

脳内移行性とターゲット特異性を賦活したタウ蛋白質凝集阻害作用を有する  
カテコール誘導体の開発 (29-37)

主任研究者 池沼 宏 国立長寿医療研究センター 研究技術員(役職名)

研究要旨

アルツハイマー病は高齢者の認知症における主要な原因である。アルツハイマー病の進行に直結するタウ蛋白質凝集の阻害を目的とする薬剤開発において、高島らは *in vitro* スクリーニングよりカテコール系化合物にタウ蛋白質凝集阻害作用を見出し、その中でも脳内移行性を有する D/L-イソプロテレノールがマウスの *in vivo* 試験において神経細胞脱落抑制作用を有することを見出した。本研究では、臨床 PET イメージングに向けて、<sup>11</sup>C 標識 D/L-イソプロテレノールの実用的合成法の検討を行った。具体的には、[2-<sup>11</sup>C]アセトン合成法を改良し、単離精製した [2-<sup>11</sup>C]アセトンとノルアドレナリンとの還元的アルキル化反応の最適化を行った。さらに、酸・塩基両性の高極性化合物である D/L-[<sup>11</sup>C]イソプロテレノールの最適な HPLC 単離条件を見出すとともに、単離した D/L-[<sup>11</sup>C]イソプロテレノールの安定化にも成功した。以上を連続して行った結果、100 GBq/ $\mu$ mol の高い比放射能を有した D/L-[<sup>11</sup>C]イソプロテレノールを、約 2 GBq という臨床イメージングに十分な放射エネルギーで製剤化することができた。製剤化された D/L-[<sup>11</sup>C]イソプロテレノールは小動物 PET イメージングに供され、ラットでの脳移行性の評価したところ、脳内移行性は投与量の 0.1% と乏しく、タウ蛋白をイメージングするための PET プローブとして不十分であった。今回我々は、D/L-イソプロテレノールの化学構造を素に優れた脳透過性とターゲット特異性を示すことが想定されるカテコール誘導体を新規に設計・合成することとした。今後はさらに、鈴木らにより独自に開発された高速 C-[<sup>11</sup>C]メチル化あるいは高速 C-[<sup>18</sup>F]フルオロメチル化等の放射性核種による標識法を適用して上記カテコール誘導体の PET プローブ化を行い、アルツハイマー病治療薬の開発に有用で、かつ従来のタウ PET プローブと結合様式の異なる新規 PET プローブの開発を目指したい。

主任研究者

池沼 宏 国立長寿医療研究センター 研究技術員 (役職名)

分担研究者

なし

#### A. 研究目的

アルツハイマー病患者の脳の主要な病理学的所見として、アミロイドベータ(A $\beta$ )が沈着して形成される「老人斑」と、過リン酸化タウ蛋白の沈着による「神経原繊維変化」が認められる。これまで、A $\beta$ がアルツハイマー病発症の引き金となるとの考え(アミロイド仮説)のもと低分子薬剤および抗体医薬の開発が行なわれてきたが、未だ有効な医薬は出現していない。一方、細胞外A $\beta$ 凝集体刺激で活性化されたGSK-3 $\beta$ 等が、微小管を形成するタウ蛋白質の過剰リン酸化を促進し、その結果生じるタウモノマーが凝集し、タウオリゴマーや顆粒状タウ凝集体によりシナプス消失や神経脱落を引き起こす。高島らは、化合物ライブラリーからタウの凝集を抑制する化合物を*in vitro*スクリーニングし、ドーパミンやアドレナリンなどのカテコール構造含有化合物およびその酸化物である*o*-キノン体にタウ凝集抑制効果があることを見いだした。さらにそれらの化合物の中で、血液脳関門透過性があるとされるD/L-イソプロテレノールを、過剰リン酸化タウ発現マウスに投与し、不溶性タウ量の減少効果と神経細胞数の低下の抑制効果があることを見いだした。また、このD/L-イソプロテレノールのタウ凝集抑制作用は、 $\beta$ アドレナリン受容体のアゴニストとしての作用とは関係がなく、その酸化代謝物の*o*-キノン体が関与し、タウ蛋白を構成するシステイン残基による共役付加反応に基づくS-S結合の形成阻害によるものと推定されている。

D/L-イソプロテレノールを、タウ凝集抑制を目的とした薬として開発する過程においては、その脳内移行性をヒトに対して明らかにする必要がある。陽電子断層画像撮影法(PET)による画像化法では、陽電子放出核種で標識したトレーサーの使用のもと、小動物からヒトまで含めた生体での薬剤の体内動態や、標的部位である脳への移行性が評価できる。まず、D/L-イソプロテレノールの<sup>11</sup>C標識PETトレーサーを製造するために、申請者らはこれまでに<sup>11</sup>C標識化アセトンとノルアドレナリンを用いた還元的アミノ化反応による基本的な製造法を確立した(分子イメージング国際会議(WMIC-2016, WMIC-2017, WMIC-2018)で発表及び、特許出願済み)。本研究では、小動物のPETイメージングへの展開および上記合成法をヒト臨床試験への実用的プロトコールとしての最適化を図る。さらに、より高い脳内移行性を示すタウ蛋白凝集抑制剤の開発と<sup>11</sup>C及び<sup>18</sup>F陽電子放出核種による標識化への展開を図る(脳移行に最適な脂溶性要件は $\log P=2\sim 3$ と言われている。D/L-イソプロテレノールの $\log P$ 値は0.94)。

## B. 研究方法

本研究は3年間を予定し、主にPET分子イメージング技術を機軸とする創薬研究の展開のために、タウ蛋白凝集阻害作用を示すイソプロテレノールのPETプローブ化および小動物イメージングを行う。特に、 $^{11}\text{C}$ 標識D/L-イソプロテレノールに関しては、ヒト臨床試験へ応用可能なPETプローブの製剤化を目指す。さらに脳移行性の向上を目指した分子設計およびPETプローブ化を展開する。

### (倫理面への配慮)

国立長寿医療研究センターでは、マウスを扱う動物実験および放射線を用いるPETを応用することから、同センターの動物倫理委員会の承認の下、動物実験指針（飼育、麻酔、実験方法、動物の苦痛軽減、排除の方法等）を順守しながら行った。さらに「動物愛護及び管理に関する法律」、「実験動物の飼育及び保管並びに苦痛の軽減に関する基準」、「厚生労働省の所轄する実施機関における動物実験などの実施に関する基本指針」、「動物実験等の適切な実施に向けたガイドライン」、「動物処分方法に関する指針」等、関連規則を遵守し、生命倫理・安全対策に十分配慮して、研究を実施した。また、放射性化合物を扱うPETプローブの合成とイメージング実験は、同センターのRI管理者の指導のもとに、「電離放射線障害防止規制」等の関連規則を遵守し、適切な防護、遮蔽等の安全対策を行い実施した。

## C. 研究結果

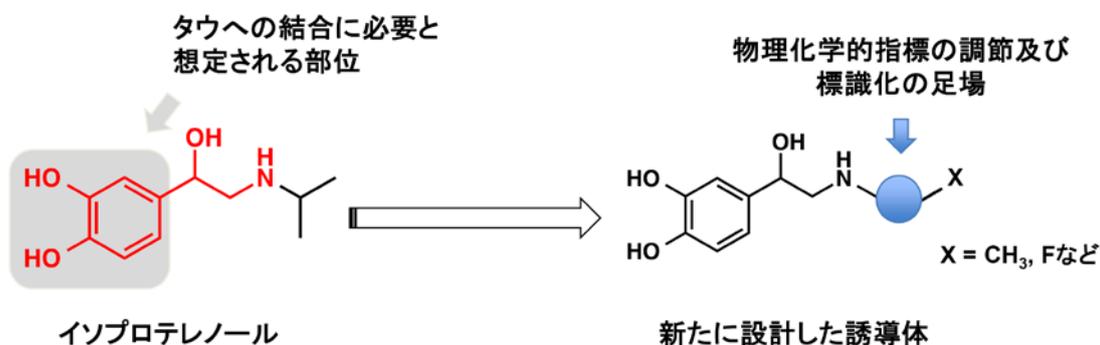
本研究計画は3年間を予定しており、以下の3つの段階で構成されている。

- ① 平成29年度： $^{11}\text{C}$ 標識アセトンの調製と還元的アルキル化反応の連続自動合成によるD/L- $^{11}\text{C}$ イソプロテレノールの実用的合成方法の確立とPETイメージングによる小動物の脳内動態解析研究への製剤提供
- ② 平成30年度：高い脳内移行性を指向したタウ凝集抑制カテコール誘導体の設計・合成、及び標識前駆体の設計・合成
- ③ 平成31年度：タウ凝集抑制カテコール誘導体の $^{11}\text{C}$ あるいは $^{18}\text{F}$ 標識化とPETイメージングによる小動物の体内動態解析

平成30年度の研究計画である、②の進捗状況は以下の通りであり、研究協力者である古山浩子(脳機能画像診断開発部 外来研究員)の下で実施された。

### A: 高い脳内移行性を指向したタウ凝集抑制カテコール誘導体の設計・合成

関連する研究課題である「認知症の新規診断・治療薬の薬物動態評価のための PET first-in-human 試験(29-29)」で明らかとなったラットにおける D/L-[<sup>11</sup>C]イソプロテレノールの脳内移行性は、タウ蛋白をイメージングするための PET プローブとして不十分であった。分子量 500 以下かつ分配係数  $\log P$  が 2-3 であることが血液脳関門を通過する化合物の物理化学的指標となっている一方、D/L-イソプロテレノールは  $\log P$  が 0.94 と小さい。そこで、活性部位と想定されるアミノカテコール骨格を保持したまま、より好ましい物理化学的指標を有する誘導体を設計した(図 1)。

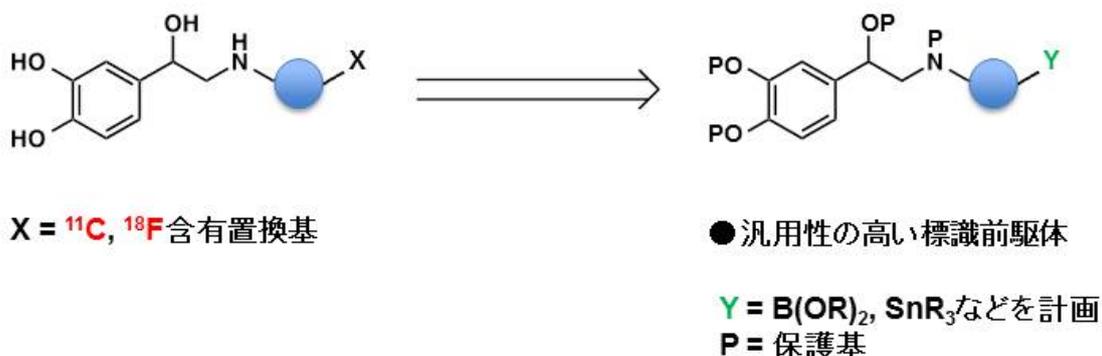


(図 1) より好ましい物理化学的指標を有する誘導体の設計

まず、HPLC 分析の標品となるメチル基あるいはフルオロ基が置換したアミノカテコール誘導体 (非放射化体) の合成を試みた。

### B: タウ凝集抑制カテコール誘導体の標識前駆体の設計・合成

続いて、メチル基あるいはフルオロ基が置換したアミノカテコール誘導体に対応する標識用前駆体を設計し、その合成を試みた (図 2)。



(図2) アミノカテコール誘導体の標識前駆体の設計

D. 考察と結論

活性部位と想定されるアミノカテコール骨格を保持したまま、好ましい物理化学的指標を有する誘導体の創製により、脳内移行性の改善が見込まれる。それらの新誘導体（特に非標識体）の合成を試みた。なお、予備的ではあるが、合成研究は順調に進行しており、今後は相当する PET プローブの創製を視野にそれらの合成研究も進めていきたい。同時に誘導体がタウ蛋白質凝集抑制作用を保持しているかどうかの確認も行っていきたい。

E. 健康危険情報

なし

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

国際学会発表

1) ○池沼宏、古山浩子、梶野直也、木村泰之、小縣綾、阿部潤一郎、川角保広、加藤隆司、鈴木正昭、伊藤健吾, Synthesis of  $^{11}\text{C}$ -Labeled (*R,S*)-Isoproterenol and Preclinical PET Study. 2018 World Molecular Imaging Congress, Seattle, USA, 9月12日～9月15日(ポスター発表、LBAP 097)

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

国際特許(PCT/JP2017/024166)継続中