

長寿医療研究開発費 2021年度 総括研究報告

自然免疫を標的とした神経変性疾患の新たな画像バイオマーカーの臨床開発（21-43）

主任研究者 木村 泰之 国立長寿医療研究センター 脳機能画像診断開発部（副部長）

研究要旨

本研究課題の目的は、自然免疫を標的とした新たな画像バイオマーカーを臨床開発し、神経変性疾患の診療・創薬・研究にイノベーションを起こすことである。

ミクログリアやアストロサイトを中心とした自然免疫は、神経変性疾患への関与が病理学的にも遺伝学的にもエビデンスが豊富にあり、神経障害や異常タンパクの蓄積に関わることが示唆されているが、有用な画像バイオマーカーが開発されていない。これらを観察することで、アミロイドβ蓄積初期にこれを除去しようとする活性化や、タウ蛋白蓄積に伴い神経傷害性に働こうとする活性化をきたした、ミクログリア・アストロサイトを検出できる可能性があり、新たな創薬標的を創出する。

本研究課題では、①ミクログリアに特異的に発現する分子である colony-stimulating factor 1 受容体（CSF1R）を標的とした新規 PET リガンドと、②アルツハイマー病のアストロサイトに高発現するプロテインキナーゼ CK2 を標的とした新規 PET リガンドの開発を行う。

臨床開発のフローにおいて、すでに CSF1R を標的とした PET リガンド^[11C]NCGG401 の前臨床有効性および安全性評価は終了している。また、CK2 を標的とした PET リガンド^[11C]NCGG702 については、前臨床有効性評価を実施したが、期待された有効性は認めなかった。そこで、^[11C]NCGG401 について、臨床評価は、特定臨床研究を実施し、健常被験者を対象に有効性・安全性を評価する。有効性は脳移行性やそのクリアランス、領域特異性が観察されるかによって評価する。次に、アルツハイマー病やレビー小体病患者などにおいて、この PET 薬剤を用いたイメージングがミクログリアの変化を、そのシグナルの全脳的もしくは脳局所的な変化として捉えることができるか評価する。

本研究課題において、自然免疫を標的とした新たな画像バイオマーカーを創出し、これまで行われてきた神経変性疾患や老化のコホート研究に長寿研独自の新たな評価軸を加えることで、これまでとは全く異なる病態評価、早期検出、介入効果評価、予後予測が可能になると考えられる。

主任研究者

木村 泰之 国立長寿医療研究センター 脳機能画像診断開発部（副部長）
分担研究者
安野 史彦 国立長寿医療研究センター 精神科部（部長）
加藤 隆司 国立長寿医療研究センター 放射線診療部（部長）
小縣 綾 国立長寿医療研究センター 脳機能画像診断開発部（特任研究員）

A. 研究目的

本研究課題の目的は、自然免疫を標的とした新たな画像バイオマーカーを臨床開発し、神経変性疾患の診療・創薬・研究にイノベーションを起こすことである。

これまで、糖代謝、アミロイド β やタウを標的とした PET イメージングや MRI は、画像バイオマーカーとして、神経変性疾患の診療・創薬・研究を大きく変えてきた。例えば、複数の画像バイオマーカーによる分類診断がアルツハイマー病の研究に必須であり、**Braak** 分類などによる疾患のステージング、病変の分布に基づく疾患のサブグループ分類、薬剤の標的分子への作用の確認（**target engagement/modulation**）、疾患の進行や治療のサロゲートマーカー、疾患患者における分子イメージングによる病態解明などにこれらの画像バイオマーカーは活用されてきた。

一方で、ミクログリアやアストロサイトを中心とした自然免疫は、神経変性疾患への関与が病理学的にも遺伝学的にもエビデンスが豊富にあり、神経障害や異常タンパクの蓄積に関わることが示唆されているが、有用な画像バイオマーカーが開発されていない。これらを観察することで、アミロイド β 蓄積初期にこれを除去しようとした活性化や、タウタンパク蓄積に伴い、神経傷害性に働こうとする活性化をきたしたミクログリア・アストロサイトを検出できる可能性があり、新たな創薬標的を創出する。

本研究課題では、脳機能画像診断開発部で開発中の、自然免疫に関わる複数の分子を標的とした新規 PET リガンドの **first-in-human** 試験を、精神科および放射線診療部と連携して実施し、新たな画像バイオマーカーとしての有効性、安全性の評価を行う。本研究の独創的な点は、自然免疫を標的とした新たな画像バイオマーカーを創出し、これまで行われてきた神経変性疾患や老化のコホート研究に長寿研独自の新たな評価軸を加えることで、これまでとは全く異なる病態評価、早期検出、介入効果評価、予後予測を可能にすることである。

B. 研究方法

本研究課題では、①ミクログリアに特異的に発現する分子である **colony-stimulating factor 1** 受容体（**CSF1R**）を標的とした新規 PET リガンドと、②アルツハイマー病のアストロサイトに高発現するプロテインキナーゼ **CK2** を標的とした新規 PET リガンドの臨床開発を行う。

1. CSF1R を標的とした PET リガンドの臨床開発

CSF1R は、ミクログリアに特異的に発現しているチロシンキナーゼレセプターである。2 種類の内因性リガンド、CSF-1 と IL-34 による活性化が、ミクログリアの生存・増殖・分化に必須である。CSF1R の発現はアルツハイマー病剖検脳で増加しており、AD モデル動物ではアミロイド斑の周囲に多いことと、CSF1R 遺伝子の変異は若年性の認知症（白質脳症）をきたすこと、さらにモデル動物において、CSF1R の薬理的阻害がミクログリアの除去を介して神経障害を軽減することより、アルツハイマー病の創薬標的の候補として有望である。

臨床開発のフローにおいて、CSF1R を標的とした PET リガンド $[^{11}\text{C}]\text{NCGG401}$ (図 1 A) の前臨床有効性および安全性評価は終了した。有効性としては、健常ラットにおける脳への取り込みと、非標識体の前投与による特異結合が確認され (図 1 B)、さらに神経炎症モデルラットにおいて結合増加を認めた。また、健常ラットやアルツハイマー病患者の死後脳切片の autoradiography によって、特異結合を確認した (図 1 C)。さらに、サルにおける脳への取り込みが確認された。安全性としては、有効成分および注射液の拡張型単回投与毒性試験によって、投与 100 倍量における無毒性が確認され、マウスにおける生体分布試験によって、一般的な ^{11}C 標識 PET リガンドと同程度の被曝線量であることを確認した。

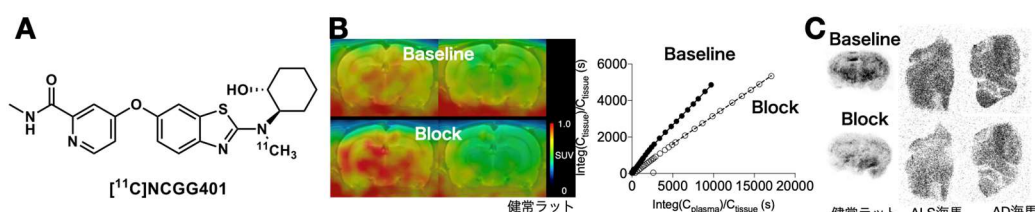


図 1、CSF1R を標的とした PET リガンド $[^{11}\text{C}]\text{NCGG401}$ の有効性評価

$[^{11}\text{C}]\text{NCGG401}$ 注射液の first-in-human 試験としての臨床利用について、短寿命放射性薬剤臨床利用委員会において、その製造と非臨床安全性について審査を受け、承認された。さらに、健常ボランティアを対象とした安全性・有効性試験の研究計画を特定臨床研究「放射性リガンド $[^{11}\text{C}]\text{NCGG401}$ の脳内ミクログリアイメージング製剤としての有効性及び安全性に関する研究」として立案し、認定臨床研究審査委員会にて承認された (jRCTs031210249)。この臨床研究では、まず健常ボランティア約 3 名を対象とし、 $[^{11}\text{C}]\text{NCGG401}$ 注射液を投与し、全身のダイナミック撮像を行いその全身動態を明らかにした。さらに、その全身動態から、 $[^{11}\text{C}]\text{NCGG401}$ 注射液の単位放射能量投与時の被ばく線量を推定した。

2. CK2 を標的とした PET リガンドの開発

CK2 は、アルツハイマー病患者の脳で最も初期に同定されたキナーゼの一つで、NF- κ B

の制御など多くのシグナル伝達に関わる。様々な外来因子やサイトカイン（LPS、TNF- α 、IL-1、TGF- β 、IFN- γ など）によって活性化され、タウ蛋白を含む 300 以上のタンパクが基質となっている。近年、アルツハイマー病患者の海馬、側頭葉において CK2 タンパク量が増加し、その増加はアストロサイトにおけることが報告され(Rosenberger et al., 2016)、アストロサイトの活性化を標的とした新たな画像バイオマーカーの標的分子として有望と考えられる。

CK2 を標的とした PET リガンド^{[11C]NCGG702} を設計し、その標識合成に成功した。健常ラットにおける PET イメージングでは、脳への取り込みは良好である一方、非常に早い洗い出しを認めた。そこで、PET リガンドの急速投与と持続投与を組み合わせ、bolus + infusion 法を用いて脳内の放射能濃度を保った状態で PET イメージングを行った。また、健常ラットやアルツハイマー病患者の死後脳切片の autoradiography によって、特異結合を確認した。最後に、炎症を誘発する物質である Lipopolysaccharide (LPS) を右線条体に定位的に投与し、7 日後に^{[11C]NCGG702} を用いた PET イメージングを実施した。

（倫理面への配慮）

臨床研究の実施においては、「人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針」および「臨床研究法」やその施行規則を遵守した。実験用ラットを扱う動物実験は、動物実験倫理委員会の承認のもと、「動物の愛護及び管理に関する法律」、「実験動物の飼養及び管理並びに苦痛の軽減に関する基準」、「厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針」、「動物実験の適正な実施に向けたガイドライン」、「動物の殺処分方法に関する指針」など、関係法令・指針等にもとづき、動物実験取扱規定（飼育、麻酔、実験方法、動物の苦痛軽減、排除の方法等）を遵守しながら、生命倫理・安全対策に十分配慮して実施した。

C. 研究結果

1. CSF1R を標的とした PET リガンドの臨床開発

^{[11C]NCGG401} を 3 名に経静脈投与したところ、1 名において投与直後に顔面の熱感と動悸を認めたが、10 分以内に消失した。この被験者において、血圧の低下や呼吸困難感、発疹は認めなかった。この被験者を含めて全ての被験者において、投与前後の血液検査、尿検査、心電図検査に明らかな変化は認めなかった。

^{[11C]NCGG401} を経静脈投与後、PET 画像上では、脳、心臓、肺、肝臓、脾臓、胆嚢、腎臓、腰椎、胃、小腸、上部大腸、下部大腸、直腸、膀胱に放射能が確認された（図 2）。

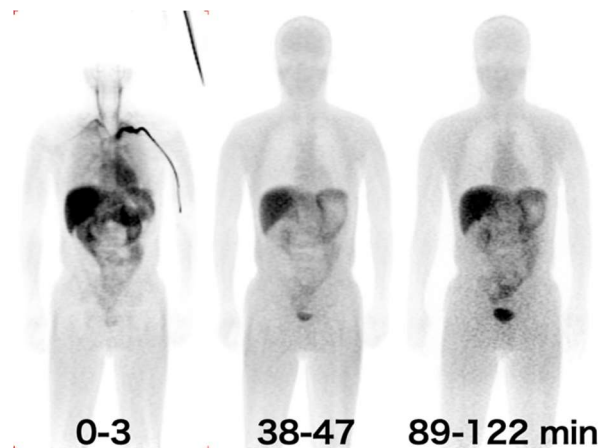


図 2、 $[^{11}\text{C}]\text{NCGG401}$ 投与後の経時的全身放射能分布

$[^{11}\text{C}]\text{NCGG401}$ の取り込みは肝臓が最も高く、投与後約 4 分で投与放射エネルギーの 23% のピークを示し、肺、心臓、脳はそれぞれ 15.4%、9.5%、5.7% のピーク取り込みを示した。ほとんどの臓器は投与後 5 分以内に取り込みのピークに達した。胃、胆嚢、膀胱は、スキャン時間中、持続的に放射能の取り込みが増加した (図 3)。

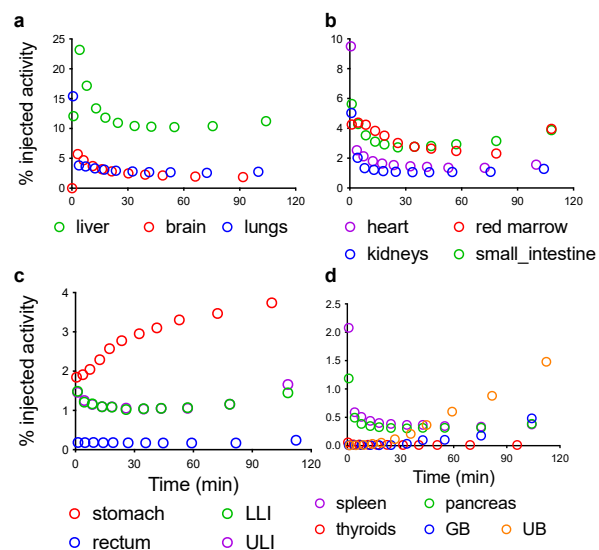


図 3、 $[^{11}\text{C}]\text{NCGG401}$ 投与後の各臓器における時間放射能曲線

MIRD 方式で計算した吸収線量 ($\mu\text{Sv}/\text{MBq}$) は、肝臓 (男性 12.8 ± 1.6 、女性 16.0 ± 2.0)、心臓 (男性 10.9 ± 3.3 、女性 12.5 ± 5.9)、左大腸 (男性 12.4 ± 3.2 、女性 12.4 ± 3.0) の順に高値であった。投与放射エネルギーあたりの実効線量は、男性で $5.1 \pm 0.2 \mu\text{Sv}/\text{MBq}$ 、女性で $6.1 \pm 0.3 \mu\text{Sv}/\text{MBq}$ であった (表 1)。

Organ	Dose ($\mu\text{Sv}/\text{MBq}$)	
	Male	Female
Adrenals	4.7 $\pm$ 0.2	5.7 $\pm$ 0.5
Brain	3.7 $\pm$ 0.3	4.2 $\pm$ 0.3
Breasts		2.5 $\pm$ 0.0
Esophagus	3.3 $\pm$ 0.1	3.8 $\pm$ 0.2
Eyes	1.9 $\pm$ 0.1	2.4 $\pm$ 0.1
Gallbladder Wall	5.6 $\pm$ 0.9	5.5 $\pm$ 0.8
Left colon	12.4 $\pm$ 3.2	12.4 $\pm$ 3.0
Small Intestine	9.2 $\pm$ 0.5	11.0 $\pm$ 0.6
Stomach Wall	10.7 $\pm$ 1.1	11.9 $\pm$ 1.2
Right colon	8.1 $\pm$ 1.0	8.2 $\pm$ 0.9
Rectum	4.0 $\pm$ 0.2	4.4 $\pm$ 0.3
Heart Wall	10.9 $\pm$ 3.3	12.5 $\pm$ 5.9
Kidneys	8.5 $\pm$ 0.3	9.8 $\pm$ 0.4
Liver	12.8 $\pm$ 1.6	16.0 $\pm$ 2.0
Lungs	5.7 $\pm$ 0.5	7.1 $\pm$ 0.7
Ovaries		3.2 $\pm$ 0.1
Pancreas	7.1 $\pm$ 3.2	8.1 $\pm$ 3.7
Prostate	2.5 $\pm$ 0.1	
Salivary Glands	2.2 $\pm$ 0.1	2.5 $\pm$ 0.1
Red Marrow	3.9 $\pm$ 0.2	4.8 $\pm$ 0.2
Osteogenic Cells	3.1 $\pm$ 0.1	3.4 $\pm$ 0.1
Spleen	6.6 $\pm$ 2.9	8.0 $\pm$ 3.3
Testes	1.9 $\pm$ 0.1	
Thymus	2.9 $\pm$ 0.1	3.5 $\pm$ 0.1
Thyroid	2.4 $\pm$ 0.4	2.7 $\pm$ 0.5
Urinary Bladder Wall	3.0 $\pm$ 0.1	3.4 $\pm$ 0.2
Uterus		3.3 $\pm$ 0.1
Effective Dose	5.1 $\pm$ 0.2	6.1 $\pm$ 0.3

Values are mean $\pm$ SD of three subjects

表 1、 $[^{11}\text{C}]\text{NCGG401}$ 投与後の各臓器における吸収線量と実効線量

2. CK2 を標的とした PET リガンドの開発

$[^{11}\text{C}]\text{NCGG702}$ (図 4 A) を bolus + infusion 法を用いてラットに投与し、脳内の放射能濃度を保った状態で PET イメージングを行い、神経炎症モデルにおける動態を評価したところ、炎症サイドへの取り込み増加が認められた (図 4 B)。また、健常ラットやアルツハイマー病患者の死後脳切片の autoradiography によって、特異結合が確認できた (図 4 C)。

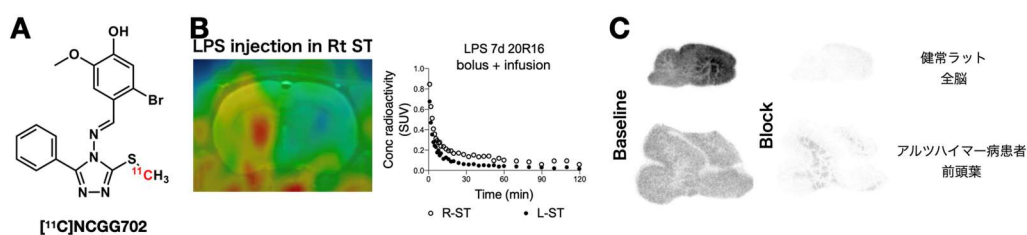


図 4、CK2 を標的とした PET リガンド $^{11}\text{C}\text{-NCGG702}$ の有効性評価

しかし、神経炎症モデルの PET イメージングにおける炎症サイドへの取り込み増加は、予想に反して CK2 の増加を反映しておらず、非特異的な上昇であることが明らかになった (図 5)。炎症を誘発する物質である Lipopolysaccharide (LPS) を右線条体に定局的に投与し、7 日後に $[^{11}\text{C}]\text{NCGG702}$ を用いた PET イメージングを実施した。前投与として、vehicle を投与した個体 (図 5 A) と CK2 阻害剤である CX4945 を投与した個体 (図 5 B) で、集積のパターンに明らかな差は認めなかった。 $[^{11}\text{C}]\text{NCGG702}$ の非標識体である GO289 を前

投与した場合も同様で、LPS 投与側の取り込み上昇は CK2 への特異結合ではないと結論づけた。

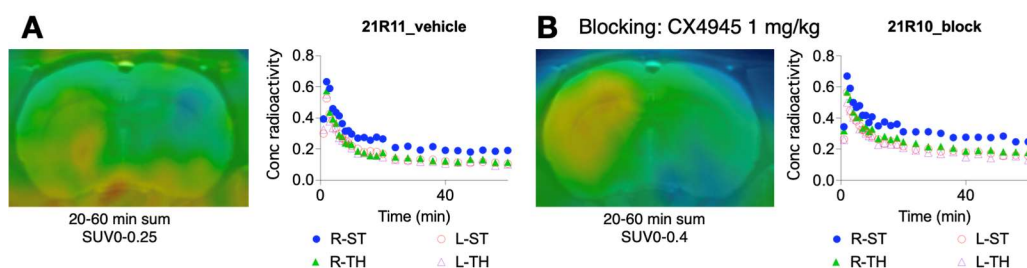


図 5、右線条体 LPS 投与 7 日目のラットにおける ^{11}C -NCGG702 PET イメージング

D. 考察と結論

CSF1R を標的とした PET リガンドの臨床開発において、 ^{11}C]-NCGG401 を健常男性ボランティアに投与する First in human 試験を実施した。1 名において、投与直後の非特異的症状を認め、注射薬剤に対する非特異的な反応と考えられた。投与前後の血液・尿検査、心電図検査に変化はなく、 ^{11}C]-NCGG401 は安全に投与できると考えられた。

投与後の全身像では、膀胱、胆嚢、腸管内に放射能を認め、 ^{11}C]-NCGG401 は尿と胆汁の両方を通して排泄されると考えられた。実効線量は男性で $5.1 \pm 0.2 \mu\text{Sv}/\text{MBq}$ 、女性で $6.1 \pm 0.3 \mu\text{Sv}/\text{MBq}$ であり、一般的な投与量である 370 MBq 投与時の被曝線量は、男性で 1.9 mSv、女性で 2.3 mSv であり、一般的な ^{11}C 標識 PET リガンド同程度と考えられた。

CK2 を標的とした PET リガンドの開発において、 ^{11}C]-NCGG702 の炎症モデルにおける取り込み増大は CK2 特異的なものではなく、有効性は現時点で否定的と考えられたため研究計画を変更し、引き続きモデル動物における評価は行うものの、臨床試験の実施にむけた前臨床安全性評価は行わないこととした。脳切片の autoradiography では良好な特異結合が見られ、in vivo の PET イメージングでは特異結合が見られないという vivo/vitro 乖離の原因として、内因性の ATP の存在が影響していると考えられた。 ^{11}C]-NCGG702 の非標識体である GO289 は、in vitro の系で CK2 の阻害活性が IC_{50} 値で 7 nM と非常に活性が高いが、細胞系では EC_{50} 値が $3.3 \mu\text{M}$ との報告があり、CK2 との結合が細胞内に数 mM ある ATP と競合している可能性が考えられた。今後のキナーゼを標的とした PET リガンド開発においては、in vitro と vivo の系で活性に大きな差のない化合物を選択する必要があると考えられた。

E. 健康危険情報

^{11}C]-NCGG401 を 3 名に経静脈投与したところ、1 名において投与直後に顔面の熱感と動悸を認めたが、10 分以内に消失した。この被験者において、血圧の低下や呼吸困難感、発疹は認めなかった。症状は非特異的であり、すぐに消失したため、注射薬剤に対する非特異的な反応と考えられた。この被験者を含めて全ての被験者において、投与前後の血液

検査、尿検査、心電図検査に明らかな変化は認めなかった。

F. 研究発表

1. 論文発表

1) Ogata A, Ji B, Yamada T, Hattori S, Abe J, Ikenuma H, Zhou X, Seki C, Ono M, Nagai Y, Ishise M, Koyama H, Minamimoto T, Higuchi M, Zhang MR, Suzuki M, Kato T, Ito K, Kimura Y. [¹¹C]NCGG401, a novel PET ligand for imaging of colony-stimulating factor 1 receptors, a specific biomarker of microglia. *Bioorg Med Chem Lett*. 2022;128704. PMID: 35351586

2. 学会発表

1) 小縣 綾、山田貴史、服部沙織、池沼 宏、阿部潤一郎、鈴木正昭、加藤隆司、伊藤健吾、木村泰之. 脳内に発現する Casein kinase 2 を標的とした新規 PET リガンドの開発. 第 61 回日本核医学会学術総会、2021 年 11 月 4-6 日、名古屋市

2) Ogata A, Yamada T, Abe J, Ichise M, Ikenuma H, Koyama H, Suzuki M, Kato T, Ito K, Kimura Y. PET imaging of [¹¹C]NCGG401 for colony stimulating factor 1 receptor. NRM 2021 MAPPING NEURORECEPTORS AT WORK. 14 Dec 2021, online

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし