

Title	[11C]Ketoprofen-methyl esterの脳炎症部位への集積機序の解明とPET薬剤としての応用に関する検討
Author(s)	宿里, 充穂
Citation	大阪大学, 2011, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/58980
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

【2】

氏名	宿 里 充 穂
博士の専攻分野の名称	博 士 (保健学)
学位記番号	第 24900 号
学位授与年月日	平成23年9月20日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科保健学専攻
学位論文名	[¹³ C]Ketoprofen-methyl ester の脳炎症部位への集積機序の解明とPET 薬剤としての応用に関する検討
論文審査委員	(主査) 教 授 井上 修 (副査) 教 授 大和谷 厚 教 授 村瀬 研也

論 文 内 容 の 要 旨

炎症、発熱作用を示すプロスタグランジンの産生酵素であるシクロオキシゲナーゼ(COX)は疼痛、関節リウマチなどの炎症性疾患や腫瘍の増殖等に強く関与していることが知られている。また最近の研究では、アルツハイマー病(AD)やパーキンソン病(PD)などの神経変性疾患においてもCOXの関与が報告されている。さらに近年、再生医療技術が目覚ましい進歩を遂げる中、移植治療の評価を目的として炎症や免疫拒絶反応を早期に捉える診断技術が求められており、特異的なCOX機能のイメージングに対するニーズは高いと言える。Positron Emission Tomography (PET)は脳をはじめ生体における特定分子の機能と局在とを非侵襲的に測定できるin vivoイメージング法であり、これまでも多数のCOX阻害剤を¹¹Cまたは¹⁸Fで標識したPETプローブが開発されている。COXには、主に二種類のサブタイプが存在し、炎症性疾患の治療薬の開発における標的分子としては、恒常型であるCOX-1よりも、誘導性発現型を示すCOX-2が注目されてきた。COXイメージン

グ用PETプローブに関しても、主にCOX-2を標的分子として開発されてきたが、現時点ではin vivo 条件下において炎症反応を特異的に捉えることのできた報告例はない。我々はこれまでに、COX-2だけではなくCOX-1に対しても高い阻害活性を示す非ステロイド系抗炎症薬 (NSAIDs)・2-アリアルプロピオン酸類を用いたPETプローブの開発を行い、脳炎症のイメージングに成功したことを報告している。一連の化合物の中で、^[11C]Ketoprofen-methyl ester (KTP-Me)が脳炎症への集積性等の観点から最も優れていることが明らかとなっている。Ketoprofenはin vitroの実験条件下においてCOX-1選択的阻害剤であることが確認されているが、^[11C]KTP-Meのin vivo イメージング条件下におけるCOXアインザイム選択性や、どの細胞に集積するかについては未だ明らかとなっていない。

本研究では、遺伝子改変マウスを用いて、^[11C]KTP-Meがin vivoの条件下においてもCOX-1に選択的なプローブであるか否かの検証を行った。次に、脳炎症モデルラットを用いてマイクログリア、アストロサイトの活性化、COX-1の発現、^[11C]KTP-Meの炎症部位への集積の程度との関連について検討し、^[11C]KTP-Meが集積する細胞の同定を行った。また、脳炎症のイメージング剤としての有用性について、従来広く使用されている18 kDa Translocator protein (TSPO)の選択的リガンドである^[11C]PK11195との比較検討を行った。最後に、臨床応用を視野に置き、ES細胞移植カニクイザル脳における^[11C]KTP-Meの動態測定を行った。

^[11C]KTP-Meのマウス脳への集積はCOX-2欠損マウスでは変化せず、COX-1欠損マウスでのみ有意に減少したことから、^[11C]KTP-Meはin vitro 条件下と同様に、in vivoの系においてもCOX-1に対して選択性の高いPETプローブであることが明らかとなった。

次に、脳内の炎症過程において^[11C]KTP-Meが認識する細胞を明らかにすることを目的とし、リポポリサッカライド(LPS)を左側線条体に注入した脳炎症モデルラットを用いて免疫組織化学的染色実験を実施した。その結果、LPS注入1日後の線条体においては、マイクログリア、アストロサイトともに活性化されることが判明したが、COX-1は活性化されたマイクログリアにおいてのみ発現されることを確認した。一方、神経細胞においてはCOX-1、COX-2ともに発現を認めたと、その程度は対側と比べて有意な差を認めなかった。また、LPS誘発脳炎症ラット脳における^[11C]KTP-Meの集積をPETで測定した結果、LPS注入側線条体において著明な亢進が認められた。さらに、炎症部位における^[11C]KTP-Meの集積亢進のLPS注入後の経時的変化は、活性化されたマイクログリアに発現するCOX-1の発現の経時的変化と極めて一致していることが明らかとなった。従って、^[11C]KTP-Meは脳炎症における活性化マイクログリアに発現するCOX-1を選択的に認識するプローブであることが判明した。従来、脳の炎症マーカーとして広く使われているTSPOの選択的リガンドである^[11C]PK11195の集積のLPS注入後の経時的変化を測定し、^[11C]KTP-Meとの比較検証を行った結果、^[11C]KTP-Meの方がより早期の段階において炎症の過程を画像化できることが判明し、測定感度の観点からも優れていることを確認した。また、神経細胞死を引き起こすキノリン酸注入モデルラットを用いた検討においてもLPS誘発脳炎症モデルラットと同様に、キノリン酸注入後の経時的な^[11C]KTP-Meの集積亢進が変化することを確認した。本モデルにおける集積亢進の経時的変化もマイクログリアの活性化の経時的変化と一致していることを確認した。以上の結果から、^[11C]KTP-Meは自然免疫反応により誘発される脳炎症反応、および神経細胞死に伴う脳炎症反応、二つのモデル系において活性化されたマイクログリアに発現するCOX-1と選択的に結合することが明らかとなった。すなわち、^[11C]KTP-Meは活性化マイクログリアに選択的なPETプローブとして非常に有用である可能性が強く示唆された。また、今回の検討結果により、脳の炎症過程においてCOX-1が極めて早期に活性化マイクログリアに発現することが確認できたことから、今後COX-1が脳炎症の診断・治療薬の新たな標的分子となり得ることが示唆された。

再生医療等の治療においては免疫拒絶反応が問題となるので、COX-1は本分野においても予後診断の有用なマーカーとなり得る可能性がある。そこで、^[11C]KTP-Meの臨床応用を目指し、ES細胞移植カニクイザルPDモデルを用いた評価実験を行った。その結果、^[11C]KTP-Meを用いたPETイメージング法は再生医療における免疫拒絶反応の評価に有用であることが示された。

以上の実験結果を総括すると

- 1) ^[11C]KTP-MeはCOX-1に選択的なPETプローブであることが確認できた。
- 2) 脳炎症モデルラットにおいては炎症に伴うCOX-1の発現は活性化されたマイクログリアにおいてのみ生じることが明らかとなった。
- 3) 活性化マイクログリアにCOX-1が発現することは脳炎症の極めて早期の段階で起きる現象であることが判明した。
- 4) ^[11C]KTP-Meは^[11C]PK11195と比較して脳炎症をより早期の段階でイメージングが可能であることを明らかにした。
- 5) ^[11C]KTP-Meは霊長類 (カニクイザル脳) においても免疫拒絶反応を画像化できることを明らかにした。

今後、COX-2選択的なPETプローブの開発を併行して進め、炎症および神経変性疾患におけるCOX-1とCOX-2との役割を明らかにすることが重要な課題であると考えられる。

論文審査の結果の要旨

プロスタグランジン生合成の律速酵素であるシクロオキシゲナーゼ (COX) は、炎症反応の調節に深く関与し、様々な神経変性疾患に深く関係していると考えられている。

本研究では、遺伝子改変マウスを用いて、^[11C]KTP-Meがin vivoの条件下においてもCOX-1に選択的なプローブであるか否かの検証を行った。^[11C]KTP-Meのマウス脳への集積はCOX-2欠損マウスでは変化せず、COX-1欠損マウスでのみ有意に減少したことから、^[11C]KTP-Meはin vitro 条件下と同様に、in vivoの系においてもCOX-1に対して選択性の高いPETプローブであることが明らかとなった。

次に、脳内の炎症過程において^[11C]KTP-Meが認識する細胞を明らかにすることを目的とし、リポポリサッカライド(LPS)を左側線条体に注入した脳炎症モデルラットを用いて免疫組織化学的染色実験を実施した。その結果、LPS注入1日後の線条体においては、マイクログリア、アストロサイトともに活性化されることが判明したが、COX-1は活性化されたマイクログリアにおいてのみ発現されることを確認した。また、LPS誘発脳炎症ラット脳における^[11C]KTP-Meの集積をPETで測定した結果、LPS注入側線条体において著明な亢進が認められた。さらに、炎症部位における^[11C]KTP-Meの集積亢進のLPS注入後の経時的変化は、活性化されたマイクログリアに発現するCOX-1の発現の経時的変化と極めて一致していることが明らかとなった。従って、^[11C]KTP-Meは脳炎症における活性化マイクログリアに発現するCOX-1を選択的に認識するプローブであることが判明した。従来、脳の炎症マーカーとして広く使われているTSPOの選択的リガンドである^[11C]PK11195の集積のLPS注入後の経時的変化を測定し、^[11C]KTP-Meとの比較検証を行った結果、^[11C]KTP-Meの方がより早期の段階において炎症の過程を画像化できることが判明し、測定感度の観点からも優れていることを確認した。また、神経細胞死を引き起こすキノリン酸注入モデルラットを用いた検討に

においてもLPS誘発脳炎症モデルラットと同様に、キノリン酸注入後の経時的な ^{11}C]KTP-Meの集積亢進が変化することを確認した。本モデルにおける集積亢進の経時的変化もマイクログリアの活性化の経時的変化と一致していることを確認した。以上の結果から、 ^{11}C]KTP-Meは自然免疫反応により誘発される脳炎症反応、および神経細胞死に伴う脳炎症反応、二つのモデル系において活性化されたマイクログリアに発現するCOX-1と選択的に結合することが明らかとなった。すなわち、 ^{11}C]KTP-Meは活性化マイクログリアに選択的なPETプローブとして非常に有用である可能性が強く示唆された。また、今回の検討結果により、脳の炎症過程においてCOX-1が極めて早期に活性化マイクログリアに発現することが確認できたことから、今後COX-1が脳炎症の診断・治療薬の新たな標的分子となり得ることが示唆された。

以上の研究内容は新規性、独創性にすぐれており、博士（保健学）の学位授与に充分値するものと考えられる。