

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 15 日現在

機関番号：14301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2014

課題番号：25670531

研究課題名(和文) 移植膵島量の非侵襲的定量評価を目的とした新規核医学イメージング法の開発

研究課題名(英文) Development of noninvasive imaging techniques in islet transplantation

研究代表者

木村 寛之 (Kimura, Hiroyuki)

京都大学・放射性同位元素総合センター・助教

研究者番号：50437240

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、膵細胞に発現する標的分子に特異的・選択的に結合するPET/SPECT用分子イメージングプローブを開発し、それを用いて移植膵島早期の肝臓内における膵島の画像化およびその生着率の確認、再移植のタイミングを決めるための非侵襲的核医学イメージング法を構築することである。数十種類のプローブを合成、評価した結果、GLP-1受容体を標的として開発されたプローブを用いてSPECT/CT撮像を行ったところ、膵細胞量のin vivo評価が可能であることが示された。本技術を応用することで、移植膵島量の定量化も可能と考えている。

研究成果の概要(英文)：To develop such a method to measure β -cell mass (BCM), we took advantage of the previously reported non-invasive detection of glucagon-like peptide-1 receptor using radiolabeled ligand. GLP-1R is highly expressed in rodent and human pancreatic β cells. We selected Exendin-4 (Ex4), a stable agonist of GLP-1R, as the mother compound and bound ^{111}In to it using diethylenetriamine pentaacetic acid (DTPA) as a chelating moiety. ^{111}In -DTPA-Ex4 produced as a probe for single photon emission computed tomography (SPECT) showed a high affinity for GLP-1R in vitro. We have performed SPECT imaging in normal and β -cell loss mice and determined a correlation between the uptake of ^{111}In -DTPA-Ex4 in the pancreas and BCM to investigate the potential for the in vivo quantification of BCM by SPECT with ^{111}In -DTPA-Ex4. This imaging technique would be promising tools for islet transplantation research.

研究分野：放射性医薬品学

キーワード：膵島移植定量化 イメージング GLP-1受容体 SPECT

1. 研究開始当初の背景

糖尿病は、インスリン作用の不足による高血糖を主徴とする代謝異常であり、大きく I 型と II 型に分類される。I 型糖尿病は自己反応性 T 細胞や自己抗体が膵細胞を破壊する自己免疫疾患で、終生のインスリン治療、慢性透析が不可避である。膵島移植とは、ドナーの膵臓より膵島を分離して経門脈的に肝臓内に移植する方法である。移植された膵島は門脈末端の類洞に閉栓後、血管新生・吻合により生着することによって、膵島機能を発現、糖代謝を調整する。2000 年にエドモントンプロトコルが発表された後、最先端かつ極めて有効な治療法として全世界に急速に広まったものの、移植後早期のグラフトロスのため最適な移植膵島量が確認出来ず、ひとりの患者治療に 2~3 人のドナーを必要とするなど、慢性的なドナー不足が問題となっている。さらに、内因性インスリン分泌の保持により長期の血糖安定化は得られるものの、その分泌量は徐々に低下するためにインスリンよりの離脱状態は長期に維持できず再移植の必要性が指摘されている。これらの問題を解決するためには、移植膵島早期の肝臓内における膵島の画像化およびその生着率の確認、また最適な再移植のタイミングを決める必要がある。しかしながら、体外から非侵襲的に確認する手段が無いのが現状である。そこで本研究では、移植膵島早期の肝臓内における膵島の画像化およびその生着率の確認、また最適な再移植のタイミングを体外から非侵襲的に定量イメージングする方法の構築を計画した。

2. 研究の目的

本研究の目的は、膵細胞に発現する Glucagon-like peptide-1 (GLP-1) 受容体、G-protein-coupled receptor (GPR) 40 受容体に特異的・選択的に結合する PET/SPECT 用分子イメージングプローブを開発し、それを用いて移植膵島早期の肝臓内における膵島の画像化およびその生着率の確認、再移植のタイミングを決めるための非侵襲的核医学イメージング法を構築することである。移植膵島を非侵襲的に定量可能とする分子イメージング法の開発は、最適な移植膵島量の調整、最適な再移植のタイミングを決めることが可能になると期待される。さらには、新規移植法の開発、分子標的治療薬を用いた免疫療法の開発、iPS 細胞から移植療法に使用可能な膵細胞の作製にも貢献しうることから、本研究によってもたらされる成果は非常に意義深いものとなる。

3. 研究の方法

本研究の目的は、膵細胞に発現する GLP-1 受容体、GPR40 受容体に特異的・選択的に結合する PET/SPECT 用分子イメージングプローブを開発し、それを用いて移植膵島早期の肝臓内における膵島の画像化およびそ

の生着率の確認、再移植のタイミングを決めるための非侵襲的核医学イメージング法を構築することである。低分子化合物を基盤とした理論的プローブ設計を行い、効率的合成、インビトロ結合実験、膵島移植動物を用いた体内放射能分布実験、オートラジオグラフィ、PET/SPECT イメージングなどのインビボスクリーニングを経て、GLP-1 受容体、GPR40 受容体に特異的・選択的に結合する PET/SPECT 用分子イメージングプローブを見出す。さらには、移植膵島細胞数を定量するための動態解析法も構築する。

(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 Ex(9-39)と GLP-1 受容体の結晶構造・立体構造情報をもとに、計算化学的手法を用いてリガンド結合情報詳細に解析する。得られた情報を基に、現在文献・特許等で報告されている 11 残基のペプチド化合物をリードとして研究を展開する。

(GPR40 受容体イメージングプローブの設計・合成)

GPR40 受容体はオーファン受容体として知られていたが、近年、遊離脂肪酸がリガンドとして作用することでインスリン分泌を促進させる作用を持つことが報告された。膵臓内では膵島細胞に特異的に発現しており、GLP-1 受容体やソマトスタチン受容体などペプチドをリガンドとする受容体よりも発現量が高いことが報告されている。また、膵臓以外の臓器での発現はきわめて低いことから、膵島細胞特異的・選択的イメージングの標的としては非常に有望である。GPR40 受容体アンタゴニストとして TAK875 を母体化合物に選択し、報告されている GPR40 受容体ホモロジーモデリングの立体構造情報に基づき、新規誘導体の開発を進める

4. 研究成果

GPR40 を標的としたプローブを数十種開発し評価を行ったが、膵臓への特異的な集積量を上げることが出来ず、さらに膵臓の近接臓器である肝臓への非特異的な集積が高く画像取得には至らなかった。そのため、標的分子を GLP-1 受容体に絞り研究を進めた。

プローブの母体化合物として GLP-1 受容体に高い親和性を有する生理活性ペプチドである Exendin-4 を選択し、GLP-1 受容体を標的とした核医学分子イメージングプローブとして DTPA を介して ¹¹¹In で標識した ¹¹¹In-DTPA-Ex4 設計、合成した (図 1)。

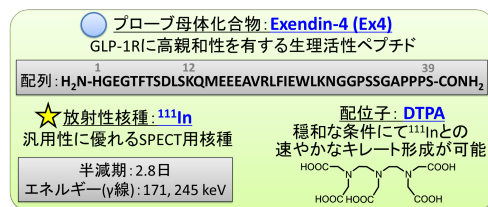


図 1. 薬剤設計

正常 ddY マウスに $^{111}\text{In-DTPA-Ex4}$ (18.5 kBq/100 μL) を尾静脈より投与し、各臓器へのプローブの集積を経時的に評価したところ、投与後 30 分で膵臓への集積は 30% ID/g と高い値を示した (図 2)。

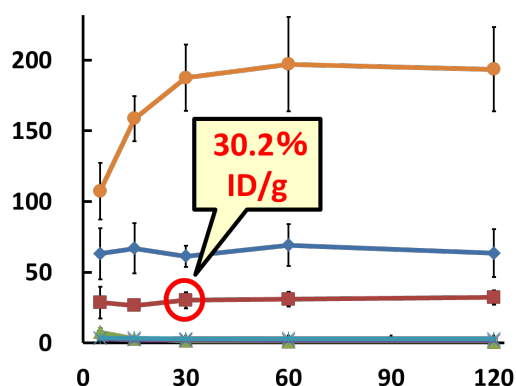
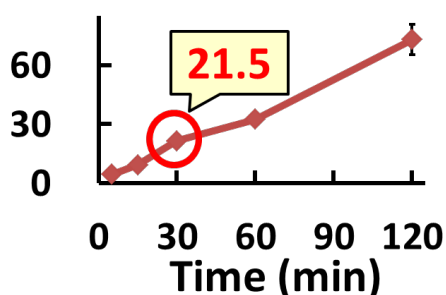


図 2 . 各臓器への経時的な集積評価

また、イメージングの指標となる血液との比 (膵/血)、近接臓器である肝臓との比 (膵/肝) を比較したところ、投与後 30 分で膵/血=21.5、膵/肝=16.6 と高い値を示し、イメージングの可能性が示唆された (図 3)。

Pancreas/Blood ratio



Pancreas/Liver ratio

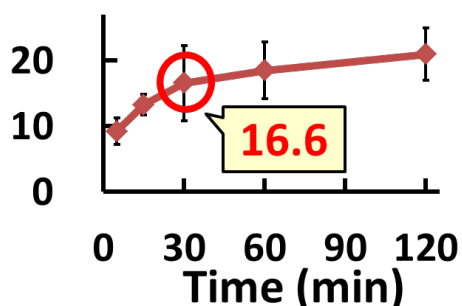


図 3 . 血液比、肝臓比

次に、正常 ddY マウスを用いて SPECT 撮像を実施したところ、膵臓を明瞭に描出することに成功した (図 4)。

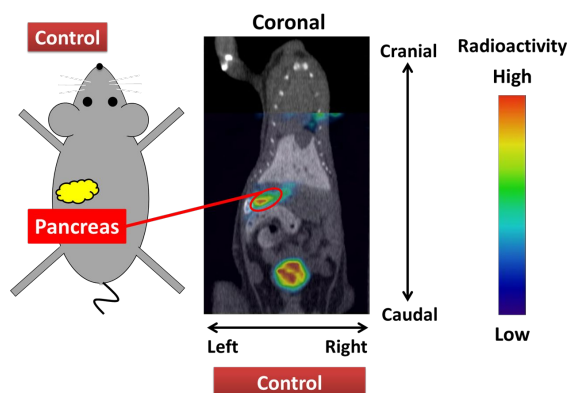


図 4 . 正常マウスの SPECT/CT 画像

更に、糖尿病モデル動物として STZ 処置したマウスを用いて SPECT 撮像を行ったところ、膵臓の GLP-1 受容体発現密度の低下に応じた膵臓の放射能集積の減少を画像として捉えることに成功した。また、 $^{111}\text{In-DTPA-Ex4}$ の膵臓集積が減少するに従って算出した膵細胞量 (BCM) が減少する傾向にあり、 $^{111}\text{In-DTPA-Ex4}$ の膵臓集積と BCM は相関する傾向を示すことを認めた。

上記の結果から、 $^{111}\text{In-DTPA-Ex4}$ を用いた SPECT/CT 撮像により膵細胞量の *in vivo* 評価が可能であることが示された。本技術を応用することで、移植膵島量の定量化も可能と考えている。

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 2 件)

Development of a resonant-type microwave reactor and its application to the synthesis of positron emission tomography radiopharmaceuticals. Hiroyuki Kimura, Yusuke Yagi, Noriyuki Ohneda, Hiro Odajima, Masahiro Ono, Hideo Saji. *Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals*, 57 (12), 680-686 (2014)

査読有り

DOI:10.1002/jlcr.3232

Synthesis and evaluation of ^{18}F -labeled mitiglinide derivatives as positron emission tomography tracers for β -cell imaging. Hiroyuki Kimura, Hirokazu Matsuda, Hiroyuki Fujimoto, Kenji Arimitsu, Kentaro Toyoda, Eri Mukai, Hiroshi Nakamura, Yu Ogawa, Mikako Takagi, Masahiro Ono, Nobuya Inagaki, Hideo Saji. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 22 (13), 3270-3278 (2014)

査読有り

DOI:10.1016/j.bmc.2014.04.059

[学会発表](計 7 件)

木村寛之、豊田健太郎、稲垣暢也、佐治英

郎、(シンポジウム) 膵 細胞の定量化を目的としたイメージングプローブの開発、第54回日本核医学会学術総会、大阪国際会議場、2014年11月6日～8日

木村寛之、(シンポジウム) 膵 細胞の定量化を目指した PET 薬剤の開発、PET サマーセミナー2014 in 小樽、グランドパーク小樽、2014年8月29日～31日

Hiroyuki Kimura, Yusuke Yagi, Noriyuki Ohneda, Hiro Odajima, Hideo Saji, (oral) Development of resonant-type microwave reactor and its application to PET radiochemistry, SNMMI Annual Meeting 2014, ST.Louis, Missouri, June 7-11, 2014

Hiroyuki Kimura, Kaori Kanbe, Hirokazu Matsuda, Kentaro Toyoda, Hiroyuki Fujimoto, Masahiro Ono, Nobuya Inagaki, Hideo Saji, (poster) Development of ¹¹¹In-labeled Exendin-4 derivative for the imaging of GLP-1R receptor expression in pancreatic islets, SNMMI Annual Meeting 2014, ST.Louis, Missouri, June 7-11, 2014

神戸香織、木村寛之、松田洋和、小川祐、豊田健太郎、藤本裕之、小野正博、稲垣暢也、佐治英郎、膵 細胞の分子イメージングを目的とした GLP-1 受容体標的 ¹¹¹In 標識 Exendin-4 誘導体の開発、第23回金属の関与する生体関連反応シンポジウム、武蔵野大学、2013年6月21日

神戸香織、木村寛之、松田洋和、小川祐、豊田健太郎、藤本裕之、小野正博、稲垣暢也、佐治英郎、膵 細胞の分子イメージングを目的とした GLP-1 受容体標的 ⁶⁸Ga 標識 Exendin(9-39)誘導体の開発、第53回日本核医学会学術総会、福岡国際会議場、2013年11月8日

神戸香織、木村寛之、松田洋和、小川祐、豊田健太郎、藤本裕之、小野正博、稲垣暢也、佐治英郎、膵 細胞の分子イメージングを目的とした GLP-1 受容体結合性放射性分子プローブの開発：¹¹¹In-DTPA12-Ex-4 の in vivo 評価、日本薬学会第134年会、熊本大学、2014年3月28日

〔図書〕(計2件)

清野 泰、木村寛之、膵 細胞イメージング、「胆と膵」第35号(2014)

佐治英郎、上田真史、木村寛之、核医学分子イメージングのための放射性分子プローブの戦的設計、「PET ジャーナル」第25号(2014)

〔産業財産権〕

出願状況(計1件)

名称：放射性ガリウム結合部位を有するポリペプチド、及び、その放射性ガリウム錯体
発明者：佐治英郎、稲垣暢也、木村寛之、豊田健太郎、松田洋和、松本博樹
権利者：同上
種類：特許
番号：2013-095840
出願年月日：2013年4月30日
国内外の別：国内

取得状況(計0件)

なし

〔その他〕

ホームページ等
京都大学大学院薬学研究科・病態機能分析学分野
<http://www.pharm.kyoto-u.ac.jp/byotai/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

木村 寛之

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

(2) 研究分担者

なし