

代謝型グルタミン酸受容体PETイメージングの新展開 —パーキンソン病診断バイオマーカーとしての可能性—



山崎 友照

Yamasaki Tomoteru

(量子科学技術研究開発機構 放射線医学総合研究所)

1 はじめに

パーキンソン病 (Parkinson's disease: PD) は、脳の線条体領域において、神経伝達物質であるドーパミン (dopamine:DA) 及びアセチルコリンの絶対量の不均衡により、「ふるえ」、「強剛」、「無動」、「姿勢障害」などの運動障害や認知機能障害を引き起こす神経変性疾患であり、アルツハイマー病 (Alzheimer's disease: AD) に次いで多くの罹患者数を有する脳疾患の1つである。PDの病因は諸説あるが、ADの病理所見で見られるβアミロイドと同様、αシヌクレイン (ASN) と呼ばれる異常タンパク質の蓄積が神経細胞の障害を引き起こすと考えられている。

神経細胞は、障害を受けると細胞内に貯蔵していたグルタミン酸を細胞外へ放出することが知られている。通常、グルタミン酸は脳内で興奮性の神経伝達物質として機能し、様々な神経線維の分化や多様性の獲得に寄与するが、過剰な分泌は神経毒性を発揮する。シナプス間隙のグルタミン酸濃度は、イオンチャンネル型やGタンパク共役型の代謝型グルタミン酸受容体によって巧妙に制御されている(図1)¹⁾。中でも、グループI型代謝型グルタミン酸受容体 (mGluR1 及び mGluR5) は、後シナプ스에 発現しており、興奮性の神経伝達を管理している重要な受容体であることが分かってきており、近年、様々な研究報告により、これら受容体の機能や発現量の異常

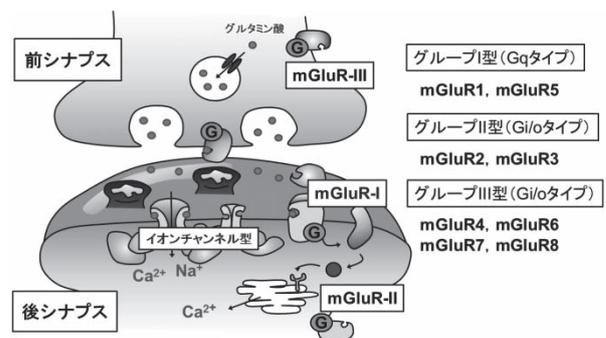


図1 興奮性のグルタミン酸神経を介在する受容体

グルタミン酸受容体には、グルタミン酸と結合することで開口し、カチオンを流入させるイオンチャンネル型とGタンパクと共役して機能する代謝型に分類される。

が様々な脳神経疾患に寄与していることが示唆されている²⁾。このような背景から、mGluR1とmGluR5を標的とした分子イメージング研究は、PDをはじめとする神経変性疾患の機序解明や治療薬開発に大きく貢献することが期待できる。

Positron Emission Tomography (PET) は、¹⁸F や ¹¹C 等のγ線を放出する放射性同位元素で標識した薬剤を生体に投与することで、特定の分子の動きや変化を生きたままの状態ですべて定性的かつ定量的に測定できる分子イメージング研究には欠かすことのできない先進のモダリティである。

本稿では、このPETを用いて、人の変異ASNを遺伝的に挿入されたパーキンソン病モデル動物の脳内mGluR1及びmGluR5の経時的变化を生きたまま

の状態でも長期間にわたり観察し、定量的に測定したので、その結果を紹介する³⁾。

2 受容体に特異的な PET プローブの選択

本研究では、mGluR1 に特異的な PET プローブとして N-[4-[6-(isopropylamino) pyrimidin-4-yl]-1,3-thiazol-2-yl]-N-methyl-4-[¹⁴C] methylbenzamide ([¹⁴C] ITDM) を用い、また、mGluR5 に対しては、(E)-3-(6-methylpyridin-2-ylethynyl)-cyclohex-2-enone-O-[¹⁴C] methyloxime ([¹⁴C] ABP688) を用いて PET イメージング研究を試みた (図 2)。

[¹⁴C] ITDM は、2012 年に放射線医学総合研究所が開発した mGluR1 に選択的な結合性を有する PET プローブであり、これまでに前臨床研究で良好な結果が得られている⁴⁻⁶⁾。

一方、[¹⁴C] ABP688 は、2006 年にスイスのポール・シェラー研究所で開発され⁷⁾、放医研で光学活性体の製造法が確立された PET プローブであり⁸⁾、現在までに数多くの臨床研究に利用されている、mGluR5 に対しては最も有用なイメージング剤である。

3 PD モデルラットの病態及び病理評価

本研究では、PD のモデル動物として、家族性パーキンソン病の病因遺伝子であるヒト A53T 変異 SNCA 遺伝子が遺伝的に挿入されたラット (PD-Tg ラット) を用いて実験を行った。PD 病態の客観的な評価は、オープンフィールド試験 (OFT) による行動量と立ち上がり回数 (crossing) のスコアを用い、行動障害の指標とした (図 3a)。

OFT の結果、PD-Tg ラットは、野生型に比べ、5 月齢で一時的な活動量の増加傾向を示したが、その後、急激な低下を示し、16 月齢で明らかな行動障

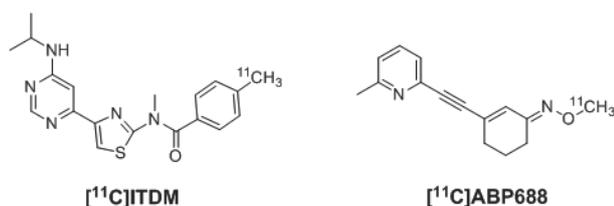
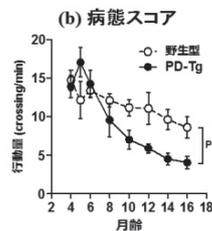
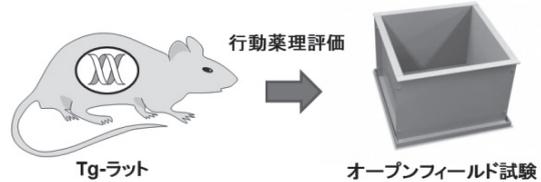


図 2 [¹⁴C] ITDM (mGluR1) 及び [¹⁴C] ABP688 (mGluR5) の化学構造

(a) PDモデル動物と病態評価



(c) 病理学的評価

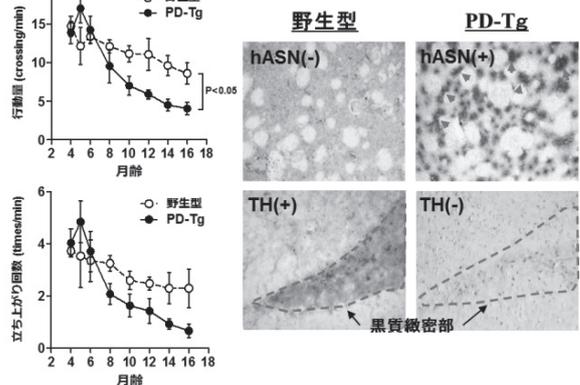


図 3 PD モデルラットにおける病態スコアと病理評価

(a) ヒト A53T 変異 ASN を遺伝的に挿入されたトランスジェニックラット (PD-Tg) の PD 病態の客観的な評価は、オープンフィールド試験により評価した。(b) 野生型及び PD-Tg ラットの病態スコア。(c) 野生型及び PD-Tg ラット脳切片を用いた病理学的評価。上段：抗ヒト ASN 抗体を用いた染色画像。下段：抗チロシン水酸化酵素 (TH) 抗体を用いた染色画像

害が認められた (図 3b)。また、16 月齢の PD-Tg ラットから作成した脳切片を用いて病理学的評価を行ったところ、線条体におけるヒト ASN の集積と黒質緻密部におけるドーパミン産生神経の脱落が確認された (図 3c)。この結果から、本研究で用いた PD-Tg ラットは、PD の病態を反映した行動障害と病理学的変化を表すことが確認された。

4 代謝型グルタミン酸受容体の経時的変化

4.1 PET イメージング

PET イメージングの結果では、PD-Tg ラットの線条体で mGluR1 に対する [¹⁴C] ITDM の結合能 (PET プローブの受容体に対する特異結合量を示す指標、binding potential: BP_{ND}) は 4 月齢で、野生型より一時的に高い傾向を示し、その後、月齢が高くなるにつれ、野生型に比べ明らかな減少を示した。一方、mGluR5 に対する [¹⁴C] ABP688 の BP_{ND} は、野生型と PD-Tg ラットの間でほとんど差が見られず、月齢に伴った変化も見られなかった。

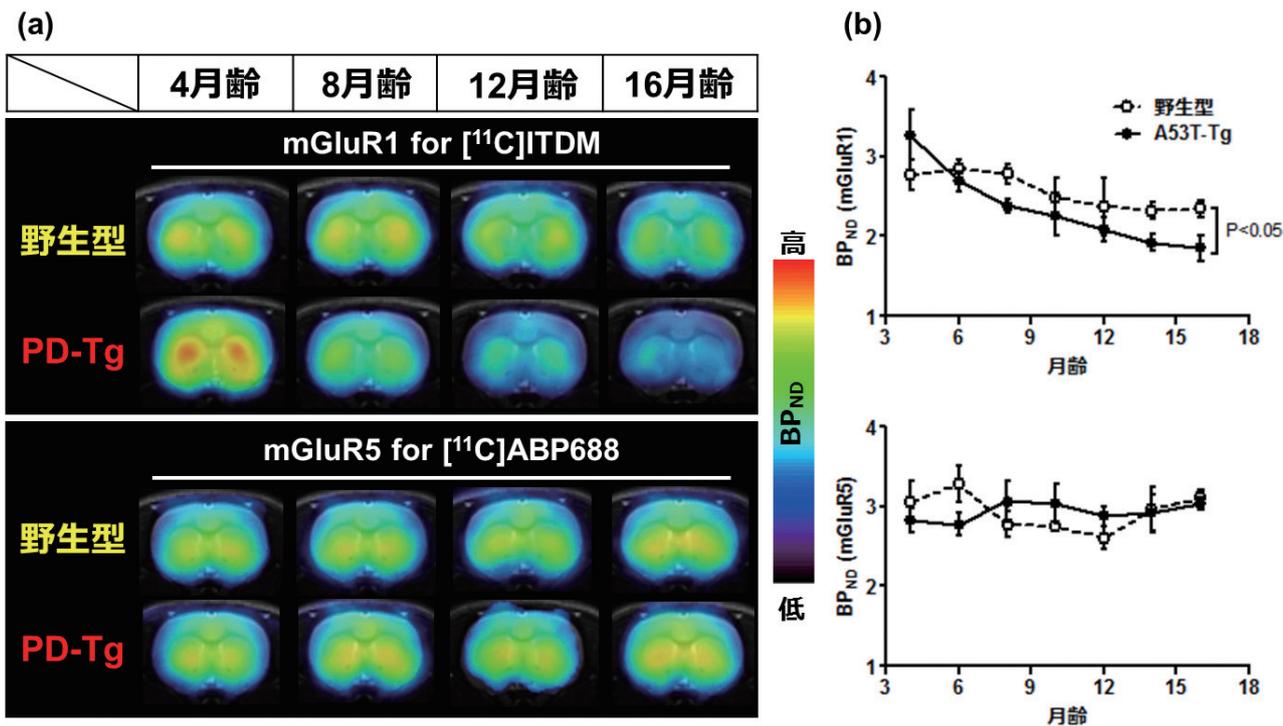


図4 野生型及びPD-Tgラット脳線条体におけるPET/MRI画像(a)とBPNDの経時的変化(b)

PET定量解析は画像解析ソフトPMODソフトウェアを用いてBP_{ND}を算出した。 [¹¹C]ITDMは橋を参照領域とし、Logan法⁹⁾で、また、 [¹¹C]ABP688は、小脳を参照領域としてSRTM法¹⁰⁾によりBP_{ND}をそれぞれ算出した

4.2 In vitro結合量の確認

次に、PETイメージングで得られた特異結合の指標であるBP_{ND}が受容体との結合量を反映しているかを確かめるために、16月齢の野生型及びPD-Tgラット脳切片を用いたin vitro条件下におけるオートラジオグラフィ(ARG)を行った。その結果、PETイメージングの結果と同様、PD-Tgラット脳切片において、 [¹¹C]ITDMの結合量は野生型に比べ有意に低かった。一方、 [¹¹C]ABP688の結合量には差が見られなかった(図5)。この結果から、PETイメージングによって得られた [¹¹C]ITDMのBP_{ND}の変化は、mGluR1の受容体密度変化を十分に反映していることが示された。

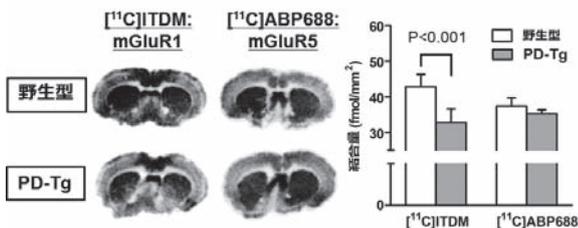


図5 野生型及びPD-Tgラット脳切片を用いたin vitro ARG

5 PD病態スコアとBP_{ND}の相関

最後に、PDの病態進行度を客観的に示しているOFTにおける運動機能の指標とPETから得られた脳の線条体における各PETプローブのBP_{ND}との間の相関性を評価した。その結果、mGluR1に対する [¹¹C]ITDMのBP_{ND}は運動機能の低下と正の相関を示した。一方で、線条体におけるmGluR5に対する [¹¹C]ABP688のBP_{ND}は運動機能の低下との相関は認められなかった(図6)。

6 今後の展望

本研究では、PETプローブを用いて、生きたままの状態、PDラット脳を客観的に長期間観察することにより、明らかな行動障害が現れる前後でmGluR1に対するBP_{ND}が大きく変化し、更に病態の進行度に伴い減少していくことを明らかにした。また、mGluR1のBP_{ND}変化が、PDにおける行動障害に対して相関関係があることを示した。

PDラットで、運動障害が現れる前にmGluR1の

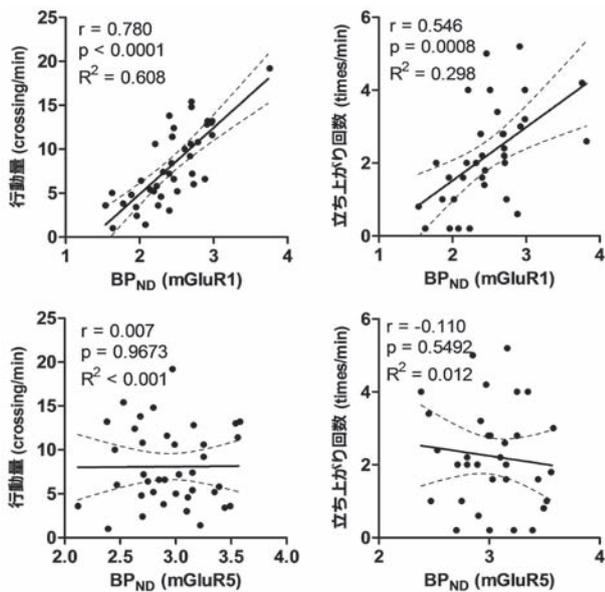


図6 活動量と各PETプローブのBP_{ND}の相関

相関の強さを示す相関係数 (r) は、一般的に0.7以上で強い相関、0.7～0.4で中間の強さ、0.4～0.2で弱い相関、0.2以下で相関無しとされる

BP_{ND}が一時的に高くなったことから、DA神経の変性が起こる前に、内因性グルタミン酸に由来する過剰な神経興奮が生じ、このことが隣接するDA神経に障害を与えたのではないかと推測される。この結果は、動物実験の段階であるが、異常タンパクの蓄積により引き起こされる様々な脳神経疾患の病態背景の解明においても重要な知見と考えられ、PDをはじめとする異常タンパクの蓄積が引き起こす神経障害のメカニズムの解明に役立つことが期待される。また、更なる研究が必要ではあるものの、PET

による mGluR1 イメージングは、異常タンパクの蓄積が引き起こす脳神経疾患において、その疾患の進行度を客観的に判定することができる有用なバイオマーカーとなることが期待できる。

【謝辞】

本研究で使用した A53T-Tg 及び野生型ラットは、コーネル大学とライセンス契約を締結しているタコニック社 (米国) より研究目的で購入された。

また、本研究は、日本学術振興会科学研究費助成事業若手研究 (B) (25861135) の助成を受けて行われた。

参考文献

- 1) 渡辺雅彦, 脳・神経科学入門講座, 羊土社 (2010)
- 2) Ribeiro FM, et al., *CNS Neurol Disord-Drug Targets.*, **9**, 574–595 (2010)
- 3) Yamasaki T, et al., *J Neurosci.*, **36**, 375–384 (2016)
- 4) Fujinaga M, et al., *J Med Chem.*, **55**, 11042–11051 (2012)
- 5) Yamasaki T, et al., *J Cereb Blood Flow Metab.*, **34**, 606–612 (2014)
- 6) Yamasaki T, et al., *Am J Nucl Med Mol Imaging.*, **4**, 260–269 (2014)
- 7) Ametamy SM, et al., *J Nucl Med.*, **47**, 698–705 (2006)
- 8) Kawamura K, et al., *Nucl Med Biol.*, **41**, 17–23 (2014)
- 9) Logan J, et al., *J Cereb Blood Flow Metab.*, **16**, 834–840 (1996)
- 10) Lammertsma AA, et al., *Neuroimage.*, **4**, 153–158 (1996)