

《研究速報》

PK11195 の放射性医薬品としての可能性

井上 修* 山崎統四郎* 橋本 謙二** 小嶋 正治**

I. 序 論

高比放射能の標識リガンドを用いて、生体内での各種レセプターの分布やその活性を定量化し、新しい診断技術として開発する試みがなされ、すでに脳におけるドーパミンレセプター¹⁾、オピエートレセプター²⁾、ベンゾジアゼピンレセプター³⁾等に関する報告がみられる。

ベンゾジアゼピンレセプターは、中枢性のレセプターと、心筋や腎などに主に存在するといわれる末梢性レセプターとに区別され、一般的のマイナートランキライザーとしての薬理作用(抗不安、抗ケイレン、睡眠導入、筋弛緩)は中枢性のレセプターを介して発現することが判明している⁴⁾。従来末梢性のBzレセプターについては、その生理的役割が不明であったが、脳においてはグリアに主に存在すること⁵⁾、またリンパ球、肺、心、腎、副腎等に高密度で存在することが報告されている^{6,7)}。最近、細胞の増殖との関連⁸⁾や、心筋においてはCaチャンネルとの関連が指摘されており⁹⁾、徐々にその生理機能が明らかになりつつある。末梢性のBzレセプター測定用の機能リガンドとしてはRo5-4864が従来用いられていたが、1983年にFurらにより、特異的なアンタゴニストであるPK11195が開発された¹⁰⁾(Fig. 1)。

リガンドレセプター結合の熱力学的解析の結果、アンタゴニストであるPK11195は、インキュベー

ション温度が37°Cになってもレセプターへの結合力はあまり低下しないことが判明しており¹¹⁾、インビボでのレセプター活性を定量化するにはRo5-4864よりも優れていることが予想される。このPK11195についてはすでにComarらにより、¹¹Cの標識合成が報告されており¹²⁾、またFurらによりラット心筋も非常に高い取り込みがあることが報告されている¹³⁾。著者らは、³H-PK11195のマウスにおける体内分布を検討し、心筋以外にも肺、副腎への取り込みが非常に高く、優れた放射性薬剤になる可能性が高いことが判明したのでここに報告する。

II. 方 法

³H-PK11195(87 Ci/mmol)はNENより購入した。Ro5-4864はロッシュ社(Kamakura, Japan)より提供を受けた。その他の試薬は市販品を用いた。

³H-PK11195の生理食塩液(1 μCi)0.2 mlをマウス(C3H, ♂, 8~9週齢)の尾静脈より投与し、1, 5, 10および20分後に屠殺して、血液、心、肺、腎、副腎、筋肉、脳を取り出し、それぞれの重量および放射能を測定した。

また、レセプターに対する特異的結合であるか否かについて検討するために、あらかじめ20 mg/

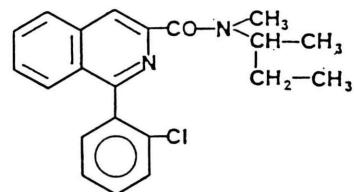


Fig. 1

* 放射線医学総合研究所臨床研究部

** 九州大学薬学部

受付: 60年4月3日

最終稿受付: 60年6月13日

別刷請求先: 千葉市穴川4-9-1 (☎260)

放射線医学総合研究所臨床研究部

井 上 修

kg の Ro5-4864 (プロピレングリコール:エタノール 7:3, 0.1 ml) を腹腔内に投与し, 5 分後に ^3H -PK11195 を静注して投与 5 分後の放射能分布を求めた。またコントロール群として, プロピレ

ングリコール, エタノール混液のみを腹腔内に前投与し, 同様に ^3H -PK11195 の投与 5 分後の放射能分布を計測した。

Table 1 Biodistribution of ^3H -PK11195 in mice

(% Dose/g)

	1 min	5 min	10 min	20 min
Blood	6.46±3.85	2.11±0.19	2.22±1.58	0.99±0.10
Lung	137±31.8	27.2±5.16	20.1±0.57	15.3±2.70
Heart	22.7±4.25	13.5±3.12	10.2±2.04	7.54±0.57
Liver	2.43±0.44	4.72±0.36	6.62±0.36	6.52±0.68
Adrenal	37.3±7.04	56.8±21.5	66.3±3.49	71.5±28.8
Kidney	7.24±1.19	13.2±1.56	17.4±0.94	15.2±0.41
Muscle	1.85±0.18	2.58±0.21	2.02±0.21	1.54±0.02
Brain	3.78±1.45	2.12±0.45	1.69±0.55	0.97±0.28

Three mice in each group; average±1 s.d.

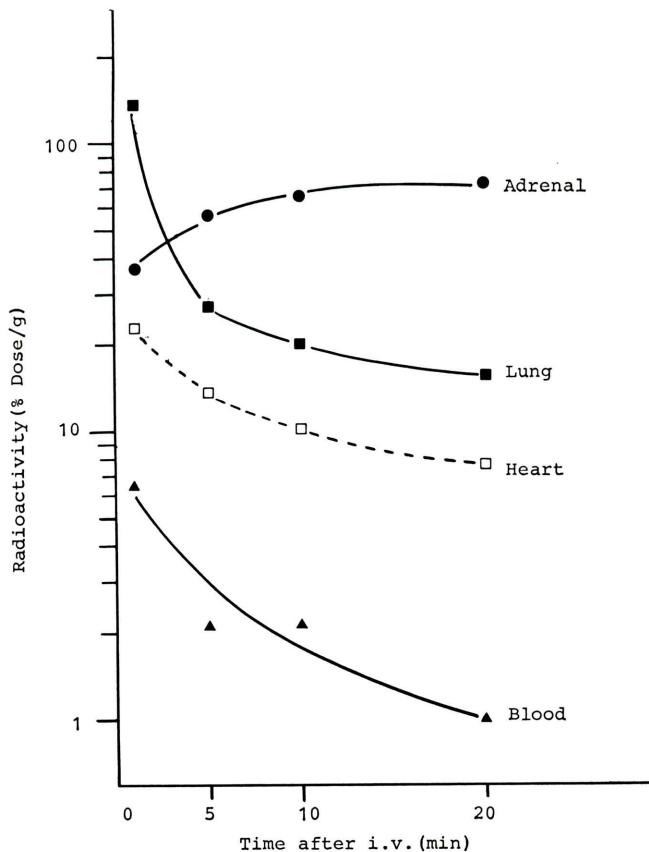


Fig. 2 Biodistribution of ^3H -PK11195 in mice.

Table 2 Effect of pretreatment with Ro5-4864 on bio-distribution of ^3H -PK11195 at 5 min after injection into mice

	Control	Ro5-4864 (20 mg/kg)
Blood	3.15 \pm 0.38	2.05 \pm 0.08
Lung	49.2 \pm 4.79	6.51 \pm 0.85
Heart	18.0 \pm 7.44	4.11 \pm 1.91
Adrenal	94.7 \pm 14.9	84.5 \pm 5.07
Kidney	17.5 \pm 0.84	15.4 \pm 1.66
Brain	3.21 \pm 0.22	2.80 \pm 0.11

Three mice in each group; average \pm 1 s.d.

III. 結 果

^3H -PK11195 のマウスにおける体内分布を Table 1 に示す。投与直後において、副腎 > 肺 > 心 > 腎の順にきわめて高い割合で分布し、以後急速にその放射能は減少した。また脳にも比較的高い放射能の移行を認めた。Fig. 2 に、肺、心、副腎における放射能の経時変化を血中のそれと比較しているが、副腎を除いて各臓器とも血中とパラレルに変化しており、体内動態が比較的速く準平衡状態に到達することを示唆している。このことは将来レセプター活性を定量化する上できわめて有利な点であると思われる。

また、担体として非放射性の Ro5-4864 をあらかじめ処理した群では特に肺と心において著明な集積の低下を認めた (Table 2)。このことは、この各臓器における放射能の分布が主にレセプターとの特異的結合によるものであることを示しており、全放射能のうち肺では 87%，心は 77% 以上が特異結合であった。

一方脳や副腎では Ro 5-4864 の前処理では放射能の集積度にそれほど変化を認めないが、Ro 5-4864 と PK11195 との組織への移行速度の違いその他の条件を考慮したより厳密な方法を開発して、In Vivo での特異結合がどの程度あるかについて、検討を進める必要があろう。

IV. 考 察

Fur らはすでに ^3H -PK11195 をラットに投与し、心への放射能分布が高いこと、かつ、その放射能

のうち少なくとも 80% 以上が、末梢性 Bz receptor に対する特異結合であることを示している。彼らはラットにおける心のプラトー到達時間は 15 分であることを報告しているが、われわれのマウスを用いた検討では静注直後が心放射能のピークであった。この差が種差によるものであるか否かについては今後の検討事項であろう。今回の実験結果で最も注目すべき点は、心、肺や副腎にこのトレーサーがきわめて高く分布し、しかも少なくとも心と肺においては、その大部分が末梢性 Bz receptor との特異結合によるものであるということにある。したがって、心機能の測定のみならず代謝臓器としての肺機能の検査にも今後の応用が期待されるトレーサーであるといえるであろう。一方、脳や副腎においては特異結合の割合が確定できなかったが、副腎における末梢性 Bz receptor は 50 pmol/mg protein 以上ときわめて高いことから特異結合の割合が高い可能性が十分あると考えられる。

現在、副腎スキャニング剤としては、 ^{131}I -アドステロールが用いられ、副腎皮質腫瘍等の診断に非常に有効であるといわれている。しかしながら、周囲組織におけるバックグラウンドが高いことからシンチグラム作成に投与後数日間の時間をおく必要がある。

また、製剤に含まれるアルコールによる副作用の発現も無視できない。一方 PK11195 は副腎への集積がきわめて高く、かつ、投与直後から撮影可能であるため、副腎機能の診断用トレーサーとしてきわめて高いポテンシャルを持つていると思われる。

また、脳においては末梢性 Bz receptor は主にグリア細胞に分布していることが報告されており、グリア細胞の活動をとらえることが可能となれば、その意義はきわめて高いと思われる。今後、末梢性 Bz receptor の生理機能について解明が進むことが予想されるし、またいくつかの病態モデル動物を用いた In Vivo での体内動態検討を通じて放射性薬剤としての有効性を確立していきたいと考えている。

謝辞 Ro5-4864 を提供いただいたロッシュ社に深謝致します。

文 献

- Wagner HN, Burn HD, Dannals RF, et al: Imaging dopamine receptors in the human brain by positron tomography. *Science* **221**: 1264-1266, 1983
- Dannals RF, Ravert HT, Frost JJ, et al: Radio-synthesis of an opiate receptor-binding radiotracer for positron emission tomography: ^{11}C -methyl-4-N-(1-oxopropyl)-N-phenylamino-4-piperidine carboxylate (^{11}C 4-carbomethoxycarbentanyl). Fifth Int Symp on Radiopharm Chem, Tokyo, pp. 186-188, 1984
- Ehrin E, Johnstrom P, Stone-Elander S, et al: ^{11}C Labelling of ligands for PET studies of dopamine and benzodiazepine receptors. Fifth Int Symp on Radiopharm Chem, Tokyo, pp. 177-178, 1984
- Squires R, Braestrup C: Benzodiazepine receptors in rat brain. *Nature* **266**: 732-734, 1977
- Benavides J, Quarteron D, Imbault F, et al: Labelling peripheral type benzodiazepine binding sites in rat brain by using ^3H -PK11195, an isoquinoline carboxamide derivative: kinetic studies and autoradiographic localization. *J Neurochem* **41**: 1744-1750, 1983
- Le Fur G, Perrier N, Vaucher F, et al: Peripheral benzodiazepine binding sites: Effect of PK11195, 1-(2-chlorophenyl)-N-methyl-N-(1-methylpropyl)-3-isoquinoline-carboxamide. I. In vitro studies. *Life Sci* **32**: 1830-1848, 1983
- Benavides J, Malgouris C, Imbault F, et al: Peripheral type benzodiazepine binding sites in rat adrenal: binding studies with ^3H -PK11195 and autoradiographic localization. *Arch Int Pharma* **266**: 38-49, 1983
- Wang JKT, Morgan JI, Spector S: Benzodiazepine that bind at peripheral sites inhibits cell proliferation. *Proc Natl Acad Sci USA* **81**: 753-756, 1984
- Mestre M, Carriot T, Belin C, et al: Electrophysiological and pharmacological evidence that peripheral type benzodiazepine receptors are coupled to calcium channels in the heart. *Life Sci* **36**: 391-402, 1985
- Fur GL, Guilloux F, Rufat P, et al: Peripheral benzodiazepine binding sites: Effect of PK11195, 1-(2-chlorophenyl)-N-methyl-(1-methylpropyl)-3-isoquinoline-carboxamide. II. In vivo studies. *Life Sci* **32**: 1849-1856, 1983
- Fur GL, Vaucher N, Perrier ML, et al: Differentiation between two ligands for peripheral benzodiazepine binding sites, ^3H -Ro5-4864 and ^3H PK11195, by thermodynamic studies. *Life Sci* **33**: 449-457, 1983
- Camsonne R, Crouzel C, Comar D, et al: Synthesis of N- ^{11}C -methyl, N-(methyl-1propyl), (chloro-2phenyl)-1 isoquinoline carboxamide-3 (PK11195): A new ligand for peripheral benzodiazepine receptors. *J Labelled Compds Radiopharm* **21**: 985-991, 1984
- Benavides J, Guilloux F, Rufat P, et al: In vivo labelling in several rat tissues of peripheral type benzodiazepine binding sites. *Eur J Pharmacol* **99**: 1-7, 1984
- Benavides J, Menager J, Burgevin MC, et al: Characterization of solubilized peripheral type benzodiazepine binding sites from rat adrenals by using ^3H -PK11195, an isoquinoline carboxamide derivatives. *Biochem Pharmacol* **34**: 167-170, 1985

Summary

Evaluation of ^3H -PK11195 as a Radioligand for the In Vivo Study of Peripheral Benzodiazepine Receptor

Osamu INOUE*, Toshio YAMASAKI*, Kenji HASHIMOTO**
and Masaharu KOJIMA**

*Division of Clinical Research, National Institute of Radiological Sciences

**Faculty of Pharmaceutical Science, Kyushu University

The potency of PK11195, which is a potent antagonist of peripheral type benzodiazepine receptor, as a radioligand for the in vivo study was evaluated by using ^3H -labelled compound. ^3H -PK11195 was highly distributed into mouse lung, heart and adrenal within 1 min after intravenous injection, and radioactivity in lung and heart rapidly decreased, while radioactivity in adrenal slightly increased. Saturation study using carrier Ro5-4864 indicated that more than 75% of total

radioactivity in lung and heart was due to the specific binding with receptor, however the specific binding of this tracer in brain and adrenal was not clear in this study. This preliminary results strongly suggested that ^{11}C -PK11195 has a high potential as a radiopharmaceutical for the in vivo study of peripheral type benzodiazepine receptor function especially in lung, heart and adrenal.

Key words: Peripheral benzodiazepine receptor, PK11195, Lung, Heart, Adrenal.