

MAO-B選択的PETトレーサーの多系統萎縮症患者への応用に関する研究

研究分担者 武田 篤¹⁾、江面道典²⁾、菊池昭夫²⁾、岡村信行³⁾、原田龍一⁴⁾、長谷川隆文²⁾、菅野直人²⁾、吉田 隼²⁾、小林潤平²⁾、荒井啓行⁵⁾、谷内一彦⁴⁾、岩田練⁶⁾、古本祥三⁶⁾、工藤幸司⁷⁾、青木正志²⁾

所属 1)国立病院機構仙台西多賀病院脳神経内科、2)東北大学大学院医学系研究科神経・感覚器病態学講座神経内科学分野、3)東北医科薬科大学医学部薬理学、4)東北大学大学院医学系研究科生体機能学講座機能薬理学分野、5)東北大学加齢医学研究所老年医学分野、6)東北大学サイクロトロン核薬学研究部、7)東北大学加齢医学研究所

研究要旨

反応性アストロサイトは、アルツハイマー病（AD）、筋萎縮性側索硬化症、多系統萎縮症（MSA）といった神経変性疾患における神経炎症において、病態の進展に重要な役割を果たしている。神経炎症に伴うアストログリオシスにより、アストロサイトに発現しているモノアミン酸化酵素 B（MAO-B）は増加するため、分子イメージングの標的分子として有用と考えられる。MAO-B とタウ凝集体に結合する PET トレーサーである THK5351 を改善した MAO-B 選択的な PET トレーサーである SMBT1 を開発し、MSA 患者の検体でトレーサーの有用性を評価した。初めに ¹⁸F-SMBT1 を用いて、マウスにおける薬物動態を検討し、患者脳を使用して binding assay やオートラジオグラフィ（ARG）で結合性を検討した。マウスにおいて ¹⁸F-SMBT1 は脳へ速やかに移行しクリアランスも良好で、優れた薬物動態を示した。ヒトの脳を使用した結合性の検討では、正常健常人、AD 患者、進行性核上性麻痺患者、MSA 患者において MAO-B を検出できた。¹⁸F-SMBT1 は選択性の高い MAO-B PET トレーサーと考えられ、MAO-B を観察することにより、生体脳内のアストログリオシスを質的にモニターリングできることが示唆された。

A. 研究目的

神経炎症は、アルツハイマー病（AD）、筋萎縮性側索硬化症、多系統萎縮症（MSA）、進行性核上性麻痺（PSP）など様々な神経変性疾患の病態で重要な役割を果たし、グリアの活性化は病態進展に関連している。中枢神経系に損傷が起こると、反応性アストロサイトが増生し、それに伴い、GFAP、モノアミン酸化酵素 B 等が増加する¹⁾。MAO-B は神経炎症を捉える画像標的分子として重要であり、MSA 患者の剖検脳を用いた検討では、被殻、黒質で MAO-B の発現が増加し病変部位と一致していることが報告されてい

る²⁾。今回、MAO-B とタウ凝集体に結合する PET トレーサーである ¹⁸F-THK5351³⁾を改良して、MAO-B に選択的に結合する ¹⁸F-SMBT1 を開発し、マウスにおける薬物動態、正常健常人、AD、PSP、MSA 患者の剖検脳を用いて結合性を検討した。SMBT1 が MAO-B の検出に有用であるかを検討し、最終的には MSA 患者の PET 検査に応用しサロゲートマーカーとしての有効かどうか検証することを目的とする。

B. 研究方法

(1) マウスにおける薬物動態

^{18}F -SMBT1 をマウスの尾静脈より投与し、静注 2 分、10 分、30 分、60 分、120 分後の脳、血液、骨組織濃度を、組織 1g 当たりの投与量に対する集積率 (%ID/g) で算出した。また、マウスにおける脳、血液中の ^{18}F -SMBT1 の代謝物の検討を行なった。

(2) MAO-B および脳ホモジェネートを使用した競合結合試験

THK5351 を改良した SMBT1、THK5351、Ro43-0463、lazabemide (MAO-B 阻害剤)、rasagiline (MAO-B 阻害剤) の MAO-B に対する結合性を ^3H -THK5351 との競合結合実験によって評価した。また、SMBT1 の MAO-A に対する結合性を ^{18}F -Fluoroethyl harmine との競合結合実験により行った。同様に AD 脳を使用して SMBT1 のアミロイドとの結合性を ^3H -PiB との競合結合実験により、タウとの結合性を ^3H -MK6240 との競合結合実験により評価した。

(3) MAO-B に対する飽和結合実験

濃度の異なる ^{18}F -SMBT1 をリン酸バッファー (PBS) で溶解した MAO-B に結合させた。結合した標識化合物量を算出し、結合解離定数 K_d を GraphPad Prism5 で算出した。

(4) オートラジオグラフィー (ARG)

クリオスタットを用いて、正常健常人、AD 患者、PSP 患者、MSA 患者の厚さ $12\mu\text{m}$ の凍結脳切片を作成した。 5nM の ^{18}F -SMBT-1 を用いて ARG を行なった。併せて、 $1\mu\text{M}$ の lazabemide による結合阻害実験も行なった。

(倫理面への配慮)

マウスにおける薬物動態の検討については、動物実験計画書の承認を受けており、動物実験等に関する規定に基づき実験を行なった。また、患者凍結脳切片のオートラジオグラフィーに関しては、倫理委員会の審査済みである。今回の結果を踏まえて次年度以降、患者を対象とした PET 研究を予定しており新たに倫理委員会に申請す

る予定である。

C. 研究結果

(1) マウスにおける薬物動態

^{18}F -SMBT1 は投与後 2 分で %ID/g で 8% と脳への移行性は良好であった。また、10 分後の時点で 2% まで低下し、Brain uptake ratio は 4 とクリアランスも良好であった。また、血液中にも滞留せず、骨にも取り込みが少なく、脱フッ素による骨への集積を認めなかった。また、血液中には放射性のある ^{18}F -SMBT1 の代謝物がみられたが、脳においては放射性のある代謝物は非常に少なかった。

(2) MAO-B および脳ホモジェネートを使用した競合結合試験

^3H -THK5351 に対する IC_{50} は SMBT1 が 4.2 nM 、THK5351 が 7.3 nM 、Ro43-0463 が 10.5 nM 、lazabemide が 2.6 nM 、rasagiline が 3.6 nM であった。また、SMBT1 他の分子への結合性であるが、MAO-A には、 IC_{50} が 713 nM 、アミロイドおよびタウに対しては IC_{50} がいずれも 1000 nM 以上であった。

SMBT1 は MAO-B に対しては、 IC_{50} が 5 nM 程度と高い親和性を示す一方、MAO-A、アミロイド、タウに対しては、 500 nM 以下の低い親和性を示し、MAO-B に特異性が高いトレーサーであることが示唆された。

(3) MAO-B に対する飽和結合実験

MAO-B に対する ^{18}F -SMBT1 の K_d 値は 3.7 nM と 10 nM 以下であり高い親和性を示した。

(4) オートラジオグラフィー (ARG)

正常健常人、AD 患者、PSP 患者、MSA 患者においては、 ^{18}F -SMBT1 の集積は、MAO-B 阻害薬である lazabemide によりほぼすべて置換されていた。更に、AD 患者、MSA 患者においては、ARG を行なった隣接切片に対して MAO-B の免疫染色を行ない、この染色パターンは、 ^{18}F -SMBT1 の集積パターンに類似していた。ま

た、MSA 患者に関しては、cold 体の SMBT1 で self block も行ない、こちらもほぼすべての集積が置換され、非特異的結合が非常に少ないことが示された。

以上より、¹⁸F-SMBT1 は、MAO-B に選択性が高いトレーサーであることが示唆された。

D. 考察

¹⁸F-SMBT1 の薬物動態であるが、マウスでの検討では%ID/g が 8%と脳への取り込みが良好かつ速やかにクリアランスされることが示された。放射性の代謝物は脳に入らず、脱フッ素を示唆する骨への集積も少なく、良好な薬物動態を示した。

¹⁸F-SMBT1 の結合性の強さであるが、飽和結合実験において、 K_d 値が 3.7 nM と MAO-B に対して高い親和性を示しており、更に、MAO-A、アミロイド、タウといった他の分子に対して低い親和性を示し、MAO-B に対して特異的に高い結合親和性を示していた。

MAO-B への特異性の高さは ARG においても同様で、AD 患者、MSA 患者では、MAO-B の免疫染色パターンに近い集積像が得られ、非特異的な結合が低く MAO-B 特異的であることが示唆された。

以上より、¹⁸F-SMBT1 は、優れた薬物動態を示し、MAO-B 特異的に高い結合親和性を持つトレーサーであることが示唆され、MSA 患者をはじめとする様々な疾患において MAO-B を検出できる有用なトレーサーであると考えられた。

また、MAO-B とタウ凝集体に結合する PET トレーサーである ¹⁸F-THK5351 を使用して、MSA 患者の検討が行われており、MSA-C は橋、小脳白質の集積が有意に高集積であり、橋、小脳白質の集積は MSA 患者の症状に相関するとの報告がある⁴⁾。MSA に ¹⁸F-SMBT1 を用いることにより、¹⁸F-THK5351 よりも、パーキンソン病等の他疾患との鑑別や、トレーサー集積から

MSA の重症度の類推等に使用できる可能性がある。

E. 結論

¹⁸F-SMBT1 は MAO-B 選択的な PET トレーサーと考えられ、生体脳内のアストログリオシスを観察することができる可能性がある。今後、¹⁸F-SMBT1 PET 検査を実際の MSA 患者で撮影する予定である。

[参考文献]

- 1) Schain M, Kreis WC. Neuroinflammation in Neurodegenerative Disorders-a Review. *Curr Neurol Neurosci Rep.* 2017; 17(3): 25.
- 2) Tong J, Rathitharan G, Meyer JH, et al. Brain monoamine oxidase B and A in human parkinsonian dopamine deficiency. *Brain.* 2017; 140:2460-2467.
- 3) Kikuchi A, Okamura N, Hasegawa T, et al. In vivo visualization of tau deposits in corticobasal syndrome by ¹⁸F-THK5351 PET. *Neurology.* 2016; 87:2309-2316.
- 4) Schönecker S, Brendel M, Palleis C, et al. PET imaging of astrogliosis and tau facilitates diagnosis of Parkinsonian syndromes. *Front Aging Neurosci.* 2019; 11: 249.

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Takeda A, Perlmutter JS, Striatal molecular imaging of presynaptic markers: Ready, fire, aim. *Neurology.* 2017; 88: 1388-1389.
- 2) Baba T, Hosokai Y, Nishio Y, Kikuchi A, Hirayama K, Suzuki K, Hasegawa T, Aoki M, Takeda A, Mori E. Longitudinal study of

- cognitive and cerebral metabolic changes in Parkinson's disease. *J Neurol Sci.* 2017; 372: 288-293.
- 3) Nishio Y, Yokoi K, Uchiyama M, Mamiya Y, Watanabe H, Gang M, Baba T, Takeda A, Hirayama K, Mori E. Deconstructing psychosis and misperception symptoms in Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2017; 88: 722-729.
 - 4) Yoshida S, Hasegawa T, Suzuki M, Sugeno N, Kobayashi J, Ueyama M, Fukuda M, Ido-Fujibayashi A, Sekiguchi K, Ezura M, Kikuchi A, Baba T, Takeda A, Mochizuki H, Nagai Y, Aoki M. Parkinson's disease-linked DNAJC13 mutation aggravates alpha-synuclein-induced neurotoxicity through perturbation of endosomal trafficking. *Hum Mol Genet.* 2018; 27: 823-836.
 - 5) Nomoto M, Nagai M, Nishikawa N, Ando R, Kagamiishi Y, Yano K, Saito S, Takeda A. Pharmacokinetics and safety/efficacy of levodopa pro-drug ONO-2160/carbidopa for Parkinson's disease. *eNeurologicalSci.* 2018; 13: 8-13.
 - 6) Nishio Y, Yokoi K, Hirayama K, Ishioka T, Hosokai Y, Gang M, Uchiyama M, Baba T, Suzuki K, Takeda A, Mori E. Defining visual illusions in Parkinson's disease: Kinetopsia and object misidentification illusions. *Parkinsonism Relat Disord.* 2018; 55: 111-116.
 - 7) Abe N, Kawasaki I, Hosokawa H, Baba T, Takeda A. Do Patients With Parkinson's Disease Exhibit Reduced Cheating Behavior? A Neuropsychological Study. *Front Neurol.* 2018; 9: 378.
 - 8) Watanabe H, Nishio Y, Mamiya Y, Narita W, Iizuka O, Baba T, Takeda A, Shimomura T, Mori E. Negative mood invites psychotic false perception in dementia. *PLoS One.* 2018; 13: e0197968.
 - 9) Hattori N, Takeda A, Takeda S, Nishimura A, Kato M, Mochizuki H, Nagai M, Takahashi R. Efficacy and safety of adjunctive rasagiline in Japanese Parkinson's disease patients with wearing-off phenomena: A phase 2/3, randomized, double-blind, placebo-controlled, multicenter study. *Parkinsonism Relat Disord.* 2018; 53: 21-27.
 - 10) Yoshida S, Hasegawa T, Suzuki M, Sugeno N, Kobayashi J, Ueyama M, Fukuda M, Ido-Fujibayashi A, Sekiguchi K, Ezura M, Kikuchi A, Baba T, Takeda A, Mochizuki H, Nagai Y, Aoki M. Parkinson's disease-linked DNAJC13 mutation aggravates alpha-synuclein-induced neurotoxicity through perturbation of endosomal trafficking. *Hum Mol Genet.* 2018; 27: 823-836.
 - 11) Ezura M, Kikuchi A, Ishiki A, Okamura, Hasegawa T, Harada R, Watanuki S, Funaki Y, Hiraoka K, Baba T, Sugeno N, Oshima R, Yoshida S, Kobayashi J, Kobayashi M, Tano O, Nakashima I, Mugikura S, Iwata R, Taki Y, Furukawa K, Arai H, Furumoto S, Tashiro M, Yanai K, Kudo Y, Takeda A, Aoki M. Longitudinal changes in ¹⁸F-THK5351 positron emission tomography in corticobasal syndrome. *Eur J Neurol.* 2019; 26: 1205-1211.
 - 12) Kobayashi J, Hasegawa T, Sugeno N, Yoshida S, Akiyama T, Fujimori K, Hatakeyama H, Miki Y, Tomiyama A, Kawata Y, Fukuda M, Kawahata I,

Yamakuni T, Ezura M, Kikuchi A, Baba T, Takeda A, Kanzaki M, Wakabayashi K, Okano H, Aoki M. Extracellular α -synuclein enters dopaminergic cells by modulating flotillin-1-assisted dopamine transporter endocytosis. *FASEB J.* 2019; 33: 10240-10256.

- 13) Gang M, Baba T, Hosokai Y, Nishio Y, Kikuchi A, Hirayama K, Hasegawa T, Aoki M, Takeda A, Mori E, Suzuki K. Clinical and Cerebral Metabolic Changes in Parkinson's Disease With Basal Forebrain Atrophy. *Mov Disord.* 2020 doi: 10.1002/mds.27988

2.学会発表

- 1) Kikuchi A, Okamura N, Hasegawa T, Ezura M, Baba T, Sugeno N, Yoshida S, Kobayashi J, Arai H, Furumoto S, Tashiro M, Yanai K, Kudo Y, Takeda A, Aoki M. ^{18}F -THK5351 PET in corticobasal syndrome. XXIII World Congress of Neurology (Kyoto: September 19, 2017)
- 2) 菊池昭夫、江面道典、岡村信行、長谷川隆文、石木愛子、原田龍一、菅野直人、吉田隼、小林潤平、荒井啓行、谷内一彦、古本祥三、田代学、工藤幸司、武田篤、青木正志. 大脳皮質基底核症候群における ^{18}F -THK5351

PET の経時的変化. 第 59 回日本神経学会学術大会 (札幌: 2018.5.23)

- 3) 江面道典、菊池昭夫、岡村信行、吉田隼、小林潤平、菅野直人、長谷川隆文、石木愛子、原田龍一、荒井啓行、谷内一彦、古本祥三、田代学、工藤幸司、武田篤、青木正志. ^{18}F -THK5351 PET によるタウオパチーにおける鑑別診断の検討. 第 59 回日本神経学会学術大会 (札幌: 2018.5.23)
- 4) Ezura M, Kikuchi A, Okamura N, Hasegawa T, Ishiki A, Harada R, Taki Y, Arai H, Yanai K, Furumoto S, Tashiro M, Kudo Y, Takeda A, Aoki M, Evaluation of differential diagnosis of tauopathies by ^{18}F -THK5351 PET. 第 60 回日本神経学会学術大会 (大阪: 2019.5.22)

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1.特許取得

なし

2.実用新案登録

なし

3.その他

なし