

ニコチン性受容体イメージング剤の開発とそれを用いた 慢性疼痛時のニコチン神経機能解析

佐治 英郎*

はじめに

最近、脳内のニコチン性アセチルコリン受容体（ニコチン性受容体）が記憶・学習・認知などの高次脳機能に関与していることが示唆され、また、ニコチン性受容体アゴニストであるニコチンに抗不安作用、鎮痛作用、神経保護作用が見いだされていることなどにより、脳内ニコチン性受容体の生理機能、その脳神経疾患や喫煙との関連性に興味を持たれている¹⁾。

一方、近年、生体内で生じている生体機能や病態での生理機能の変化を分子レベルで *in vivo* で画像として把握する「分子イメージング」という分野が注目されている。この分子イメージングの領域で、核医学イメージングは非侵襲的で高感度なイメージングが可能であることから、その中心的手法として用いられている。そこで我々は、この核医学イメージング法を用いて、生きて機能している脳内のニコチン性受容体を *in vivo* イメージングし、その *in vivo* での機能解析法を開発するとともに、その結果に基づいて、ニコチン性受容体の作用、特に鎮痛作用における関与を明らかにするとともに、脳内のニコチン性受容体が新しい疼痛治療薬開発の標的となり得る可能性を検討することを試みた。

核医学イメージング

核医学イメージングとは、放射性薬剤を体内に投与し、そこから放出される放射線を positron emission tomography (PET) や single

photon emission computed tomography (SPECT) などの画像撮像装置で体外から検出し、放射能の分布を画像化する手法である。得られた画像は位置情報と定量的な情報を併せ持っており、適切な分子プローブ（リガンド）を選択することで、形態情報だけでなく生体組織の活性・機能情報を非侵襲的に高感度で得ることができる。さらに、生理活性物質や医薬品を核医学イメージングに適した放射性核種で標識できれば、それらの体内動態、作用点、さらに作用機序を明らかにできる可能性も有している。

ニコチン性受容体イメージング剤の開発

中枢に存在するニコチン性受容体は、記憶・学習・認知といった高次脳機能や神経保護作用、鎮痛作用などさまざまな生理機能への関与のみならず、アルツハイマー病やパーキンソン病などの脳神経疾患での変化も報告されている¹⁾²⁾。そこで、ヒト脳内ニコチン性受容体の分布および密度を体外から非侵襲的に測定することのできる手法の開発が、ニコチン性受容体の中枢での役割の解明、さらに種々の脳神経疾患の診断や治療に有用な情報を提供するものとして期待されている。これに対し、我々はこれまでにニコチン自体を炭素-11 (¹¹C) で標識した [¹¹C]ニコチン³⁾、あるいはニコチンにヨウ素-123 (¹²³I) を導入した 5- [¹²³I]ヨードニコチン⁴⁾を開発し、それを用いたニコチン性受容体イメージングを試みてきた。両化合物とも *in vitro* ではニコチン性受容体に対する親和性は母体化合物であるニコチンとほぼ同等で、*in vivo* でもニコチン性受容体に対する特異的結合は存在したが、非

* 京都大学大学院薬学研究科

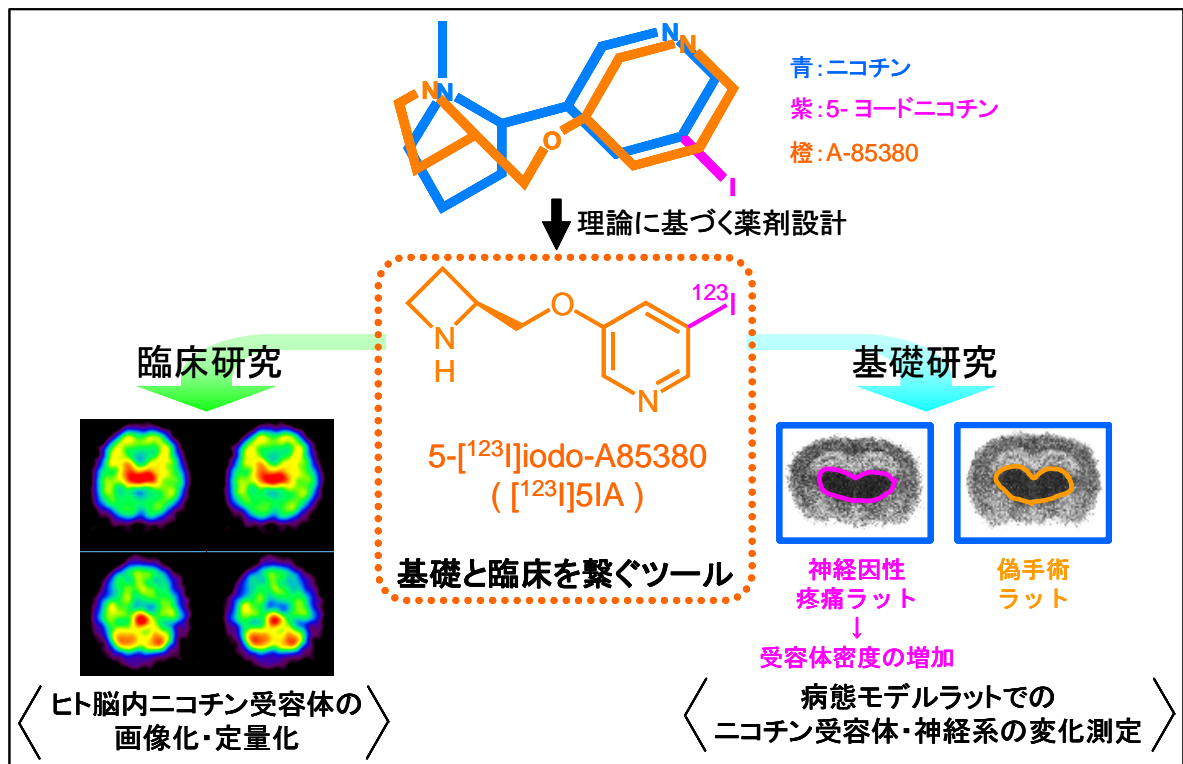


図-1 ニコチン性受容体イメージング薬としての 5-iodo-A-85380 ($[^{123}\text{I}]5\text{IA}$) の分子設計とその臨床および基礎研究への応用の概念図

特異的結合が高く、ヒトでのイメージングは困難であろうと判断した。そして、この非特異的結合の高さはニコチンのニコチン性受容体に対する親和性の低さに起因すると考え、そのため、ニコチン性受容体イメージングプローブ開発においては、ニコチン性受容体への親和性のより高い化合物を開発することが必要であると考えた。

1996年、Abreoら⁵⁾によってニコチン性受容体に対して非常に高い親和性を有する化合物 A-85380 が報告された。そこで我々はこの化合物を母体とする新たなニコチン性受容体イメージング剤の開発を計画した。ニコチンとニコチン性受容体との結合には、ニコチンのピロリジン環の窒素原子およびピリジン環の窒素原子が重要であることが知られている。A-85380にもアゼチジン環とピリジン環に窒素原子が存在することから、コンピュータシミュレーションを用いて、ニコチンの2つの窒素原子とそれらを3次的に重ね合わせ、ニコチンの受容体との結合において影響を与えなかったヨウ素の導入

位置に対応する A-85380 での位置を検討したところ、ピリジン環の5位がその位置に相当することを見出した。そこで A-85380 のピリジン環の5位に ^{123}I を導入した 5- $[^{123}\text{I}]$ iodo-A-85380 ($[^{123}\text{I}]5\text{IA}$) を設計・合成し、そのニコチン性受容体イメージングプローブとしての可能性を評価した。

まず、ニコチン性受容体に結合する $[^3\text{H}]$ シチジンの結合阻害実験により 5IA、母体化合物である A-85380 およびニコチンの親和性を測定したところ、結合阻害定数 (K_i 値) はそれぞれ 0.37 ± 0.13 、 0.38 ± 0.01 、 2.71 ± 0.73 nM となり、ヨウ素を導入しても予想通り親和性が維持されていること、またニコチンの約7倍の高親和性を有していることが明らかとなった。次に $[^{125}\text{I}]5\text{IA}$ を用いて結合阻害実験を行ったところ、5IA 自体で結合が阻害されたことから、その結合に飽和性が認められた (K_i 値は 0.40 ± 0.13 nM)。またニコチン性受容体の $\alpha4\beta2$ サブタイプに結合するニコチンの受容体結合は阻害したが、同じニコチン性受容体でも $\alpha7$ サブ

タイプに結合する α -ブンガロトキシンやムスカリン受容体に結合するスコポラミンでは結合が阻害されなかったことから、 $[^{125}\text{I}]5\text{IA}$ の結合は $\alpha 4\beta 2$ サブタイプ選択的であることが示された。さらにラットおよびコモンマーモセットを用いて $[^{123/125}\text{I}]5\text{IA}$ の脳内分布を検討したところ、両動物ともニコチン性受容体密度の高い視床における放射能分布が最も高くなり、密度の低い小脳における分布が最も低く、その分布は既報の脳内ニコチン性受容体密度⁶⁾と高い相関（相関係数 0.97）を示した。また両動物にニコチン性受容体に結合するシチジンを負荷したところ、 $[^{123/125}\text{I}]5\text{IA}$ の結合が 80% 以上抑制されたことから、*in vivo* においてもニコチン性受容体に特異的に結合していることが示された⁷⁾。

また、マウスおよびラットに 5IA を投与し、血圧、心拍数、呼吸回数、血液ガスパラメータ、正向反射、一般薬理行動に与える影響を調べたところ、1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 以下の投与量ではどのパラメータにも影響を与えないことを認めた⁸⁾。 $[^{123}\text{I}]5\text{IA}$ の比放射能 (169 GBq/ μmol 以上) から体重 60 kg のヒトに 185 MBq の $[^{123}\text{I}]5\text{IA}$ を投与した場合の 5IA の量を計算したところ、それは 5.3 ng/kg であり、今回我々が認めた無作用量の 1/190 以下であった。

ヒト脳内ニコチン性受容体密度の定量解析

前記した *in vitro* 実験および動物実験での $[^{123}\text{I}]5\text{IA}$ の有効性および安全性に関する基礎的な結果に基づいて、ヒトでの $[^{123}\text{I}]5\text{IA}$ によるニコチン性受容体の *in vivo* イメージングを試みた。

まず男性 3 名を対象に 111 MBq の $[^{123}\text{I}]5\text{IA}$ を静脈注射し、経時的に全身分布を撮像し、その分布動態の薬動学的解析データに基づいて MIRD 法により被曝線量を算出したところ、実効線量当量で $30 \pm 1 \mu\text{Sv}/\text{MBq}$ となった⁸⁾。この値は他の ^{123}I 製剤と同等であり、185 MBq の $[^{123}\text{I}]5\text{IA}$ の投与は放射線被曝の観点からも十分許容できる範囲であることが認められた。

そこで、男性 5 名、女性 1 名を対象に $[^{123}\text{I}]5\text{IA}$ を投与し、投与後 6 時間まで経時的に頭部の核医学イメージングおよび血中放射能を測定した。その結果、 $[^{123}\text{I}]5\text{IA}$ のヒト脳内放射能分布は、投与早期には血流を反映した分布を示したが、時間経過とともにニコチン性受容体密度の最も高い視床で最も高くなり、ついで脳幹、小脳の順となり、皮質領域への集積が最も低いことを認めた。さらに、脳内各部位への $[^{123}\text{I}]5\text{IA}$ の集積量を定量するため、「血管」と「脳の各領域」にコンパートメントを設定し、血中放射能と脳内放射能画像からの各部位に集積した放射能とを定量し、それらのデータをもとに 2 コンパートメント 2 パラメータモデルに基づいて速度論的な解析を行い、 $[^{123}\text{I}]5\text{IA}$ の分布容積を算出した。その結果、 $[^{123}\text{I}]5\text{IA}$ の分布容積は、視床、基底核、小脳、側頭葉、前頭葉でそれぞれ 32 ± 6 、 17 ± 3 、 17 ± 2 、 14 ± 2 、 14 ± 2 (ml/ml) と求められた。この値と剖検脳で測定されたヒト脳内ニコチン性受容体密度⁹⁾との相関を調べたところ、相関係数が 0.95 と非常に高く相関することが明らかとなり、 $[^{123}\text{I}]5\text{IA}$ の脳内放射能分布を速度論解析し、そのデータに基づいて分布容積を求めることでニコチン性受容体密度を定量的に評価できることが示された。

慢性疼痛におけるニコチン作働性神経機能解析

ニコチンは、モルヒネなどのオピオイド作用薬が効果を示しにくい神経因性疼痛に対して鎮痛作用を示すことから、ニコチン性受容体を介して発現する鎮痛作用の作用部位の同定、作用機序の解明に注目が集まっている。そこで我々は、 $[^{125}\text{I}]5\text{IA}$ によるイメージングに基づいて神経因性疼痛モデルラットの脳内ニコチン性受容体密度の変化を定量的に評価すると同時に、5IA の鎮痛作用を行動薬理的に評価することにより、鎮痛作用へのニコチン性受容体の関与を検討することを計画した。なお、神経因性疼痛モデルラットは Seltzer らの報告¹¹⁾に基づいて、

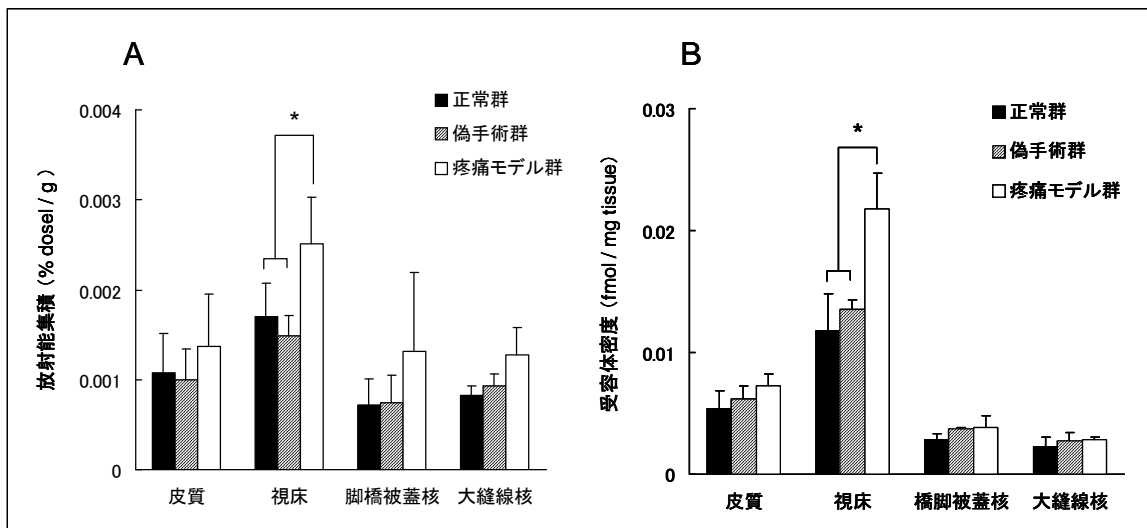


図-2 [125I]5IA のラット脳内分布 (A) と *in vitro* で測定した受容体密度 (B) (* $p < 0.05$)

右後肢坐骨神経を結紮することで作成し、2週間後にフィラメントで足底を刺激することでアロディニア (痛覚過敏状態) 発現を確認してから実験に使用した。

まず神経因性疼痛でのニコチン性受容体密度の変化を検討するため、正常ラット、偽手術ラット、神経因性疼痛モデルラットの3群で [125I]5IA の脳内分布を調べたところ、モデルラットの視床で他のラット群よりも放射能集積が1.7倍増加していた。興味深いことに、中脳や脳幹部に存在する鎮痛作用に関与しているとされる部位では放射能集積に差は認められなかった (図-2A)。この変化に関して、*in vitro* オートラジオグラフィ法を用いてより詳細な検討を行ったところ、モデルラットの視床では他群に比べて B_{max} 値が1.7倍に増加していることを認めた (図-2B)。

一方、5IA の鎮痛作用を検討するために、1-50 nmol の5IA を側脳室内投与し、その鎮痛効果を調べたところ、用量依存的に、投与15分後をピークとするアロディニア閾値の低下が認められた。

この作用はニコチンアンタゴニストであるメカミラミンの前投与により消失したが、オピオイドアンタゴニストであるナロキソンでは拮抗されず、5IA

がニコチン性受容体を介して鎮痛作用を発現している可能性が示された。

以上の結果から、視床でのニコチン性受容体密度の増加が5IAの鎮痛作用と関連する可能性が示唆されたことから、視床に存在するニコチン性受容体の鎮痛作用への関与をさらに検討するため、神経因性疼痛患者において痛覚情報を伝達する神経が興奮していると報告¹²⁾のあった視床後外側腹側核に5IAを局所投与し、その場合の鎮痛作用を検討した。その結果、脳室内投与した場合とほぼ同等の効果が認められた。またこの作用はメカミラミンの前投与により消失した (図-3)。これらの結果から、5IAの鎮痛

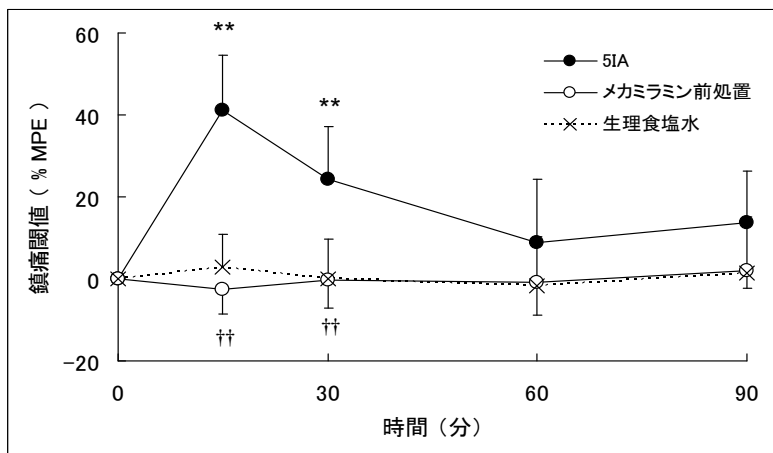


図-3 視床後外側腹側核に5IAを局所投与したときの鎮痛作用とそれに対するメカミラミン前処置の影響

** $p < 0.01$ vs. 生理食塩水群、†† $p < 0.01$ vs. メカミラミン前処置群

作用の発現には視床に存在するニコチン性受容体が重要な役割を果たすことが示唆されるとともに、視床にあるニコチン性受容体が新しい疼痛治療薬開発の標的となり得る可能性が示された。

文 献

- 1) Gotti C, Clementi F. Neuronal nicotinic receptors: from structure to pathology. *Prog Neurobiol* 2004; 74: 363-96.
- 2) Ogawa M, Iida Y, Nakagawa M, Kuge Y, Kawashima H, Tominaga A, Ueda M, Magata Y, Saji H. Change of central cholinergic receptors following lesions of nucleus basalis magnocellularis in rats: search for an imaging index suitable for the early detection of Alzheimer's disease. *Nucl Med Biol* 2006; 33: 249-54.
- 3) Saji H, Magata Y, Yamada Y, Tajima K, Yonekura Y, Konishi J, Ohmomo Y, Yokoyama A. Synthesis of (S)-N-[methyl-¹¹C]nicotine and its regional distribution in the mouse brain: a potential tracer for visualization of brain nicotinic receptors by positron emission tomography. *Chem Pharm Bull (Tokyo)* 1992; 40: 734-6.
- 4) Saji H, Watanabe A, Magata Y, Ohmomo Y, Kiyono Y, Yamada Y, Iida Y, Yonekura Y, Konishi J, Yokoyama A. Synthesis and characterization of radioiodinated (S)-5-iodonicotine: a new ligand for potential imaging of brain nicotinic cholinergic receptors by single photon emission computed tomography. *Chem Pharm Bull (Tokyo)* 1997; 45: 284-90.
- 5) Abreo MA, Lin NH, Garvey DS, Gunn DE, Hettlinger AM, Wasicak JT, Pavlik PA, Martin YC, Donnelly-roberts DL, Anderson DJ, Sullivan JP, Williams M, Arneric SP, Holladay MW. Novel 3-pyridyl ethers with subnanomolar affinity for central neuronal nicotinic acetylcholine receptors. *J Med Chem* 1996; 39: 817-25.
- 6) Pabreza LA, Dhawan S, Kellar KJ. [³H]cytisine binding to nicotinic cholinergic receptors in brain. *Mol Pharmacol* 1991; 39: 9-12.
- 7) Saji H, Ogawa M, Ueda M, Iida Y, Magata Y, Tominaga A, Kawashima H, Kitamura Y, Nakagawa M, Kiyono Y, Mukai T. Evaluation of radioiodinated 5-iodo-3-(2(S)-azetidinyloxy)pyridine as a ligand for SPECT investigations of brain nicotinic acetylcholine receptors. *Ann Nucl Med* 2002; 16: 189-200.
- 8) Ueda M, Iida Y, Mukai T, Mamede M, Ishizu K, Ogawa M, Magata Y, Konishi J, Saji H. 5-[¹²³I]Iodo-A-85380: assessment of pharmacological safety, radiation dosimetry and SPECT imaging of brain nicotinic receptors in healthy human subjects. *Ann Nucl Med* 2004; 18: 337-44.
- 9) Shimohama S, Taniguchi T, Fujiwara M, Kameyama M. Changes in nicotinic and muscarinic cholinergic receptors in Alzheimer-type dementia. *J Neurochem* 1986; 46: 288-93.
- 10) Mamede M, Ishizu K, Ueda M, Mukai T, Iida Y, Fukuyama H, Saga T, Saji H. Quantification of human nicotinic acetylcholine receptors with ¹²³I-5IA SPECT. *J Nucl Med* 2004; 45: 1458-70.
- 11) Seltzer Z, Dubner R, Shir Y. A novel behavioral model of neuropathic pain disorders produced in rats by partial sciatic nerve injury. *Pain* 1990; 43: 205-18.
- 12) Derbyshire SW, Jones AK, Gyulai F, Clark S, Townsend D, Firestone LL. Pain processing during three levels of noxious stimulation produces differential patterns of central activity. *Pain* 1997; 73: 431-45.