

200400315 A

厚生科学研究研究費補助金
長寿科学総合研究事業

脳アミロイド画像法による
アルツハイマー病の早期診断と予防医学

平成 16 年度 総括研究報告書

主任研究者 荒井 啓行

平成 17 (2005) 年 4 月

目 次

I. 総括研究報告	1
脳アミロイド画像法によるアルツハイマー病の早期診断と予防医学	
荒井 啓行	
II. 分担研究報告	7
脳アミロイド画像法によるアルツハイマー病の早期診断と予防医学	
工藤 幸司	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	14
IV. 研究成果の刊行物・別刷	別添

平成16年度 厚生労働科学研究費補助金（長寿科学研究事業）
総括研究報告

脳アミロイド画像法によるアルツハイマー病の早期診断と予防医学

主任研究者 荒井 啓行

東北大学 大学院医学系研究科 先進漢方治療医学講座 教授

アルツハイマー病を克服するとは、この疾患を予防することである。アミロイドの蓄積がある限界に達し、非代償的な病理変化を来たして始めてアルツハイマー病を発症してくることを考えると、発症してからの治療に大きな期待は寄せられない。アルツハイマー病老人斑を特異的に認識するヒト PET 用リガンドを最終決定した。また、アミロイドの凝集をスクリーニングする *In vitro* 系を確立し、ある種の漢方薬がアミロイドの凝集を阻害することを見出し、国内特許出願を行なった。

A. 研究目的

現在我が国における痴呆性老人は約150万人と言われ、その約40%がアルツハイマー病、他の40%が血管性痴呆、残りの20%にレビー小体を伴う痴呆や前頭側頭型痴呆など種々の痴呆性疾患が含まれる。アルツハイマー病においては、アセチルコリン仮説に基づくアセチルコリン分解阻害薬、アセチルコリン受容体アゴニスト、或いは神経細胞保護薬などが開発され、今後はさらにより根本的な作用機序を有するアミロイド生成阻害薬、アミロイド重合阻害剤、タウ蛋白リン酸化酵素阻害剤なども開発されようとしている。現在までに最も経験が積まれかつ効果が期待できるのが、アセチルコリン分解阻害薬である Donepezil である。Donepezil は軽症から中等症のアルツハイマー病に適応を有し、実際には MMSE で20点前後の患者さんが最も認知機能検査での得点で改善が期待できる。「Donepezil を服用してから何か違う。」「飽きないで草むしりや家の掃除に集中できるようになった。」など患者の家族の喜ぶ声を耳にすることもしばしばある。とこ

ろが、半年、1年と経つうちに次第に効果が減弱しベースラインレベルに戻ってしまう。一瞬ポーと火が燈ったように感じられるのである。この現象は後述するようにアセチルコリン合成酵素の発現を強化する加味温胆湯(かみうんたんとう)治療においても同様に経験される。なぜ、アセチルコリン療法の効果の減弱がこのように早いのかは分からないが、この治療法がアルツハイマー病変に侵されずに残っている神経細胞を効率よく機能させる症状改善薬であるとの関連があることは容易に想像できる。図1に示すように、70歳から物忘れが目立つようになり5年ほどは日常生活が自立していたが、75歳時には問題行動が出現しアルツハイマー病との診断を受けた患者を想定すると、この患者では、アミロイドの脳への蓄積が始まったのは50歳前後、神経原繊維変化とそれによる神経細胞死が始まったのが60-65歳前後と予想されるのである。年齢には多少の前後はあるにしても、アルツハイマー病では潜伏期間(この言い方が適切かどうかは分からない)が実は20年もあることをまず認識しなけ

ればならない。その20年の間、アミロイドの毒性やタウの過剰リン酸化による神経細胞死が生じて、脳は恐らくその活発な代償機能によって一見何事もなかったように見える。しかし現実には、物忘れが始まり数年の「軽度認知機能障害期」を経て、アルツハイマー病としての病理像が完成した非代償期段階になってから発症し、その時点から始めて治療が開始されている。これでは余りに遅すぎることは明白である。アミロイド沈着がその後のすべてのイベントを引き起こしていることを考えると、以下の3点を真剣に解決すべきである。①アミロイド沈着を促進する危険因子を遺伝子レベルあるいは生活習慣レベルで徹底的に検索する；②アミロイドが沈着したことを示す画像診断法を開発する；③沈着したアミロイドを除去あるいは生成阻害するような薬物の開発を急ぐ。特に、②と③は車の両輪のごとく同時に進行させる必要がある。また、③の薬物は国民のニーズとしては治療よりも予防にあると思われるので、安全性の保障が最も重要視されてくる。従って、生薬や普段から日常的に摂取しているものなどが候補に上げられよう。痴呆は治療すべき対象ではなく、予防すべき対象なのである。現在の医療保健制度の枠組では、病気という診断がなされてから治療が始められるのが原則であり、痴呆の克服のためには新たな医療の枠組が必要であろう。

アルツハイマー病の臨床診断基準としてもっとも広く使用されている NINCDS-ADRDA や DSM-IV の診断基準では、アルツハイマー病の診断には記憶障害のみならず、失語・失行なども見られ、複数の脳領域で高次機能が障害された結果として、以前の日常生活機能レベルからダウンし自立した生活が維持できないこととされている。従って、①記憶障害は明らかであるが、その他の認知機能は正常で日常生活に大きな影響が及んでいない場合、或いは②軽度の記銘力低下、言語機能低下、視空間機能低下、

注意分割機能低下など複数の高次機能障害があるが、その総和としての機能低下が痴呆といえるレベルにまで達していない場合は、操作診断上はアルツハイマー病とは言えないこととなる。このように、正常とも言い難いが、一方痴呆とすることもためらわれるようなグレイゾーンに対して、主としてヨーロッパの研究者は Age-associated memory impairment や Age-associated cognitive decline などと呼び、正常加齢現象の行きつく先として認知機能低下が(ある程度は)起こりうると考えてきた。これに対して Petersen らを始めとする米国グループは、上記のような知的グレイゾーンに対して、Mild cognitive impairment (MCI; 軽度認知機能障害) という概念を提唱し、認知機能低下は加齢のみでは説明されず、病的状態であると考えた。従って、MCI は症状は軽度であっても、将来痴呆へと進行する可能性のある前駆段階と考えた。Petersen らによれば健忘型 MCI とは、①本人または家族から年齢や教育歴では説明されない記憶障害の訴えがあり、客観的な検査でそれが証明される。②記憶以外の全般的な認知機能は概ね保持されており、日常生活機能に支障を来していないので痴呆の診断基準を満たさないとされている。米国神経学会からの EBM として、①MMSE を用いて広く MCI をスクリーニングすることが可能であること；②痴呆へと進行する危険性が高いので、慎重な Follow-up が必要である；③MCI から AD への Conversion を如何に抑制するかということを目指して臨床試験が進行中であることが報告されている。一方、Karolinska 研究所の Wahlund らは、アルツハイマー病に対する薬物治療が一般臨床の場に登場し、またいくつもの治療薬が今後開発されていく中で、現在の診断基準を踏まえつつアルツハイマー病での特異的な病理変化を反映するような Biomarker を診断項目に盛り込むことでアルツハイマー病の診断精度を一層

上げていく必要性を述べている。特に現在の診断基準では早期診断に難点があり、何らかの補助診断法を取り入れていくべきであると指摘している。そのような予測因子研究として、MCI 患者における機能画像法を用いた後部帯状回の血流・代謝の低下、定量 MRI 画像法を用いた内側側頭葉の萎縮、脳脊髄液タウ蛋白定量などが試みられているが、アミロイドカスケード仮説によると、病理学的にはアミロイド- β 蛋白 ($A\beta$) の沈着が上流側に位置し、神経原繊維変化と神経細胞死はその下流側にくる時系列が考えられている。これを実際の臨床と重ね合わせてみるとどうなるであろうか？臨床的に痴呆の最初期段階である MCI ですでに CSF/phospho-tau と CSF-tau の両者が上昇していることは、この段階で少なくとも一部の脳領域においては神経原繊維変化と神経細胞死が広範に生じている結果と考えざるを得ない。Massachusetts 総合病院の Hyman らの研究グループは、死亡前の認知機能が詳細に調べられている 20 例の剖検脳を用いて、その Entorhinal Cortex における病理所見を報告している。Entorhinal Cortex は、多くの連合野からの投射を受け海馬と密接に繊維連絡している記憶機能にとって重要な中継点である。彼らは、very early AD とされている 4 例（平均年齢 84 歳）では、1) 認知機能正常の高齢者（平均年齢 75 歳）10 例に比して、Entorhinal Cortex での全神経細胞数は約 70% にまで減少しており、特に Layer II では 60% にまで、また Layer IV では 40% にまで減少していた。2) 多数の神経原線維変化や老人斑の出現が見られ、その程度は十分に AD の病理診断基準を満たすものであった。3) 一方、認知機能正常の高齢者 10 例では、60 から 90 歳にいたるまで全神経細胞数に減少はなくその数は一定に保たれていたと報告している。この論文から読み取れることは、MCI

とは、正常高齢者とは一線を画し明らかに AD へ向けてトリガーされた状態であること、および神経細胞の脱落があまりに高度であることより病理過程そのものはかなり以前からスタートしていたと考えざるを得ないということである。この臨床と病理像の Gap を埋めるものとして、現在開発が急がれているのがアミロイド画像法である²⁾。アミロイド画像法は、 $A\beta$ に結合する特異性の高いリガンドの放射性ラベル体を用い、脳に沈着している $A\beta$ を可視化しようとする試みである。この方法は、脳脊髄液診断に比較して、1) $A\beta$ 沈着という AD の最初期病変を検出できる可能性がある；2) 非侵襲的であるため繰り返し検査し、経過を観察することができることや症状のない正常者を対象とすることも可能である；3) $A\beta$ 沈着は発症の 20 年以上前から始まっていることが指摘されており、今後予防医学の観点からもアミロイドワクチンなどの抗アミロイド療法と連動させることが可能である。などの優れた利点を有する。アミロイドリガンドは、 $A\beta$ に強い結合性を有するばかりでなく、1) 脳血液関門をスムーズに通過する；2) $A\beta$ と結合しなかった非結合型は、すみやかに脳から血液に排除される；3) 生体毒性が低く催奇形性も認められない。という特性を備えていなければならない。本研究は、アルツハイマー病は老人斑アミロイドや神経原線維変化タウの蓄積負荷量が一定限界を超えてから発症すると考えられるため、老人斑アミロイドや神経原線維変化タウの画像化を可能にし、これを発症前に高い感度および特異度をもって診断するための技術の構築と臨床応用を行なうことを目的とする。予防医学は、誰にでもでき安全性の高い医療実践が求められている。症状のない高齢者が用いることを考えると「安全域が高い」ということは重要な条件と思われる。世界各国の疫学調査からは、NSAIDs 剤（抗炎症剤）や Statin 剤の服用或い

は高血圧治療はアルツハイマー病の発症の危険率を下げると言われている。糖尿病や動脈硬化は、血管性痴呆のみならずアルツハイマー病の危険因子でもあるとされる。さらに脳梗塞の存在はアルツハイマー病の顕在化に一役買っているらしく、脳梗塞を予防できればアルツハイマー病の発症を遅延させられるとする研究も発表されている。

B. 研究方法

分担研究者の工藤がピーエフ研究所時代に2500種類の化合物をスクリーニングし、その中からすでにいくつかの有望な化合物群を見出しているが、さらにこれらを適性化し、*in vitro*でのスクリーニング、AD患者脳染色、トランスジェニックマウスを用いた試験等を実施した上で、最も優れた化合物(最適化合物)を選択するとともに、これらを母化合物として¹⁴C放射標識化を行なう。動物試験において¹⁴C標識化合物が母化合物と同じ挙動を示すことを確認の上で、探索的臨床研究に進むための安全性試験(急性毒性試験、亜急性毒性試験、変異原性試験、染色体異常試験等)を行なった。同様に、神経原線維変化に選択性の高い複数の化合物の同定と¹⁴C放射ラベル化にも新たに取り組んだ。

C. 研究結果

アミロイドβシート構造との結合親和性と脳血液関門透過性に関するスクリーニングの結果、Benzoxazole誘導体が、Aβ結合親和性と同時に脳血液関門透過性に優れていることが確認された。その中から、BF-227 (2-[2-(2-dimethylaminothiazol-5-yl) ethenyl]-6-[2-(fluoroethoxy) benzoxazole])を最適化合物として最終決定した。BF-227はポリソルベート80(溶解補助剤)及びアスコルビン酸(安定化剤)のもと完全に溶解することが可能となった。BF-227は、細菌を用いた突然変異試験、マウスを用いた静脈内単回投与毒性

試験、ラットを用いた静脈内単回投与毒性試験、マウスを用いた2週間反復投与毒性試験、ラットを用いた2週間反復投与毒性試験、安全性薬理試験としての一般症状観察、自発運動量観察においてその高い安全性が確認された(変異原性に対する安全係数は、10万倍以上)。また、ラットを用いた観察において、血圧、脈拍、心電図上の不整脈など循環動態への影響はなかった。嘔吐は誘発されなかった。海外ですでに臨床試験中のFDDNPやPIBよりも変異原性が低いことが確認された。上図左は、アミロイドβローブBF-227を遺伝子改変マウスに静脈内投与し180分後のマウス脳老人斑の蛍光像である。また、右は同一切片を抗Aβ抗体によって免疫染色したものである。両者は完全にMergeし、BF-227は老人斑を選択的にラベルする優れたリガンドであることが確認された。最後に、本研究費の一部を用いてある種の漢方方剤が、アミロイド蛋白の凝集を阻害することを見出し、古くから本邦で使用され安全性の担保された漢方薬によるアルツハイマー病予防の可能性が示された。昨年、国内特許出願を行なったことを付記する(漢方薬によるアミロイドβ蛋白の凝集抑制等、発明者：荒井啓行、岩崎鋼、藤原博典、工藤幸司、特願2004-378195、出願日：2004年12月27日)。

D. 考察

今後のアルツハイマー病の臨床は、動脈硬化の診断・治療に類似してくると思われる。蓄積されたアミロイドを画像化する方法は、ある特定の人アルツハイマー病を発症するリスクを評価する上で重要である。これは、高血圧、糖尿病、高脂血症などにより動脈硬化が進み、脳梗塞が発症するリスクが高まるのと似ている。時系列的に「アミロイドが上流側、タウ・神経細胞死が下流側」と考えるとアミロイド沈着を検出することが、本来の早期診断であると考えられる。現在世界各国で開発が進められているAβ産生阻害剤やアミロイドワクチン療法

と連動させることが重要で、アミロイド蓄積の診断、アミロイド蓄積を引き起こす危険因子の同定とあわせて、新しい痴呆臨床の形態を成すものと期待したい。

E. 結論

BF-227 を新規アミロイドイメージング製剤として臨床使用することにその性能と安全性の両面から問題がないことを確認した。現在、サイクロトロン RI センターにおける合成系の安全な稼働を確認の上、臨床試験等につき、東北大学医学部薬剤安全委員会や倫理審査委員会へ申請を行っており、平成17年6月にはヒト臨床試験を開始する予定となっている。

F. 研究発表

1. Iwasaki K, Kobayashi S, Chimura Y, Taguchi M, Inoue K, Akiba T, Arai H, Cyong J-C, Sasaki H. A randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial of the Chinese herbal medicine Ba Wei Di Huang Wan in the treatment of dementia. *J. Am. Geriatr. Soc.* 52:1518-1521, 2004
2. Okamura N, Suemoto T, Shimadzu H, Suzuki M, Shiomitsu T, Akatsu H, Yamamoto T, Staufenbiel M, Yanai K, Arai H, Sasaki H, Kudo Y, Sawada T. Styrylbenzoxazole derivatives for in vivo imaging of amyloid plaques in the brain. *J. Neuroscience.* 24:2535-2541, 2004.
3. Okamura N, Suemoto T, Shiomitsu T, Suzuki M, Shimadzu H, Akatsu H, Yamamoto T, Arai H, Sasaki H, Yanai K, Staufenbiel M, Kudo Y, Sawada T. A novel imaging probe for in vivo detection of neuritic and diffuse plaques in the brain. *J. Mol. Neurosci.* 24:247-256, 2004..
4. Maruyama M, Matsui T, Tanji H, Memoto M, Tomita N, Ootsuki M, Arai H, Sasaki H. Cerebrospinal fluid tau protein and periventricular white matter lesions in aging, stable and progressive mild cognitive impairment: Implications for two major pathways. *Arch. Neurol.* 61:716-720, 2004
5. Ohru T, Matsui T, Yamaya M, Arai H, Ebihara S, Maruyama M, Sasaki H. Angiotensin converting enzyme inhibitors and incidence of Alzheimer's disease in Japan. *J. Am. Geriatr. Soc.* 52:649-650, 2004.
6. Iwasaki K, Kobayashi S, Chimura Y, Taguchi M, Inoue K, Akiba T, Arai H, Cyong J-C, Sasaki H. Effects of the Chinese herbal medicine "Ba Wei Di Huang Wan" in the treatment of dementia: A SPECT cerebral blood flow examination and a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial for cognitive function and ADL. *Geriatrics and Gerontology International* 2004;4:S124-128.
7. Winblad B, Palmer K, Kivipelto M, Jelic V, Fratiglioni L, Wahlund L-O, Nordberg A, Backman L, Albert M, Almkvist O, Arai H, Basun H, Blennow K, De Leon M, DeCarli C, Erkinjuntti T, Giacobini E, Graff C, Hardy J, Jack A, Jorm A, Richie K, Van Dubin C, Visser P, Petersen RC. Mild cognitive impairment: beyond controversies towards consensus: report of the international working group on Mild

- cognitive impairment. *J. Intern. Med.* 256:240-246, 2004.
8. Nakagawasai O, Yamadera F, Iwasaki K, Arai H, Taniguchi R, Tan-no K, Sasaki H, Tadano T. Effect of Kami-Untan-To on the impairment of leaning and memory induced by thiamine-deficient feeding in mice. *Neuroscience* 125:233-241, 2004.
 9. Iwasaki K, Satoh-Nakagawa T, Maruyama M, Monma Y, Nemoto M, Tomita N, Tanji H, Fujiwara H, Seki T, Fujii M, Arai H, Sasaki H. A Randomized Observer-Blind Controlled Trial of a Traditional Chinese Medicine, Yi-Gan San, on Behavioral and Psychological Symptoms and Activities of Daily Living in Dementia Patients. *J. Clin. Psychiatry* 66:248-252, 2005.
 10. Ohru T, Tomita N, Satoh-Nakagawa T, Matsui T, Maruyama M, Niwa K, Arai H, Sasaki H. Effects of brain-penetrating ACE inhibitors on Alzheimer's disease progression. *Neurology* 63:1324-1325, 2004
 11. Tanji H, Otsuki M, Matsui T, Maruyama M, Nemoto M, Tomita N, Seki T, Iwasaki K, Arai H, Sasaki H. Caregiver's burden and use of public services among dementia caregivers. *Geriatrics & Gerontology International* 2005, in press
 12. Arai H, Maruyama M. The heterogeneity and natural history of mild cognitive impairment. *Arch.Neurol.*62:163-164, 2005.

「漢方薬によるアミロイドβ蛋白の凝集抑制等」発明者：荒井啓行、岩崎鋼、藤原博典、工藤幸司、特願 2004-378195、出願日：2004年12月27日

- G. 知的所有権の取得状況
1. 特許取得

平成 16 年度 厚生労働科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）
分担研究報告書

脳アミロイド画像法によるアルツハイマー病の早期診断と予防医学

分担研究者 工藤幸司

東北大学 先進医工学研究機構 高度情報通信分野 教授

研究要旨：アルツハイマー病の早期診断を可能とする PET プローブとして、THK-002 (BF-2B7) のを選び出し、各種試験を実施した。THK-002 は前臨床試験において老人斑（ないしはアミロイド β 蛋白）に高い親和性を示し、脳への移行性および脳からのクリアランスに優れ、各種毒性試験においては特に問題となる作用は認められなかった。[11C] 標識 THK-002 を用いた試験においても特に問題となる作用はみられなかった。平成 17 年度初頭の探索的臨床試験を目指し、各種手続き中。

A. 研究目的

アルツハイマー病は死後脳の病理所見をもって確定診断されているのが現状であるが、本研究においてはこれをごく軽症のうちに、さらに遡って発症前に診断する技術を開発することを目的とする。

具体的には

1) アルツハイマー病において痴呆症状が顕性化する以前 (10 から 20 年前) から脳内に蓄積することが認められている老人斑 (アミロイド β 蛋白が主構成成分) に特異的選択的に結合し、

2) 容易に血液-脳関門を透過する低分子有機化合物 (= プローブ) を見出し、

3) これを標識して生体に投与後、PET または SPECT を用いてイメージング画像として取り込み、

4) 老人斑の蓄積量の定量およびその空間的分布からアルツハイマー病を診断する。

本年度はヒトにおける探索的臨床試験を実施するための前段階として以下の研究の

実施を目的とした。

1) 昨年度以来積み重ねてきた各種試験の結果からプロミシングなプローブを選び出す。

2) 同プローブにつき各種毒性試験を実施する。

3) 同プローブにつき PET プローブとして用いるための標識法を検討する。

4) 標識プローブを用いてヒト臨床試験に実施する際に必要とされる基礎データを取得する。

5) 各種データを揃えて東北大学倫理委員会、同薬剤委員会、同臨床研究委員会へ申請する。

なお、同プローブを用いたヒト探索的臨床試験は平成 17 年度初頭開始の予定である。

B. 研究方法

1) プロミシングなプローブの選択

① アルツハイマー病患者脳切片における老

人斑の染色性

- ②アミロイド β 蛋白が蓄積する Tg マウスにおけるアミロイド斑への結合 (インビボ)
- ③血液・脳関門透過性
- ④アミロイド β 蛋白への親和性 (Ki 値の算出)

2) 各種毒性試験

- ①雌雄マウスにおける急性毒性試験

0.1、1、10mg/kg を静脈内投与した。

- ②雌雄ラットにおける急性毒性試験

0.1、1、10mg/kg を静脈内投与した。

- ③雌雄マウスにおける亜急性毒性試験

2.5、25 μ g/kg を 2 週間反復静脈内投与した。

- ④雌雄ラットにおける亜急性毒性試験

2.5、25 μ g/kg を 2 週間反復静脈内投与した。

- ⑤雌雄マウスにおける一般薬理試験

2.5、25 μ g/kg の静脈内投与で一般症状観察、自発運動量測定を実施した。

- ⑥変異原性試験

Ames test を実施した。

3) [11C]標識法の検討

自動合成装置の作製。

4) 標識プローブを用いた各種試験

- ①被爆量

- ②発熱試験

- 5) 東北大学医学部倫理委員会、同薬剤委員会、同臨床研究委員会への申請

(倫理面への配慮)

アルツハイマー病患者脳標本を使用する場合、ヘルシンキ宣言を基準として倫理面に配慮し、東北大学医学部倫理委員会の承認を得た上で使用する、また臨床試験においてはヘルシンキ宣言を基準として倫理面に十分配慮するとともに、東北大学医学部倫理委員会、同薬剤研究委員会、同臨床研究委員会の承認を得た上で実施する。動物実験においては、東北大学における動物実験に関する指針 (S63.3.24) に従い、十分な愛護精神をもってできるだけ動物に苦痛を与えぬように配慮する。放射性同位元素を取り扱う試験においては東北大学放射線障害予防規定 (H14.6.18) を遵守し、被曝および汚染の防護に努める。

C. 研究結果

1) プロミシングなプローブの選択

THK-002 (=BF-2B7) を選び出した。同プローブは以下の作用を示した。

- ①アルツハイマー病患者脳切片における染色性

びまん性および典型的老人斑を極めて明瞭に染色した。

- ②Tg マウスにおける作用

静脈内投与されたコールドおよび標識プローブはいずれも Tg マウスのアミロイド斑に選択的に結合した。

- ③血液・脳関門透過性

静脈内投与されたコールドおよび [11C]標識プローブの脳内濃度は 2 分後

に約8%ID/g、また30分後に0.6~1.4% ID/gを示した(マウス)。すなわち、同プローブは極めて脳への移行性および脳からのクリアランスに優れていた。

④アミロイドβ蛋白への結合親和性

アミロイドβ蛋白1-40または1-42に対する親和性は、それぞれ1.82および4.27nM (Ki)であった。

2) 各種毒性試験

①雌雄マウスにおける急性毒性試験

最大耐量は雌雄とも10mg/kgまたはそれ以上であった。

②雌雄ラットにおける急性毒性試験

最大耐量は雌雄とも1mg/kgであった。

③雌雄マウスにおける亜急性毒性試験

病理組織学的検査を含めてTHK-002に起因すると思われる変化は認められなかった。

④雌雄ラットにおける亜急性毒性試験

病理組織学的検査を含めてTHK-002に起因すると思われる変化は認められなかった。

⑤一般薬理試験

一般症状観察、自発運動量とも、THK-002に起因すると思われる変化は認められなかった。

⑥変異原性試験

THK-002の変異原性は診断用PET薬剤として、特に問題となるものではなかった。

3) [11C]標識法の検討

自動合成装置の作製に成功した。

4) [11C]標識プローブを用いた各種試験

①動物における被曝量

特に問題となる被曝量ではなかった。

②発熱試験

パイロジェンとしての作用は認められなかった

5) 東北大学医学部倫理委員会、同薬剤委員会、同臨床研究委員会への申請

2005年3月10日の各委員会申請を目指して、各種資料作成中。

D. 考察

アルツハイマー病診断用 PET プローブとして求められるのは、まず第 1 に老人斑 (ないしはアミロイド β 蛋白) に対する高い親和性、第 2 に高い脳への移行性、第 3 に速やかな脳から野クリアランスである。研究結果で示したように選り出した THK-002 (BF-2B7) はこれらの条件を満たすことが判明した。すなわち THK-002 はアルツハイマー病患者脳切片において老人斑、Tg においてアミロイド斑に結合し、バインディングアッセイでは A β 1-40 および A β 1-42 に対する親和性はそれぞれ 1.82 および 4.27nM (Ki) であった (標識リガンドは THK-002 の類似体 BF-180: Kd はそれぞれ 6.8 および 10.6nM)。

また、THK-002 は極めて脳への移行性および脳からのクリアランスに優れていた。すなわち、マウスにおいて静脈内投与されたコールドおよび [11C] 標識プローブの脳内濃度は 2 分後に約 8%ID/g、また 30 分後に 0.6~1.4%ID/g を示した。

一般に PET 用プローブのヒトへの投与量は最大で 0.025 μ g/kg になると考えられている。そこで THK-002 の投与量は亜急性毒性および一般薬理試験では 0.025 μ g/kg の 100 倍および 1,000 倍の 2.5 および 25 μ g/kg を用い、急性毒性試験では 4,000 倍、40,000 倍および 400,000 倍のそれぞれ 0.1、1 および 10mg/kg を用いた。

その結果、THK-002 は亜急性毒性および一般薬理試験では少なくとも 1,000 倍、急性毒性試験では 10,000~100,000 倍の安全域を有することが判明した。

その他、変異原性試験、標識プローブを用いた被曝量および発熱試験では特に問題

となる作用はみとめられなかった。

ヒト臨床試験のための標識プローブ自動合成装置も作成することができ、各種資料を揃えて、2005 年 3 月 10 日の東北大学医学部倫理委員会、同薬剤委員会、同臨床研究委員会への申請を目指して各種資料作成中である。これら委員会の許可を得次第、ヒト探索的臨床研究に入る予定である (平成 17 年度初頭開始の予定)。

願わくは国産初の我々のアルツハイマー病診断用 PET プローブが同病診断にとって有用性の高いツールになることを願っている。

E. 結論

アルツハイマー病の早期診断を可能とする PET プローブとして、THK-002 (BF-2B7) のを選り出し、各種試験を実施した。THK-002 は老人斑 (ないしはアミロイド β 蛋白) に高い親和性を示し、脳への移行性および脳からのクリアランスに優れ、各種毒性試験においては特に問題となる作用は認められなかった。[11C] 標識プローブを用いた試験においても特に問題となる作用はみられなかった。平成 17 年度初頭の探索的臨床試験を目指し、各種手続き中。

F. 健康危惧情報

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Shimadzu H, Suemoto T, Suzuki M, Shiomitsu T, Okamura N, **Kudo Y** and Sawada T: Novel probes for imaging amyloid- β : F-18 and C-11 labeling of 2-(4-aminostyryl)benzoxazole derivatives. Journal of Labelled

- Compounds and Radiopharmaceuticals *J Label Compd Radiopharm* 47: 181-190(2004)
- 2) Okamura N, Suemoto T, Shimadzu H, Shiomitsu T, Suzuki M, Akatsu H, Yamamoto T, Staufenbiel M, Yanai K, Arai H, Sasaki H, Kudo Y and Sawada T: Styrylbenzoxazole derivatives for in vivo imaging of amyloid plaques in the brain. *J. Neurosci.* 24.2535-2541 (2004)
 - 3) Okamura N, Suemoto T, Shimadzu H, Shiomitsu T, Suzuki M, Akatsu H, Yamamoto T, Staufenbiel M, Yanai K, Arai H, Sasaki H, Kudo Y and Sawada T: A novel imaging probe for in vivo detection of neuritic and diffuse plaques in brain. *J. Molecular Neurosci.* 24.247-255(2004)
 - 4) Ishikawa K, Doh-ura K, Kudo Y, Murakami-Kubo I, Sawada T. and Iwaki T: Amyloid imaging probes are useful as diagnostic and therapeutic chemicals for transmissible spongiform encephalopathies. *J. General Virology.* 85. 1785-1790 (2004)
 - 5) Nishida A, Iwata H, Kudo Y, Kobayashi T, Matsuoka Y, Kanai Y and Endou H: Measurement of glutamate uptake and reversed transport by rat synaptosome transporters. *Biol. Pharm Bull.* 27.813-816(2004)
 - 6)) Nishida A, Iwata H, Kudo Y, Kobayashi T, Matsuoka Y, Kanai Y and Endou H: Nicergoline enhances glutamate uptake via glutamate transporters in rat cortical synaptosomes. *Biol. Pharm Bull.* 27.817-820(2004)
 - 7) 工藤幸司: 新しい画像診断開発—アミロイド イメージング—. p115-122. 最新医学・別冊 新しい診断と治療のABC 22(編者:田平武)最新医学社. 大阪.2004年11月
 - 8) 工藤幸司: アミロイドβ蛋白 (Aβ) のイメージング. 日本薬学会ホームページ—Hot News—トピックス. 2005年1月7日
 - 9) 工藤幸司: PETによるアミロイドイメージング—アルツハイマー病の新しい早期診断法—. 脳の形態と機能・画像医学の進歩(編者:福田寛)新興医学出版社. 東京.2005年3月出版予定.
2. 学会発表
- 1) 古本祥三、岩田錬、石川洋一、工藤幸司、窪田和雄、福田寛: 抗癌剤AC7700の炭素11の合成. 第44回日本核医学会総会. 2004年11月4-6日(国立京都国際会館)
核医学: 41.S332(2004)
 - 2) 岡村信行、加藤元久、谷内一彦、古本祥三、工藤幸司、船木善仁、岩田錬、島津浩、澤田徹、赤津裕康、山本孝之: Benzoxazole 誘導体のアミロイドイメージング用プローブとしての有用性. 第44回日本核医学会総会. 2004年11月4-6日(国立京都国際会館)
核医学: 41.S80(2004)
 - 3) 工藤幸司: アミロイド イメージング: 第1回 Molecular Imaging 研究会(第4

4回 日本核医学会総会) 主催 ; 日本核医学会. 2004年11月6日. (国立京都国際会館)

- 5) Okamura N, Suemoto T, Shimadzu H, Suzuki M, Shiomitsu T, Akatsu H, Yamamoto T, Yanai K, Arai H, kudo Y and Sawada T: 18F-labeled PET tracer

for detecting amyloid plaques and neurofibrillary tangles in brain. 9th International Conference on Alzheimer's Disease and Related Disorders. 2004年7月17日-22日 (Philadelphia)
Neurobiol. Aging 25.S266(2004)

H.知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

1.特許取得

なし。

臨床試験を計画中のプローブに関する特許は以下の4件であり、BF研究所との共同研究契約書締結下に研究を進めている。

	出願・公告の日付	発明の名称	発明者氏名	出願人名	国名	特許等の番号・種類の順
1	2003年 12月16日	タウ蛋白蓄積性疾患の診断 プローブとしてのキノリン 誘導体	工藤幸司 鈴木雅子 塩満剛 末元隆寛 島津浩 岡村信行	BF 研 究所	日本	特 願 2002-363369
2	2003年11 月28日	タウ蛋白蓄積性疾患の診断 プローブとしてのキノリン 誘導体	工藤幸司 鈴木雅子 塩満剛 末元隆寛 島津浩 岡村信行	BF 研 究所	日本 アメリカ カナダ ヨーロッ パ	PCT/JP03/15229 国内移行手続き 中
3	2003年8 月13日	アミロイド蓄積性疾患の診 断プローブ化合物、アミロイ ド染色剤、アミロイド蓄積性 疾患の治療および予防薬、な らびに神経原線維変化の診 断プローブおよび染色剤	工藤幸司 鈴木雅子 塩満剛 末元隆寛 島津浩 岡村信行	BF 研 究所	日本	特 願 2003-293056
4	2003年11 月28日	アミロイド蓄積性疾患の診 断プローブ化合物、アミロイ ド染色剤、アミロイド蓄積性 疾患の治療および予防薬、な らびに神経原線維変化の診 断プローブおよび染色剤	工藤幸司 鈴木雅子 塩満剛 末元隆寛 島津浩 岡村信行	BF 研 究所	日本 アメリカ カナダ ヨーロッ パ	PCT/JP03/15229 国内移行手続き 中

2. 実用新案登録

なし

3. その他

研究成果の刊行に関する一覧表

発表者氏名	論文タイトル	発表雑誌名	巻号	ページ	出版年
Iwasaki K, Kobayashi S, Chimura Y, Taguchi M, Inoue K, Akiba T, Arai H, Cyong J-C, Sasaki H.	A randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial of the Chinese herbal medicine Ba Wei Di Huang Wan in the treatment of dementia.	J. Am. Geriatr. Soc.	52	1518-1521	2004
Okamura N, Suemoto T, Shimadzu H, Suzuki M, Shiomitsu T, Akatsu H, Yamamoto T, Staufenbiel M, Yanai K, Arai H, Sasaki H, Kudo Y, Sawada T.	Styrylbenzoxazole derivatives for in vivo imaging of amyloid plaques in the brain.	J. Neurosci.	24	2535-2541	2004
Okamura N, Suemoto T, Shiomitsu T, Suzuki M, Shimadzu H, Akatsu H, Yamamoto T, Arai H, Sasaki H, Yanai K, Staufenbiel M, Kudo Y, Sawada T.	A novel imaging probe for in vivo detection of neuritic and diffuse plaques in the brain.	J. Mol. Neurosci.	24	247-256	2004
Maruyama M, Matsui T, Tanji H, Memoto M, Tomita N, Ootsuki M, Arai H, Sasaki H.	Cerebrospinal fluid tau protein and periventricular white matter lesions in aging, stable and progressive mild cognitive impairment: Implications for two major pathways.	Arch. Neurol.	61	716-720	2004
Ohrui T, Matsui T, Yamaya M, Arai H, Ebihara S, Maruyama M, Sasaki H.	Angiotensin converting enzyme inhibitors and incidence of Alzheimer's disease in Japan.	J. Am. Geriatr. Soc.	52	649-650	2004
Iwasaki K, Kobayashi S, Chimura Y, Taguchi M, Inoue K, Akiba T, Arai H, Cyong J-C, Sasaki H.	Effects of the Chinese herbal medicine "Ba Wei Di Huang Wan" in the treatment of dementia: A SPECT cerebral blood flow examination and a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial for cognitive function and ADL.	Geriatr. Gerontol. Internat.	4	S124-128	2004

発表者氏名	論文タイトル	発表雑誌名	巻号	ページ	出版年
Winblad B, Palmer K, Kivipelto M, Jelic V, Fratiglioni L, Wahlund L-O, Nordberg A, Backman L, Albert M, Almkvist O, <u>Arai H</u> , Basun H, Blennow K, De Leon M, DeCarli C, Erkinjuntti T, Giacobini E, Graff C, Hardy J, Jack A, Jorm A, Richie K, Van Dubin C, Visser P, Petersen RC.	Mild cognitive impairment-beyond controversies towards consensus: report of the international working group on Mild cognitive impairment.	J. Intern. Med.	256	240-246	2004
Nakagawasai O, Yamadera F, Iwasaki K, <u>Arai H</u> , Taniguchi R, Tan-no K, Sasaki H, Tadano T.	Effect of Kami-Untan-To on the impairment of leaning and memory induced by thiamine-deficient feeding in mice.	Neuroscience	125	233-241	2004
Iwasaki K, Satoh-Nakagawa T, Maruyama M, Monma Y, Nemoto M, Tomita N, Tanji H, Fujiwara H, Seki T, Fujii M, <u>Arai H</u> , Sasaki H.	A Randomized Observer-Blind Controlled Trial of a Traditional Chinese Medicine, Yi-Gan San, on Behavioral and Psychological Symptoms and Activities of Daily Living in Dementia Patients.	J. Clin. Psychiatry	66	248-252	2005
Ohru T, Tomita N, Satoh-Nakagawa T, Matsui T, Maruyama M, Niwa K, <u>Arai H</u> , Sasaki H.	Effects of brain-penetrating ACE inhibitors on Alzheimer's disease progression.	Neurology	63	1324-1325	2004
Tanji H, Ootsuki M, Matsui T, Maruyama M, Nemoto M, Tomita N, Seki T, Iwasaki K, <u>Arai H</u> , Sasaki H.	Caregiver's burden and use of public services among dementia caregivers.	Geriatr. Gerontol. Internat.		In Press	2005
<u>Arai H</u> , Maruyama M.	The heterogeneity and natural history of mild cognitive impairment.	Arch. Neurol.	62	163-164	2005

発表者氏名	論文タイトル	発表雑誌名	巻号	ページ	出版年
谷向 知、久米明人、 荒井啓行	第1回 Mild cognitive impairment シンポジウム	Dementia Japan	18	84-88	2004
樋口真人、荒井啓行、 岡村信行、丸山将浩、 佐々木英忠	Mild cognitive impairment (MCI) 診断と鑑別診断	日本臨床	62	287-292	2004
荒井啓行	軽度認知機能障害と痴呆症の 早期診断	第125回日 本医学会シン ポジウム記録 集		21-28	2004
荒井啓行、小阪憲司	第3回レビー小体病とパーキ ンソン痴呆に関する国際会議	Cognition and Dementia	3	63-65	2004
荒井啓行	Mild cognitive impairment の概念とその臨床的多様性	臨床神経学	44	924-928	2004
西道隆臣、荒井啓行、 田平武	アルツハイマー病のホットト ピックス	最新医学、新 しい診断と治 療の ABC22		211-219	2004
玉水昌子、丸山将浩、 荒井啓行	脳脊髄液を用いたアルツハイ マー病の臨床検査診断	臨床検査	48	1665-1671	2004
古川勝敏、樋口真人、 荒井啓行	学会印象記、Frontotemporal dementia に関するサテライ トミーティング	Dementia Japan	18	282-287	2004
東海林幹夫、桑野良 三、朝田隆、今川正 樹、樋口進、浦上克 哉、荒井啓行、井原 康夫	アルツハイマー病診断・評価 基準試案	臨床神経学	45	128-137	2005