

平成 22 年 6 月 14 日現在

研究種目：若手研究 (B)
 研究期間：2008～2009
 課題番号：20790047
 研究課題名 (和文) 新規末梢性ベンゾジアゼピン受容体リガンド開発によるグリア活性化の生体イメージング

研究課題名 (英文) In vivo activated glia imaging by development of novel peripheral benzodiazepine receptor ligands

研究代表者

前田 純 (MAEDA JUN)

独立行政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・主任研究員

研究者番号 30415426

研究成果の概要 (和文)：

ヒト中枢神経系の神経炎症の陽電子断層撮像法 (PET) 画像化を目的としてポジトロン標識新規末梢性ベンゾジアゼピン受容体 (PBR) 用リガンド [¹¹C]AC-5216 およびその誘導体を合成し特性評価を行った。 [¹¹C]AC-5216 はげっ歯類の神経炎症画像化に有用であった。一方ヒトの PET 研究より [¹¹C]AC-5216 は中枢移行に関する個人差が認められ、構造の改良が必要と考えられた。

研究成果の概要 (英文)：

To visualize the neuroinflammation of human brain by positron emission tomography (PET), I synthesized novel PBR positron-labeled ligand [¹¹C]AC-5216 and its derivatives, and investigated the profiles of these ligands. [¹¹C]AC-5216 is useful ligand for imaging of neuroinflammation in rodent brain. Since [¹¹C]AC-5216 had a lot of individual variation about brain uptake in human PET study, improvement of chemical structure was necessary for imaging of human neuroinflammation.

交付決定額

(金額単位：円)

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|---------|-----------|---------|-----------|
| 2009 年度 | 2,400,000 | 720,000 | 3,120,000 |
| 2008 年度 | 900,000 | 270,000 | 1,170,000 |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 総計 | 3,300,000 | 990,000 | 4,290,000 |

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学 物理系薬学

キーワード：イメージング

1. 研究開始当初の背景

中枢神経系の末梢性ベンゾジアゼピン受容体 (PBR) は虚血、脳組織外傷およびアルツハイマー病などの炎症に伴う活性化ミクログリア細胞において著明に増加することが

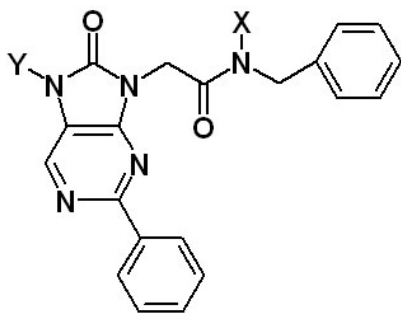
報告され、これらの疾患における病理変化のモニタリングに極めて有用であると考えられている。しかしながら、多くの施設で PET 用 PBR リガンドとして繁用されている [¹¹C]PK11195 は脳への移行性が非常に低く、

画像化を行う過程でコンピュータ処理により信号を増幅させる必要があるため、より望ましい特性を有する PET リガンドの開発が必要とされていた。

そこで研究代表者らは平成 13 年度より PET 用の PBR リガンドの開発と評価を行ってきた。この結果、 ^{11}C DAA1106 および ^{18}F FEDAA1106 の開発に成功し、既存の PET リガンドに比べ良好なシグナルが得られることや、神経損傷を定量的に評価できることを示した。また、アルツハイマー病の免疫療法におけるミクログリア活性化のモニタリングに有用であることも、モデルマウスの PET イメージングにより明らかにした。 ^{11}C DAA1106 は臨床応用がなされ、当研究グループで健常人の PET 研究を行っている。しかしながら、DAA1106 の標識体は脳からの消失速度が遅く、かつ動態の個人差が大きいため、これらの欠点を改良したポジトロン標識 PBR リガンドの開発が急務となっていた。

2. 研究の目的

神経炎症像の客観的画像診断法の確立を目的として、新規のポジトロン標識末梢性ベンゾジアゼピン受容体 (PBR) リガンド ^{11}C AC-5216 および ^{18}F 誘導体 (図 1) を合成し、アルツハイマー関連遺伝子導入マウスおよびアカゲザルを対象にポジトロン断層撮像 (PET) 法により有用性評価および結合機序の解明を行う。



| | |
|----------------------------|----------------------------|
| ^{11}C AC-5216 | X=Et Y= ^{11}C Me |
| ^{11}C DAC-5216 | X= ^{11}C Me Y=Me |
| ^{18}F FEAC-5216 | X=Et Y= ^{18}F Et |
| ^{18}F FEDAC-5216 | X=Me Y= ^{18}F Et |
| ^{18}F FPrAC-5216 | X= ^{18}F Pr Y=Me |

(図 1) AC-5216 誘導体の構造

3. 研究の方法

(1) 霊長類を用いた脳内移行性の確認

^{11}C AC-5216 および ^{18}F AC-5216 誘導体 (図 1) を標識合成し、アカゲザルに静脈内処置して PET カメラで 90 分間撮像を

行う。 ^{11}C AC-5216 の脳内移行が十分に確認された場合、非標識リガンドおよび PBR リガンド PK11195 を前処置して脳内の結合が特異結合であるか否か、同じ結合部位へ親和性を有するかを確認する。

(2) アルツハイマー病 (AD) モデルマウスを用いたポジトロン標識 PBR リガンドの評価

^{11}C AC-5216 および ^{18}F AC-5216 誘導体を標識合成し、家族性 AD 由来の変異アミロイド前駆タンパク (APP) 遺伝子を導入し、老人斑を形成する APP マウスおよび家族性前頭側頭型認知症由来の変異タウタンパク (tau) 遺伝子を導入し、海馬の萎縮を引き起こす tau マウスに投与し、炎症像が確認できるかについて小動物 PET を用い評価を行った。

(3) 各種神経炎症モデルマウスによる PBR 増加機序の解明

前述の AD モデルマウス、銅イオンキレーターのカプリゾンによる脱髄炎症モデル、ドーパミン神経破壊モデル等複数のモデルマウスおよびラットを用い、PBR の免疫染色および受容体結合実験を行うことによって、PBR の増加メカニズムについて解明を行った。

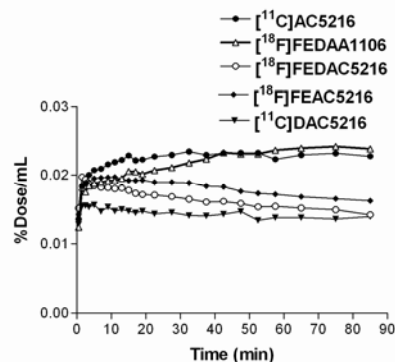
(4) 健常人を対象とした ^{11}C AC-5216 の脳内動態解析

健常人に ^{11}C AC-5216 を投与後 90 分間頭部の PET 撮像をおこない、動態解析を行った。

4. 研究成果

(1) 霊長類を用いた脳内移行性の確認

^{11}C AC-5216 は脳に高い移行を示し、PBR リガンド PK11195 を前処置によって集積が阻害されることから、*in vivo* において PBR に特異的に結合することが明らかとなった。また、我々が開発した ^{18}F FEDAA1106 と比べ脳内からの排出も速かった。4 種類の ^{18}F および ^{11}C AC-5216 標識誘導体を合成し、同様の評価を行ったところ、 ^{18}F FEAC5216 が AC-5216 について脳内に高い集積を示した (図 2)。

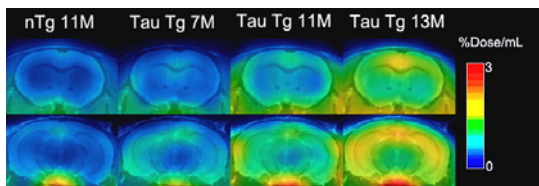


(図 2) アカゲザル前頭葉における AC-5216 誘導体および FEDAA1106 の時間放射能曲線

(2) アルツハイマー病 (AD) モデルマウスを用いたポジトロン標識 PBR リガンドの評価

Tau マウスに $[^{11}\text{C}]$ AC-5216 を投与し小動物 PET で撮像を行ったところ、7 ヶ月齢より tau マウスの海馬に高い集積を認めた (図 3)。また、 $[^{11}\text{C}]$ AC-5216 の集積は加齢に伴い増加していくものの (図 3)、顕著な個体差は見られた。この個体差の原因について追及したところ、*in vitro* の海馬切片においてリン酸化 tau の免疫染色レベルと AC-5216 結合の間に有意な相関がみられた。従ってリン酸化 tau レベルには個体差が見られ、リン酸化 tau レベルの上昇に伴い PBR 密度が増加することが明らかとなった。さらに APP マウスにおいても同様の評価を行ったが、tau マウスに比べ PBR の増加レベルは弱かった。従って認知症で見られる PBR の増加はリン酸化増加に伴った神経変性が引き金になっていると考えられた。

(図 3) $[^{11}\text{C}]$ AC-5216 投与後 30-90 分間の平均画像。左から野生型マウス 11 カ月齢、Tau マウス 7 カ月齢、11 カ月齢、13 カ月齢。



(3) 各種神経炎症モデルマウスによる PBR 増加機序の解明

PBR の抗体を独自に作製し、各種神経炎症モデルの脳切片の PBR の発現増加機序を免疫染色法により評価を行った。ラットおよびマウスにおいて PBR は炎症後ミクログリアおよびアストロサイトの双方のグリア細胞に発現し、増加のタイムコースはモデルにより異なることが明らかとなった。また、6-OHDA によるドーパミン神経の破壊モデルでは PBR の増加は認められなかった。従って、PBR の増加には有髄神経の障害が重要であると示唆された。さらにミクログリアおよびアストロサイトの増加機構について詳細に調べると、神経およびオリゴデンドサイトの細胞死を伴うような障害では主にミクログリアで PBR が増加しており、APP モデルマウスなどの神経細胞死を伴わないモデルでは主にアストロサイトで増加していることが明らかとなった。

(4) 健常人を対象とした $[^{11}\text{C}]$ AC-5216 の脳内動態解析

健常人に $[^{11}\text{C}]$ AC-5216 を投与後 90 分間頭部の PET 撮像をおこない、動態解析を行った。 $[^{11}\text{C}]$ AC-5216 投与後採血し代謝物分析を行ったところ、90 分後においても未変化体が 70% と DAA1106 (20%) よりも安定であった。また、各種動態パラメーターの比較を行ったところ、 $[^{11}\text{C}]$ AC-5216 の分布容積は $[^{11}\text{C}]$ DAA1106 より高値をしめしたものの、K1/k2 比の個人差の改善には至らなかった。従ってヒト脳内の PBR 定量には更なるリガンドの最適化必要と考えられた。

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 11 件)

- ① Higuchi M, Maeda J, Ji B, Maruyama M, Okauchi T, Tokunaga M, Ono M, Suhara T. In-vivo visualization of key molecular processes involved in Alzheimer's disease pathogenesis: Insights from neuroimaging research in humans and rodent models. *Biochim Biophys Acta*, 査読有, 1802(4), 2010, 373-388
- ② Fuchigami T, Haradahira T, Fujimoto N, Nojiri Y, Mukai T, Yamamoto F, Okauchi T, Maeda J, Suzuki K, Suhara T, Yamaguchi H, Ogawa M, Magata Y, Maeda M. Development of N- $[^{11}\text{C}]$ methylamino 4-hydroxy-2(1H)-quinolone derivatives as PET radioligands for the glycine-binding site of NMDA receptors. *Bioorg Med Chem*. 査読有, 17(15), 2009, 5665-5675.
- ③ 前田純、樋口真人、須原哲也、遺伝子改変マウスを用いたイメージングバイオマーカーの評価、*日本精神神経薬理学雑誌*、査読無、29 巻、2009、73-78
- ④ Miyoshi M, Ito H, Arakawa R, Takahashi H, Takano H, Higuchi M, Okumura M, Otsuka T, Kodaka F, Sekine M, Sasaki T, Fujie S, Seki C, Maeda J, Nakao R, Zhang MR, Fukumura T, Matsumoto M, Suhara T. Quantitative analysis of peripheral benzodiazepine receptor in the human brain using PET with $[^{11}\text{C}]$ -AC-5216. *J Nucl Med*, 査読有, 50(7), 2009, 1095-1101
- ⑤ Obayashi S, Nagai Y, Suhara T, Okauchi T, Inaji M, Iriki A, Maeda J. Monkey brain activity modulated by reward preferences: a positron emission tomography study. *Neurosci Res*, 査読

- 有 64(4), 2009, 421-428
- ⑥ Saijo T, Maeda J, Okauchi T, Maeda JI, Morio Y, Kuwahara Y, Suzuki M, Goto N, Suzuki K, Higuchi M, Suhara T. Utility of small-animal positron emission tomographic imaging of rats for preclinical development of drugs acting on the serotonin transporter, *Int J Neuropsychopharmacol*, 査読有, 23, 2009, 1-12.
- ⑦ Tokunaga M, Seneca N, Shin RM, Maeda J, Obayashi S, Okauchi T, Nagai Y, Zhang MR, Nakao R, Ito H, Innis RB, Halldin C, Suzuki K, Higuchi M, Suhara T. Neuroimaging and physiological evidence for involvement of glutamatergic transmission in regulation of the striatal dopaminergic system, *J Neurosci*, 査読有, 29(6), 2009, 1887-1896.
- ⑧ Ji B, Maeda J, Sawada M, Ono M, Okauchi T, Inaji M, Zhang MR, Suzuki K, Ando K, Staufenbiel M, Trojanowski JQ, Lee VM, Higuchi M, Suhara T. Imaging of peripheral benzodiazepine receptor expression as biomarkers of detrimental versus beneficial glial responses in mouse models of Alzheimer's and other CNS pathologies, *J Neurosci*, 査読有 28(47), 2008, 12255-12267.
- ⑨ Yamasaki N, Maekawa M, Kobayashi K, Kajii Y, Maeda J, Soma M, Takao K, Tanda K, Ohira K, Toyama K, Kanzaki K, Fukunaga K, Sudo Y, Ichinose H, Ikeda M, Iwata N, Ozaki N, Suzuki H, Higuchi M, Suhara T, Yuasa S, Miyakawa T. Alpha-CaMKII deficiency causes immature dentate gyrus, a novel candidate endophenotype of psychiatric disorders. *Mol Brain*. 査読有 1(1), 2008, 6.
- ⑩ Fuchigami T, Haradahira T, Fujimoto N, Okauchi T, Maeda J, Suzuki K, Suhara T, Yamamoto F, Sasaki S, Mukai T, Yamaguchi H, Ogawa M, Magata Y, Maeda M. Difference in brain distributions of carbon 11-labeled 4-hydroxy-2(1H)-quinolones as PET radioligands for the glycine-binding site of the NMDA ion channel, *Nucl Med Biol*, 査読有, 35(2), 2008, 203-212.
- ⑪ Ando K, Maeda J, Inaji M, Okauchi T, Obayashi S, Higuchi M, Suhara T, Tanioka Y. Neurobehavioral protection by single dose 1-deprenyl against MPTP-induced parkinsonism in common

marmosets. *Psychopharmacology*, 査読有 195(4), 2008, 509-516

[学会発表] (計 6 件)

- ① 前田純、小動物PETを用いたアルツハイマー病診断用PETリガンドの開発とその結合特性の解明、分子イメージング研究シンポジウム、2010年1月22日(東京)
- ② 前田純、動物定量PETの現状—トランスジェニックマウスとマウス定量PET—、第48回日本核医学会総会、2008年10月25日(千葉)
- ③ 前田純、動物PETを用いたベンゾジアゼピン受容体PETリガンドの開発および評価、第9回日本脳神経核医学研究会、2008年10月24日(千葉)
- ④ 前田純、遺伝子改変動物を用いたイメージングバイオマーカーの評価、第18回日本臨床精神神経薬理学会/第38回日本精神神経薬理学会 合同年会、2008年10月1日(東京)
- ⑤ 前田純、 α -アミロイド産生マウスを用いた α -アミロイドリガンド ^{11}C PIBの結合機序の解明、生体機能と創薬シンポジウム 2008、2008年9月5日(東京)
- ⑥ 前田純、東京小動物PETを用いた遺伝子改変マウスの分子イメージング、Neuroscience2008、2008年7月11日(東京)

[その他]

ホームページ等

<http://www.nirs.go.jp/seika/brain/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

前田 純 (MAEDA JUN)

独立行政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・主任研究員
研究者番号：30415426