

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年5月20日現在

機関番号：14301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2009～2011

課題番号：21659289

研究課題名（和文） 糖尿病の超早期診断のための膵島β細胞標的核医学分子イメージングプローブの開発

研究課題名（英文） Development of in vivo imaging probes for measurement of β-cell mass in pancreatic islets.

研究代表者

佐治 英郎 (SAJI HIDEO)

京都大学・大学院薬学研究科・教授

研究者番号：40115853

研究成果の概要（和文）：膵島量及び膵β細胞量の減少を早期に発見することができれば、糖尿病を予防・治療できる可能性がある。したがって、糖尿病の予防・診断を行うために非侵襲的膵島イメージング技術、とりわけ膵島量及び膵β細胞量を測定するための非侵襲的膵島イメージング技術が望まれている。その中でも、膵β細胞のイメージングを可能とする分子プローブが特に望まれている。本研究では、標的分子には膵島β細胞膜特異的に発現する脂肪酸受容体 GPR40 および、7回膜貫通型 G タンパク質共役型受容体であるペプチド受容体 GLP-1R を選択し、SPECT 用イメージングプローブの開発を行った。その結果、本研究で開発した $[^{111}\text{In}]\text{K4-Ex4}$ と $[^{125}\text{I}]\text{ARKM-405}$ が、膵島β細胞特異的な新規 SPECT 用分子イメージングプローブとして有望な候補化合物になり得ることが明らかとなった。

研究成果の概要（英文）：If a decrease in the amount of pancreatic islets and the amount of pancreatic β-cells can be detected at an early stage, there is a possibility for the prevention and treatment of diabetes. Therefore, a noninvasive technique for imaging of pancreatic islets, particularly a noninvasive technique for imaging of pancreatic islets for determining the amount of the pancreatic islets and the amount of pancreatic β-cells, has been desired for the prevention and diagnosis of diabetes. Among these, a molecular probe that enables the imaging of pancreatic islets, preferably the pancreatic β-cell imaging, has been desired in particular. In designing a molecular probe for imaging of pancreatic β-cells, various targets molecule in pancreatic islet cells, particularly functional proteins specific in the β-cells, are being researched. Among these, GLP-1R and GPR40 are being researched as a target molecule. These data suggest that $[^{111}\text{In}]\text{K4-Ex4}$ and $[^{125}\text{I}]\text{ARKM-405}$ can be a potential candidate as a SPECT tracer for measuring β-cell mass in pancreatic islets.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,000,000	0	1,000,000
2010年度	1,000,000	0	1,000,000
2011年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,300,000	0	3,300,000

研究分野：医歯薬学

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：糖尿病、早期診断、分子イメージング、画像診断

1. 研究開始当初の背景

日本国内の糖尿病患者とその予備群は平成18年の段階で合計1870万人と推計されて

おり、罹患者数は増加し続けている。現在のところ、糖尿病の早期診断は経口糖負荷試験に依っているが、耐糖能異常が認められた時点で膵島β細胞はすでに半数以上が脱落していると報告されており、その時点で介入しても十分な成果は得られにくい。一方、膵島β細胞には予備能・代償能があることも報告されており、β細胞数が減り始めた直後にそれを捉え、適切な介入を行うことができれば、β細胞数の回復・維持による糖尿病発症予防が可能となり得る。このような考えに基づき、近年、膵島β細胞に着目した分子プローブ開発に関する研究が注目されているが、膵島β細胞数の非侵襲的定量イメージングが可能でなプローブはいまだ開発されていない。

2. 研究の目的

本研究の目的は、糖尿病の早期・予防診断のために、発症前から生じている膵島量の変化に着目して、膵島量を非侵襲的、定量的に画像診断できる、膵島β細胞特異的な新規核医学分子イメージングプローブを開発することにある。これにより糖尿病発症過程において耐糖能異常に先行する膵島量減少を鋭敏に捉え、超早期での介入、効果的な糖尿病発症予防が可能となる。我が国における2型糖尿病は推定820万人を越え、近年その増加は深刻な状況にある。現在、耐糖能検査を基準とした糖尿病発症前介入が行われているが、十分な成果は得られていない。

膵島からのインスリン分泌能力は一般に予備・代償能を有するため、境界型糖尿病の段階では膵島量の減少は既に高度に進行していると考えられる。一方でこの時期の膵島は可塑性を保持していることから、適切な介入が出来れば、膵島量を回復し効果的な糖尿病予防が可能となりうる。

そこで本研究では、糖尿病の超早期診断を目的として、膵島β細胞を標的とした新規核医学分子イメージングプローブ、特に最近画像工学的研究の進展により高感度・高分解能化が著しく向上しているSPECTに着目して、SPECT用分子イメージングプローブを開発し、膵島量を非侵襲的に測定できる画像診断法の開発を目指す。標的分子には膵島β細胞膜特異的に発現する脂肪酸受容体GPR40および、7回膜貫通型Gタンパク質共役型受容体であるペプチド受容体GLP-1Rを選択した。最近、膵島β細胞を標的とした分子プローブ開発が国内外で活発に進められている

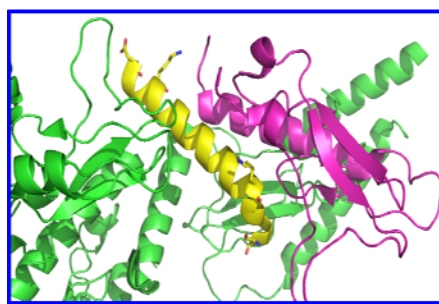
が、有望なものは未だ報告されていない。本研究において非侵襲的な膵島定量化が可能となれば、耐糖能低下以前での超早期診断、予防治療介入を可能とするだけでなく、糖尿病の病態を形態と機能を融合した形で解析できる指標となることが期待できることか

ら、糖尿病学の新たなパラダイムを築く可能性を有している。

3. 研究の方法

GLP-1受容体イメージングプローブの設計・合成：報告されているGLP-1受容体とExendin-4(9-39)の複合体の結晶構造解析から、結合に必須の領域、あるいは親和性が非常に高くなるアミノ酸配列を探索し、新規誘導体の開発に利用した。また設計した化合物をインシリコで評価し精密設計を行なった。

GPR40イメージングプローブの設計・合成：GPR40/120アゴニストとしてGW9508、GPR40アンタゴニストとしてGW1100を母体化合物に選択し、報告されているGPR40ホモロジーモデリングの立体構造情報に基づき、新規誘導体の開発に利用した。また設計した化合物をインシリコで評価し精密設計を行なった。



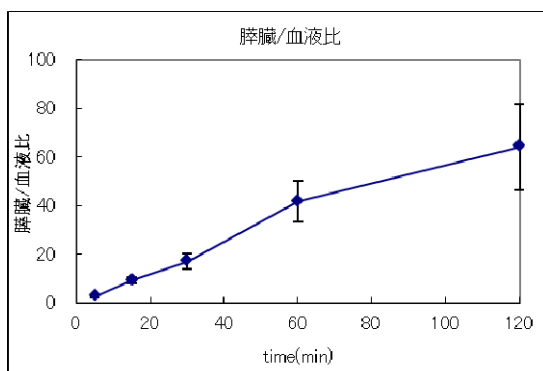
分子イメージングプローブのインビトロスクリーニング：マウスあるいはラットから単離した膵島、あるいは各標的タンパク質高発現細胞株を利用して標的への親和性・選択性の評価を行った。各標的タンパク質に結合する既存の放射性化合物が存在する場合には、開発した分子プローブの非標識体を用いる結合阻害実験を行い、阻害定数(Ki)を算出した。既存の放射性化合物が存在しない場合には、開発した分子プローブの標識体を用いる飽和結合実験を行い、結合定数(Kd)を算出した。KiあるいはKdがnMオーダー以下の化合物については、イメージングに十分な親和性を有していると考えられるので、インビボスクリーニングへ移行した。

分子イメージングプローブのインビボスクリーニング：正常マウス、ラットにプローブを投与して経時的に屠殺し、各臓器の重量および集積した放射能を測定した。膵臓への集積性、血液膵臓比、膵臓肝臓比を指標に、イメージングを行うのに適した動態を示すプローブの選別を行った。また、非標識体を投与するインビボブロッキング実験、膵島β細胞特異的GFP発現マウスを用いるオートラ

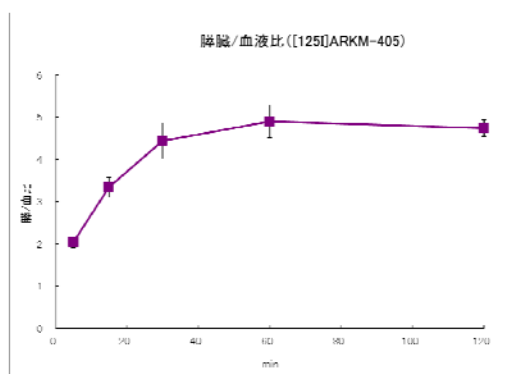
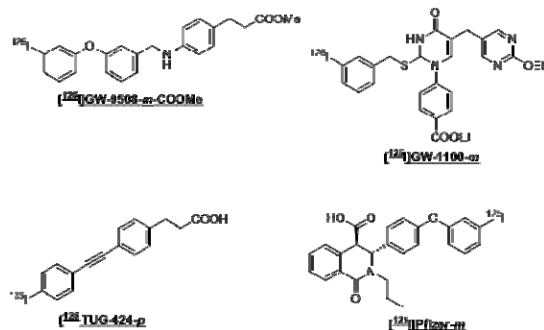
ジオグラフィを行うことで、プローブの標的特異性を評価した。 β 細胞特異的集積が示されたプローブについて、SPECTでイメージングを行い、膵臓が描出可能かどうかを検討した。

4. 研究成果

GLP-1Rを標的としたプローブとしては、母体化合物に Exendin-(9-39)、Exendin-4 を選択し、In-111 を導入した SPECT 製剤の開発を実施した。計算科学的手法を用いて二官能性キレート錯体を導入した化合物を設計し合成法を検討したところ、4種の誘導体の合成に成功した。単離膵島を用いて親和性を評価したところ、 $[^{111}\text{In}]\text{K4-Ex4}$ が $\text{IC}_{50}=0.75$ nM と高い親和性を示した。次に正常マウスを用いて体内分布を実施したところ、 $[^{111}\text{In}]\text{K4-Ex4}$ が膵臓に高く集積した (20%dose/g)。イメージングの指標となる、膵臓/血液比は経時的に高い値となった。



さらに、GPR40 をターゲットにしたプローブとして、I-123 を導入した SPECT 製剤の開発を実施した。これまでに、5種 ($[^{125}\text{I}]\text{GW-9508-m-COOMe}$, $[^{125}\text{I}]\text{GW-1100-m}$, $[^{125}\text{I}]\text{TUG-424-p}$, $[^{125}\text{I}]\text{Pfizer-m}$, $[^{125}\text{I}]\text{ARKM-405}$) の放射性ヨウ素標識化合物の合成に成功した。



そこで正常マウスを用いて体内分布を実施したところ、 $[^{125}\text{I}]\text{ARKM-405}$ が膵臓への集積性を示した (2%dose/g)。イメージングの指標となる、膵臓/血液比は経時的に高い値となり、投与後 30 分以降では平衡に達した。

以上、本研究で開発した $[^{111}\text{In}]\text{K4-Ex4}$ と $[^{125}\text{I}]\text{ARKM-405}$ が、膵島 β 細胞特異的な新規 SPECT 用分子イメージングプローブとして有望な候補化合物になり得ることが明らかとなった。

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 3 件)

- ① Kimura H, Mori D, Harada N, Ono M, Ohmomo Y, Kajimoto T, Kawashima H, Saji H. Microwave-assisted Synthesis of Organometallic Complexes of $^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{CO})_3$ and $\text{Re}(\text{CO})_3$: Its Application to Radiopharmaceuticals. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*. 2012;60(1):79-85(2012) 査読有り DOI:<http://dx.doi.org/10.1248/cpb.60.79>
- ② Harada N, Kimura H, Ono M, Mori D, Ohmomo Y, Kajimoto T, Kawashima H, Saji H. Effective Synthesis of $^{99\text{m}}\text{Tc}$ Tricarbonyl Complexes by Microwave Heating. *Journal of Organometallic Chemistry*. 696 (2011) 3745-3749 査読有り DOI:<http://dx.doi.org/10.1016/j.jorganchem.2011.08.033>
- ③ Mukai E, Toyoda K, Kimura H, Kawashima H, Fujimoto H, Ueda M, Temma T, Hirao K, Nagakawa K, Saji H, Inagaki N. GLP-1 receptor antagonist as a potential probe for pancreatic beta-cell imaging. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 389: 523-6 (2009).

査読有り

DOI:<http://dx.doi.org/10.1016/j.bbrc.2009.09.014>

〔学会発表〕(計 10 件)

- ① 小川祐, 木村寛之, 河嶋秀和, 豊田健太郎, 向英里, 藤本裕之, 平尾佳, 松田洋和, 小野正博, 稲垣暢也, 佐治英郎: 膵β細胞 GLP-1 受容体を標的とする SPECT 用イメージングプローブ Exendin(9-39)誘導体の開発、第 51 回日本核医学会学術総会、2011 年 10 月 28 日 つくば国際会議場(茨城)
- ② Ogawa Y, Kimura H, Kawashima H, Toyoda K, Mukai E, Fujimoto H, Hirao K, Ono M, Inagaki N, Saji H. Development of the Imaging Probe Targeting Pancreatic GLP-1 Receptors for Noninvasive Detection of Pancreatic β-cell Mass, The 8th AFMC International Medicinal Chemistry Symposium (AIMECS 11), 京王プラザホテル (東京都), 29 November - 2 December 2011
- ③ 小川祐, 木村寛之, 河嶋秀和, 豊田健太郎, 向英里, 藤本裕之, 平尾佳, 松田洋和, 小野正博, 稲垣暢也, 佐治英郎: 膵β細胞 GLP-1 受容体標的放射性プローブとしての I-123 標識 Exendin-4 誘導体、第 9 回次世代を担う若手のためのフィジカル・ファーマコフォーラム(PPF2011)、2011 年 9 月 12 日 ホテル箱根アカデミー (神奈川県)
- ④ Kimura H, Ogawa Y, Kawashima H, Toyoda K, Mukai E, Fujimoto H, Ono M, Hirao K, Inagaki N, Saji H. Radiosynthesis and evaluation of F-18 Exendin-4 derivatives as a PET tracer for the imaging of GLP-1 receptors on pancreatic β-cells, Society of Nuclear Medicine 58th Annual Meeting, San Antonio, Texas(USA), 2011, 6, 6
- ⑤ Ogawa Y, Kimura H, Kawashima H, Toyoda K, Mukai E, Fujimoto H, Hirao K, Ono M, Inagaki N, Saji H. Development of ¹²³I labeled Exendin derivatives for the imaging of GLP-1 receptors on pancreatic β-cell with SPECT, Society of Nuclear Medicine 58th Annual Meeting, San Antonio, Texas (USA), 2011, 6, 6
- ⑥ 小川祐, 木村寛之, 河嶋秀和, 豊田健太郎, 向英里, 藤本裕之, 平尾佳, 松田洋和, 小野正博, 稲垣暢也, 佐治英郎: 膵β細胞 GLP-1 受容体を標的とする SPECT 用イ

メージングプローブの開発、日本薬学会第 131 年会、2011 年 3 月 30 日 ツインメッセ静岡 (静岡県)

- ⑦ 小川祐, 木村寛之, 河嶋秀和, 豊田健太郎, 向英里, 藤本裕之, 平尾佳, 松田洋和, 小野正博, 稲垣暢也, 佐治英郎: GLP-1 受容体を標的とする放射性ヨウ素標識イメージングプローブの開発、第 50 回日本核医学会学術総会、2010 年 11 月 11~13 日 ソニックシティ (埼玉県)
- ⑧ 小川祐, 木村寛之, 河嶋秀和, 豊田健太郎, 向英里, 藤本裕之, 平尾佳, 永川健児, 小野正博, 稲垣暢也, 佐治英郎: GLP-1 受容体を標的とする膵β細胞イメージング用放射性プローブの開発、第 49 回日本核医学会学術総会、2009 年 10 月 2 日 旭川市民文化会館 (北海道)
- ⑨ Kimura H, Ogawa Y, Kawashima H, Mukai E, Toyoda K, Fujimoto H, Hirao K, Nagakawa K, Ono M, Inagaki N, Saji H. Development of in vivo imaging agents targeting glucagon-like peptide-1 receptor(GLP-1R) in pancreatic islets, World Molecular Imaging Congress 2009, Montreal (Canada), 2009, 9, 25
- ⑩ Kimura H, Ogawa Y, Kawashima H, Mukai E, Toyoda K, Fujimoto H, Hirao K, Nagakawa K, Ono M, Inagaki N, Saji H. Development of in vivo imaging agents targeting glucagon-like peptide-1 receptor(GLP-1R) in pancreatic islets, Society of Nuclear Medicine 56th Annual Meeting, Toronto (Canada), 2009, 6, 13

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.pharm.kyoto-u.ac.jp/byotai/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

佐治 英郎 (SAJI HIDEO)

京都大学 ・ 大学院薬学研究科 ・ 教授
研究者番号 : 40115853

(2) 研究分担者

天満 敬 (TEMMA TAKASHI)

京都大学 ・ 大学院薬学研究科 ・ 助教
研究者番号 : 90378787

豊田 健太郎 (TOYODA KENTARO)

京都大学 ・ 大学院医学研究科 ・ 助教
研究者番号 : 00447971

(3) 連携研究者

木村 寛之 (KIMURA HIROYUKI)

京都大学 ・ 環境安全保健機構 ・ 放射性同

位元素総合センター ・ 助教

研究者番号：50437240