

京都大学	博士 (薬学)	氏名	小川 祐
論文題目	糖尿病の早期診断を目的とした膵β細胞結合性核医学分子イメージングプローブの開発に関する研究		
(論文内容の要旨)			
<p>現在、2型糖尿病(T2DM)の診断には耐糖能の測定が汎用されているが、耐糖能に異常が見いだされた段階では既に根本治療が難しい状態になっていることから、より早期の診断に有効な方法の開発が強く望まれている。</p> <p>そこで本研究では、耐糖能に異常がある段階では膵臓のβ細胞量が健常者の約35%まで減少しているとの報告に着目して、T2DMを早期に診断するためには、体外から非侵襲的に膵β細胞量の測定を可能とする核医学分子イメージングプローブの利用が有効であると考えた。そのために、膵β細胞に選択的に高発現し、かつ糖尿病モデル動物での発現低下例が報告されている、glucagon-like peptide-1(GLP-1)受容体を標的として、核医学画像診断に有効な放射性核種<sup>123</sup>Iで標識され、GLP-1受容体に選択的結合性を有する核医学分子イメージングプローブを開発することを計画した。</p>			
<p>第1章 膵β細胞結合性核医学イメージングプローブとしての放射性ヨウ素標識 Exendin-4-(9-39)-peptideに関する基礎的検討</p> <p>Exendin-4-(9-39)-peptide (Ex(9-39)) がGLP-1受容体に高い親和性を示すことから、そのイメージングプローブ母体としての可能性を検討するために、Ex(9-39)に存在するアミノ基を<sup>125</sup>I Bolton-Hunter試薬で標識(BH誘導化)し、その正常マウスにおける体内挙動を調べた。その結果、膵β細胞結合性核医学分子イメージングプローブに求められる膵臓への高い放射能集積と膵臓での滞留性が確認されたが、一方で膵臓のイメージング上問題となる肝臓への集積も高く、甲状腺への集積が経時的に増加することから脱ヨード反応を受けることが認められた。また、BH誘導化の際にEx(9-39)が持つ複数のアミノ基をそれぞれBH誘導化した誘導体が混在して生成することが考えられた。そこで、脱ヨードしにくい3-<sup>125</sup>Iiodobenzoyl(<sup>125</sup>IIB)基を放射性ヨウ素導入基として用い、Ex(9-39)のN末端、12位のLys残基およびC末端に新たに結合させたLys残基のアミノ基をそれぞれ<sup>125</sup>IIB化した化合物を設計、合成し、<sup>125</sup>IIB化の位置による体内動態の相違をマウスを用いて検討した結果、<sup>125</sup>IIB化の位置は体内動態に大きな影響を与えることが認められた。また、イメージングの指標となる膵臓と近傍臓器との放射能集積密度の比から、Ex(9-39)のLys<sup>12</sup>を<sup>123</sup>IIB化した化合物(<sup>123</sup>IIB12-Ex(9-39))が、検討した化合物の中で膵β細胞結合性核医学分子イメージングプローブとして最も良い性質を有していることが示された。</p>			
<p>第2章 膵β細胞結合性核医学分子イメージングプローブへの最適化</p> <p>第1章で開発した<sup>123</sup>IIB12-Ex(9-39)を基本として、膵臓へのより高い放射能集積と近傍組織への放射能集積の減少を示すプローブの開発を計画した。そのために、Ex(9-39)のN末端8残基を延伸したExendin-4(Ex4)がEx(9-39)よりGLP-1受容体への高い親和性を有すること、また、低分子量ポリエチレングリコール(PEG)の導入により水</p>			

溶性が向上し肝臓への放射能集積が低減することを考え、Ex4のLys<sup>12</sup>からPEGを伸長し、その末端を[<sup>123</sup>I]IB化した化合物[Lys(1-(3-[<sup>123</sup>I]iodophenyl)-1-oxo-5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38-dodecaoxa-2-azahentetracontan-41-oyl)<sup>12</sup>]Exendin-4 ([<sup>123</sup>I]IB-SKY1) を設計、合成した。合成した[<sup>125</sup>I]IB-SKY1の体内動態を調べた結果、所期の通り膵臓と近傍臓器との集積放射能密度の比は向上し、本化合物の分子設計が有効であることが示された。また、[<sup>125</sup>I]IB-SKY1投与後のマウスから得た膵臓薄切切片の放射能分布を調べたところ、放射能のβ細胞への局在が認められ、この局在はEx(9-39)の前投与により消失した。さらに、[<sup>123</sup>I]IB-SKY1を正常マウスに投与し単光子断層撮像装置(SPECT)による撮像を行ったところ、膵臓が明瞭に描出され、[<sup>123</sup>I]IB-SKY1は膵β細胞結合性核医学分子イメージングプローブとして有効であることが示された。

### 第3章 膵β細胞量のインビボイメージング評価におけるプローブの有効性

第2章で開発した[<sup>123</sup>I]IB-SKY1について、膵β細胞量の変化のインビボイメージング評価における有効性を検討するために、膵β細胞の選択的な破壊により糖尿病を誘発する薬剤streptozotocin(STZ)を処置したモデルマウスを作製し、これを用いて、膵β細胞量の減少が[<sup>123</sup>I]IB-SKY1の膵臓集積量に与える影響を検討した。その結果、STZ処置マウスでは[<sup>125</sup>I]IB-SKY1の膵臓への集積が減少することを認め、またウエスタンブロットティング法により膵臓のGLP-1受容体発現密度が減少していることも認めた。さらに、STZ処置マウスでの[<sup>123</sup>I]IB-SKY1のSPECT撮像を行ったところ、膵臓のGLP-1受容体発現密度の減少に応じた膵臓の放射能集積の低下が認められ、[<sup>123</sup>I]IB-SKY1はT2DMの画像診断のためのSPECT用核医学分子イメージングプローブとして有効である可能性が示された。

以上、本研究は、T2DMの早期診断を目的とした膵β細胞結合性核医学分子イメージングプローブの開発についての基礎的な成果を収めたものであり、これらの知見は今後の糖尿病の臨床診断、病態解明研究に有益な情報を与えるものと考えられる。

(論文審査の結果の要旨)

現在、2型糖尿病(T2DM)の診断には耐糖能の測定が汎用されているが、耐糖能に異常が見いだされた段階では既に根本治療が難しい状態になっていることから、より早期の診断に有効な方法の開発が強く望まれている。そこで本論文では、耐糖能に異常がある段階で膵β細胞量が減少しているとの報告に着目して、膵β細胞に選択的に高発現している、glucagon-like peptide-1(GLP-1)受容体に選択的に結合する<sup>123</sup>I標識核医学分子イメージングプローブを開発することを計画したものである。

著者は、先ず、Exendin-4(9-39)-peptide (Ex(9-39)) がGLP-1受容体に高い親和性を示すことから、それに [<sup>125</sup>I]Bolton-Hunter試薬を導入した誘導体のマウスでの体内分布動態を調べた結果、本化合物は膵臓への高い集積と滞留性を認めたが、肝臓、甲状腺への高い集積も認めた。甲状腺集積には体内での脱ヨード反応、肝臓集積にはBH誘導化の際にEx(9-39)の複数のアミノ基にそれぞれBH基が結合した誘導体の混在が関与していると考え、脱ヨードしにくい3-[<sup>125</sup>I]iodobenzoyl([<sup>125</sup>I]IB)基を放射性ヨウ素導入基として用い、これをEx(9-39)のN末端、12位のLys残基、C末端に導入したLys残基の各アミノ基を通して導入した化合物を合成し、それらの体内動態を検討した。その結果、 [<sup>125</sup>I]IB化の位置は体内動態に大きな影響を与え、検討した化合物の中では12位のLysを [<sup>123</sup>I]IB化した [<sup>123</sup>I]IB12-Ex(9-39)が最も良い性質を持つことを見出した。

そこで、 [<sup>123</sup>I]IB12-Ex(9-39)を基本として、より高い膵臓集積とより低い近傍組織への集積を示すプローブの開発を計画し、Ex(9-39)のN末端8残基を延伸したExendin-4(Ex4)がEx(9-39)よりGLP-1受容体への親和性が高いこと、ポリエチレングリコール(PEG)の導入により水溶性が向上し肝臓への放射能集積が低減することを考慮して、Ex4のLys<sup>12</sup>にPEGを導入、その末端を [<sup>123</sup>I]IB化した [Lys(1-(3-[<sup>123</sup>I]iodophenyl)-1-oxo-5,8,11,14,17,20,23,26,29,32,35,38-dodecaoxa-2-azahentetracontan-41-oyl)<sup>12</sup>]Exendin-4 ([<sup>123</sup>I]IB-SKY1) を合成した。また、この化合物の体内動態を調べた結果、膵臓と近傍臓器との集積放射能密度の比がより高くなること、膵臓薄切切片における放射能はβ細胞に局在することを認めた。さらに、マウスにおける [<sup>123</sup>I]IB-SKY1の分布を単光子断層撮像(SPECT)により撮像したところ、膵臓が明瞭に描出することを見出した。また、膵β細胞を選択的に破壊するstreptozotocin(STZ)で処置したマウスにおいて、膵β細胞量の減少に伴い [<sup>125</sup>I]IB-SKY1の膵集積量、GLP-1受容体発現密度が減少することを認めた。これらの結果より、 [<sup>123</sup>I]IB-SKY1はT2DMの核医学画像診断に有効な分子プローブとしてなりえることを見出した。

以上、本研究はT2DMの早期診断を目的とした膵β細胞結合性核医学分子イメージングプローブの開発についての基礎的な成果を収めたものであり、これらの知見は今後の糖尿病の臨床診断、病態解明研究に有益な情報を与えるものと評価される。

よって本論文は博士(薬学)の学位論文として価値あるものと認める。

さらに、平成25年2月28日論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果、合格と認めた。

論文内容の要旨及び審査の結果の要旨は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。特許申請、雑誌掲載等の関係により、学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日： 平成 年 月 日以降