

氏 名	いし の せい ご 石 野 誠 悟
学位(専攻分野)	博 士 (薬 学)
学 位 記 番 号	薬 博 第 624 号
学位授与の日付	平 成 19 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研 究 科 ・ 専 攻	薬 学 研 究 科 医 療 薬 科 学 専 攻
学 位 論 文 題 目	不安定性動脈硬化プラークの核医学画像診断を目的としたテクネチウム-99m 標識抗酸化 LDL 受容体抗体の開発に関する研究
論文調査委員	(主 査) 教 授 佐 治 英 郎 教 授 橋 田 充 教 授 赤 池 昭 紀

論 文 内 容 の 要 旨

不安定化した動脈硬化プラークは破綻しやすく、いったん破綻すると血栓形成を惹起し、心筋梗塞や脳梗塞などの重大な疾患を引き起こすことから、動脈硬化プラークの不安定性を診断できる手法の開発が臨床上強く望まれている。一方、最近、この動脈硬化プラークの不安定化に関与する、血管内皮細胞への炎症細胞の接着促進、マクロファージの泡沫化促進、コラーゲン線維の分解などに、酸化 LDL 受容体ファミリーの一つである Lectin-like oxidized LDL receptor-1 (LOX-1) が重要な役割を果たす可能性が細胞を用いた実験結果から示されている。そこで本研究では、特定の分子の分布状態を非侵襲的に体外からイメージングできる核医学診断法に着目し、この画像診断法に適した性質の放射線を放出するテクネチウム-99m (^{99m}Tc) を用いた、LOX-1 をイメージングの標的分子とした不安定性動脈硬化プラークの核医学画像診断薬の開発を計画した。

第 1 章 不安定性動脈硬化プラークを核医学画像診断するための標的としての酸化 LDL 受容体の有効性に関する検討

一般に、核医学診断法による質的診断では、イメージングの標的とする分子が病変対象部位に疾患の程度に相関して存在していることが必要である。細胞を用いた実験で、LOX-1 は動脈硬化プラークの不安定化に多面的に関与することが示されていることから、LOX-1 を不安定性動脈硬化プラークの核医学イメージングの標的として着目し、動脈硬化モデル動物である WHHLMI ウサギの大動脈を用いて、不安定性動脈硬化プラーク部位での LOX-1 の発現状態を免疫組織化学的手法により検討した。その結果、動脈硬化プラークにおける LOX-1 の発現は、プラークの不安定化に関与している MMP-9 の発現および動脈硬化プラークの不安定性の指標とそれぞれ高い相関を示した。また、線維性被膜の薄い動脈硬化プラークは線維性被膜の厚いものと比較して有意に高い LOX-1 の発現を認めた。さらに、不安定性動脈硬化プラークにおいて、LOX-1 が血栓形成の原因となる組織因子と共局在していることも認めた。以上の結果より、LOX-1 が動脈硬化プラークの不安定性と密接に関連して発現していることが示され、LOX-1 が不安定性動脈硬化プラークを核医学画像診断するための標的分子として有効であることが示された。

第 2 章 不安定性動脈硬化プラークの新規核医学画像診断薬としての ^{99m}Tc 標識抗酸化 LDL 受容体抗体の開発

不安定性動脈硬化プラークの核医学画像診断を目的として、LOX-1 をイメージングの標的とする放射性薬剤の開発を計画した。そこで、放射性薬剤の母体分子として抗 LOX-1 抗体、放射性核種として画像診断に適した ^{99m}Tc をそれぞれ選択し、二官能性キレート分子の概念のもとに、抗 LOX-1 抗体に、抗原認識部位とは独立して ^{99m}Tc を安定に結合させる Hydrazino-nicotinic acid (HYNIC) を導入した ^{99m}Tc 標識抗 LOX-1 抗体を設計、合成した。合成した ^{99m}Tc 標識抗 LOX-1 抗体を WHHLMI ウサギに投与し、24 時間後に撮像した結果、コントロールウサギに比べて明瞭に大動脈がイメージングされた。また、大動脈を摘出して放射能集積量を計測したところ、WHHLMI ウサギではコントロールウサギに比較して 9 倍以上高かった。次に、大動脈の薄切標本を作製してオートラジオグラフィー (ARG) および組織学的検討を行った結果、 ^{99m}Tc 標識抗 LOX-1 抗体は LOX-1 の発現に応じた分布を示した。さらに、得られた組織学的特徴をもとに、

WHHLMI ウサギの大動脈内膜肥厚部を新生内膜病変, アテローム性病変, フィブロアテローム性病変, コラーゲンリッチ病変に分類し, 各病変における放射能集積量を ARG により定量したところ, 不安定性を示すアテローム性病変において最も高い値を示した。また, 各病変における放射能集積量は動脈硬化プラークの組織学的な不安定性の指標と高い相関を認めた。

動脈硬化プラークの有効な画像診断薬として, 現在, アポトーシスをイメージングの標的とする ^{99m}Tc 標識アネキシン A5 が検討されている。そこで, ^{99m}Tc 標識抗 LOX-1 抗体の WHHLMI ウサギ大動脈への集積量を ^{99m}Tc 標識アネキシン A5 の場合と比較した結果, ^{99m}Tc 標識抗 LOX-1 抗体は ^{99m}Tc 標識アネキシン A5 より 5 倍以上高い値を示した。また, 両化合物ともアテローム性病変に高い放射能集積を認めたが, ^{99m}Tc 標識抗 LOX-1 抗体のアテローム性病変における他の三病変に対する放射能集積比は ^{99m}Tc 標識アネキシン A5 の場合より約 1.5 倍以上高かった。動脈硬化は様々な病変が不均一に混在する病態を示しているため, 動脈硬化プラークの不安定性を画像により診断するためには, この集積比が高いことは有効である。さらに, 各病変における放射能集積量と組織学的な不安定性の指標との相関においても, ^{99m}Tc 標識抗 LOX-1 抗体の方が ^{99m}Tc 標識アネキシン A5 に比べて高いことを認めた。

以上, 本研究は, 不安定性動脈硬化プラークの核医学的手法による質的診断の標的分子としての酸化 LDL 受容体の有効性を示すとともに, その核医学画像診断薬剤として ^{99m}Tc 標識抗 LOX-1 抗体が有効である可能性を明らかにしたものであり, これらの知見は, 今後の不安定性動脈硬化プラークの診断法の開発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

不安定化した動脈硬化プラークは破綻しやすく, 破綻すると血栓形成を惹起し, 心筋梗塞や脳梗塞などの重大な疾患を引き起こすことから, 動脈硬化プラークの不安定性を診断できる手法の開発が臨床で強く望まれている。一方, 最近, この動脈硬化プラークの不安定化に関与する, 血管内皮細胞への炎症細胞の接着促進, マクロファージの泡沫化促進, コラーゲン線維の分解などの過程に, 酸化 LDL 受容体ファミリーのひとつである Lectin-like oxidized receptor-1 (LOX-1) が重要な役割を果たす可能性が示されている。そこで本論文は, 非侵襲的に体外から特定の分子の分布状態をイメージングできる核医学診断法に着目して, この画像診断法に適した放出放射線の性質を有する ^{99m}Tc を用いて, LOX-1 をイメージングの標的分子とした不安定性動脈硬化プラークの核医学画像診断薬の開発を計画したものである。

著者は, 先ず, 不安定性動脈硬化プラークを核医学画像診断するための標的としての LOX-1 の有効性を検討するために, 動脈硬化モデルである WHHLMI ウサギの大動脈を用いて, 免疫組織化学的手法により不安定性動脈硬化プラーク部位での LOX-1 の発現状態を検討した。その結果, 動脈硬化プラークにおいて, LOX-1 の発現は不安定性の指標と高い相関を示すとともに, それは血栓形成の原因となる組織因子と共局在していることを認め, LOX-1 が不安定性動脈硬化プラークを核医学画像診断するための標的として有効であることを見出した。

次に, この結果に基づいて, LOX-1 をイメージングの標的とする不安定性動脈硬化プラーク核医学診断用 ^{99m}Tc 標識放射性薬剤の開発を計画した。そこで, 二官能性キレート分子の概念のもとに, 抗 LOX-1 抗体に, 抗原認識部位とは独立して ^{99m}Tc を安定に結合させる Hydrazino-nicotinic acid (HYNIC) を導入した ^{99m}Tc 標識抗 LOX-1 抗体を設計, 合成した。合成した ^{99m}Tc 標識抗 LOX-1 抗体を WHHLMI ウサギに投与し, 24 時間後にイメージングした結果, コントロールウサギに比べて明瞭に大動脈がイメージングされ, また大動脈を摘出して放射能集積量を計測したところ, WHHLMI ウサギではコントロールウサギに比較して 9 倍以上高いことを認めた。さらに, 大動脈の病理標本を作製してオートラジオグラフィ (ARG) および組織学的検討を行った結果, ^{99m}Tc 標識抗 LOX-1 抗体は LOX-1 の発現に応じた分布を示すとともに, その集積の程度は不安定性を示すアテローム性病変部位に最も高い値を示し, ^{99m}Tc 標識抗 LOX-1 抗体が不安定性動脈硬化プラークの核医学診断薬として有効である可能性を見出した。

さらに, 今回開発した ^{99m}Tc 標識抗 LOX-1 抗体の有効性を調べるために, 現在動脈硬化プラークの画像診断薬として欧州で臨床使用が検討されている, アポトーシスを標的とする ^{99m}Tc 標識アネキシン A5 と WHHLMI ウサギ大動脈への集積量を比較した結果, アテローム性病変部位への集積量, 集積選択性, 放射能集積量と組織学的な不安定性の指標との相関において, ^{99m}Tc 標識抗 LOX-1 抗体の方が, ^{99m}Tc 標識アネキシン A5 に比べて高いことを見出した。

以上、本研究は、不安定性動脈硬化プラークの核医学イメージングの標的としての酸化 LDL 受容体の有効性を示すと共に、その核医学診断薬剤として ^{99m}Tc 標識抗 LOX-1 抗体が有効である可能性を明らかにしたものであり、これらの知見は、今後の不安定性動脈硬化プラークの診断法の開発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）の論文として価値あるものと認める。

更に、平成19年 3 月 2 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。