

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 4 年 6 月 9 日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K08197

研究課題名(和文) シグマ受容体イメージングによるストレス性疾患の客観的早期診断法の開発

研究課題名(英文) Development of sigma-1 receptor imaging agent for early diagnosis of stress-related diseases

研究代表者

柴 和弘 (Shiba, Kazuhiro)

金沢大学・疾患モデル総合研究センター・教授

研究者番号：40143929

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：うつ病、不安障害等のストレス性疾患を客観的かつ超早期に確定診断が可能な新規 sigma-1受容体イメージング剤の開発を目指した結果、[125/123I]015Vがラット脳内での高い集積性及び脳内での -1受容体結合選択性があることから、[125/123I]015Vが優れた -1受容体イメージング剤であることを見出した。拘束ストレスモデルマウスを用いた実験により、[125/123I]015Vの脳皮質集積がストレス初期では増加し、ストレス後期では減少した。以上より、[123I]015Vがストレス性疾患の客観的・早期確定診断用の sigma-1受容体イメージング剤としての可能性が示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は一度発症すると完治するまでに長期間要するストレス性疾患を早期治療することが可能となり早期回復に繋がる重要な研究である。今回、 -1受容体イメージング剤として[125/123I]015Vを開発した。さらに、拘束ストレスモデルマウスを作製し、[125/123I]015Vによる脳内 -1受容体密度変化を調べた結果、ストレス初期では脳内 -1受容体密度は増加し、一方、ストレス後期では、脳内 -1受容体密度が減少した。以上のことから、[125/123I]015Vにより、ストレス性疾患の早期及び重症度診断ができる可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：We investigated the characteristics of radio-iodinated 2-[4-(2-iodophenyl)piperidino]cyclopentanol (015V) as a single photon emission computed tomography (SPECT) ligand for mapping sigma-1 receptor, which plays an important role in stress remission in many organs. 015V demonstrated high selective binding affinity for sigma-1 receptor in vitro. In the biodistribution study, the blood-brain barrier (BBB) permeability of [125I]015V was high and the accumulation of [125I]015V in the rat cortex. Brain distribution of [125/123I]015V in stress model mice showed that the brain accumulation of [125/123I]015V increased in the early stage of stress, the brain accumulation of [125/123I]015V decreased in the late stage of stress. [123I]015V was suggested to be useful as a sigma-1 receptor imaging agent for the early diagnosis and severity diagnosis of stress-related psychiatric disorders.

研究分野：分子イメージング学

キーワード：シグマ-1受容体 イメージング剤 SPECT/CT ストレス性疾患 ペサミコール類似体

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

現代の社会環境では多くの人々が様々な精神的ストレスを受けており、うつ病や不安神経症などのストレス性疾患が年々増加している。ところが、これらのストレス性疾患の発症機序については十分に解明されていないのが現状である。これまでに、 α_1 受容体とストレス性疾患との関連性について研究され、 α_1 受容体アゴニストが強制水泳による無動状態や恐怖条件付けストレス反応を緩和することが報告されている¹⁾。また、 α_1 受容体は細胞内の小胞体膜上に存在し、小胞体ストレスの緩和などに深く関与し、細胞の障害の軽減やアポトーシスの抑制をもたらすとされている²⁾。我々も、短期間強制水泳による軽度のストレス負荷マウスを用いた *in vitro* 結合飽和実験の結果、脳内 α_1 受容体の発現密度が有意に増加する一方、長期間拘束したマウスでは、 α_1 受容体密度が顕著に減少することを確認している。そのため、ストレス性疾患の早い段階からの α_1 受容体の脳内密度変化を SPECT 用 α_1 受容体イメージング剤により、可視化することが可能となれば、ストレス性疾患を早い段階で客観的に早期確定診断及び重症度診断ができることから、完治するまでに長期間要するストレス性疾患の早期回復に繋がることになる。

2. 研究の目的

うつ病を含むストレス性疾患の原因は不安、恐れ、葛藤、失望、怒りなどの様々な精神的ストレスが原因であるが、それは、急に発症するものではなく、明らかな精神的症状が出る前に、発見するのは難しい。そのため、明らかな精神的症状が出る前の軽い身体的兆候段階で客観的な指標により診断できれば、本人も納得し、安心して、早めに本人にあった適切な対応をすることができ、早期治療による早期回復が期待できる。本研究は α_1 受容体が初期のストレスでその密度が増加し、過度のストレス又は長期のストレス負荷により、その密度が減少することに着目し、その受容体変化を調べる分子イメージング剤を開発することにより、ストレス性疾患の精神的症状が現れる前の段階での超早期診断に繋がると考える。そこで、新規 SPECT 用 α_1 受容体イメージング剤を開発し、種々の強度のストレスモデルマウスを作製し、SPECT 用 α_1 受容体イメージングによる *in vivo* 局所脳動態画像解析により、ストレス性疾患の早期診断や重症度診断が可能となり、早期回復だけでなく、発症メカニズムに迫る可能性も大きく、極めて意義深い、重要な研究と考える。

3. 研究の方法

3.1 新規 α_1 受容体リガンドの合成

Vesamicol 類似体である [¹²⁵I]pIV が α_1 受容体 (α_1 , α_2) イメージング剤として有望であることをすでに報告している。そこで、 α_1 受容体のみが高い親和性を有する新しい α_1 受容体リガンドを開発するために、12 種類の vesamicol 類似体 (Fig.1) を合成した。合成は、o-bromobenzaldehyde を出発原料として、いずれも 6 工程で合成した。

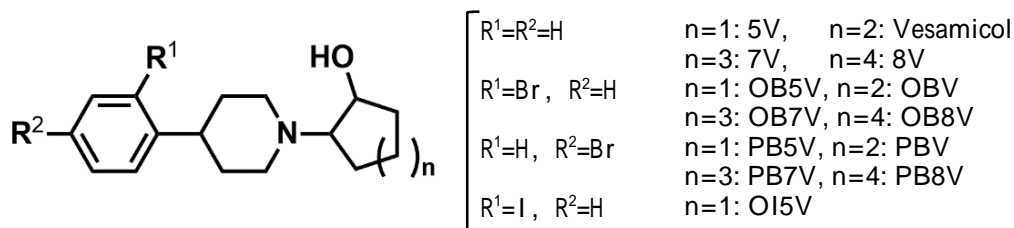


Figure 1. Vesamicol 及び合成した vesamicol 類似体

3.2 12 種類の vesamicol 類似体の *in vitro* 評価

合成した 12 種類の vesamicol 類似体及び vesamicol の VAcHT 親和性及びシグマ受容体 (α_1 , α_2) 親和性を調べるために *in vitro* 薬物阻害実験を行った。

ラット脳・肝臓組織の試料調製

SD ラット脳及び肝臓ホモジナイズの核分画を取り除いた後、超遠心機 (55,000 × g、60 分間) により、シナプスを多く含む P2, P3 分画を得た。

VAcHT, シグマ受容体 (α_1 , α_2) 親和性

ラジオリガンドとして、VAcHT 親和性用に 10nM [³H]vesamicol、 α_1 受容体用に 5nM [³H]pentazocine、 α_2 受容体用に 5nM [³H]DTG を用いた。Vesamicol 及び 12 種類の vesamicol 類似体は $10^{-5} \sim 10^{-10}$ M の 10 種類の濃度で調べた。反応は 37 °C で行い、反応時間は VAcHT で 60 分、シグマ受容体で 90 分とした。データはグラフパッドソフトにより行い、親和性の強さを K_i 値で評価した。

3.3 In vivo 評価

In vivo 体内分布実験

SD ラット (230 g - 280 g) に ^{125}I で標識した $[\text{}^{125}\text{I}]\text{O15V}$ (185 kBq) を尾静脈投与後、それぞれ 2 分、10 分、30 分、60 分、120 分で屠殺、血液を採取後、各脳部位 (大脳皮質、線条体、小脳、その他脳) と各種臓器の放射能集積率 (% ID/g) を求めた。

In vivo 阻害実験

SD ラット (230 g - 280 g) に $[\text{}^{125}\text{I}]\text{O15V}$ (185 kBq) と 3 種の阻害薬物 (vesamicol、(+)-pentazocine、(+)-3-(3-hydroxyphenyl)-N-propylpiperidine (+)-3-PPP) を同時投与し、投与後 60 分での脳内集積率の変化を調べた。

Ex vivo オートラジオグラフィ実験

$[\text{}^{125}\text{I}]\text{O15V}$ (18.5 MBq) を SD ラットに投与し、60 分後に屠殺し、脳を摘出し、脳切片を作製し、イメージングプレートを用いて ex vivo オートラジオグラムを得た。

SPECT-CT 撮像実験

SD ラットに $[\text{}^{123}\text{I}]\text{O15V}$ (37 MBq) を尾静脈より投与し、control ラットとした。また、阻害剤 2 μmol SA4503 を $[\text{}^{123}\text{I}]\text{O15V}$ 投与 5 分前に事前投与し、薬物阻害ラットとした。投与 30 分後に屠殺し、SPECT-CT (VECTor/CT, MILabs) を用いて 60 分間撮像した。撮像で得られた画像データは画像解析ソフト Amide を用いて解析を行った。

3.4 ストレス負荷マウス実験

ストレス負荷マウスの作製

2 時間/日の拘束を 1, 3, 7, 14 日間行うことにより肉体的ストレス負荷 (ST) マウスを作製した。ストレス負荷マウスはストレス度の指標として、血中コルチコステロン濃度測定を行った。

脳内 σ -1 受容体密度比較

ST マウスとコントロール (CT) マウスにそれぞれ $[\text{}^{125}\text{I}]\text{O15V}$ (55.5 kBq/0.2 mL) を尾静脈投与し、投与後 30 分で屠殺した。採血後、解剖して大脳と小脳を摘出した。各脳部位の重さを量ってから試験管に入れ、放射能を カウンタで測定し、各脳部位への集積率を比較した。

4. 研究成果

4.1 新規 σ -1 受容体リガンドの合成

12 種類の vesamicol 類似体は o-bromobenzaldehyde から通算収率 7% ~ 37% で合成できた。

4.2 In vitro 評価

Vesamicol 類似体の炭素環サイズと VAcHT および両 σ 受容体 (σ -1, σ -2) に対する親和性の構造活性相関を調べた結果、vesamicol 類似体の炭素環サイズが大きくなるに従い、VAcHT 親和性および σ -2 受容体親和性が高くなる傾向があることが分かった。また、SPECT 用の放射性核種である ^{123}I の導入に適した位置を決めるため、同じハロゲンである Br をベンゼン環のオルト位とパラ位に導入した vesamicol 類似体について同じように調べた結果、オルト位に Br を導入することにより、基本化合物よりの親和性が高くなる傾向を示した。以上の結果をもとに、オルト位に I を導入した O15V を合成し、Br 体である OB5V と比較した結果 (Table 1)、O15V のほうが、VAcHT 親和性および σ -2 受容体親和性が低く、選択的 σ -1 受容体親和性に優れていた。

Table 1. In vitro binding assay

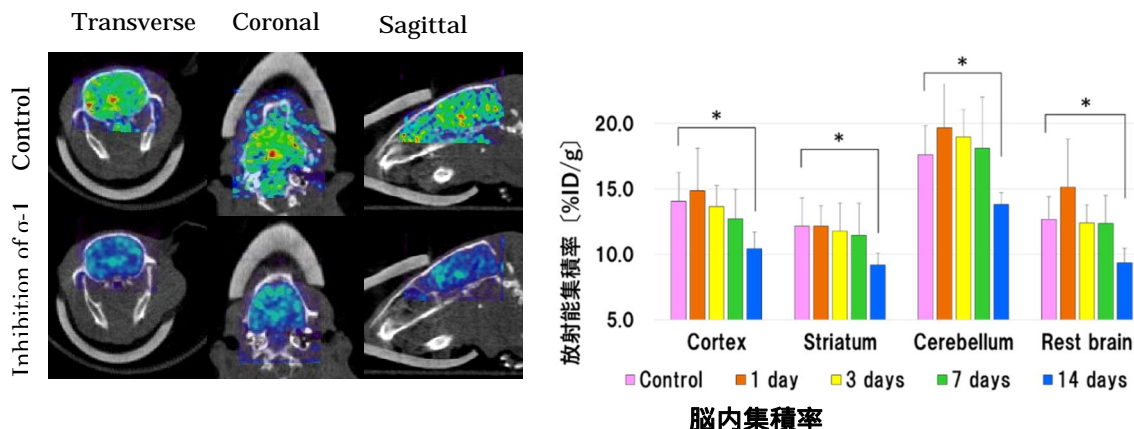
Inhibitors	K_i (nM)				
	VAcHT	VAcHT/ σ -1	σ -1	σ -2/ σ -1	σ -2
(+/-)-OB5V	91.6	26.2	3.5	20.7	72.5
(+/-)-O15V	165.3	35.2	4.7	36.9	173.3
SA4503	192.6	29.6	6.5	6.0	39.3
(+/-)-Vesamicol	40.4	2.1	19.4	3.1	59.5
(+)-Pentazocine	-	-	11.1	-	-
DTG	-	-	-	-	29.9

4.3 In vivo 評価

$[\text{}^{125}\text{I}]\text{O15V}$ の脳内集積率が投与後 2 分で 1.5 % ID/g 以上あり、BBB を通過し、SPECT/CT 撮像に十分な集積を示した。 σ -1 受容体リガンドである SA4503 の同時投与で脳内集積が 50% 以上

阻害されることから、 $[^{125}\text{I}]\text{O15V}$ が脳内の $\alpha\text{-1}$ 受容体に結合していることが確認できた。Ex vivo オートラジオグラムの画像からも $[^{125}\text{I}]\text{O15V}$ の局所脳内分布と脳内 $\alpha\text{-1}$ 受容体密度分布と一致していることが確認できた。さらに、臨床核種である ^{123}I で標識した $[^{123}\text{I}]\text{O15V}$ による SPECT/CT 画像の撮影 (Fig. 2) に成功した。

Figure 2. SPECT/CT imaging of $[^{123}\text{I}]\text{O15V}$ Figure 3. ストレス負荷マウスの $[^{123}\text{I}]\text{O15V}$



4.4 ストレス負荷マウス実験

拘束ストレス負荷マウスでは、脳内 $\alpha\text{-1}$ 受容体密度は全ての脳部位で 1 日のストレス負荷で CT マウスに比べて、10~25%増加した。これはストレスに対する緩解作用が活発に働いたからだと考えられる。一方、ストレス負荷が 14 日間で脳内 $\alpha\text{-1}$ 受容体密度は減少したのは、慢性的なストレスダメージによるものだと考えられる (Fig.3)。

以上のことから、放射性ヨウ素標識 O15V ($[^{123}\text{I}]\text{O15V}$) がストレス性疾患を客観的かつ超早期に確定診断が可能な新規イメージング剤となりうると考えられた。

【参考文献】

- 1) Kamei, H. et al. Eur. J. Pharmacol. 1996, 299, 21-28.
- 2) Hayashi, T. et al., Psychi. Clin. Neurosci. 2015, 69, 179-191.

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 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Taiki Shigeno, Takashi Kozaka, Yoji Kitamura, Kazuma Ogawa, Junichi Taki, Seigo Kinuya, Kazuhiro Shiba.	4. 巻 35
2. 論文標題 In vitro and in vivo evaluation of [125/123I]-2-[4-(2-iodophenyl)piperidino]cyclopentanol([125/123I]-015V) as a potential sigma-1 receptor ligand for	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Ann Nucl Med.	6. 最初と最後の頁 165-175
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s12149-020-01552-w	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 高橋 茉衣夏、小阪 孝史、北村 陽二、池田 朝海、小川 数馬、柴 和弘
2. 発表標題 (+)-[125/123I]015Vのシグマ-1受容体イメージング剤としての基礎的評価
3. 学会等名 第59回日本核医学会学術総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 阿部公香、高橋茉衣夏、小阪孝史、北村陽二、小川数馬、柴 和弘
2. 発表標題 光学活性体(+)-[125/123I]015Vのシグマ-1受容体(-1R)イメージング剤としての評価
3. 学会等名 日本薬学会 第140回年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 野坂明代、池田朝海、北村陽二、小阪孝史、小川数馬、柴 和弘
2. 発表標題 ストレス負荷マウスにおけるストレス強度と局所脳血流量の関係
3. 学会等名 日本薬学会 第140回年会
4. 発表年 2020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
研究分担者	横山 茂 (Yokoyama Shigeru) (00210633)	金沢大学・子どものこころの発達研究センター・教授 (13301)	
研究分担者	北村 陽二 (Kitamura Yoji) (10368483)	金沢大学・疾患モデル総合研究センター・准教授 (13301)	
研究分担者	小阪 孝史 (Kozaka Takashi) (50579836)	金沢大学・疾患モデル総合研究センター・助教 (13301)	

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