

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 20 日現在

機関番号：82502

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25460114

研究課題名(和文)うつ症候発症機構におけるキヌレニン経路の役割の解明

研究課題名(英文)Elucidation for a role of kynurenine pathway on the pathogenesis of depression

研究代表者

前田 純 (Maeda, Jun)

国立研究開発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

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：トリプトファン取り込み能を画像化することを目的にトリプトファン誘導体[11C]1-メチル-L-トリプトファン(1-MT)のポジトロン標識合成を行い、[11C]1-MTの体内動態特性について動物PETを用いた。[11C]1-MTは膵臓に最も高く集積し、脳への集積は他の臓器と比較して低かった。膵臓および脳において[11C]1-MTは能動的に取り込まれ、トリプトファン代謝を促進する副腎皮質ホルモンを前投与することにより30%取り込みが減少した。これらのことから[11C]1-MTはストレスによるトリプトファン代謝に依存して取り込み量が変動し、うつ病などの診断マーカーとして有用であると示唆された。

研究成果の概要(英文)：To visualize an incorporation efficiency of tryptophan, a tryptophan analogue [11C]1-methyl-L-tryptophan was synthesized with positron labeling, and the characterization of [11C]1-MT bio-distribution in rodents was investigated using small-animal PET. The uptake of [11C]1-MT in the pancreas was the highest concentration among the organs, while the other organs were relative lower concentration compared to the pancreas. The uptakes of [11C]1-MT in the brain and pancreas were in an active manner, and pretreatment with corticosteroid decreased the cerebral and pancreatic uptakes of [11C]1-MT by 30%. These results suggested that the uptake of [11C]1-MT was dependent on tryptophan metabolism induced by stress, and indicated that [11C]1-MT was a beneficial marker for diagnosis of depression.

研究分野：放射薬品学

キーワード：トリプトファン キヌレニン 陽電子断層撮像 うつ病 ストレス

1. 研究開始当初の背景

(1) うつ病は世界の全人口の5%が罹患していると推定されており、日本においても本疾患を原因とする自殺、休職が重大な社会問題となっている。うつ病発症の主要因は過度の精神的ストレスによって引き起こされる副腎皮質ホルモン内分泌系の視床下部-下垂体-副腎系の亢進が第一に挙げられており、その結果セロトニン神経系の機能低下を生じると考えられている。しかしながら、5-HT系機能低下に至る詳細な発症機構は解明されていない。このことから、うつ病の発症機構を機能画像化するマーカーの開発が必要とされていた。

(2) セロトニンは必須アミノ酸トリプトファンを前駆物質とする神経伝達物質であるが、セロトニンに代謝されるトリプトファンは1割に満たず、9割以上はキヌレニン経路により分解される。キヌレニン経路の律速酵素としてトリプトファンのインドール環を開環するトリプトファン 2、3-ジオキシゲナーゼ (TDO) およびインドールアミン 2、3-ジオキシゲナーゼ (IDO) の2種類の酵素が知られており、キヌレニン酸およびナイアシンなどに代謝される。このキヌレニン経路の存在意義として、妊娠中の胎児および悪性腫瘍組織においてTDOもしくはIDOの遺伝子転写が著しく亢進しており、胎児および腫瘍への免疫寛容性に重要な役割を果たしている。近年この原因物質として経路最初の代謝産物キヌレニンであることが明らかとなった。さらにTDOおよびIDOはストレスで増加する副腎皮質ホルモンおよび肝炎治療で用いられるインターフェロンにより酵素の発現が誘導される。これらの疾患および生体条件ではいずれもうつ病・うつ症状のリスクを高めることが知られている。したがって、このような生体条件下ではキヌレニン経路が活性化して局所的ないしは全身的に免疫機能を低下させる一方で、引き換えに脳へのトリプトファンの供給は低下し、結果脳内セロトニンの貯蔵量が低下すると予想された。

2. 研究の目的

うつ病時のトリプトファンの利用能を測定する陽電子断層撮像 (PET) トレーサーを開発するのを目的に代謝安定型のトリプトファンアナログ ^{11}C 1-L-メチルトリプトファン (1-Me-L-TRP) のポジトロン標識合成を行った。この ^{11}C 1-Me-L-TRPをマウスに投与を行い、体内動態特性および代謝安定性を確認した。さらに薬物負荷モデルで体内動態の変化がみられるかどうかを小動物PETにより画像解析を行い、うつ病の診断マーカーとして妥当性を評価した。

3. 研究の方法

(1) ^{11}C 1-Me-L-TRP の標識合成

アミノ基およびカルボキシル基をそれぞれBoc基およびエチル基で保護したL-トリプトファンを原料とし、インドール環の1位に ^{11}C メチル基を導入し、その後保護基を加水分解

することで ^{11}C 1-Me-L-TRPを得た。合成した ^{11}C 1-Me-L-TRPはHPLCで分離精製しリン酸緩衝液に溶解させることで注射剤化した。

(2) ^{11}C 1-Me-L-TRP の体内動態測定

^{11}C 1-Me-L-TRP 注射液は尾静脈を介して注射し、投与後90分の体内動態を小動物PETもしくは解剖法による臓器の放射能測定により評価を行った。得られたPET画像は解析ソフトを用い関心領域を設定し、領域中の放射能濃度時間曲線を算出した。脳および血漿における代謝物分析はサンプルを0.1M過塩素酸で除タンパクを行い、遠心分離にて得られた上清をradio-HPLCで分離定量を行った。

4. 研究成果

(1) ^{11}C 1-Me-L-TRP の標識合成

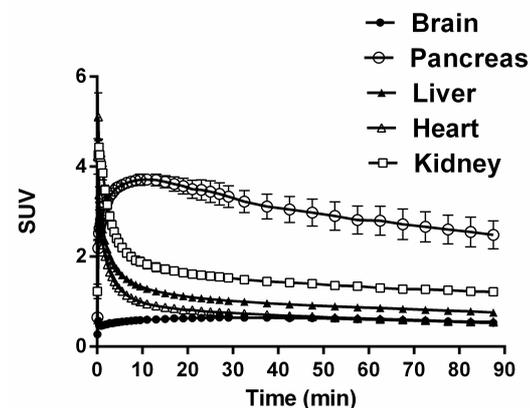
^{11}C 1-Me-L-TRPは加速器による照射終了後40分で製剤化可能であり、減衰補正した放射化学収率は合成に用いた ^{11}C CO₂の47%であった。また得られた注射剤は90分後でも95%以上の放射化学純度を維持しており、放射自己分解は確認されなかった。

(2) ^{11}C 1-Me-L-TRP の体内分布および代謝安定性

^{11}C 1-Me-L-TRPをマウスに投与を行い、1、5、15、30、60分後に摘出した各臓器の放射能濃度をオートガンマカウンターで計測した。この結果、投与後15分後膵臓に最も高く集積しており、ついで腎臓に集積が認められ、他の臓器は膵臓の1/10程度の濃度で集積が確認された。また未変化体の割合を測定したところ、未変化体%は5分後から不変であり、60分後における血漿および脳未変化体%は95%であった。

(3) 小動物PETによる ^{11}C 1-Me-L-TRPの体内動態解析

^{11}C 1-Me-L-TRPの動態について小動物PETカメラにて詳細な時間変化を計測したところ(図1)投与後20-30秒後に一時腎排泄された後、再吸収されて肝臓へ移行することが明らかとなった。次に1分後をピークに肝臓へ移行した後、2分~15分にかけて膵臓への集積が増加していった。一方脳への集積が他の臓器に比べ低く、投与20-30分後にピークを迎えた。この結果から血中のトリプトファンは主に膵臓に貯蔵されて血中濃度を維持していると考察された。



(図1) [¹¹C]1-Me-L-TRP の濃度-時間推移

一方 [¹¹C]1-Me-L-TRP の光学異性体である [¹¹C]1-Me-D-TRP についても同様の検証をおこなったところ、腎臓からの再吸収が見られず、脳および脾臓への集積は認められなかった。従って [¹¹C]1-Me-L-TRP の腎臓における再吸収ならびに脳および脾臓への取り込みはトランスポーターにより能動的に取り込まれていることが示唆された。そこでL系アミノ酸トランスポーター阻害薬を同時投与して影響を確認したところ、脳および脾臓の取り込みの遅延および低下が認められたものの、完全な抑制は見られなかった。この結果から [¹¹C]1-Me-L-TRP はL系トランスポーターを含む複数の種類のトランスポーターにより取り込まれていることが示唆された。

(3) [¹¹C]1-Me-L-TRP 取り込みに対するストレスおよび炎症の影響

[¹¹C]1-Me-L-TRP の脳および脾臓への取り込みに対するストレスおよび炎症の影響を確認するため、合成副腎皮質ホルモンのデキサメタゾンおよび大腸菌由来リポポリ多糖 (LPS) 前投与の影響について検証を行った。デキサメタゾンをスキャン3時間前に投与し [¹¹C]1-Me-L-TRP の PET スキャンを行ったところ、脳および脾臓への取り込みが30%減少した。このことからストレスなどによる副腎皮質ホルモンの増加は脳へのトリプトファンの供給を低下させてセロトニン量を減少させると推察される。一方、LPSを3時間前に投与することにより脳取り込みはほぼ変わらないものの脾臓への取り込みが30%増加した。副腎皮質ホルモンおよびLPSはそれぞれTDOおよびIDOの酵素誘導を起こすことが明らかとなっているが、脾臓のトリプトファンの取り込みに関しては対照的な反応を示すことが示唆された。また、脳への取り込みに関してはLPS投与により減少が見られないものの、脾臓への貯蔵および代謝分解が促進すると考えられ、脳へのトリプトファンの輸送は結果減少すると推察される。以上のことから [¹¹C]1-Me-L-TRP はうつ病などの病態時のトリプトファン取り込み能を測定するプローブとして有用なツールであることが示唆された。

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 7件)

Koga K, Maeda J, Tokunaga M, Hanyu M, Kawamura K, Ohmichi M, Nakamura T, Nagai Y, Seki C, Kimura Y, Minamimoto T, Zhang MR, Fukumura T, Suhara T, Higuchi M. Development of TASP0410457 (TASP457), a novel dihydroquinolinone derivative as a PET radioligand for central histamine H3 receptors. *EJNMMI*

Res, 査読有, 6(1), 11, 2016, doi 10.1186/s13550-016-0170-2

Xie L, Maeda J, Kumata K, Yui J, Zhang Y, Hatori A, Nengaki N, Wakizaka H, Fujinaga M, Yamasaki T, Shimoda Y, Higuchi M, Suhara T, Wang F, Zhang MR, Development of 1-N-¹¹C-Methyl-L- and -D-Tryptophan for pharmacokinetic imaging of the immune checkpoint inhibitor 1-Methyl-Tryptophan. *Sci Rep*, 査読有, 5, 16417, 2015, doi 10.1038/srep16417

Tiwari AK, Ji B, Yui J, Fujinaga M, Yamasaki T, Xie L, Luo R, Shimoda Y, Kumata K, Zhang Y, Hatori A, Maeda J, Higuchi M, Wang F, Zhang MR, [¹⁸F]FEBMP: Positron Emission Tomography Imaging of TSPO in a Model of Neuroinflammation in Rats, and in vitro Autoradiograms of the Human Brain. *Theranostics*, 査読有, 5(9), 961-969, 2015, doi 10.7150/thno.12027

Kumata K, Yui J, Hatori A, Maeda J, Xie L, Ogawa M, Yamasaki T, Nagai Y, Shimoda Y, Fujinaga M, Kawamura K, Zhang MR, Development of [¹¹C]MFTC for PET imaging of fatty acid amide hydrolase in rat and monkey brains. *ACS Chem Neurosci*, 査読有, 6(2), 339-346, 2015, doi 10.1021/cn500269g

Endo T, Saijo T, Haneda E, Maeda J, Tokunaga M, Zhang MR, Kannami A, Asai H, Suzuki M, Suhara T, Higuchi M, Quantification of central substance P receptor occupancy by aprepitant using small animal positron emission tomography. *Int J Neuropsychopharmacol*, 査読有, 18(2), pii: pyu030, 2014, doi 10.1093/ijnp/pyu030

Tiwari AK, Yui J, Fujinaga M, Kumata K, Shimoda Y, Yamasaki T, Xie L, Hatori A, Maeda J, Nengaki N, Zhang MR, Characterization of a novel acetamidobenzoxazolone-based PET ligand for translocator protein (18 kDa) imaging of neuroinflammation in the brain. *J Neurochem*, 査読有, 129(4), 712-720, 2014, doi 10.1111/jnc.12670.

Takao K, Kobayashi K, Hagiwara H, Ohira K, Shoji H, Hattori S, Koshimizu H, Umemori J, Toyama K, Nakamura HK, Kuroiwa M, Maeda J, Atsuzawa K, Esaki K, Yamaguchi S, Furuya S, Takagi T, Walton NM, Hayashi N, Suzuki H, Higuchi M, Usuda N, Suhara T, Nishi A, Deficiency of schnurri-2, an MHC enhancer binding protein, induces mild chronic inflammation in the brain and confers molecular, neuronal, and

behavioral phenotypes related to schizophrenia.
Neuropsychopharmacology, 査読有
38(8), 1409-1425, 2013, doi
10.1038/npp.2013.38

〔学会発表〕(計 9 件)

生駒洋子、田桑弘之、西野明日香、関千江、前田純、PET 動態解析によるシナプス間隙におけるセロトニン濃度変化の定量評価、JAMIT フロンティア 2016、2016 年 1 月 19 日、那覇市ぶんかテンブス館 4 階テンブスホール(沖縄県・那覇市)

Lin Xie, Jun Maeda, Katsushi Kumata, Joji Yui, Yiding Zhang, Akiko Hatori, Nobuki Nengaki, Hidekatsu Wakizaka, Masayuki Fujinaga, Ming-Rong Zhang, Development of 1-N-[¹¹C]-Methyl-L- and -D-Tryptophan for Pharmacokinetic Imaging of the Immune Checkpoint Inhibitor 1-Methyl-Tryptophan. Ninth Japan-China Joint Seminar on Radiopharmaceutical Chemistry 2015, 2015 年 11 月 19 日、放射線医学総合研究所(千葉県・千葉市)

生駒洋子、田桑弘之、西野明日香、関千江、前田純、[¹⁸F]altanserin-PET を用いた覚醒下マウスにおける内因性セロトニン変化の測定、第 55 回日本核医学会学術総会、2015 年 11 月 6 日、ハイアットリージェンシー東京(東京都・新宿区)

Katsushi Kumata, Lin Xie, Joji Yui, Akiko Hatori, Yiding Zhang, Nobuki Nengaki, Masayuki Fujinaga, Tomoteru Yamasaki, Yoko Shimoda, Jun Maeda, Ming-Rong Zhang, Radiosynthesis and pharmacokinetic comparison of 1-N-[¹¹C]methyl-L- and -D-tryptophan, 21st International Symposium on Radiopharmaceutical Sciences, 2015 年 5 月 28 日、コロンビア(米国)

羽鳥晶子、熊田勝志、由井譲二、謝琳、山崎友照、前田純、念垣信樹、河村和紀、張明栄、糖尿病モデル ZDF ラットを用いた [¹¹C]1-Methyl-L-tryptophan の PET イメージング、第 54 回日本核医学会総会、2014 年 11 月 6 日、大阪国際会議場(大阪府・大阪市)

前田純、熊田勝志、張明栄、徳永正希、南久松文晴、関千江、樋口真人、須原哲也 [¹¹C]1-Methyl-L-tryptophan による脳および脾臓の L-tryptophan 利用能の測定、第 54 回日本核医学会総会、2014 年 11 月 6 日、大阪国際会議場(大阪府・大阪市)

熊田勝志、由井譲二、羽鳥晶子、謝琳、山崎友照、栗原雄祐、前田純、張明栄、[¹¹C]1-メチルトリプトファンの標識合成と体内分布、第 54 回日本核医学会総会、2014 年 11 月 6 日、大阪国際会議場(大

阪府・大阪市)

田桑弘之、前田純、徳永正希、脇坂秀克、生駒洋子、関千江、川口拓之、田島洋佑、谷口順子、菅野巖、伊藤浩、PET によるレセプター結合能測定における麻酔と拘束の影響、2013 年 11 月 2 日第 25 回日本脳循環代謝学会総会、京王プラザホテル札幌(北海道・札幌市)

Jun Maeda, PET imaging of glial activation and neuroinflammation by positron-labeled TSP0 ligands. 二国間交流事業セミナー、2013 年 9 月 19 日、上海(中国)

〔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)

国立研究開発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