

九州大学 エクセレント・スチューデント・
イン・サイエンス 育成プロジェクト
第三回公開講演会

2009年12月19日(土)
九州大学(箱崎キャンパス)
理学部物理学科第二講義室

生きたまま体の中を 観察できる 探索分子の作り方と活用



RIKEN CMIS

(独)理化学研究所神戸研究所
分子イメージング科学センター
副センター長 鈴木正昭

岐阜大学名誉教授・岐阜大学大学院
連合創薬医療情報研究科客員教授
浜松医科大学客員教授

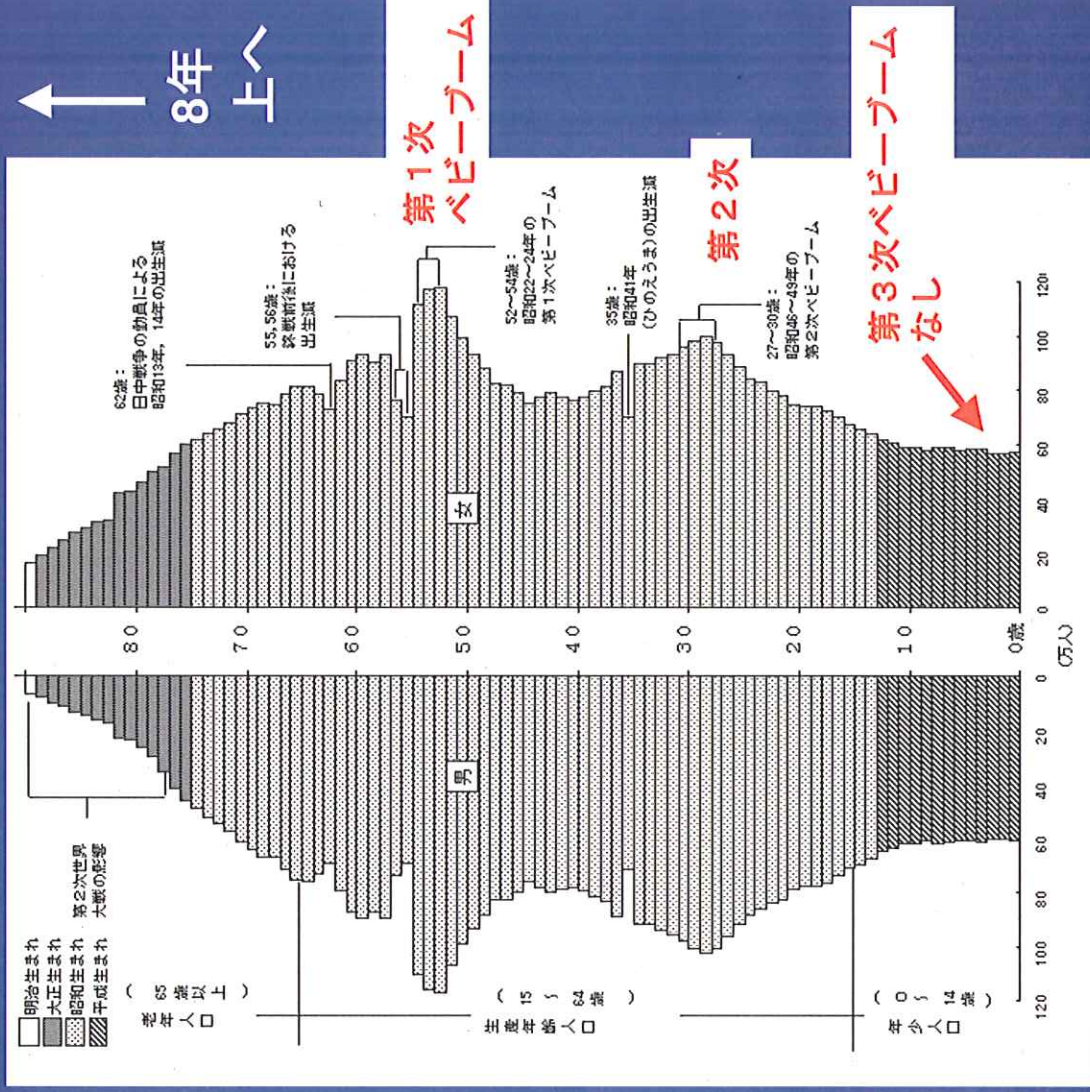


理研 分子イメージング科学センター

研究の動機

日本の人口構成

(平成13年10月1日現在・総務庁統計局)



20～30年後は
超高齢化社会になる

問題点

戦後のベビーブーム
将来の人材、夢と希望

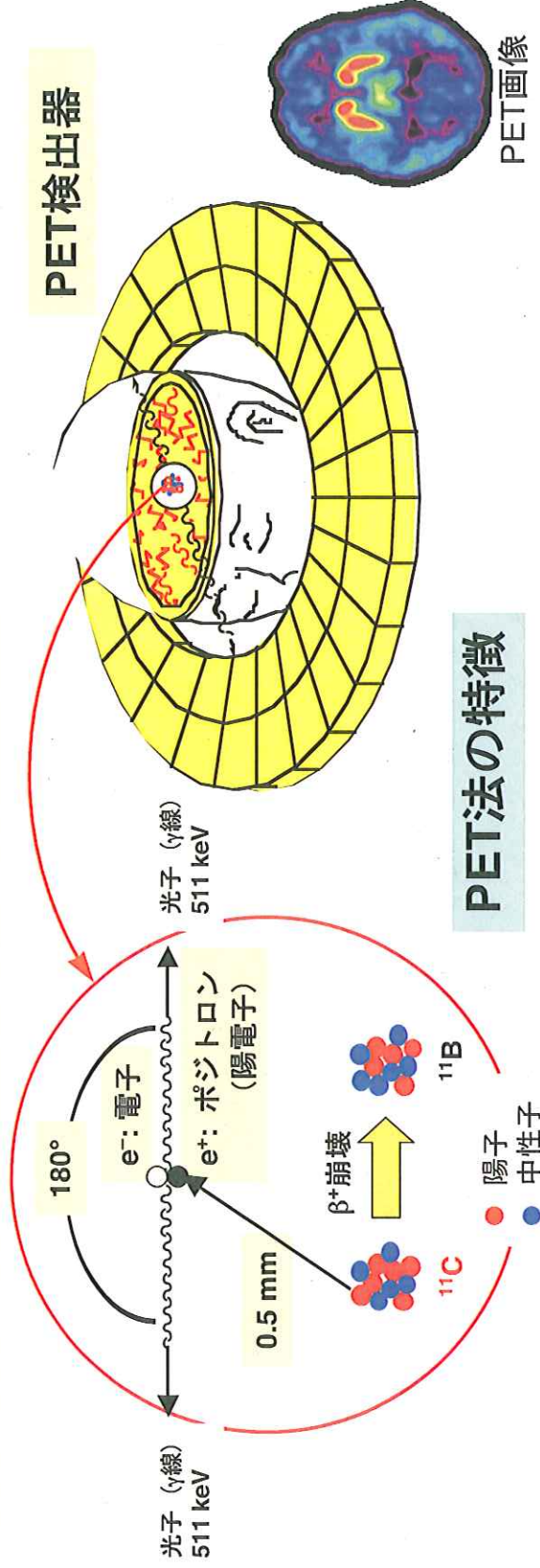


高齢化社会
粗大ゴミ？
国の一大事

「再生医療」と
「創薬」が鍵となる

ヒト脳内の分子画像解析

■ PET (陽電子放射断層画像撮影法) の原理



PET法の特徴

- 適用濃度：最小 10^{-18} M (atto mol)
 まで検出可能 → 超高感度、
 高空間分解能 (約1.2 mm)、
 標的分子の多様性、
 高い定量性
- 非侵襲的分子画像化技術

“Working against time”; 合成は時間との戦い

J. S. Fowler & A. P. Wolf, *Acc. Chem. Res.*, **30**, 181 (1997).

適用放射核種	半減期
^{11}C	20.4分
^{15}O	2.07分
^{13}N	9.96分
^{18}F	109.7分

生体構成元素が対象

なぜ今PETか？—創薬プロセスの大革新へ

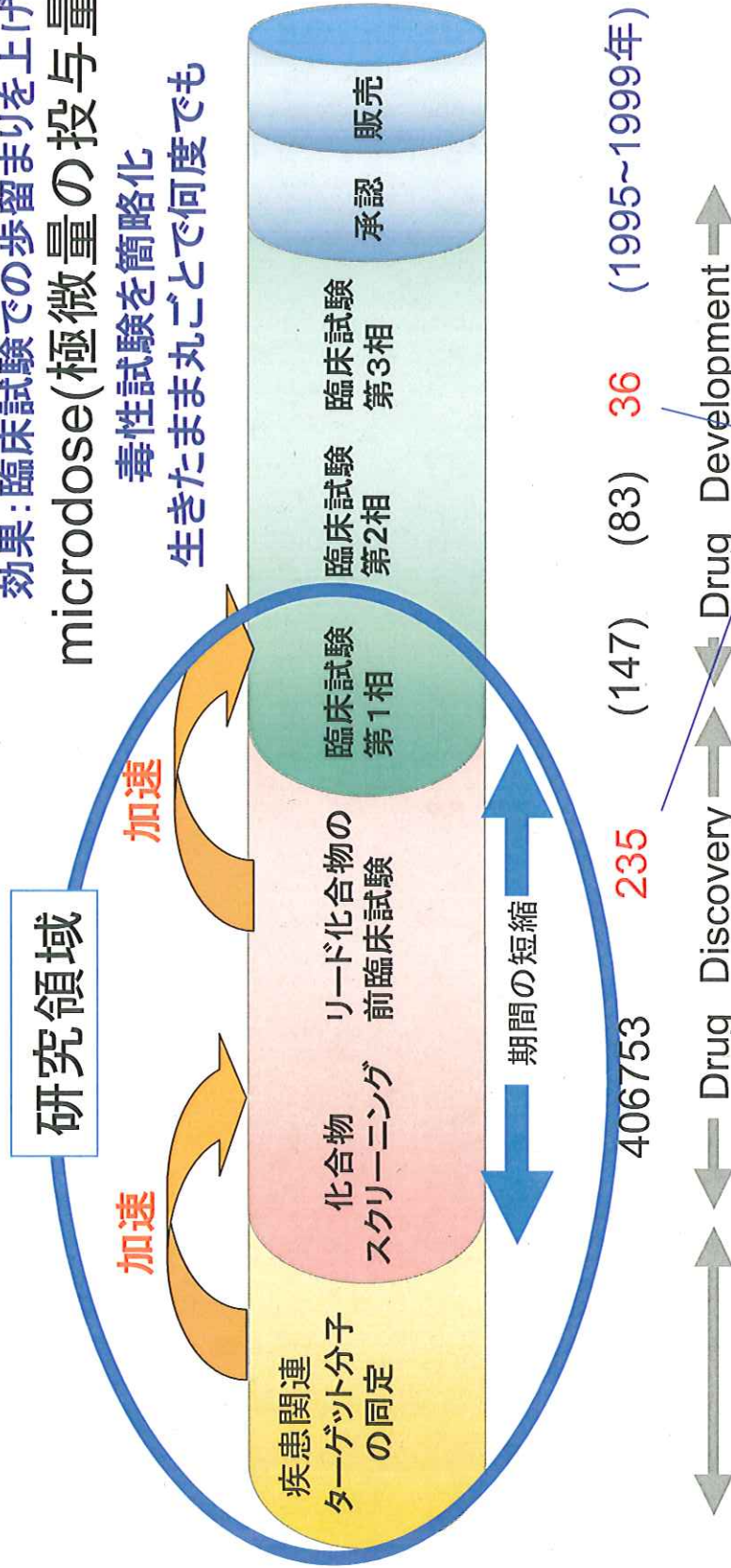
化学とライフサイエンスとPET分子イメージング技術がマッチングした合理的創薬
 研究によりより優れた臨床適用創薬候補物質が探索可能

開発の早期にそれぞれの
 薬物動態が比較できる

動物 ←→ ヒト

効果：臨床試験での歩留まりを上げる
 microdose(極微量の投与量)

毒性試験を簡略化
 生きたまま丸ごとで何度でも



開発コストが
 1千億円!
 以上に高騰

85% が脱落
 95% (2007年)
 死の谷!

Genomics and Proteomics
 Drug Discovery
 Drug Development
 Metabolomics

microdode: 薬理学量の百分の一もしくは100 μg以下の投与量

ヒトの中の分子を見るためには 安全かつ安定な分子プローブ を創る必要がある

分子プローブ = 探索するための機能を付加した分子

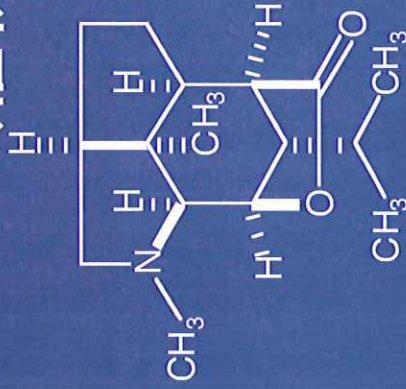
化学・生物学・工学・薬学・医学の融合により
「ヒト体内の分子科学」を推進する

↑
創薬・疾患診断法の革新へ

“ Seeing is believing” = Evidence based medicine

Neurotoxins in Plants

(植物神経毒)

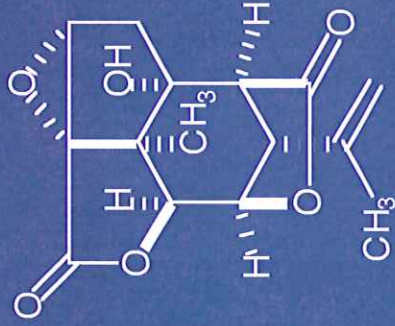


Dendrobine

ラン科植物
(*Dendrobium*
nobile L.)

から単離

世界最初の全合成
J. Am. Chem. Soc.,
94, 8278 (1972).



Picrotoxinin

植物 (*Menispermum*
cocculus)

から単離
植物由来の最強毒

全合成
J. Am. Chem. Soc.,
106, 4547 (1984).



Orchid
(蘭)

平田義正先生(文化功労者)



Y. Hirata,
Nagoya Univ.

First Total Synthesis

名古屋大学理学部化学科・平田研究室
での学生時代 (1969-1975)

米国留学

(1976~1977)

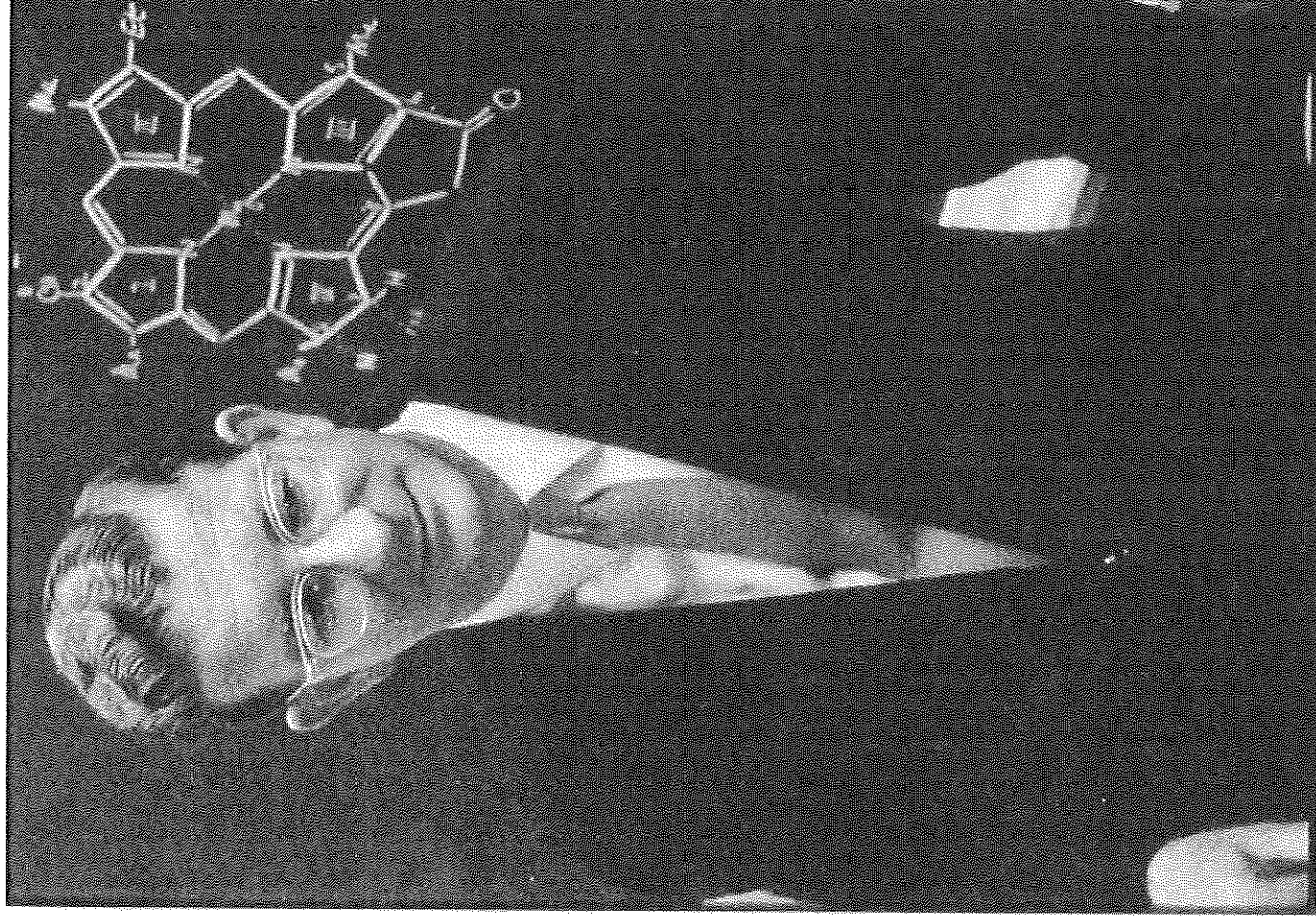
Professor

R. B. Woodward

Harvard University,
Department of Chemistry
(ハーバード大学化学科)

1970年頃の写真

1965年度の
ノーベル化学賞受賞者



30年前

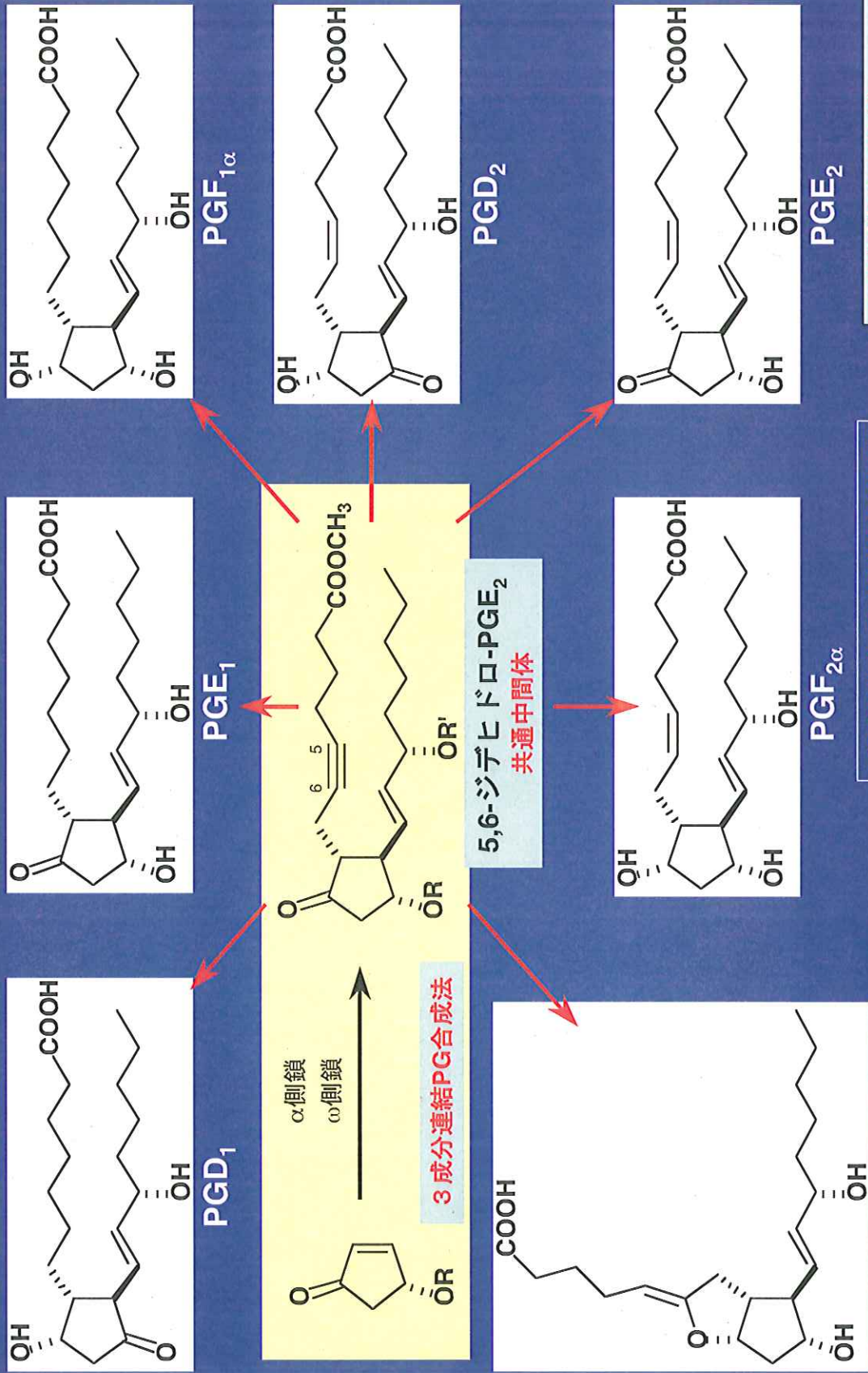


野依研講座旅行にて

そして神戸♪



3成分連結法によるPG類の一般的合成法

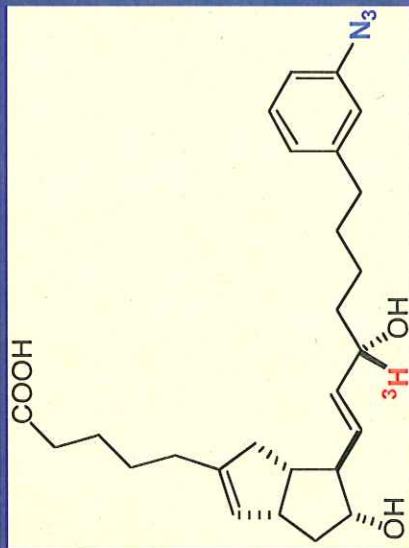


直裁性と柔軟性を兼備

450種類に及ぶ
PG合成法に終止符!

Suzuki, M. et al., *J. Am. Chem. Soc.* (1985, 1988); *Tetrahedron* (1990).

[³H]APNICを用いた光親和性標識実験による PGI₂受容体 (IP) の捕獲・同定



光親和性標識用分子 : [³H]APNIC

■ PGI₂受容体への結合特異性
 単一結合点
 解離定数 (K_d) = 4.7 nM
 最大結合量 (B_{max})
 = 0.58 pmol/mgタンパク質

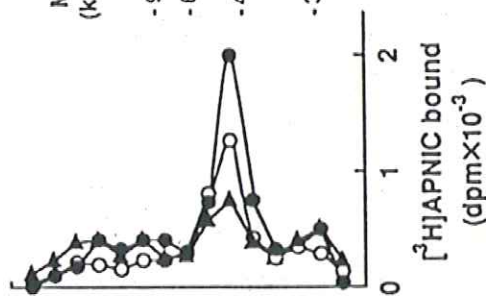
M. Suzuki, et al., *Tetrahedron*, **48**, 2635 (1992).
 S. Ito, et al., *J. Biol. Chem.*, **267**, 20326 (1992).
 R. Noyori and M. Suzuki, *Science*, **259**, 44 (1993).

■ PGI₂受容体 (糖タンパク質)
 分子量 細胞、組織
 52,000 ヒト血小板
 45,000 ブタ血小板
 43,000 がん化肥満細胞
 (mastocytoma P-815)

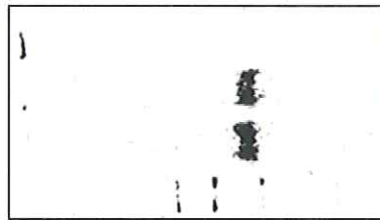
受容体の実態をはじめて証明

■ ブタ血小板を用いた [³H]APNICによる光親和性標識実験

SDS-PAGE

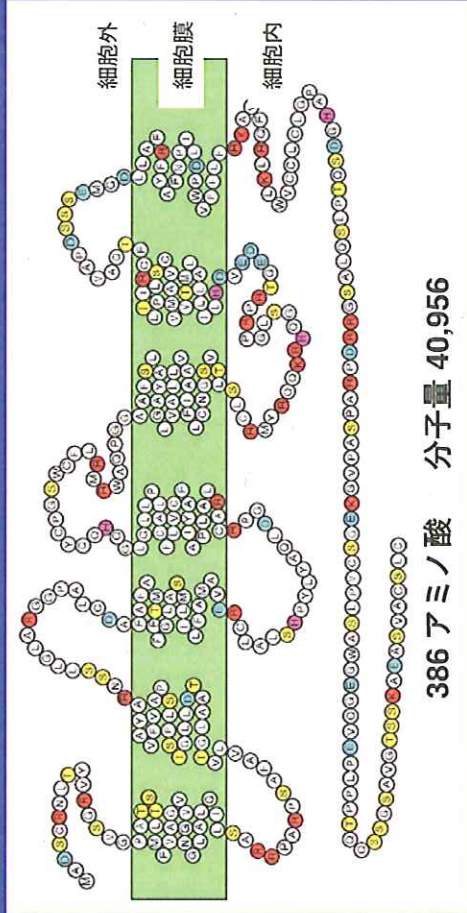


fluorogram



iloprost
 GTP-γS
 none

■ cDNAクローニングによるヒト血小板中のPGI₂受容体の予想構造



M. Katsuyama, Y. Sugimoto, T. Namba, A. Irie, M. Negishi,
 S. Narumiya, and A. Ichikawa, *FEBS Lett.*, **344**, 74 (1994).

Using the Principles of
ORGANIC CHEMISTRY
To Explore
CELL BIOLOGY

Stuart L. Schreiber, Harvard University



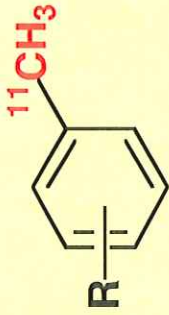
高次かつ“動的展開”を模索
—生体内分子科学の展開へ—

Special Report in C&E News, Oct. 26, 22 (1992)

高速¹¹C]メチル化反応とその魅力

ほとんどの創薬候補物質のPETトレーサー化が可能

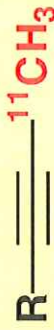
$sp^2_{\text{aryl}}-sp^3$



$sp^2_{\text{vinyl}}-sp^3$



$sp-sp^3$



sp^3-sp^3



4つのメチル化反応

4つのメチル化反応が実現されれば、ほとんどの化合物のPETトレーサー化が可能となる。

ほとんどの化合物の pharmacokinetics/pharmacodynamics がわかる。

代謝に安定 → PET画像への高い信憑性

Evidence-based Medicineへ

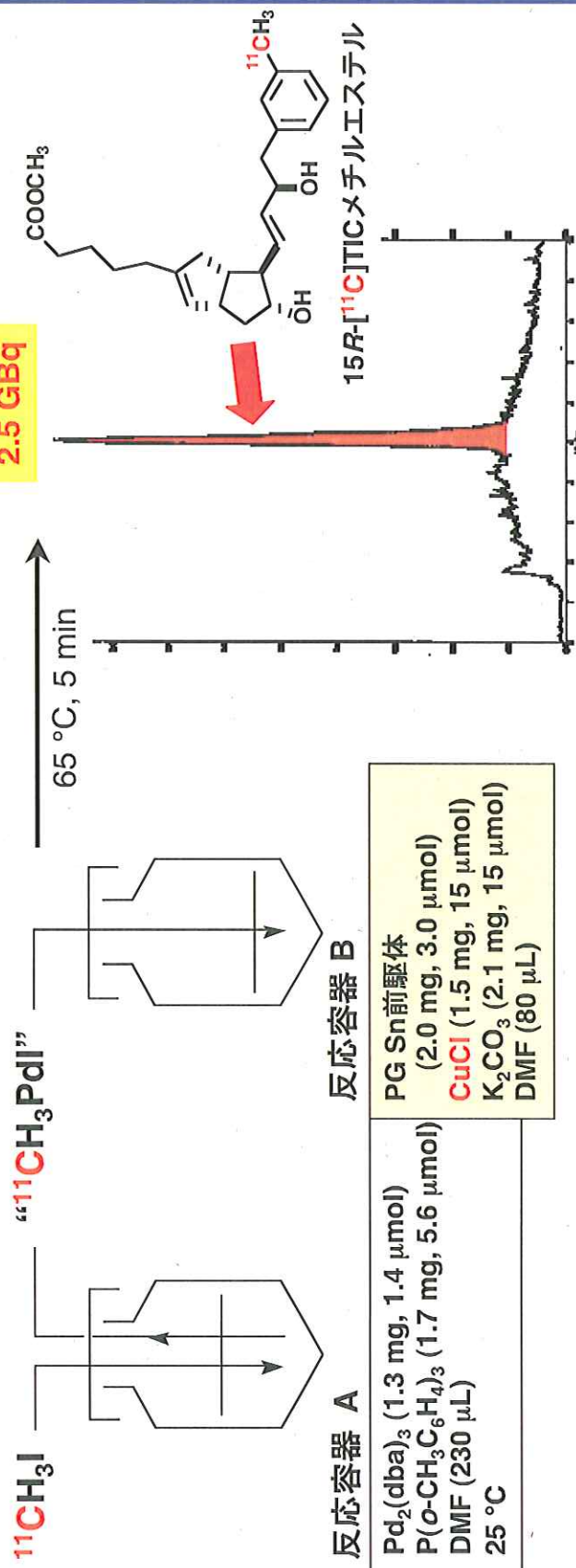
自由度の高い分子設計が可能 → スクリーニングに最適

CH₃基: 無極性・最小 →

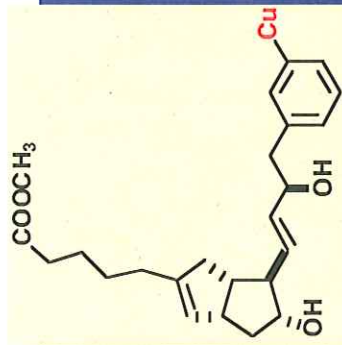
共通前駆体から¹⁸Fや⁷⁶Brも容易に導入できる

ヒト脳への適用可能な高放射エネルギーをもつ 15R-[¹¹C]TICメチルエステルの合成を達成

■ 2つの反応容器を用いる2段階操作法を考案



高再現性!
 放射化学収率: 85%
 放射化学純度: 98%以上
 総放射能: 2.5 GBq
 (HPLCによる分離、精製後の値)



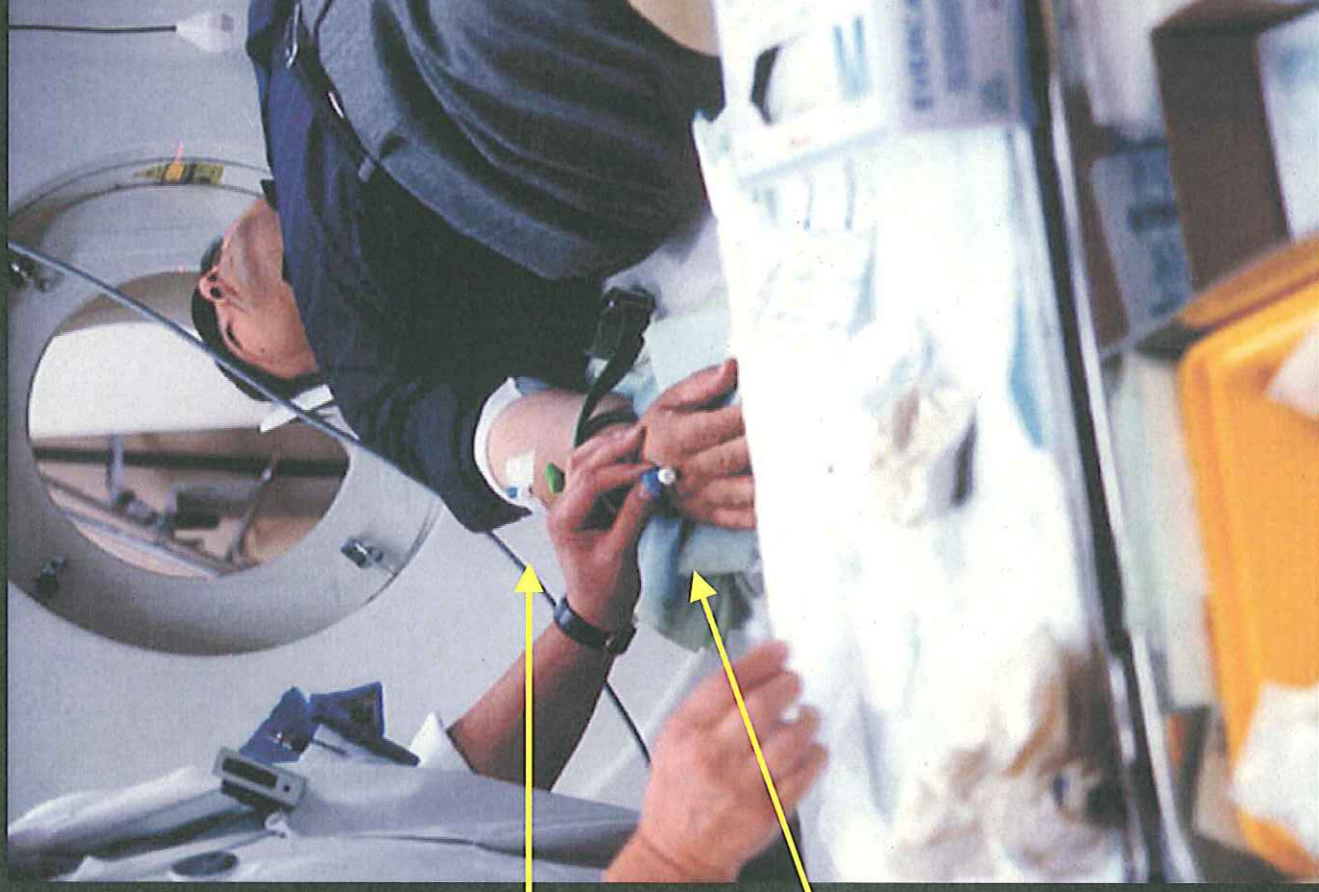
M. Suzuki, et al.,
Trends Anal. Chem., 23, 595 (2004).

**Sacrificed!
the first volunteer**

**intravenous injection
for molecular imaging**

**metabolic analysis
by blood sampling**

**PET study was
conducted in Uppsala
University PET Centre**



Nobel Lecture: R. Noyori, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 41, 2008 (2002).

REVIEWS



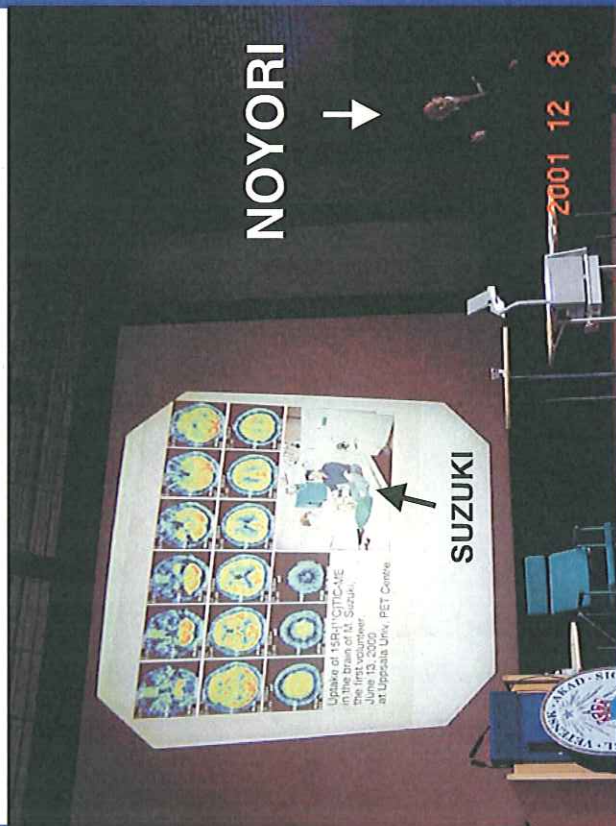
Asymmetric Catalysis: Science and Opportunities (Nobel Lecture)**

Ryoji Noyori*

Asymmetric catalysis, in its infancy in the 1960s, has dramatically changed the procedures of chemical synthesis, and resulted in an impressive progression to a level that technically approximates or sometimes even exceeds that of natural biological processes. The recent exceptional advances in this area attest to a range of conceptual breakthroughs in chemical sciences in general, and to the practical benefits of organic synthesis, not only in laboratory

technology in the 21st century. Most importantly, recent progress has spurred various interdisciplinary research efforts directed toward the creation of molecularly engineered novel functions. The origin and progress of my research in this field are discussed.

Keywords: asymmetric catalysis • asymmetric hydrogenation • Nobel lecture • P-ligands • ruthenium



Asymmetric Catalysis

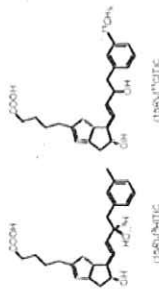
BINAU - Ru-catalyzed hydrogenation.⁶⁶ The BINAP-H reagent is useful for asymmetric systems of the lower aldehyde. This straightforward procedure is useful for the synthesis of not only naturally occurring PDI but also their artificial analogues.⁶⁷

To explore applications to the science of the human brain, we collaborated with the research group led by M. Suzuki (my long-term collaborator at Nagoya and now at Gifu University), Y. Watanabe (Osaka City University), and B. Lippman (Uppsala University; Figure 11).⁶⁸⁻⁷¹ After a long



Figure 11. The interdisciplinary collaborative team (from the left, M. Suzuki, Y. Watanabe, and B. Lippman) that studied (15R)-TIC and the related enantiomers, labeled by radioactive tracers.

investigation, (15R)-TIC, a PGI-type carboxylic acid, was found to show strong selective binding to the central nervous system, which thereby identifies the novel TP receptor. Interestingly, this compound has the same natural 15R configuration, although most biologically active PGI derivatives have the natural 15S configuration. This discovery was made by an in vitro study using frozen sections of rat brain and frozen sections of rat brain and (15R)-[³H]TIC as a probe.⁶⁸ However, this radioactive probe is not appropriate for studies



on living monkey or human brain, since β particles emitted from ³H can not penetrate tissues. Incorporation of ¹⁴C, a positron emitter with a short half-life of about 20 min and a high specific radioactivity as a radioactive molecule is essential for noninvasive studies using positron-emission tomography (PET). Positrons (β^+) interact with free electrons in biological materials and produce γ rays that can penetrate tissues and are detectable outside the human body. However, this presents a new chemical problem. The ¹⁴CH₃ group must be incorporated in the final step of the synthesis of (15R)-TIC methyl ester, and the total time for synthesis, workup, purification, and sterilization should be less than 40 min because of the short half-life time of ¹⁴C. A student in my group at Nagoya made a concerted effort to achieve this and eventually succeeded with a rapid Pd-mediated coupling of

Angew. Chem. Int. Ed. 2002, 41, 2008-2022

REVIEWS

methyl iodide and tributyl(aryl)amine (excess) which is applicable to the synthesis of (15R)-[¹⁴C]TIC methyl ester.⁷¹ This technology was then transferred to the PET Center at Uppsala. A very dedicated colleague in our team, M. Suzuki, volunteered to start this new artificial compound on human.

After being strictly examined (15R)-[¹⁴C]TIC methyl ester was injected into his right arm. The methyl ester was carried through his blood stream, passed through the blood-brain barrier, reached his brain, and was hydrolyzed to the free carboxylic acid, which was bound to TP receptors in his central nervous system. Figure 12 shows the PET images of coronal slices of his brain, from the lower to the upper portions. From this trial, a TP receptor, TP₂, was found in various important structures of the human brain. Thus, (15R)-TIC and its analogues are expected to have effects on the brain and, in fact, do show a strong neuroprotective effect, which may be of clinical benefit. Primary cultured hippocampal neurons exposed to a high oxygen concentration displayed the effects of (15R)-TIC on TP₂ receptors and (15S)-TIC effectively protects them against such oxygen

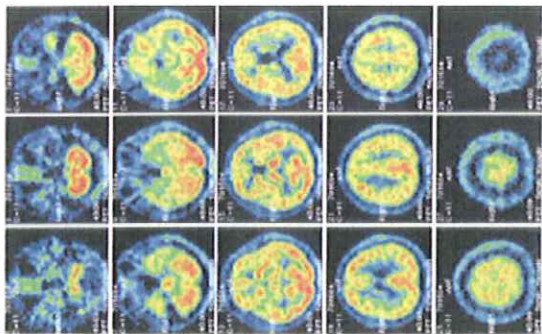


Figure 12. The uptake of (15R)-[¹⁴C]TIC in the human brain. The PET brain scan (volunteer: M. Suzuki, June 15, 2000, PET Center of Uppsala University).

2019

Prostaglandin Probes Advancing Cerebral Molecular Science



オリジナル創薬シーズ・診断用PETトレーサーの開発を
目指した疾患対応型新規分子プローブの創製

2001-2005年度, 2005-2009年度

認知症

アルツハイマー病

糖尿病

がん

脳梗塞
虚血後遺症

くも膜下出血
遅発性脳血管攣縮

循環器系疾患

ウイルス性疾患
HIV, 鳥インフルエンザ

研究標的とした
主な疾患

炎症・痛み・発熱
アロディニア
神経因性疼痛

運動ニューロン疾患
パーキンソン病
筋委縮性側索硬化症

トランスポーター

新規プローブの数 > 500個 (学術創成研究 (2001~2005年度、代表者：鈴木正昭), 参画大学・研究機関数15, 24研究グループ), 新グループも加わり研究は大きく発展中

R-M



R-¹¹CH₃, R-CH₂¹⁸F, R-⁷⁶Br, R-¹²⁴I, R-¹²³I,
R-¹⁴CH₃ (AMS), R-¹³CH₃, R-CD₃, R-CH₂¹⁹F

共通中間体

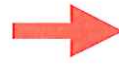
R; 生理活性化合物

M; R'₃Sn or R''₂B

非侵襲的に扱えかつ代謝安定な
短寿命、中寿命、長寿命放射核が
すべて導入可能である

規制緩和：マイクロドーズ臨床試験ガイダンス（2008,6月3日, 厚生労働省）

疾患対応型分子プローブの創製と PETによる薬物動態解析により



臨床適応創薬候補化合物の早期探索および
疾患診断および薬効評価用PETトレーサー
の開発ができる

イメージング(画像化技術)による疾患診断法の進展

医用画像技術の発展



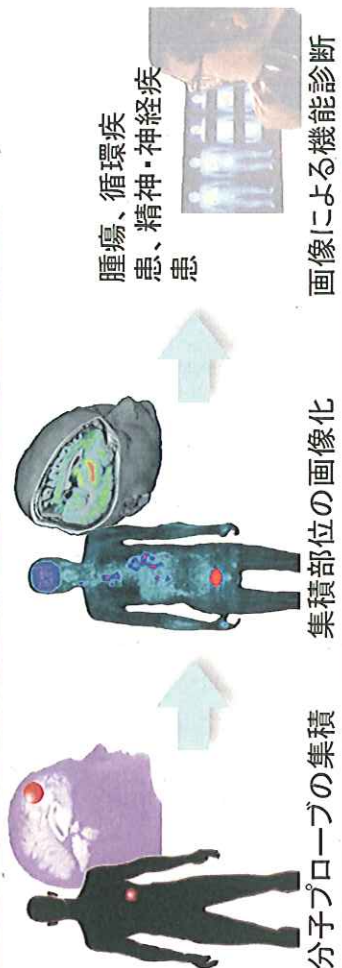
レントゲンによるX線発見

PETとは

ポジトロン・エミッション・トモグラフィ(陽電子放出断層画像法)



分子イメージング

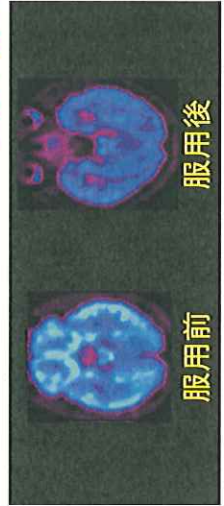


腫瘍、循環疾患、精神・神経疾患

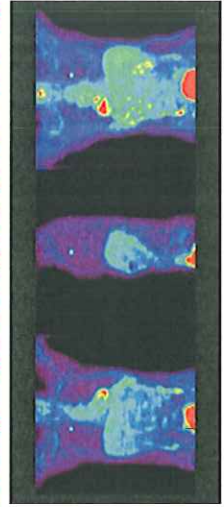
生体を構成する様々な分子の性質や機能を明らかにするため、目的とする分子の挙動を生体が生きた状態で画像としてとらえる研究(手法)のこと。これまでの遺伝子研究から生体の機能には様々な分子が関わっていることが明らかになりました。これら分子の中には、病気の成り立ちの解明や機能異常の発見に役立つものが含まれています。それらの分子を標的とする分子プローブを開発し、さらにそれらをPET用放射性薬剤やMRIの造影剤として用いることにより、生体の中で標的分子を動的・定量的に測定することができます。 **大きな可能性(医療革命)を秘めている**



アルツハイマー病の異常分子を病状の早期に診断する



薬の最適投与量を決定する



ガンの早期診断を実現する

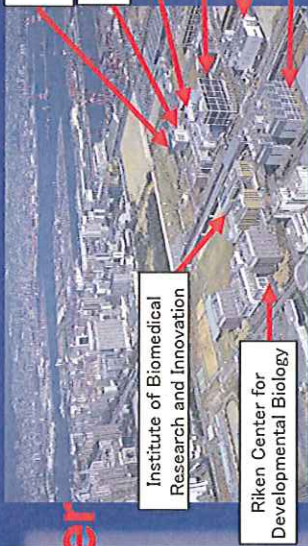
Base for Molecular Imaging Research Program in RIKEN

RIKEN CMIS in Kobe MI R&D Center

newly constructed at the end of 2006



- Kobe Biotechnology Research and Human Resource Development Center
- Business Support Center for Biomedical Research Activities
- Translational Research Informatics Center
- Kobe KIMEC Center Bldg.
- Kobe MI R&D Center**
- Kobe International Business Center



Institute of Biomedical Research and Innovation

Riken Center for Developmental Biology

4F Laboratory animal breeding area

2F Office, Synthetic organic chemical labs, etc.

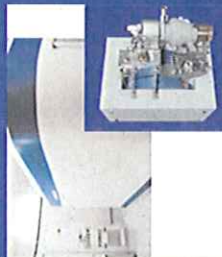
1F RI laboratory area, etc.

Lot area: 6,000m²
Total floor area: 8,600m²
4-storied (3rd floor occupied)

Major instrumentation

- 2 Cyclotrons
- 7 Hot labs (including one GMP-based)
- 14 Automated synthetic robotics (scheduled)
- 2 PET scanners for small animals
- animal X-ray CT, MRI (3 T), MRI (7.0T) (scheduled)

Research efficiency is more than ten times compared with conventional PET institute.



Cyclotron



Automated synthesizers



Area for synthesis of radiolabeled chemicals



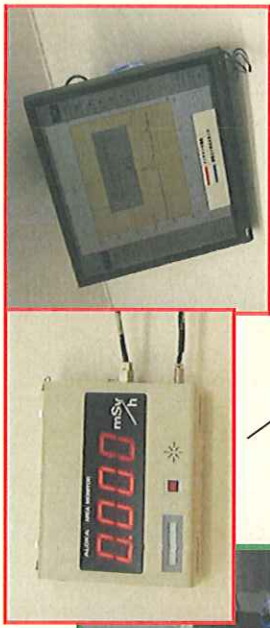
Hot Cell



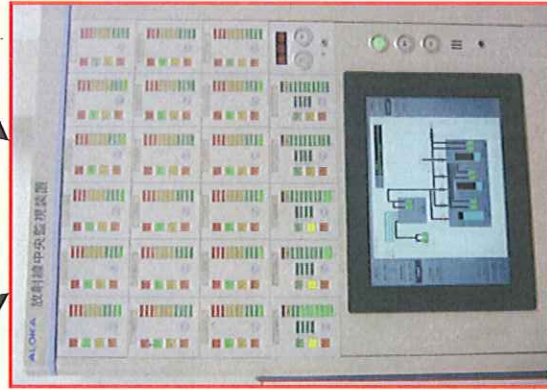
Area for PET imaging PET scanner for animals

PETプローブ(放射性薬剤)の合成現場

エリアモニター(作業室・排気)



PETプローブ純度検定



RI環境監視

RI汚染検査

“GMP合成エリアも整備”

—日本近代医学の父、Dr. Erwin von Bälz—



渡辺

鈴木

ベルツ賞受賞

☆1等賞

2007年11月20日

ドイツ大使館にて



ベルツ博士の記念碑
(東京大学構内にて撮影)

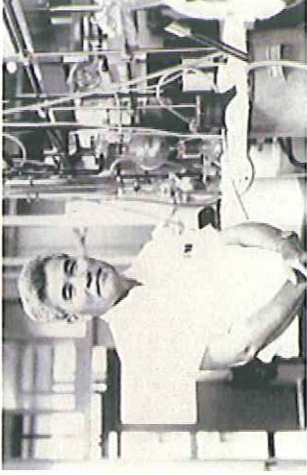
賞題：分子イメージング研究による創薬・疾患診断の革新



平田一門

平田 義正先生 (1915年5月30 - 2000年3月5日)

フグ毒であるテトロドトキシンの構造解析をした天然有機化合物の世界的研究者。平田は当時最新技術であった、核磁気共鳴吸収法という方法とX線回折法でその構造を調べた。平田は**野依**をはじめ世界的研究者を続々と抜擢し「名大に有機化学あり」と世察に知らしめた。



文化功労者

門下生: 中西香爾 (2007年文化勲章)

下村脩 (2008年ノーベル化学賞)

オワンクラゲの緑色蛍光タンパク質GFPの発見

岸義人 (2001年 文化功労者)

パルトキシンの全合成

後藤俊夫 (アサガオの青色の同定)

山村庄亮 (オジギソウの葉閉閉機構)

上村大輔 (パルトキシンの構造決定)

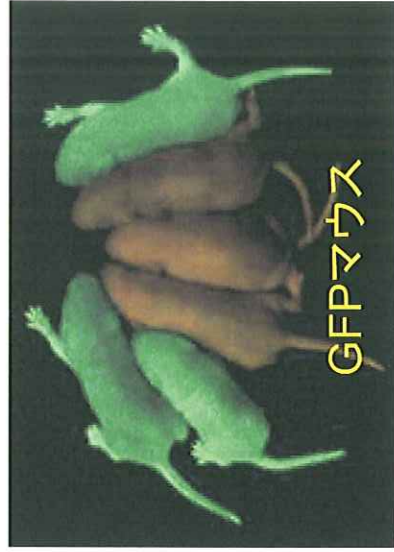
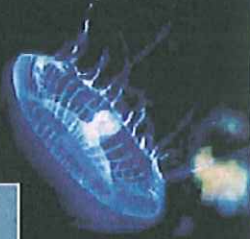
バイオサイエンスの進歩に大きく貢献

鈴木正昭 (革新的PG合成法の開発)

平田/野依ハイブリッド → ヒト生体内分子科学の展開

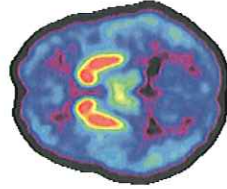


オワンクラゲ



GFPマウス

分子イメージング



PET画像

小宇宙へのパラダイムシフト

PET 用分子プローブ

分子デザイン

低分子化合物
(薬剤など)



抗体



遺伝子
(アンチセンス)



夜空の星を
見る・見つける
(大宇宙)

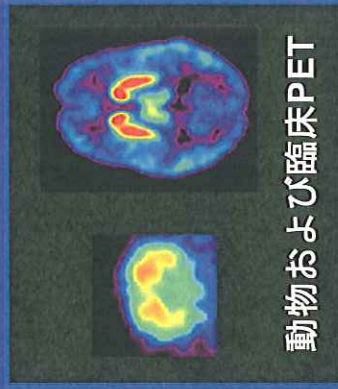


人の中の分子を
見る・見つける
(小宇宙)

“consideration”

体内で標的分子に
特異的に結合

分子イメージング



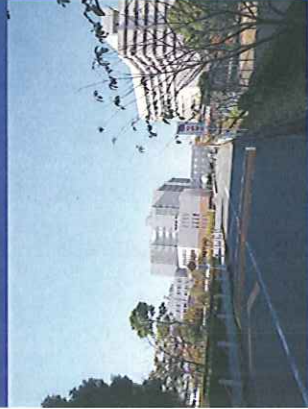
動物および臨床PET

* : ^{11}C , ^{18}F , ^{13}N , ^{15}O , ^{76}Br , ^{34}mCl , など

→ 生命科学の最終ゴール

似顔絵

岐阜大学大学院
医学系研究科
卒業生より寄贈



病院と研究棟



鬼に金棒



奈良の大仏



織田信長像
(JR岐阜駅)