

平成23年 5月 31日現在

機関番号： 82401
 研究種目： 若手研究(B)
 研究期間： 2009～2010
 課題番号： 21790171
 研究課題名（和文）
 薬物トランスポーター機能評価のためのPETプローブの探索
 研究課題名（英文） Investigation of PET probes for the functional analysis of drug transporters

研究代表者
 高島 忠之（TAKASHIMA TADAYUKI）
 独立行政法人理化学研究所・分子プローブ動態応用研究チーム・研究員
 研究者番号： 80469907

研究成果の概要（和文）：

様々な薬物の PET 評価検討の後、Celecoxib 代謝物 SC-62807 の ^{11}C 標識体である $[^{11}\text{C}]\text{SC-62807}$ を見出した。 $[^{11}\text{C}]\text{SC-62807}$ は正常マウスで代謝を受けずに速やかに胆汁排泄、腎排泄されるが、Bcrp ノックアウトマウスではこれらの排泄が劇的に低下することを PET 評価で明らかにした。本研究により $[^{11}\text{C}]\text{SC-62807}$ を用いた in vivo PET 評価で Bcrp の機能を比較的シンプルに解析できる可能性が動物試験により実証された。

研究成果の概要（英文）：

After a number of PET image analyses with several kinds of PET probes, we found carbon-11 labeled SC-62807 ($[^{11}\text{C}]\text{SC-62807}$), one of the metabolites of Celecoxib. PET image analysis revealed that $[^{11}\text{C}]\text{SC-62807}$ was excreted into bile and urine without metabolism in normal mice, which were drastically decreased in Bcrp knockout mice. The present study in mice demonstrated the feasibility of the PET studies with $[^{11}\text{C}]\text{SC-62807}$ for the functional analysis of Bcrp in human.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2010年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学・医療系薬学

キーワード：

(1)Positron Emission Tomography(PET) (2)薬物トランスポーター (3)肝胆系輸送 (4)腎排泄
 (5)Abcg2 (6)Celecoxib

1. 研究開始当初の背景

薬物やその代謝物の組織への分布および排泄において、薬物トランスポーターは重要な役割を果たしており、遺伝子多型による薬物トランスポーター機能の個人差や、薬物相互作用などによる一過性の機能変化は、薬効のバラツキ、副作用・毒性発現の一因になると考えられている。特に臨床研究において、これまでは薬物濃度を測定できる部位が“血中”や“尿中”濃度に限られており、薬物トランスポーター機能もこれらから求めた指標に基づく評価で行なってきた。しかしながら、血中、尿中薬物濃度は必ずしも薬物の組織分布や、排泄の変化を反映するわけではなく、臓器中濃度に直接基づいた解析がヒトにおける評価で必要と考えられる。

放射性同位体でラベルした基質化合物の位置情報が *in vivo* で決定できる Positron Emission Tomography (PET) を用いた分子イメージング技術は、組織中薬物濃度の時間変化が定量的に解析できる。従って、薬物の組織移行および排泄に関わる素過程の個別評価が可能であると考えられるため、PET 解析は薬物トランスポーター研究において有効な手法として期待されている。これまでに行われた薬物トランスポーターPET 機能解析では、脳内移行性に関する P-glycoprotein 機能解析の報告のみで、肝臓や腎臓などの“排泄組織”への分布・排泄過程を詳細に解析した報告は殆ど無い。従って、これら排泄組織への分布・排泄過程を解析できる PET プローブの開発が、薬物動態分野において世界をリードできるものと考えられる。

本研究では、既存 PET プローブについて、少なくとも 5 化合物を選定し、PET スクリーニングを行い、消失組織への分布・排泄が著しく、薬物トランスポーターにより組織分布・排泄が支配される性質をもつものを探索し、臨床応用を行うための候補品を見出すことを目的とする。当研究所では、これまでに新規 PET プローブである (15*R*)-16-*m*-[¹¹C]tolyl-17,18,19,20-tetranorisocarbacyclin methyl ester (15*R*-[¹¹C]TIC-Me) を見出し、肝胆系排泄を PET で評価する方法や、胆汁排泄において重要な薬物トランスポーター multidrug resistance-associated protein 2 (MRP2) の機能評価プローブとしての有用性に関し、分子イメージングに関連する学会で発表してきた。また当研究所は、他目的で用いられている数十種類の PET プローブの化に成功しており、本研究を行うための土台が築かれている。従って、15*R*-[¹¹C]TIC-Me に次ぐ、新規 PET プローブの探索研究ができる適切な環境であると考え、本研究の着想に至った。

2. 研究の目的

当研究所で PET プローブ化され、既に他目的で臨床応用されている薬物の中で、PET を用いた *in vivo* イメージング法により、正常動物(ラット、マウス)における組織中・血中動態特性を明らかにする。それらの中で、特に肝臓や腎臓などの排泄組織への分布速度、胆汁や尿中への排泄速度が著しい性質をもった PET プローブをスクリーニングする。

続いて、特定遺伝子の欠損動物や、阻害剤を用いた条件における組織分布、排泄を PET で解析し、関与している薬物トランスポーターの寄与を見積もる。この結果からトランスポーター機能評価に有用な PET プローブとして、少なくとも動物レベルで有用性を考察し、最終的には候補品としてスクリーニングしたプローブが臨床 PET 応用できる価値をもっているかを明らかにする。

3. 研究の方法

実験 1) PET を用いた正常動物での薬物体内動態スクリーニング

当該施設で PET プローブ化され、既に他目的で臨床応用されている数十種類ある薬物の中で、少なくとも 5 化合物を選定し、PET イメージング法により、正常動物(特にラット、マウスを中心)における組織中・血中動態特性を明らかにする。評価した様々な PET プローブのうち、特に肝臓や腎臓などの排泄組織への分布速度、胆汁や尿中への排泄速度が著しい性質をもち、薬物トランスポーターを介した輸送により組織分布、排泄されていると判断できる PET プローブをスクリーニングし、優先順位をつける。

実験 2) PET を用いた *in vivo* における薬物トランスポーターの機能評価

実験 1 でスクリーニングした PET プローブで優先順位の高いものについて、臓器分布、排泄量がどのトランスポーターによって影響しているかを明らかにする。方法としては、

A) 薬物トランスポーター遺伝子欠損動物を用いた PET 試験や、
B) トランスポーター特異的阻害剤の併用時における PET 試験

を行い、正常時との血中、組織中体内動態の推移変化を比較し、薬物トランスポーターの寄与を解析し、薬物トランスポーター機能変化を評価に有用なプローブであるかを明らかにする。

実験 3) PET を用いた *in vivo* における薬物トランスポーターの機能評価

平成 21 年度実験②の *in vivo* レベルでの検討実験を継続し、スクリーニングした PET プローブの薬物トランスポーター機能評価プローブとしての有用性を動物を用いた *in vivo* 系で評価する。

実験4) In vitro 系を用いた、動物とヒトにおける薬物トランスポーター機能の性質解明とヒト動態予測

動物における薬物トランスポーター機能評価プローブとしての評価で有用と判断できたものについて、in vivo 試験結果の裏づけとして、薬物トランスポーター発現系などの in vitro 系を用い、PET プローブの薬物トランスポーター基質としての性質を明らかにする。また関連薬物トランスポーターのヒトにおける in vitro 系についても評価し、動物試験結果(in vivo PET 評価と in vitro 評価)と、ヒト in vitro 評価試験結果から、臨床試験応用への可能性を明らかにする。

4. 研究成果

薬物トランスポーターの機能を in vivo で評価するため、特定のトランスポーターの基質となるPETプローブの探索を計画通り進めた。候補として ^{14}C]DASB、 ^{14}C]PK-11195、 ^{14}C]Celecoxib 等を選び、正常ラットに静脈内bolus投与後、放射能の体内動態をPETで評価したところ、投与した放射能が主に肝胆系輸送により排泄されることがPET画像評価により明らかとなった。 ^{14}C]DASB や ^{14}C]PK-11195は血中での放射性代謝物存在比が多かったため、比較的血中での親化合物存在比が多い ^{14}C]Celecoxibを用いた検討を進めた。

更に ^{14}C]Celecoxib では、Mrp2を遺伝的に欠損するラットを用いた比較実験を進めたところ、正常ラットとほぼ同レベルで放射能が胆汁排泄され、Mrp2以外の薬物トランスポーターが胆汁排泄に大きく寄与する可能性が示された。しかしながら、詳細に組織中における放射能の代謝物解析を行ったところ、 ^{14}C]Celecoxib投与後の胆汁中放射能は代謝物由来、肝臓中の放射能はCelecoxib由来であった。このため放射能排泄の律速過程は肝代謝であると考えられ、胆汁排泄に関わる薬物トランスポーター機能のPET直接評価に ^{14}C]Celecoxibを用いることは難しいと判断した。

そこで、Celecoxib代謝物であるSC-62807に着目し、in vitro 輸送試験の結果から、SC-62807はBreast Cancer Resistance Protein (BCRP)を介して輸送されることが明らかとなった。その後、SC-62807の ^{14}C 標識化による新規PETプローブ化に成功し、 ^{14}C 標識化SC-62807(図1)を用いたin vivoにおける検討を動物PET試験で進めた。

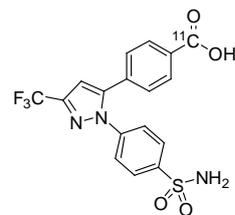


図1 Chemical structure of ^{14}C]SC-62807

初めに、ヒトin vivoでフェノタイピングを行なう前段階として、 ^{14}C]SC-62807を用いた正常マウスや薬物トランスポーターノックアウトマウスにおける肝胆系輸送や腎排泄に関わるPET評価を行った。

正常マウスにおいて、 ^{14}C]SC-62807を静脈内bolus投与後、血中放射能濃度は速やかに減少し、放射能は主に肝胆系輸送、腎排泄により消失されることがPET画像として確認することができた。(図2、図3)

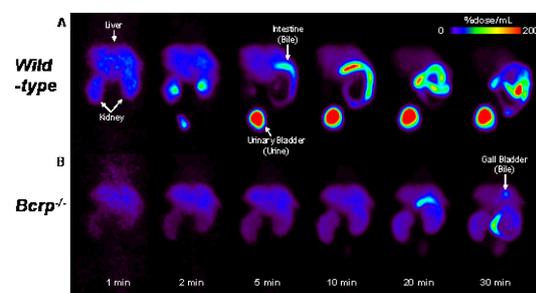


図2 Maximum intensity projection PET images of abdominal region of wild-type or *Bcrp*^{-/-} mice after administration of ^{14}C]SC-62807

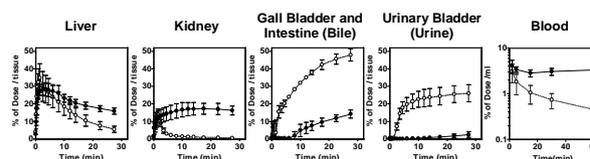


図3 Time-profiles of the radioactivity in tissues and blood following administration of ^{14}C]SC-62807 to wild-type or *Bcrp*^{-/-} mice. The values in wild-type or *Bcrp*^{-/-} mice are represented by open and closed symbols, respectively

放射能検出器を備えたHPLCを用い、血中、肝臓中、胆汁中の放射能の組成を調べたところ、各組織で検出された放射能は、投与した未変化体の ^{14}C]SC-62807由来であることが示された(図4)。

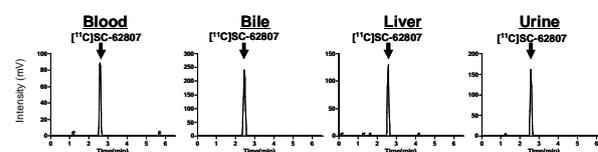


図4 HPLC radiochromatograms

更に、薬物トランスポーターノックアウトマウスとして、Bcrp (Abcg2)のノックアウトマウスを用いたPET評価では、 ^{11}C SC-62807由来の放射能の胆汁排泄や腎排泄が劇的に低下し、血中への放射能濃度の滞留が見られた(図2、3)。

以上から、 ^{11}C SC-62807は殆ど代謝を受けずに、主にBcrpを介して胆汁排泄されている可能性が示され、 ^{11}C SC-62807の肝胆系輸送に関わる薬物トランスポーターの機能を反映していることが動物試験により実証された。

本成果は 2011 年内には雑誌への投稿論文としてまとめる予定である。

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0件)

[学会発表] (計2件)

1. 高島忠之、前田和哉、楠原洋之、杉山雄一、渡辺恭良：薬物トランスポーターが関与する医薬品の体内動態研究における分子イメージングの活用/ 第6回日本分子イメージング学会シンポジウム, 神戸, May 26-27, 2011

2. 高島忠之、片山由美子、高島好聖、和田康弘、鈴木正昭、渡辺恭良、Chunyong Wu、楠原洋之、杉山雄一. ^{11}C SC-62807 を用いた Positron Emission Tomography (PET) による胆汁排泄輸送評価 第19回肝病態生理研究会, 東京, June 1, 2011.

6. 研究組織

(1)研究代表者

高島 忠之 (TAKASHIMA TADAYUKI)

独立行政法人理化学研究所・分子プローブ動態応用研究チーム・研究員

80469907