

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 20 日現在

機関番号：13301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23791400

研究課題名(和文) 脳内  $\sigma$ -1 受容体イメージングによる老化及びストレス性疾患の客観的評価に関する研究

研究課題名(英文) The imaging study of sigma-1 receptor in the brain for the objective evaluation method of the disease caused by aging or stress

研究代表者

小阪 孝史 (Kozaka, Takashi)

金沢大学・学際科学実験センター・助教

研究者番号：50579836

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000 円、(間接経費) 930,000 円

研究成果の概要(和文)：老化やストレス性疾患の客観的な評価法の開発を目的として、脳内の  $\sigma$ -1 受容体のイメージング研究に取り組んだ。しかし、新規に合成した p-ヨード-trans-デカリンベサミコール (PIDV) は、化合物デザインした段階での予想とは異なり、*in vitro*において、 $\sigma$ -2 受容体に親和性と選択性を有することを見出した。 $\sigma$ -2 受容体は乳がんなど、細胞分化が活発な腫瘍に多く発現することが知られているが、臨床応用可能な  $\sigma$ -2 受容体選択的リガンドは未だ開発されていない。増殖能が大きい腫瘍細胞の画像診断が可能となる  $\sigma$ -2 受容体イメージング剤の開発に向けて、大きな足掛かりを築くのに成功した。

研究成果の概要(英文)：For the purpose of the development of the objective evaluation method of the disease caused by aging or stress, I worked on the imaging study of the sigma-1 receptor in the brain. Out of my expectation, the newly developed compound, p-iodo-trans-decalinesamicol (PIDV), was found to possess the high affinity and selectivity to sigma-2 receptor, not to sigma-1 receptor, *in vitro*. The sigma-2 receptor is known to express in higher density in high proliferation potency human cancer cells, such as breast cancer. However, the clinically applicable sigma-2 receptor ligand is not developed yet. As a result of this study, I succeeded in developing the promising sigma-2 receptor imaging agent which enables the early image diagnosis of breast cancer.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：放射線科学

キーワード： $\sigma$ -2 受容体 ベサミコール

### 1. 研究開始当初の背景

シグマ( $\sigma$ )受容体は中枢神経系に存在し、記憶や感情等、様々な脳の高次機能に関与している。その生物学的な作用は多岐にわたり、現在までに多くの科学者によって様々なアプローチが試みられてきたが、未だ不明な点が多く、更なる解明が急がれている。受容体には2つのサブタイプ( $\sigma$ -1及び $\sigma$ -2)が見出されている。 $\sigma$ -1受容体は、学習/記憶のメカニズムに深く関与しており、その活性化によって大脳皮質前頭葉や海馬におけるアセチルコリンの遊離が促進され、学習/記憶障害が改善することが知られている。また、 $\sigma$ -1受容体は老齢化に伴い増加する傾向があり、更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。従って、 $\sigma$ -1受容体は、老化やストレスにより引き起こされる脳の機能障害や精神的な異常に対して、正常に戻す様に機能している可能性がある。このことは即ち、 $\sigma$ -1受容体を可視化(イメージング)することが出来れば、アルツハイマー病を含む認知症や老化、ストレス関連の精神神経疾患の進行度(重症度)を客観的に評価出来る可能性があることを意味している。

### 2. 研究の目的

$\sigma$ -1受容体のイメージングには、体外から非侵襲的に高感度かつ定量的な画像化が可能なSPECTやPETが最適と考えられる。従って、 $\sigma$ -1受容体と高い選択性と親和性を示して結合する放射性リガンド(トレーサー)の開発が必須条件である。本研究は、有機合成化学や放射性核種を用いた標識合成、放射性化合物の生物学的評価など、多分野に渡る専門的な実験技術を生かして、選択性の高い新規放射性 $\sigma$ -1受容体イメージング剤を開発し、 $\sigma$ -1受容体と老化やストレスとの関係を調べ、更には脳における老化の進行度やストレス関連の精神神経疾患を客観的に評価ができる可視解析システムの構築を目指すものである。

イメージング剤の研究としては、既知の受容体リガンドを放射性核種で標識して用いる手法が一般的だが、既知のリガンドには存在しないヨード等を分子内に導入する為、分子構造が変化し、標的部位に対する結合親和性・選択性が変化してしまうという欠点がある。本研究は、既知のリガンドの活用ではなく、新規化合物を合成して応用するという発想に基づき、高選択的脳内 $\sigma$ -1受容体イメージング剤の開発研究である。即ち、分子内にヨードやメチル基といった、放射性核種に置換可能な官能基を予め有する新規化合物を合成することにより、SPECT用やPET用の放射性核種の導入が容易になり、また標識後も $\sigma$ -1受容体に対する親和性・選択性に変化がない、新たな $\sigma$ -1受容体リガンドの創製が可能となる。

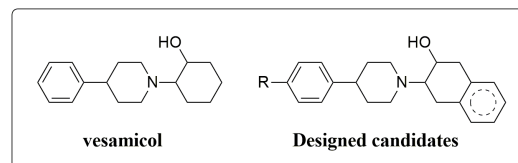
### 3. 研究の方法

(1) ベサミコールは、小胞アセチルコリントランスポーター(VAChT)と受容体( $\sigma$ -1、 $\sigma$ -2)に親和性を示す。また、ベサミコールの4-フェニルピペリジン骨格及びヨードの導入位置は、 $\sigma$ -1受容体への高親和性の発現に対して、重要な因子であるという知見が既に得られている。イメージング剤を開発するという事が第一前提なので、新規候補化合物群は、放射性核種で容易に標識が可能となる化合物構造でなくてはならない。そこで、パラ位にヨードを有する4-フェニルピペリジン骨格を保ちつつ、シクロヘキサン部分の構造変換を行うことにする。

(2) トリチウム( $^3\text{H}$ )で標識した(+)-ペンタゾシン( $\sigma$ -1受容体リガンド)や1,3-di-*o*-tolylguanidine (DTG)(受容体リガンド)を用いた*in vitro*薬物阻害実験により、スクリーニングを行う。スクリーニングの結果を基にして、 $\sigma$ -1受容体との親和性における構造活性相関を考察し、新たな化合物群を合成していき、より高い選択性と親和性を示す $\sigma$ -1受容体リガンドの探索を行う。

(3) 化合物構造に合わせた放射性核種での標識合成を検討する。具体的には、SPECT用核種( $^{123}\text{I}$ )やPET用核種( $^{11}\text{C}$ )を想定するが、半減期の違いや入手の容易さ、被ばくのリスクなどを考慮し、実験では( $^{123}\text{I}$ )の代わりに( $^{125}\text{I}$ )を使用する。

(4) 上記(3)で得られた放射性核種標識 $\sigma$ -1受容体リガンドをラットに投与する*in vivo*実験を行い、体内動態、血液-脳関門(BBB)透過性、局所脳内分布、薬物阻害効果等を調べ、*in vivo*における脳内結合特性を検討する。



(5) 以上の全ての実験の結果を基にして、 $\sigma$ -1受容体イメージング剤としての評価を行う。

### 4. 研究成果

(1) ベサミコールをリード化合物として、高選択的 $\sigma$ -1受容体リガンドとなる可能性がある新規候補化合物の合成を行った。シクロヘキサン構造を保持した方が $\sigma$ -1受容体への高親和性を維持できると考え、*trans*-デカリン骨格を有する*p*-ヨード-*trans*-デカリンベサミコール(PIDV)、もしくはテトラヒドロナフタレン骨格を有する*p*-ヨードベンズベサミコール(PIBzV)をデザインした。どちらの化合物も*p*-プロモベンズアルデヒ

ドを共通の出発原料とし、それぞれ7工程を経て、新規合成及び精製に成功した。

(2) 合成した新規ベサミコール類縁化合物群について、*in vitro*薬物阻害実験によりスクリーニングを行った。VAcHT 親和性が評価対象の実験では、ラジオリガンドに $[^3\text{H}](-)$ -ベサミコールを、組織にラット脳ホモジネートを、受容体のマスキングにDTGを用いた。

-1受容体親和性が対象の場合、 $[^3\text{H}](+)$ -ペンタゾシン、ラット脳ホモジネートを使用した。また -2受容体親和性が対象の場合、 $[^3\text{H}]$ DTG、ラット肝ホモジネート、-1受容体のマスクに(+)-ペンタゾシンを用いた。それぞれの試薬・組織と阻害剤(試験化合物)10濃度を試験管にとり、37でインキュベーションした。その結果、*trans*-デカリン骨格を有するPIDVは、予期していた-1受容体ではなく、-2受容体に対して高い親和性と選択性を示すことが明らかになった。

(3) -2受容体は乳がんなど、細胞分化が活発な腫瘍に多く発現することが知られており、-2受容体は増殖期の固形腫瘍細胞の重要なバイオマーカーである<sup>ref</sup>。臨床応用可能な-2受容体選択的リガンドは未だ開発されていない。そこで、高い親和性と選択性を有する-2受容体イメージング剤を開発することが出来れば、増殖能の大きい腫瘍細胞の画像診断が可能となり、核医学の分野で社会に大きな貢献できると考え、PIDVの更なる評価を行うことにした。

Ref) Mach, R. H. et al. "The  $\alpha_2$  Receptor: A Novel Protein for the Imaging and Treatment of Cancer", *Journal of Medicinal Chemistry*, 2013, Volume 56, Issue 18, pp 7137-7160.

(4)  $^{125}\text{I}$ (半減期: 59.4日)で標識した $[^{125}\text{I}]$ PIDVを用いて、脂溶性を評価する指標である分配係数を測定した結果、分配係数(log P値)は $1.78 \pm 0.03$ であった。一般的に、log P値が2~3の化合物は血液-脳関門を通過して、薬物脳内移行性を示す傾向があるとされているので、PIDVの脳内移行性は低いことが予想される。

(5) ヒト由来乳がん細胞 MCF-7 (Michigan Cancer Foundation-7)は-2受容体を多く発現していることが知られている。そこで、 $[^{125}\text{I}]$ PIDVと培養したMCF-7を用いて、*in vitro*薬物細胞内取込実験(37; 15、30、60、120分)を行い、-2受容体親和性を評価した。MCF-7はDSファーマバイオメディカル株式会社より購入し、10%牛血清と抗生物質を加えたL-グルタミン含有RPMI1640培地(ナカライテスク株式会社)を用いて5%CO<sub>2</sub>インキュベータ内37で培養した。また、阻害剤として、ハロペリドール(-受容体リガンド)とPIDV(BG測定用)を用いた。*In vitro*

薬物細胞内取込実験の結果、control群で $[^{125}\text{I}]$ PIDV細胞内取込量が高い値を示した一方、ハロペリドール(10  $\mu\text{M}$ )を加えた群では、 $[^{125}\text{I}]$ PIDVの細胞内取込が強く阻害された。

(6) 高選択的-2受容体リガンドとなりうる新規放射性化合物の開発に成功し、増殖能の大きい腫瘍細胞のイメージングという新たな研究への可能性を発見した。即ち、本研究の成果は、-2受容体イメージングによる乳がんなどの早期診断システム構築に向けて、一步を踏み出したことである。厚生労働省が発表した平成24年の日本人の死因に関する調査結果では、悪性新生物(がん)は1位であり、しかも調査開始時点(昭和22年)から平成24年時点に至るまで一貫して増加傾向にある。がん治療には、腫瘍細胞の早期発見は最重要項目である。従って、本研究の成果は社会な要望に合致しており、今後の研究発展により、益々社会貢献しうると考えている。

#### 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 1件)

・日本分子イメージング学会

第9回学会総会・学術集会

平成26年5月23日(金)【発表確定】

(千里ライフサイエンスセンター、大阪府)ポスター発表

演題名: 新規 -2受容体イメージング剤PIDVの開発研究

小阪孝史、緩詰沙耶、三輪大輔、Mohammad A. Azim、黒宮里紗、北村陽二、小川数馬、川井恵一、柴和弘

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

取得状況(計 0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小阪 孝史 (KOZAKA, Takashi)  
金沢大学 学際科学実験センター  
助教  
研究者番号：50579836

(2) 研究分担者

( )

研究者番号：

(3) 連携研究者

( )

研究者番号：