精神疾患の進行・治療指針予測を可能にするイメージング剤の開発  
 研究課題名（英文） Development of imaging agents for prediction of treatment strategy and severity of dementia and the stress mental disorder  
 研究代表者  
 水上 勇治（MIZUKAMI YUJI）  
 金沢大学・保健学系・教授  
 研究者番号：60110540

研究成果の概要（和文）：学習/記憶と深く係わり、またストレスによる精神障害に対する緩和作用があるシグマ受容体の変化を生体内で可視化することができる放射性シグマ受容体分子イメージング剤である SPECT 用放射性ヨウ素標識(+)-p-iodovesamicol((+)-pIV)及び PET 用の(+)-[<sup>11</sup>C]p-methylvesamicol((+)-[<sup>11</sup>C] P MV)を合成した。両イメージング剤ともシグマ受容体に対する親和性が高く、インビボで脳内のシグマ受容体に選択的に結合していることがわかった。以上のことから、SPECT 及び PET 用のシグマ受容体イメージング剤を用いた認知症やストレス性障害の早期診断・進行度診断や治療指針予測ができる可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：Sigma receptors are associated with learning / memory and remission effect of the psychic disturbance by the stress. We synthesized radioiodinated (+)-p-iodovesamicol((+)-pIV) and (+)-[<sup>11</sup>C]p-methylvesamicol((+)-[<sup>11</sup>C] P MV) as radioactive molecular imaging agent for sigma receptors. Both imaging probes had a high affinity for sigma receptors in vitro and bound to sigma receptors in brain in vivo selectively. As a result, visualization of changes of sigma receptors by both radioactive molecular imaging agents enables prediction of treatment strategy and severity of dementia and the stress mental disorder.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2008 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2009 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：インビボ分子イメージング学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・放射線科学

キーワード：ストレス性精神疾患，シグマ受容体，分子イメージング，PET

## 1. 研究開始当初の背景

シグマ受容体は学習/記憶メカニズムと密

接に関係があり、大脳皮質前頭葉や海馬においてアセチルコリンの遊離を促進し、学習/記憶障害がシグマ受容体の活性化によって

改善することが知られている。また、シグマ受容体は老齢化に伴い増加する傾向があり、さらに、そのアゴニストには抗不安作用やストレス緩解作用があるとされている。これらのことから、シグマ受容体は老化やストレスによる、精神神経的な異常に対して、正常に保とうと強く働いている可能性がある。したがって、シグマ受容体分子イメージング（放射性医薬品を用いて生体脳のシグマ受容体を画像化すること）により、アルツハイマー病を含む認知症や種々の精神神経疾患の進行度（重症度）が把握できると共に治療指針を決定するための情報が得られることが期待できる。シグマ受容体は1990年代に発見された新しい神経受容体であり、まだまだ未知の部分が多い。そのため、インビトロだけでなく生きたままのインビボにおける脳内挙動が研究できる放射性核種標識シグマ受容体リガンドの開発はシグマ受容体研究に新しい知見をもたらす優れたツールになることは間違いないと考えられる。

## 2. 研究の目的

本研究では SPECT 及び PET 用の新規シグマ受容体分子イメージング剤を開発し、インビボでのシグマ受容体の働きを調べると共に、認知症やストレス関連の精神神経疾患におけるシグマ受容体の変化を調べることで、これらの疾患の進行・治療指針予測の基礎的資料を提供することを目的とする。

我々はこれまでにアルツハイマー病の早期診断を目的として、アセチルコリントランスポーター(VAChT) マッピング剤の開発を行ってきた。そして、その研究過程で、VAChT に対して高い親和性を持つベサミコール誘導体がシグマ受容体にも高い親和性を持つことを見いだした。さらに、ベサミコール誘導体の構造活性相関を調べた結果、光学活性体である (+) -ベサミコールのベンゼン核のパラ位に官能基を導入することにより、VAChT 親和性が減少し、シグマ受容体親和性が増大することがわかった。そこで、これらの知見を基に、ベンゼン核のパラ位にヨウ素及びメチル基を置換した光学活性体である (+)-p-ヨードベサミコール((+)-pIV)及び(+)-p-メチルベサミコール((+)-PMV)の合成を検討する。両化合物はこれまでのシグマ受容体リガンドとは構造がまったく違う新しい構造を有しており、放射性ヨウ素 $^{123}\text{I}$ やポジトロン核種 $^{11}\text{C}$ で標識した SPECT 用の(+)- $^{123}\text{I}$ PIV や PET 用の(+)- $^{11}\text{C}$ PMV の合成を計画し、学習障害モデル動物や $\beta$ -アミロイドタンパク持続注入により作成したアルツハイマー病モデル動物を用いた実験や拘束によるストレス負荷実験を通し、シグマ受容体の脳内変化を

調べることにより、シグマ受容体と認知症を含む精神神経疾患やストレス性疾患及びその重症度との関連について調べる。

## 3. 研究の方法

### 1) 合成・RI 標識

SPECT 用のシグマ受容体リガンドとして、(+)-pIV を合成した。まず、4-フェニルピペリジンを出発原料として、シクロヘキセンオキシドとの反応によりベサミコールを合成後、常法によりパラ位にニトロ化、アミノ化、ヨウ素化と出発原料から 5 行程で目的の(+)-pIV を合成した。PET 用の(+)-PMV は 4-プロモベンズアルデヒドを出発原料として 10 工程で目的の(+)-PMV を合成した。また、標識用の前駆体であるトリブチルスズ体は 4-プロモベンズアルデヒドを出発原料として 8 工程で合成した。いずれの化合物も NMR、質量分析、元素分析により構造を同定した。

(+)-pIV の放射性ヨウ素標識は 2 種類の方法で行った。一つは硫酸アンモニウムを触媒とする固相交換反応による低比放射能標識法、もう一つは前駆体のトリブチルスズ体と酸化剤を利用した置換反応による高比放射能標識法で行った。

(+)-PMV の $^{11}\text{C}$ -標識は前駆体のトリブチルスズ体とパラジウム触媒を利用した置換反応により行った。

### 2) インビトロ薬物阻害実験

ラット脳及び肝臓組織から調製した試料(200  $\mu\text{g}$ )と、 $^3\text{H}$ pentazocine(シグマ-1),  $^3\text{H}$ DTG(シグマ-2)及びさまざまな濃度( $10^{-4}$ ~ $10^{-10}$ )の(+)-pIV, (+)-PMV 及びその他のシグマ受容体リガンド(ハロペリドール、ペンタゾシン、DTG 等)を用いて、シグマ受容体に対する親和性を調べた。

### 3) インビボ動物実験

#### ① 体内分布実験

ラットに標識リガンドを尾静脈より投与し、経時的(30分、60分、120分)に各臓器(血液、肺、心臓、肝臓、腎臓、大脳、小脳など)を摘出、その放射能を測定した。

#### ② インビボ薬物阻害実験

標識リガンドと同時にシグマ受容体リガンド(ハロペリドール(1.0  $\mu\text{mol}$ ), (+)-pIV(1.0  $\mu\text{mol}$ ))をラット尾静脈に投与し、45分後にラット脳の放射能を調べた。

#### ③ オートラジオグラム

標識リガンドをラット尾静脈に投与し、45分後にラット脳の取り出し、オートラジオグ

ラムを作成し、BAS5000にてその脳内分布を解析した。標識リガンドと同時にシグマ受容体リガンド (ハロペリドール (1.0  $\mu$  mol), (+)-pIV (1.0  $\mu$  mol)) を投与したラット脳についても同様に解析した。

#### ④ 血液内分布及び代謝

異なる比放射能の(+)- $^{125}$ I]pIV (低比放射能: 0.6-1.1TBq/mmol, 高比放射能: 88.8TBq/mmol) 37kBq を血液に加え、37°Cで2時間インキュベートした。血液は遠心により、血球と血清に分離し、放射能を測定した。血液中の代謝はラットにそれぞれ尾静脈より投与し、30分後、血液を採取し、遠心により血清を分離した。血清は HPLC 溶媒にて抽出し、HPLCにより解析した。

#### 4. 研究成果

(+)-pIV は 4-フェニルピペリジンから通算 21.2% の収率で合成できた。また、(+)-PMV は 4-プロモベンズアルデヒドから通算 1.3-4.1% の収率で合成できた。

放射性ヨウ素標識は低比放射能標識のヨウ素交換法では 30-65% であった。トリブチルスズ体を用いた高比放射能標識法では 70-80% と高い放射化学的収率を示した。

(+)-pIV と (+)-PMV のシグマ-1 受容体への親和性は既知のシグマ受容体リガンドであるハロペリドールやペンタゾシンよりも約 10 倍高い親和性を示した。また、シグマ-2 受容体への親和性はシグマ-1 受容体に比べ約 10 倍低い値を示し、シグマ-1 受容体選択性が高いことがわかった。

ラットの体内分布実験では、(+)- $^{125}$ I]pIV と (+)- $^{11}$ C]PMV とともに投与後に速やかな血中クリアランスを示した。また、脳内集積は血液-脳関門を通過し、高い脳集積 (>1.3% dose/g) を示した。また、(+)-pIV の脳集積は低放射能のほうが高比放射能のものよりも高い集積を示した。一方、シグマ受容体に対する選択的集積率はインビボ阻害実験から、高比放射能のほうが優れていた。

オートラジオグラムによる標識リガンドのラット脳内での集積はシグマ受容体密度に反映した分布、すなわち海馬、扁桃核、梨状葉皮質、視床、大脳皮質等への特徴的な集積であった。また、(+)- $^{125}$ I]pIV と (+)- $^{11}$ C]PMV の両化合物とも、ハロペリドールの同時投与で脳内集積が減少した。以上のことから、標識リガンドの脳集積はシグマ受容体に選択的に結合した結果であると考えられた。

次に、(+)- $^{125}$ I]pIV の比放射能の違いによる、脳集積の変化及び脳内でのシグマ受容体への選択的結合能の違いを調べるために、血液中の代謝物や血液中的での結合状態を調べた。

その結果、高比放射能(+)- $^{125}$ I]pIV のほうが血液中的での代謝物の割合が 57.3% と低比放射能の 45.5% に比べて高かった。また、血液中的での結合分布は高比放射能のほうが血球への結合割合が多かった。つまり、高比放射能(+)- $^{125}$ I]pIV は血液中的での濃度が低くなっており、その結果、低比放射能のものより、脳集積率が低下していると考えられた。しかし、脳に集積された(+)- $^{125}$ I]pIV は速やかにシグマ受容体に結合するため、脳内での非特異的結合が少なくなっていると考えられる。

今回、SPECT 用及び PET 用シグマ受容体リガンドとして放射性ヨウ素標識(+)-pIV 及び(+)- $^{11}$ C]PMV を合成し、インビトロ及びインビボ動物実験により検討した結果、両標識リガンドとも優れたシグマ受容体イメージング剤となり得ることがわかり、シグマ受容体の変化と関わりがある認知症及びストレスが原因とされる精神神経障害の早期診断、治療指針予測並びに治療効果判定に利用できることが期待できる。最後に、本研究ではモデル動物を使った実験ができなかったが、今後いろいろなモデル動物を使ってさらに有用性について検討していきたい。

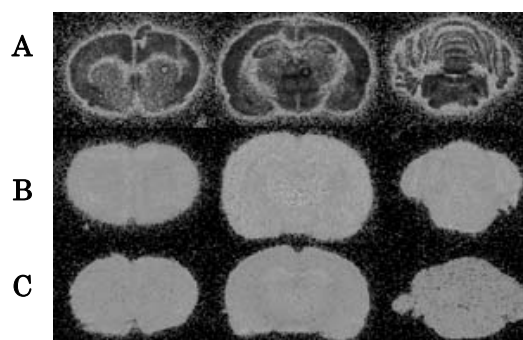


Fig.1 投与後 45 分でのラットの脳における (+)- $^{125}$ I]pIV のオートラジオグラム像  
A: (+)- $^{125}$ I]pIV, B: (+)- $^{125}$ I]pIV with haloperidol (1.0  $\mu$  mol), C: (+)- $^{125}$ I]pIV with (+)-pIV (1.0  $\mu$  mol).

#### 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 2 件)

1. Akhter, N., Shiba, K., Ogawa, K., S. Tsuji, Kinuya, S., Nakajima, K and Mori, A Change of in Vivo Characteristics Depending on Specific Activity of Radioiodinated (+)-2-[4-(4-iodophenyl) piperidino] cyclohexanol [(+)-pIV] as a Ligand for Sigma Receptor Imaging. *Nucl. Med. Biol.* Vol. 35 (2008) 29-34. 査読有り

2. Akhter, N., Shiba, K., Ogawa, K., Kinuya, S., Nakajima, K and Mori, H.: In vivo Characterization of Radioiodinated (+)-2-[4-(4-iodophenyl) piperidino] cyclohexanol [(+)-pIV] as a potential sigma-1 receptor imaging agent. *Nucl. Med. Biol.* Vol. 34 (2007) 697-702. 査読有り

[学会発表] (計 6 件)

1. 柴 和弘:「PET及びSPECT用インビボ分子イメージング剤の開発研究－脳神経機能の可視化を目指して－」富山大学生命科学先端研究センター学術セミナー、2009年 11月 24日 富山市 (富山県)

2. Ogawa, K., Akhter, N., Shiba, K.: Biodistribution and metabolic studies of a radioiodinated vesamicol analog as a sigma receptor ligand for tumor imaging. 18th International Symposium on Radiopharmaceutical Sciences. 2009年 7月 12日-17日, Edmonton (Canada).

3. Akhter, N., Shiba, K. Ogawa, K., Tsuji, S., Nakajima, K., Kinuya, S., Mori, H; Influence of different metabolic function by the species specificity in the biodistribution of radiolabeled sigma ligand as a tumor seeking agent. 55th SNM Annual Meeting of the Society of Nuclear Medicine. 2008年 6月 14-18日, New Orleans, LA (USA).

4. Akhter, N., Shiba, K. Ogawa, K., Tsuji, S., Nakajima, K., Kinuya, S., Mori, H; Depending on Species Specificity Influence of Difference Metabolic Function in the Biodistribution of Radiolabeled Sigma Ligand as the Tumor Seeking Agent. 38th Annual Scientific Meeting of the Australian and New Zealand Society of Nuclear Medicine 2008. 2008年 5月 1-6日, Gold Coast (Australia).

5. Akhter, N., Shiba, K. Ogawa, K., Tsuji, S., Nakajima, K., Kinuya, S., Mori, H; In-vivo characteristics of high and low specific activity radioiodinated (+)-2-[4-(4-iodophenyl) piperidino] cyclohexanol [(+)-pIV] for imaging sigma-1 receptor in brain. INTERNATIONAL CONFERENCE ON RADIOPHARMACEUTICAL THERAPY (ICRT-2007). 2007年 9月 3-7日, Ulaanbaatar (Mongolia).

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

水上 勇治 (MIZUKAMI YUJI)  
金沢大学・保健学系・教授  
研究者番号: 60110540  
(H20→H21: 研究分担者)

辻 志郎 (TSUJI SHIRO)  
金沢大学・保健学系・准教授  
研究者番号: 70227388

### (2) 研究分担者

柴 和弘 (SHIBA KAZUHIRO)  
金沢大学・学際科学実験センター・教授  
研究者番号: 40143929