

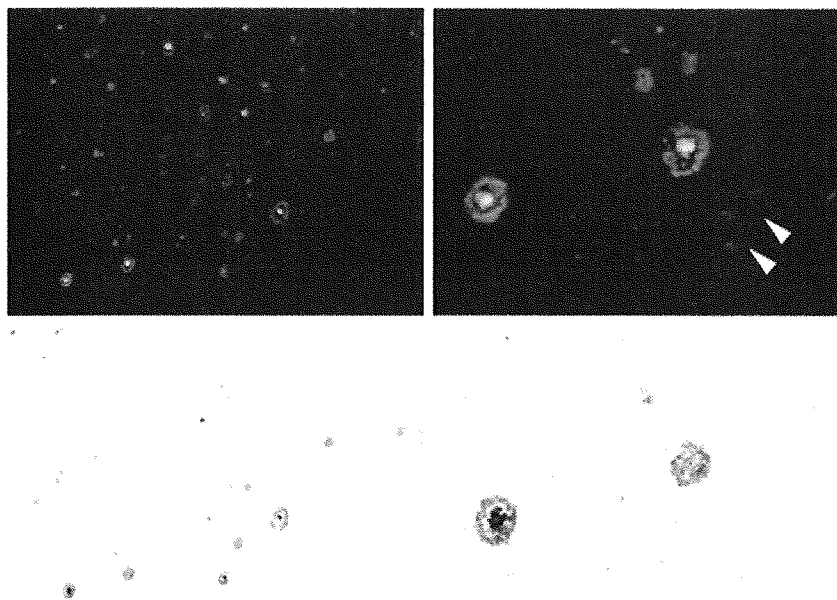


図1 アルツハイマー病患者脳切片における BF-227 の染色像（上段）と隣接切片での A β 免疫染色像（下段）

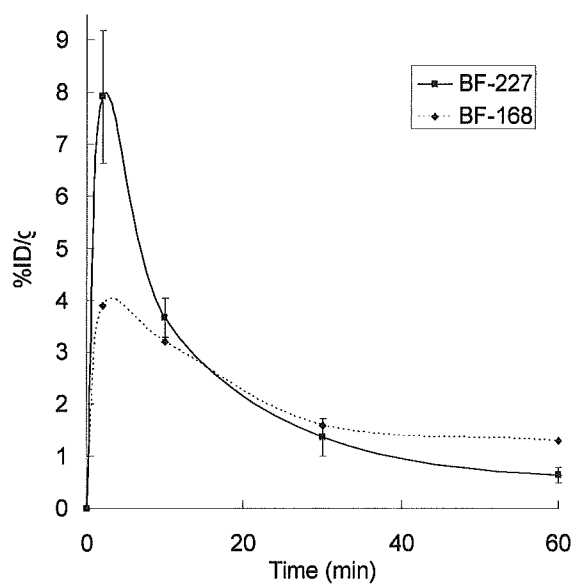


図2 正常マウスにおける [^{11}C]BF-227 静注後の脳内濃度

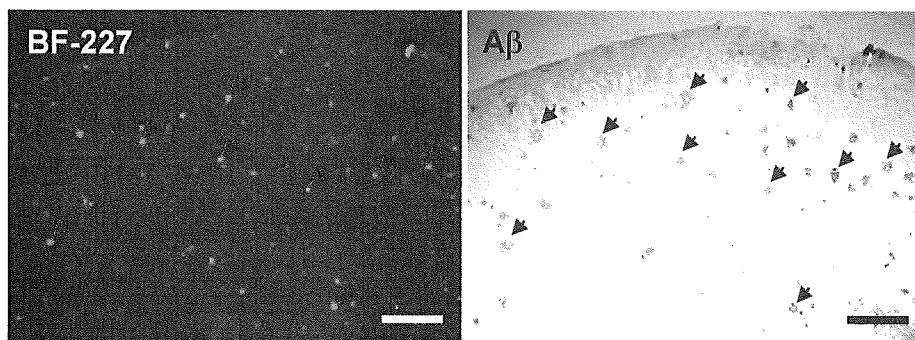


図3 PS1/APPsw トランスジェニックマウスへ BF-227 静注投与後の脳切片の蛍光顕微鏡像（左）と同切片の A β 免疫染色像（右）

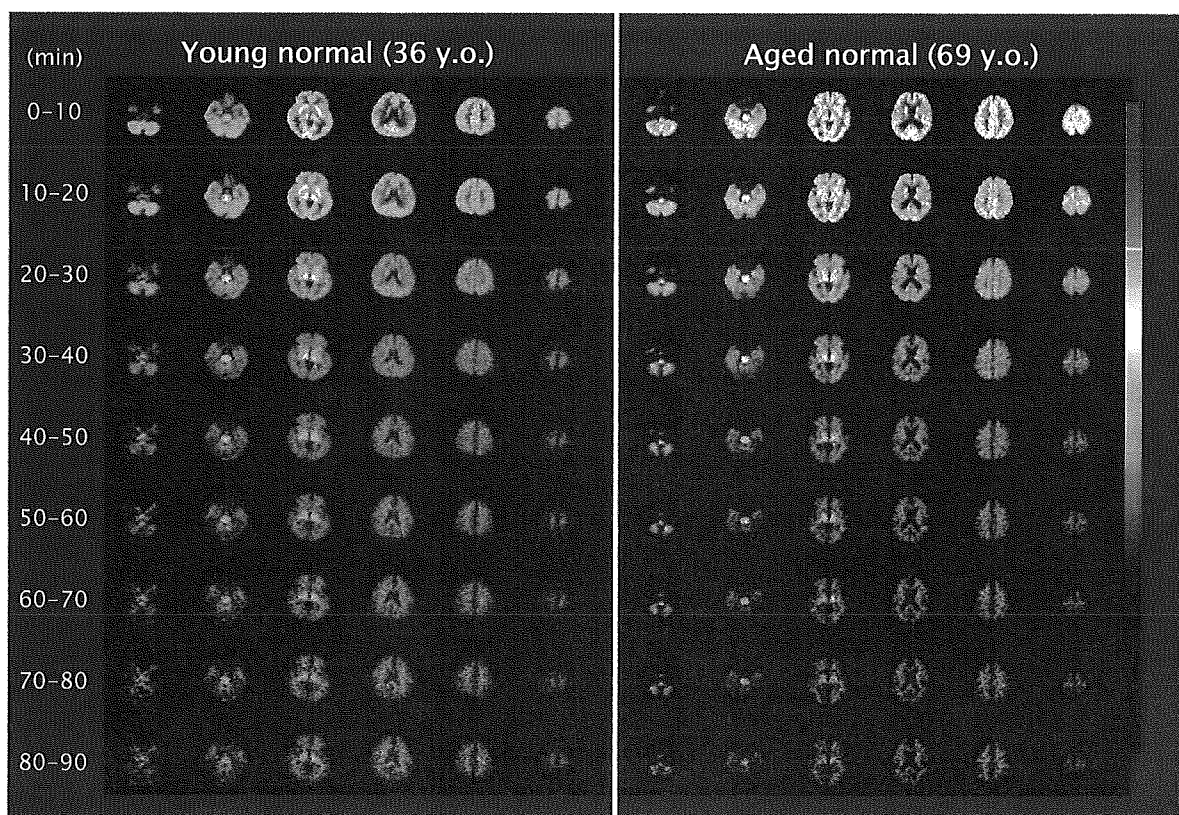


図4 健常若年者（左）と健常高齢者（右）における[^{11}C]BF-227 静注後の PET ダイナミック画像

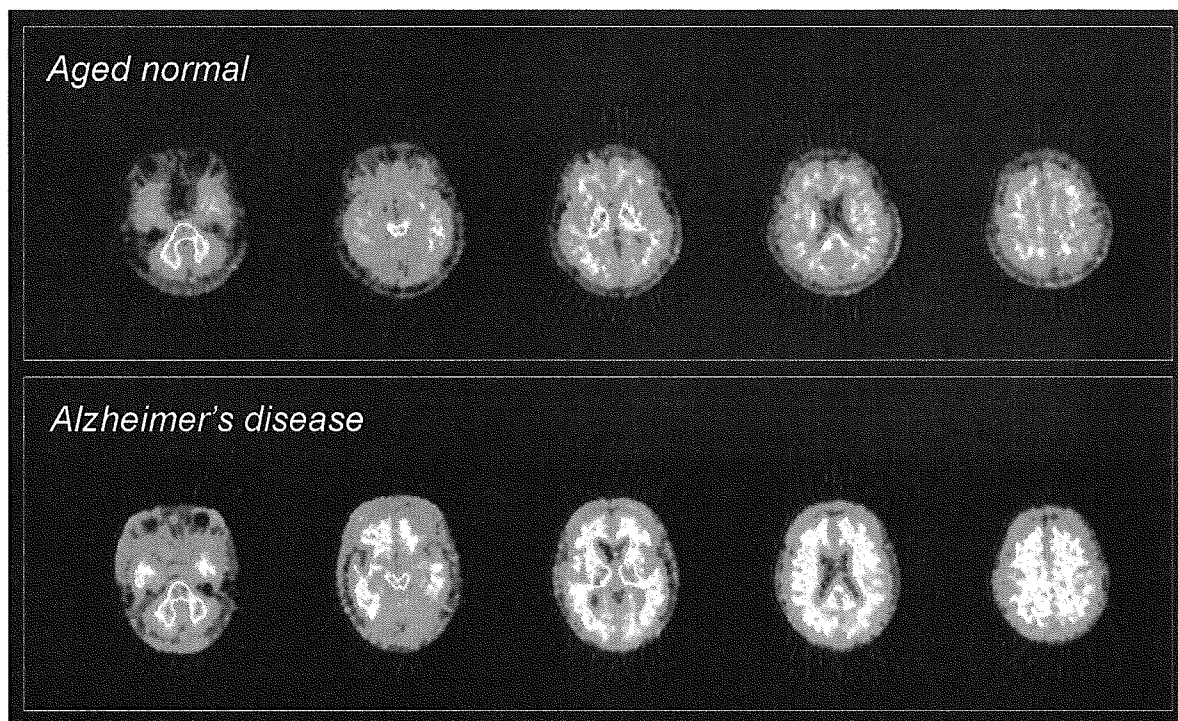


図5 健常高齢者（上段）とアルツハイマー病患者（下段）の $[^{11}\text{C}]\text{BF-227}$ 静注後 30 分～90 分における SUV 加算画像

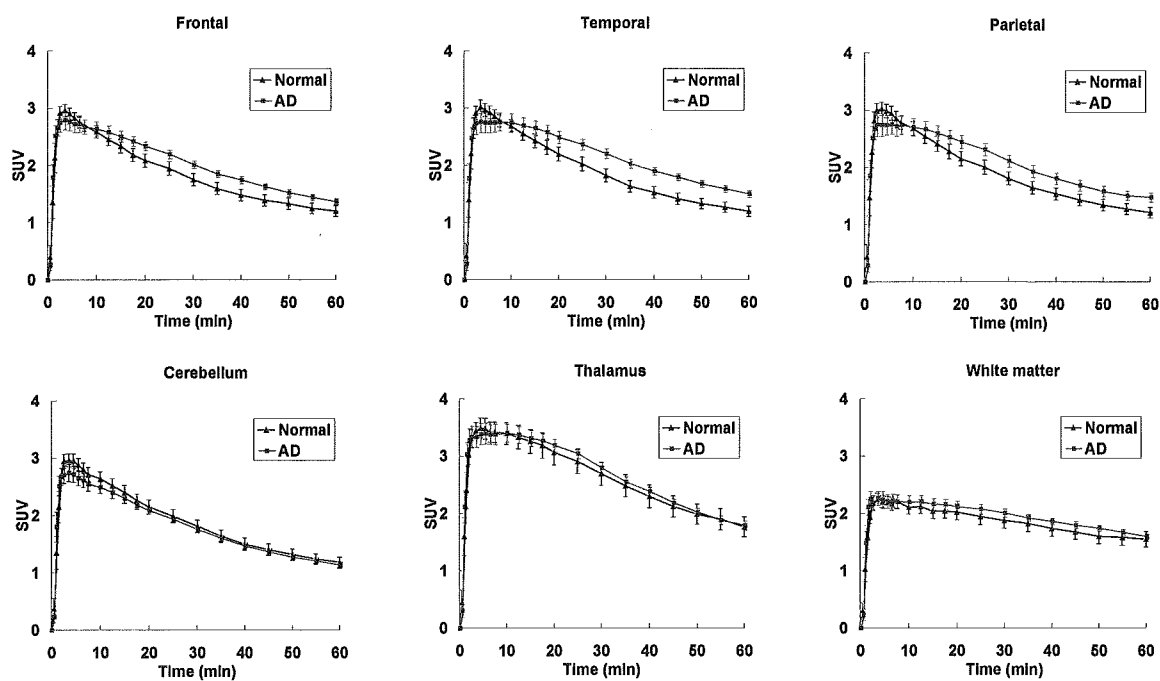


図6 前頭葉 (Frontal)、側頭葉 (Temporal)、頭頂葉 (Parietal)、小脳 (Cerebellum)、視床 (Thalamus)、白質 (White matter) における $[^{11}\text{C}]\text{BF-227}$ 静注後の時間放射能曲線
Normal: 健常者、AD: アルツハイマー病患者

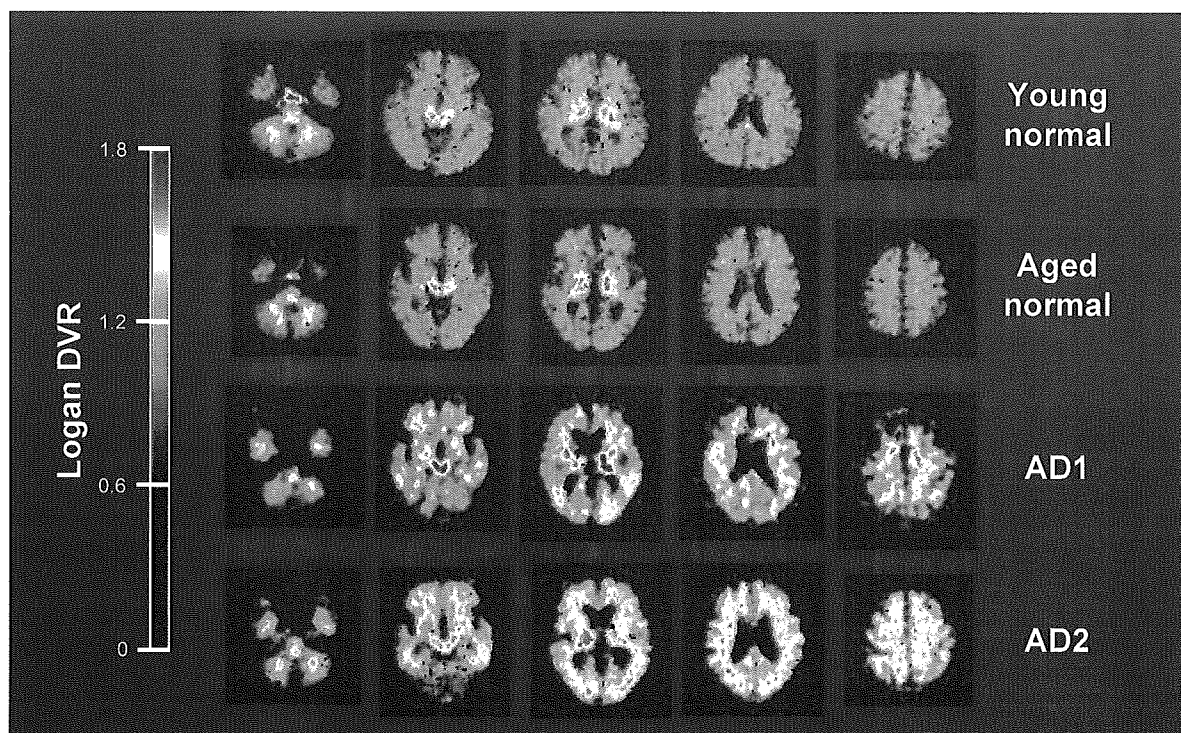


図7 健常若年者 (Young normal)、健常高齢者 (Aged normal)、アルツハイマー病患者 2 名 (AD1、AD2) の DVR 画像

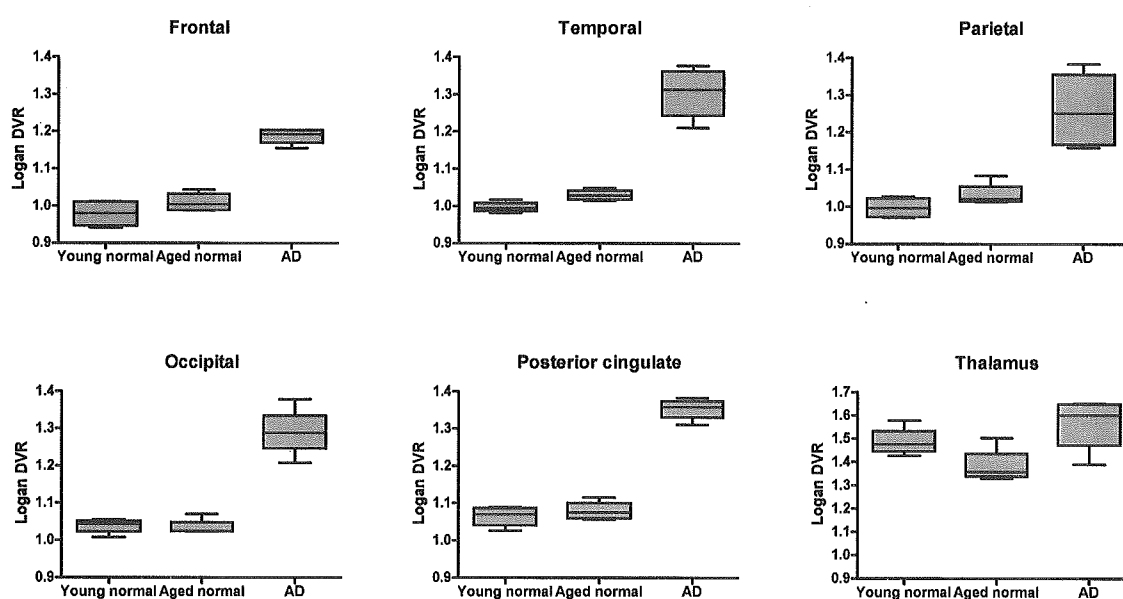


図8 前頭葉 (Frontal)、側頭葉 (Temporal)、頭頂葉 (Parietal)、後頭葉 (Occipital)、後部帯状回 (Posterior cingulate)、視床 (Thalamus) における DVR 値の群間比較 (箱ひげ図)

厚生労働科学研究費補助金（基礎研究成果の臨床応用推進研究事業）
平成 17 年度 分担研究報告書

[¹¹C]BF-227 を用いたプリオン病における脳内アミロイド蓄積の非侵襲的
PET 計測および

[¹⁸F]標識プリオン イメージング プローブの開発のための基礎試験

分担研究者	堂浦克美	東北大学医学系研究科 プリオン蛋白分子解析分野・教授
研究協力者	石川謙介	東北大学大学院医学系研究科 プリオン蛋白分子解析分野・ポスドク
研究協力者	志賀裕正	東北大学 医学部 付属病院 神経内科・講師
主任研究者	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：主任研究者らによって開発されたβシート構造とったアミロイドに結合する[¹¹C]BF-227のプリオン病患者におけるPET診断を目的とした探索的臨床試験実施のために、東北大倫理委員会へ課題名「プリオン病における脳内アミロイド蓄積の非侵襲的PET計測：アミロイドイメージングによるプリオン病の客観的診断法の確立」として申請し、承認を得た。PETマシンタイム確保のための関連書類を提出し、平成18年度初頭より探索的臨床試験を開始する予定。また主任研究者らが開発中のより臨床有用性の高い[¹⁸F]標識プローブのプリオン病における探索的臨床試験を最終目的として、今年度はF化合物と異常型プリオン蛋白との結合性を検討し、いくつかの化合物に高い結合性および異常型プリオン蛋白産生阻害効果を確認した。

A.研究目的

プリオン病は脳内に存在する正常型プリオン蛋白が通常の方法では分解されない異常型プリオン蛋白に変換され、アミロイドとして蓄積して神経細胞を死滅させることによって発病する進行性・致死性脳症である。治療法は確立しておらず、発病すれば確実に死亡する疾患であり、さらに人獣に共通する感染性疾患であるため、公衆衛生上の脅威となっている。このため日本をはじめ欧米主要国ではプリオン病に対してサーベイランス体制がとられている。

治療法の確立していないプリオン病ではあるが、最近ではキナクリン、フルピリチン、ペントサンなどを用いてプリオン病治療の試み

が積極的になされるようになってきた。そこで、治療の試みが積極的でなかった以前に比べて、プリオン病の早期診断法開発の重要性が益々認識されるようになっている。臨床早期に確定診断がなされることにより、より一層の治療効果が期待できるため、早期診断法の確立は患者さん本人にとって意義のあることである。

しかし、現在の診断基準では確定には剖検または脳生検による病理診断が必要である。つまり、現在の診断基準では生前確定診断には脳生検が必須ということになる。プリオン病患者の脳生検では、1) 脳生検による脳出血などの重篤な合併症の問題、2) 脳生検手術器具および手術室の汚染の問題があり、簡単にできること

ではない。このため、脳生検に変わる生前確定診断法の開発は重要な問題である。脳内にアミロイドが蓄積する痴呆性変性疾患としてはプリオン病以外にもアルツハイマー病などが知られている。プリオン病とアルツハイマー病などの他の痴呆性疾患とは、拡散強調 MRI による病変分布の所見に加えて PET イメージングによる脳内アミロイド分布の所見があれば、鑑別診断が確実に行うことが可能となるとともに、プリオン病の生前確定診断が可能となる。

本 厚生労働科学研究費補助金「蛋白コンフォメーションのインビボ画像診断」の主任研究者 工藤らは、有機化合物ライブラリーからアミロイド (β シート構造) に特異的に結合する PET プローブ BF-227 を開発し、今日までに変異原性試験、染色体変異試験、マウスおよびラットを用いた急性毒性試験、マウスおよびラットを用いた亜急性毒性試験、一般薬理試験、 $[^{14}\text{C}]$ ラベル化等を完了、その安全性を確認し、ヒト探索的臨床試験に応用可能な段階にまで到達させた。

一方、分担研究者 堂浦および研究協力者 石川はヒトのプリオン病脳組織やプリオン病動物を用いた研究結果をもとに、同プローブがプリオン病の脳内異常型プリオン蛋白アミロイド (特にアミロイド斑) に特異的に結合し、プリオン蛋白アミロイドイメージングに応用可能であることを明らかにしている。

そこで $[^{14}\text{C}]$ BF-227 を臨床的にほぼ確実と診断されるプリオン病患者に投与し、脳内のプリオン蛋白アミロイド蓄積の有無とその空間的分布を PET により可視化・画像化するヒトにおける探索的臨床試験実施を本研究の第1の目的とする。

B F-227 は $[^{14}\text{C}]$ 標識プローブとして開発されたが、 $[^{14}\text{C}]$ 標識プローブと $[^{18}\text{F}]$ 標識プローブでは、半減期の長い後者のプローブの方が圧倒的に臨床での有用性が高いことが知られている。主任研究者らは $[^{14}\text{C}]$ 標識プローブに加えて $[^{18}\text{F}]$ 標識プローブの開発を試みていることから、そこで、ヒトのプリオン病脳組織やプリオン病動物を用い、主任研究者らが取り組んでいる F 化化合物とプリオン病における異常型プリオン蛋白との結合性を検討し、将来的には $[^{18}\text{F}]$ 標識プローブのヒトプリオン病における探索的臨床試験実施を本研究の第2の目的とする。

また、併せて主任研究者らによって選ばれたいくつかの化合物についてプリオン病治療薬としての可能性 (異常型プリオン蛋白産生阻害作用) についても検討したので報告する。

B. 研究方法

1. $[^{14}\text{C}]$ BF-227 を用いたヒトプリオン病における探索的臨床試験

$[^{14}\text{C}]$ BF-227 を用いたヒトプリオン病における探索的臨床試験実施のために、平成 17 年 12 月 20 日開催の東北大学医学部・医学系研究科倫理委員会へ 課題名「プリオン病における脳内アミロイド蓄積の非侵襲的 PET 計測：アミロイドイメージングによるプリオン病の客観的診断法の確立」として申請した。また、平成 18 年度の PET マシンタイム確保のため、平成 18 年 2 月 27 日「第 104 回 サイクロトロン共同利用申込書 (臨床用)」を提出した。

なお、東北大学医学部・薬剤研究委員会、同臨床研究委員会への申請に関しては、既にアルツハイマー病患者を対象とした探索的臨床試験で両委員会の承認を得ていることから、改めての申請は行わなかった。

2. F 化化合物の異常型プリオン蛋白との結合性

ヒトプリオン病 (ゲルストマン・ストライヤー・シャインカー病、弧発性クロイツフェルト・ヤコブ病、硬膜移植に基づく医原性クロイツフェルト・ヤコブ病) 脳病理標本を F 化化合物溶解液で染色し、蛍光顕微鏡で観察した。いずれも連続切片において免疫染色を行い、特異性を検討した。

3. F 化化合物の異常型プリオン蛋白産生阻害作用

プリオン病モデル培養細胞を継代する際の培養上清中に、化合物を種々の濃度で加えた。コンフルエントとなった細胞を回収し、蛋白質分解酵素抵抗性の異常型プリオン蛋白産生量をウェスタンブロット法により検討し、抗プリオン蛋白産生阻害効果を観察した。

(倫理面への配慮)

プリオン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 (S 63.3.24) に従い、十分なる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. [¹¹C]BF-227 を用いたヒトプリオン病における探索的臨床試験

東北大学医学部・医学系研究科倫理委員会において、[¹¹C]BF-227 を用いたヒトプリオン病における探索的臨床試験「プリオン病における脳内アミロイド蓄積の非侵襲的 PET 計測：アミロイドイメージングによるプリオン病の客観的診断法の確立」が、承認された (平成 17 年 12 月 20 日付け、承認番号：2005-244)。

探索的臨床試験は平成 18 年度初頭より開始される予定。

2. F 化合物の異常型プリオン蛋白との結合性

東北大 (THK) シリーズ化合物溶解液による染色では、ヒトプリオン病脳標本における異常プリオン蛋白沈着が高い感度で検出された。多くの化合物が GSS 脳標本の小脳皮質分子層を中心とした異常プリオン蛋白の斑状沈着に一致した蛍光シグナルを描出した。

特に THK5B5 溶解液によって、弧発性クロイツフェルト・ヤコブ病患者脳における斑状シグナルや硬膜移植に基づく医原性クロイツフェルト・ヤコブ病患者脳標本における粗大顆粒状シグナルが鮮やかに描出された (図 1)。しかし、いずれの化合物でも免疫染色において弧発性クロイツフェルト・ヤコブ病患者大脳皮質に認められた瀰漫性微細顆粒状、あるいは空胞周囲性の異常型プリオン蛋白沈着は観察されなかった。蛍光染色は十分な分別の後背景をほとんど染めず、極めて特異的であった。

3. F 化合物の異常型プリオン蛋白産生阻害作用

検討した THK シリーズ化合物 2 種について、*in vitro* で異常型プリオン蛋白の産生阻害効果を認めた。50% の阻害を生じるのに必要な濃度 (IC₅₀) はナノモルオーダーであった (図 2)。細胞毒性は 10μM まで認められなかった。

D. 考察

[¹¹C]BF-227 を用いたヒトにおける探索的臨床試験は 既に平成 17 年 7 月 1 日より正常健常人、同 10 月 28 日よりアルツハイマー病患者で PET 画像撮影が開始されている。アミロイドに結合するプローブを用いてプリオン病患者の撮影は、現時点では恐らく世界初になると思われる。

主任、分担および研究協力者すべてが来年度からの臨床試験に期待を込めて見つめている。

アルツハイマー病のアミロイド β 蛋白に結合性の高い化合物は、プリオン病の異常型プリオン蛋白の蓄積像のうち、斑状および粗大顆粒状シグナルシグナルに結合すること および異常型プリオン蛋白の産生阻害効果を示すことが確かめられた。

E. 結論

1. アミロイドに結合する [¹¹C]BF-227 のプリオン病患者における PET 診断を目的とした探索的臨床試験実施のために、東北大 倫理委員会へ申請し承認を得た。同臨床試験は平成 18 年度初頭以降実施の予定。

2. より臨床有用性の高い [¹⁸F] 標識プローブのプリオン病における探索的臨床試験を最終目的として、今年度は F 化合物と異常型プリオン蛋白との結合性を検討し、いくつかの化合物に高い結合性および異常型プリオン蛋白産生阻害効果を確認した。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kawatake S, Nishimura Y, Sakaguchi S, Iwaki T, Doh-ura K: Surface plasmon resonance analysis for the screening of anti-prion compounds. *Biol Pharm Bull.* (in press), 2006
- 2) Rainov NG, Whittle IR, Doh-ura K: Treatment options in patients with prion disease-the role of long term cerebroventricular infusion of pentosan polysulphate. In: *Prions-Food and Drug Safety.* (ed. Kitamoto T) Springer pp.41-66, 2005
- 3) Todd NV, Morrow J, Doh-ura K, Dealler S, O'Hare S, Farling P, Duddy M, Rainov NG: Cerebroventricular infusion of pentosan polysulphate in human variant Creutzfeldt-Jakob disease. *J Infect Dis.* 50(5):394-396, 2005
- 4) Tsuboi Y, Baba Y, Doh-ura K, Imamura A, Fujioka S, Yamada T: Diffusion-weighted MRI in familial Creutzfeldt-Jacob disease with the codon 200 mutation in the prion protein gene. *J Neurol Sci.* 232:45-49, 2005
- 5) Sasaki K, Doh-Ura K, Wakisaka Y, Tomoda H, Iwaki T: Fatal familial insomnia with an unusual prion protein deposition pattern: an autopsy report with an experimental transmission study. *Neuropathol Appl Neurobiol.* Feb;31(1):80-87, 2005
- 6) 逆瀬川裕二、堂浦克美：プリオン病の治療法の現状。医学のあゆみ 215(11):901-905, 2005
- 7) 坪井義夫、山田達夫、堂浦克美：プリオン病の治療ーペントサンポリサルフェート脳室内持続投与ー。神経内科 63 (5) : 441-445, 2005

- 8)坪井義夫、山田達夫、堂浦克美：プリオン病の治療－経口キナクリン療法とペントサン硫酸の脳室内持続投与法の現状。 Brain Medical. 17(3):259-264, 2005
- 9)石川謙介、堂浦克美：プリオンイメージングの試み。臨床神経科学 24(3):313-316, 2006

2.学会発表

- 1) 堂浦克美：プリオン病治療法の開発。第7回生命化学研究会シンポジウム、仙台、2005年1月21日
- 2) 逆瀬川裕二、渡辺光太、八谷如美、堂浦克美、金子清俊：リコンビナントプリオン蛋白質を用いた蛋白質 unfolding 因子の探索。2005年プリオン研究会、天童、2005年8月26、27日
- 3) 坪井義夫、堂浦克美、山田達夫：CJDの新しい治療法の試み－ペントサンプリサルフェート脳室内持続投与。2005年プリオン研究会、天童、2005年8月26、27日
- 4) 照屋健太、堂浦克美：GPI アンカー型プリオン蛋白質アナログの調製。2005年プリオン研究会、天童、2005年8月26、27日
- 5) Ishikawa K, Kudo Y, Nishida N, Suemoto T, Sawada T, Iwaki T, Doh-ura K: Amyloid imaging probes for detection of prion plaques and treatment of prion

diseases. 2005 Japan-America Frontiers of Engineering Symposium, Hitachi Global Storage Technologies, San Jose, CA, November 3-5, 2005

- 6) 逆瀬川裕二、渡辺光太、八谷如美、堂浦克美、金子清俊：The ATP-bound form of Hsp90 can unfold recombinant prion protein. 日本分子生物学会第28回年会大阪、2005年12月7日-10日

G. 知的所有権の出願・登録状況

- 1)堂浦克美：プリオン病発症予防剤とそれを含む食品添加剤及び飼料添加剤。特願 2005-51999、平成 17 年 2 月 25 日
- 2)堂浦克美、岡周作、弘田量二、角田正也：哺乳動物組織材料の前処理方法。特願 2005-293011、平成 17 年 10 月 5 日
- 3)工藤幸司、荒井啓行、岡村信行、古本祥三、丸山将浩、堂浦克美：コンフォメーション病の診断用プローブ。特願 2005-371821、平成 17 年 12 月 26 日
- 4)工藤幸司、荒井啓行、岡村信行、古本祥三、丸山将浩、堂浦克美：コンフォメーション病診断および治療用の長波長蛍光物質を含む組成物。特願 2005-347818、平成 17 年 12 月 1 日

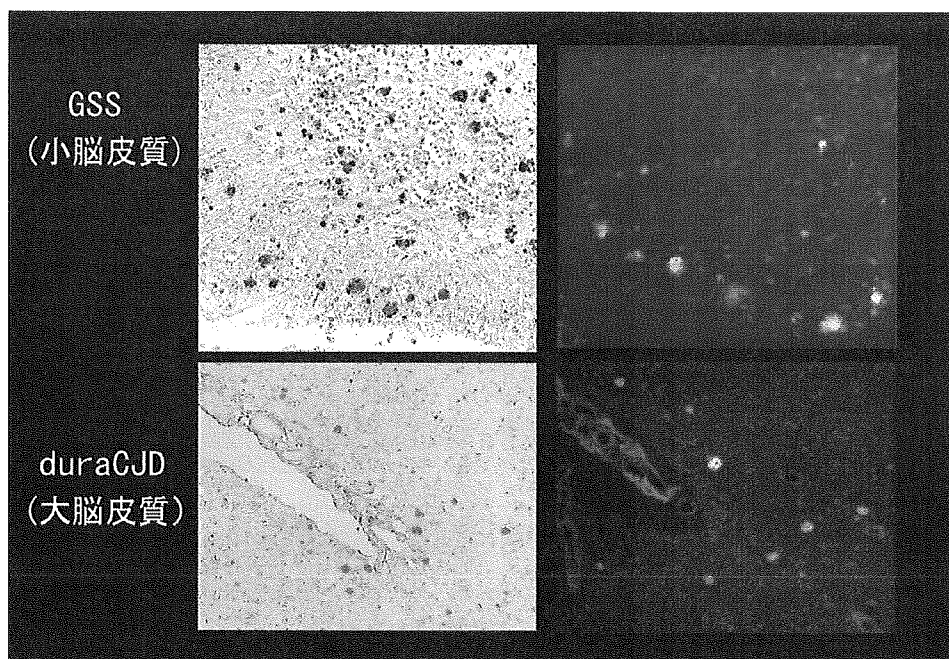


図 1. ヒト プリオン病患者脳標本における THK-5B5 の染色像
 GSS: ゲルストマン・ストライヤー・シャインカー病
 Dura CJD: 硬膜移植に基づく医原性クロイツフェルト・ヤコブ病
 左側: 抗プリオン蛋白抗体染色 右側: THK-5B5 染色

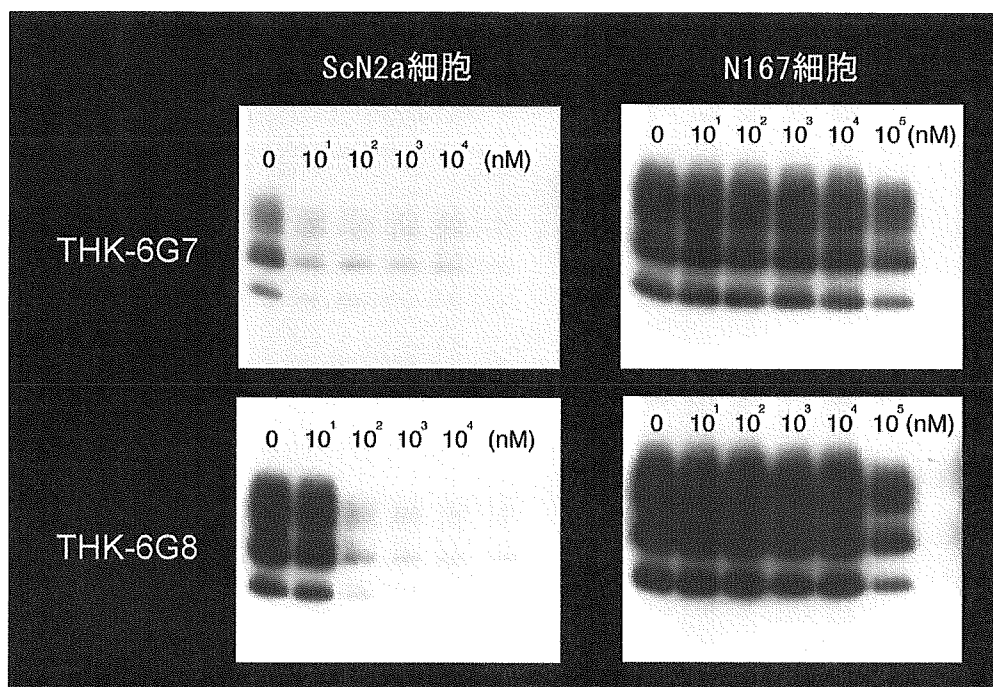


図 2. THK-6G 7 および 6G8 の異常型プリオン蛋白産生阻害効果

厚生労働科学研究費補助金（基礎研究成果の臨床応用推進研究事業）
平成17年度 分担 研究報告書

[¹⁸F]標識アミロイド イメージングプローブ
開発のためのF化化合物の最適化

主任研究者	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
分担研究者	古本祥三	東北大学先進医工学研究機構 高度情報通信分野・助手
分担研究者	岡村信行	東北大学大学院医学系研究科 機能薬理学分野・助手

研究要旨：新規[¹⁸F]標識アミロイドイメージングプローブを開発することを目的に、約750化合物をスクリーニングした。代表的F化化合物 THK-5B5 および THK-7B7 はAβに親和性が高く、アルツハイマー病患者脳切片においてAβないしは老人斑を認識し、静脈内投与された両化合物はTgマウスにおいて選択的に脳アミロイド斑に結合し、静脈内投与された両[¹⁸F]標識体はマウスにおいて脳移行性・脳からのクリアランスに優れていた。

A. 研究目的

主任研究者らによって開発されたBF-227は[¹¹C]標識プローブとして開発されたが、[¹¹C]標識プローブと[¹⁸F]標識プローブでは、半減期の長い後者のプローブの方が圧倒的に臨床での有用性が高いことが知られている（半減期；[¹¹C]: 20分、[¹⁸F]: 109.7分）。さらに[¹¹C]標識プローブでは短い半減期のゆえに、PET装置の近傍に設置されたサイクロトロン-標識合成装置で標識合成し供給することが求められるが、[¹⁸F]標識プローブではサイクロトロン-標識合成装置を備えた工場で合成し、それを各PET施設へ運搬することも可能であり、事実ガン診断用プローブとして普及してきた[¹⁸F]FDGの供給では一部この方式がとられている。運搬方式ではPET施設内近傍にサイクロトロン-標識合成装置を設置する必要がなく、PET導入に際して医療機関の経済的負担が軽減されるメリットがある。現時点において有用性が高いことが報告されている[¹¹C]PIB、[¹¹C]SB-13 そし

て[¹¹C]BF-227等のアミロイドイメージング プローブはすべて [¹¹C]標識体であるが、以上の理由からこの診断法を今後広く世に普及されるためには、優れた[¹⁸F]標識プローブを開発する必要がある。

そこでわれわれもこれまで培ってきたノウハウを基に優れた新規[¹⁸F]標識アミロイドイメージングプローブを開発することを最終目標に、平成16年度から研究に着手した。これまでの経験から[¹⁸F]標識プローブ開発の難しさの第1は 母化合物の特性をいかにして保ちつつ[¹⁸F]標識化するかである。

平成17年度末までに約750化合物をスクリーニングし、それらのデータを基にいくつかのF化化合物およびそれらの前駆体を新規合成するとともに、前駆体から合成された[¹⁸F]標識体を用いて各種試験を実施したので報告する。

B. 研究方法

以下の手順で実験を行った。

I. アルツハイマー病診断用[¹⁸F]標識プローブの開

発

- 1) 市販および化合物供給商社からの化合物の購入
- 2) 各種薬理試験の実施
- 3) 2) または5) ~9) のデータを基に新規F化号物のドラッグデザイン
- 4) F化化合物の合成 (外注)
- 5) F化合物の凝集アミロイドβ蛋白 (Aβ) に対する結合性 (インビトロ)
- 6) F化最適化化合物のAD患者脳における染色性の検討
- 7) F化最適化化合物の血液-脳関門透過性検討 (インビボ)
- 8) 選ばれたヒットF化化合物の急性毒性検討 (マウス、静脈内投与)
- 9) ヒット化合物のAβ蛋白脳内蓄積動物での検討 (インビボ)
- 10) 3) ~9) を繰り返し、11) へ進捗させる化合物を決定する。
- 11) [¹⁸F] 標識化号物合成用の前駆体合成 (外注)
- 12) [¹⁸F] 標識プローブの手動合成法の開発
- 13) [¹⁸F] 標識プローブのAβ白蓄積Tgマウスにおけるオートラジオグラフ撮影
- 14) [¹⁸F] 標識プローブの血液-脳関門透過性検討

II. プリオン病診断用[¹⁸F]標識プローブの開発

プリオン病関連については23ページ、堂浦らの分担研究報告書「[¹⁴C]BF-227を用いたプリオン病における脳内アミロイド蓄積の非侵襲的PET計測および[¹⁸F]標識プリオン イメージング プローブの開発のための基礎試験」をご参照ください。

(倫理面への配慮)

アルツハイマー病患者脳、プリオン病患者脳を使用する場合、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、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、十分なる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

I. アルツハイマー病診断用[¹⁸F]標識プローブの開発

平成 18 年 3 月 28 日までに、約 750 化合物をスクリーニングし、その結果を基に 8 個の新規 F 化

化合物を合成し、各種薬理試験に供した。

代表的な THK-5B5 および THK-7B7 の薬理作用を紹介する。図 1 に THK-5B5 の凝集および非凝集 Aβ 1-42 に対する結合性の違いを示した。THK-5B5 は非凝集 (βシート構造をとらない) Aβ 1-42 には結合しなかったが、凝集 (βシート構造をとる) Aβ 1-42 に結合した (βシート構造をとる Aβ に選択的に結合した)。

図 2 および 3 にアルツハイマー病脳切片における両化合物の染色性を示した。両化合物はアルツハイマー病患者脳の Aβ ないしは老人斑に結合した。

次に脳内に Aβ が蓄積するトランスジェニックマウスに両化合物を静脈内投与したところ、両化合物は血液-脳関門を透過し、脳内アミロイド斑に結合した (図 4 および 5)。

両化合物の [¹⁸F] 標識体をそれぞれの前駆体から合成し、マウスを用い静脈内投与で脳移行性を検討したところ、脳内含量は、2 および 60 分後において、[¹⁸F]THK-5B5 ではそれぞれ 4.7 および 1.4%ID (injected Dose) /g 脳、[¹⁸F]THK-7B7 では 4.1 および 0.7 ID /g 脳であり、投与直後には大用量が脳へ移行しその後速やかに脳からクリアランスされるという診断用プローブとして求められる特性を満たしていた。

II. プリオン病診断用[¹⁸F]標識プローブの開発

プリオン病関連については 23 ページ、堂浦らの分担研究報告書「[¹⁴C]BF-227を用いたプリオン病における脳内アミロイド蓄積の非侵襲的PET計測および[¹⁸F]標識プリオン イメージング プローブの開発のための基礎試験」をご参照ください。

D. 考察

新規[¹⁸F]標識アミロイドイメージングプローブを開発することを最終目標に、約 750 化合物をスクリーニングし、それらのデータを基に 8 個の F 化化合物およびそれらの前駆体を新規合成するとともに、前駆体から合成された[¹⁸F]標識体を用いて各種試験を実施した。代表的 F 化化合物 THK-5B5 および THK-7B7 は Aβ に親和性が高く、アルツハイマー病患者脳切片において Aβ ないしは老人斑を認識し、静脈内投与された両化合物は Tg マウスにおいて選択的に脳アミロイド斑に結合し、静脈内投与された両[¹⁸F]標識体はマウスにおいて脳移行性・脳からのクリアランスに優れていた。

今後さらに化合物の最適化を重ね、平成 19 年度中には探索的臨床試験までたどりつく予定である。

なお、これまで臨床使用されてきたアミロイドイメージングプローブは程度の差こそあれいずれも変異原性を有しているが、我々は長年の化学構造－薬理活性相関の検討から、遂に世界に先駆けて変異原性フリープローブのいくつかの基本構造を見いだすことができた。当然、THK シリーズの化合物群は変異原性フリーである。

E. 結論

1. 新規^[18F]標識アミロイドイメージングプローブを開発することを最終目標に、約 750 化合物をスクリーニングした。

2. 代表的 F 化合物 THK-5B5 および THK-7B7 は Aβ に親和性が高く、アルツハイマー病患者脳切片において Aβ ないしは老人斑を認識し、静脈内投与された両化合物は Tg マウスにおいて選択的に脳アミロイド斑に結合し、静脈内投与された両^[18F]標識体はマウスにおいて脳移行性・脳からのクリアランスに優れていた。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Kudo Y, Okamura N, Furumoto S, Funaki Y, Tashiro M, Maruyama M, Suemoto T, Akatsu H, Yamamoto T, Sawada T, Iwata R, Yanai K, Arai H.: BF-227, a novel PET imaging agent for in vivo detection of amyloid plaque in Alzheimer's disease. *J Neurosci.* (submitted)
2. Okamura N, Suemoto T, Furumoto S, Suzuki M, Shimadzu H, Akatsu H, Yamamoto T, Fujiwara H, Nemoto M, Maruyama M, Arai H, Yanai K, Sawada T, Kudo Y: Quinoline and Benzimidazole Derivatives: Candidate Probes for In Vivo Imaging of Tau Pathology in Alzheimer's Disease. *J Neurosci.* 25: 10857-10862, 2005.
3. Maruyama M, Ishizawa K, Tomita N, Nemoto M, Yasuda H, Ebihara S, Ohru T, Seki T, Iwasaki K, Okamura N, Higuchi M, Yoshida H, Kudo Y, Arai H, Sasaki H: Lithium therapy and cerebrospinal fluid biomarker levels in Alzheimer's disease. *Geriatr Gerontol Int.* 5:298-300, 2005
4. Okamura N, Suemoto T, Furumoto S, Suzuki M, Shimadzu H, Akatsu H, Yamamoto T, Fujiwara H, Nemoto M, Maruyama M, Arai H, Yanai K, Sawada T and Kudo Y. Quinoline and benzimidazole derivatives: candidate

probes for in vivo imaging of tau pathology in Alzheimer's disease. *J Neurosci* (2005) 25: 10857- 10862

5. Maruyama M, Ishizawa K, Tomita N, Nemoto M, Yasuda Y, Ebihara, Ohru T, Seki T, Iwasaki K, Okamura N, Higuchi M, Yoshida H, Kudo Y, Arai H, Sasaki H. Lithium therapy and cerebrospinal fluid biomarker levels in Alzheimer's disease. *Geriatr Gerontol Int* (2005) 5: 298-300
6. 工藤幸司：アルツハイマー病診断用プローブ. 日本薬理学会雑誌. (2005) 126:199-205
7. 工藤幸司：アルツハイマー病の画像診断の進歩: 老年医学 Update2005-2006(2005) PP45-55、編集日本老年医学会雑誌編集委員会、メディカルビュー社、東京

2. 学会発表

11. Okamura N., S. Furumoto, M. Maruyama, M. Tashiro, Y. Funaki, M. Kato, M. Nemoto, H. Akatsu, T. Yamamoto, T. Sawada, M. Itoh, R. Iwata, H. Arai, K. Yanai, Y. Kudo. Development of novel PET tracer for in vivo detection of amyloid plaques. The 7th International Conference on Alzheimer's and Parkinson's Disease, 2005 年 3 月 9 日-13 日 (Sorrento, Italy)
12. S. Furumoto, N. Okamura, Y. Ishikawa, M. Tashiro, M. Kato, Y. Funaki, M. Maruyama, H. Akatsu, T. Suemoto, T. Yamamoto, H. Arai, T. Sawada, R. Iwata, K. Yanai, Y. Kudo; "[¹¹C]BF227: A New ¹¹C-Labeled 2-Ethenylbenzoxazole Derivative for Amyloid-β Plaques Imaging" Annual Congress of the European Association of Nuclear Medicine, Istanbul (Turkey), October 15-19, 2005.
13. Takai Y., Kaneta T., Hakamatsuka T., Nemoto K., Yamada S., Iwata R., Funaki Y., Furumoto S., Nakata E., Kudo Y. Tujitani N., "[¹⁸F]FRP-170: Novel Hypoxia Marker for PET: Animal Data Analysis, and Evaluation in Normal Volunteers and Initial Clinical Experience", American Society for Therapeutic Radiology and Oncology, 47th Annual Meeting held in Denver, Colorado, October 16-20, 2005.
14. Okamura N., S. Furumoto, M. Maruyama, M. Tashiro, Y. Funaki, M. Kato, M. Nemoto, H. Akatsu, T. Yamamoto, T. Sawada, M. Itoh, R. Iwata, H. Arai, K. Yanai, Y. Kudo, "In vivo imaging amyloid plaques in the brain using BF-227", Society for Neuroscience, 35th Annual Meeting, Washington

G. 知的所有権の出願・登録状況

1. 特願 2006-047064 ・ アミロイド β 蛋白が蓄積する疾患の画像診断プローブ、平成 18 年 2 月 23 日、東北大学、工藤幸司、荒井啓行、岡村信行、古本祥三、谷内一彦
2. 特願 2005-371821 ・ コンフォメーション病の診断用プローブ、平成 17 年 12 月 26 日、東北大学、工藤幸司、荒井啓行、岡村信行、古本祥三、丸山将浩、堂浦克美
3. 特願 2005-347818 ・ コンフォメーション病診断および治療用の長波長蛍光物質を含む組成物、平成 17 年 12 月 1 日、東北大学、工藤幸司、荒井啓行、岡村信行、古本祥三、丸山将浩、堂浦克美
4. 特願 2005-322230 ・ アミロイド蓄積性疾患の新規診断用装置およびその操作方法、平成 17 年 11 月 7 日、東北大学、工藤幸司、荒井啓行、岡村信行、古本祥三、丸山将浩

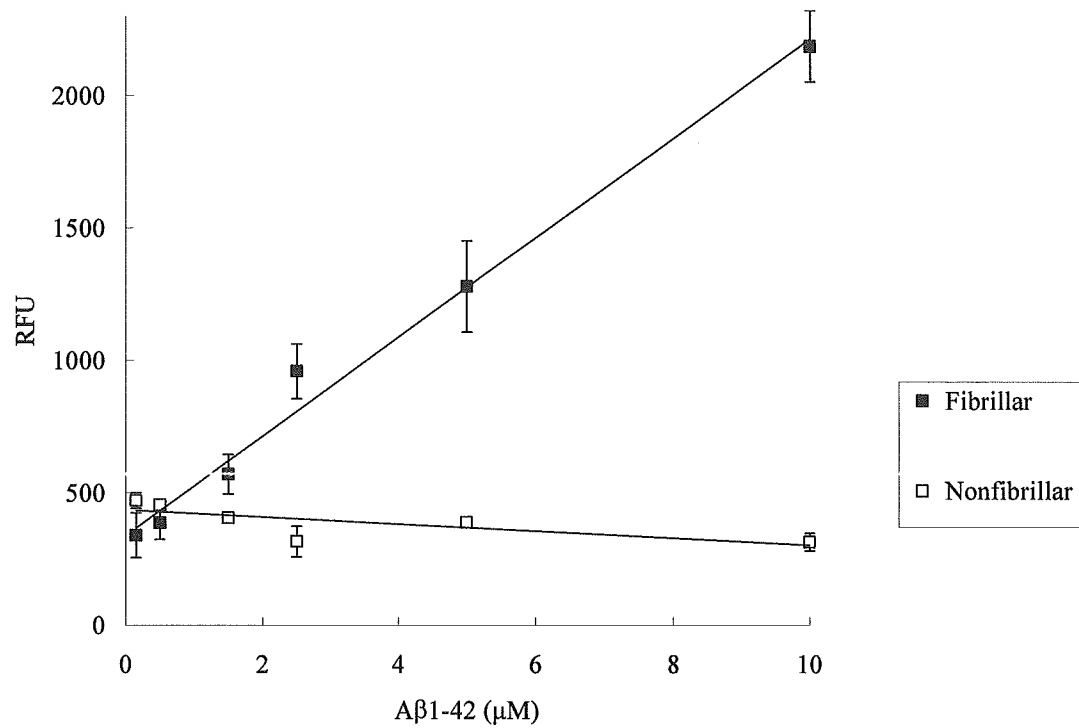


図 1. 非凝集および凝集 Aβ 1-42 に対する THK-5B5 の結合性 (蛍光光度計データ)
 THK-5B5 の濃度は 1 μ M、縦軸は蛍光強度
 THK-5B5 は非凝集 (β シート構造をとらない) Aβ 1-42 には結合しなかったが、
 凝集 (β シート構造をとる) Aβ 1-42 には Aβ 濃度依存的に結合した。

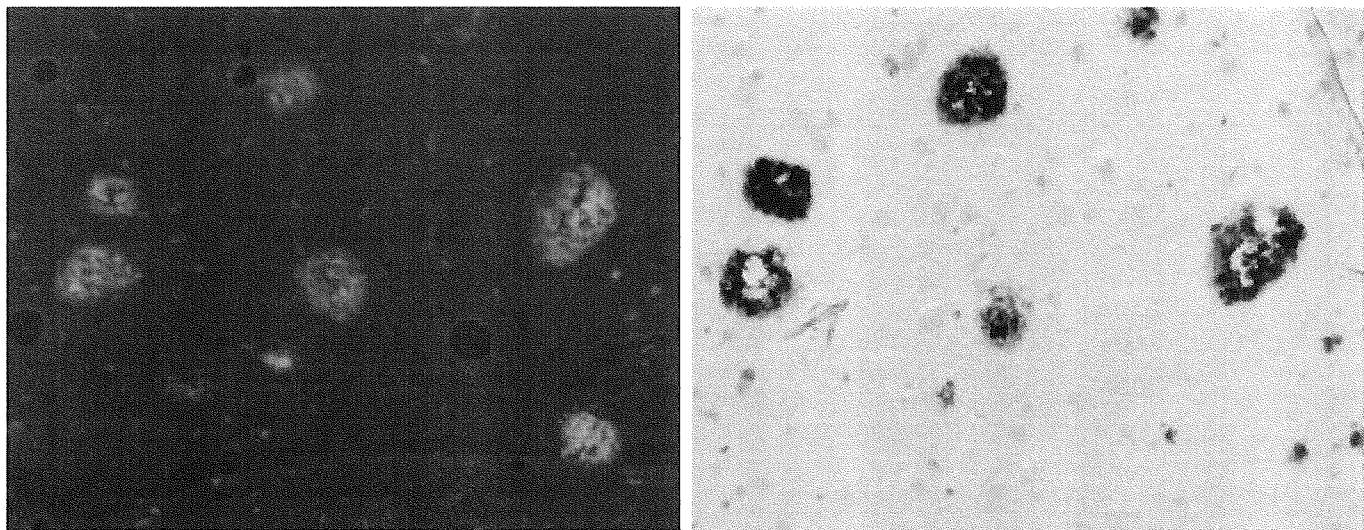


図 2. アルツハイマー病患者脳における THK-5B5 と抗 A β 抗体染色
 左：THK-5B 5 染色 右：隣接切片における抗 A β 抗体染色

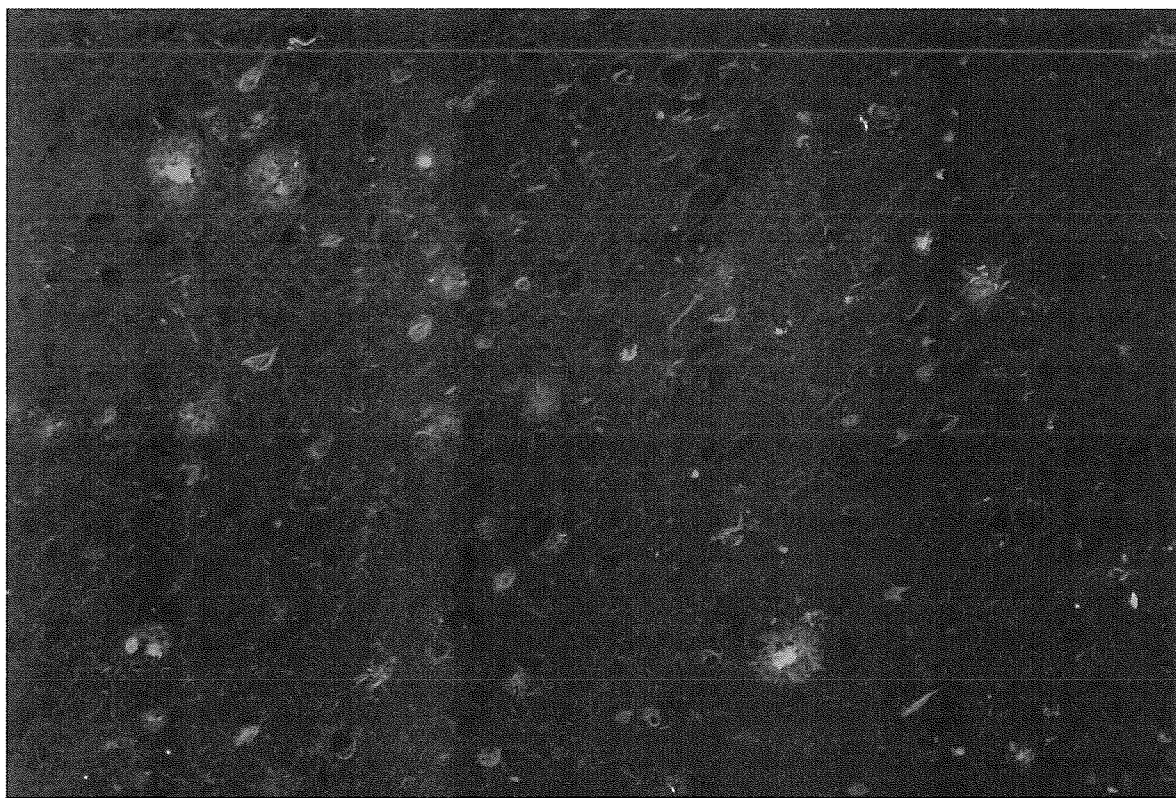


図 3. アルツハイマー病患者脳における THK-7B7 の染色性

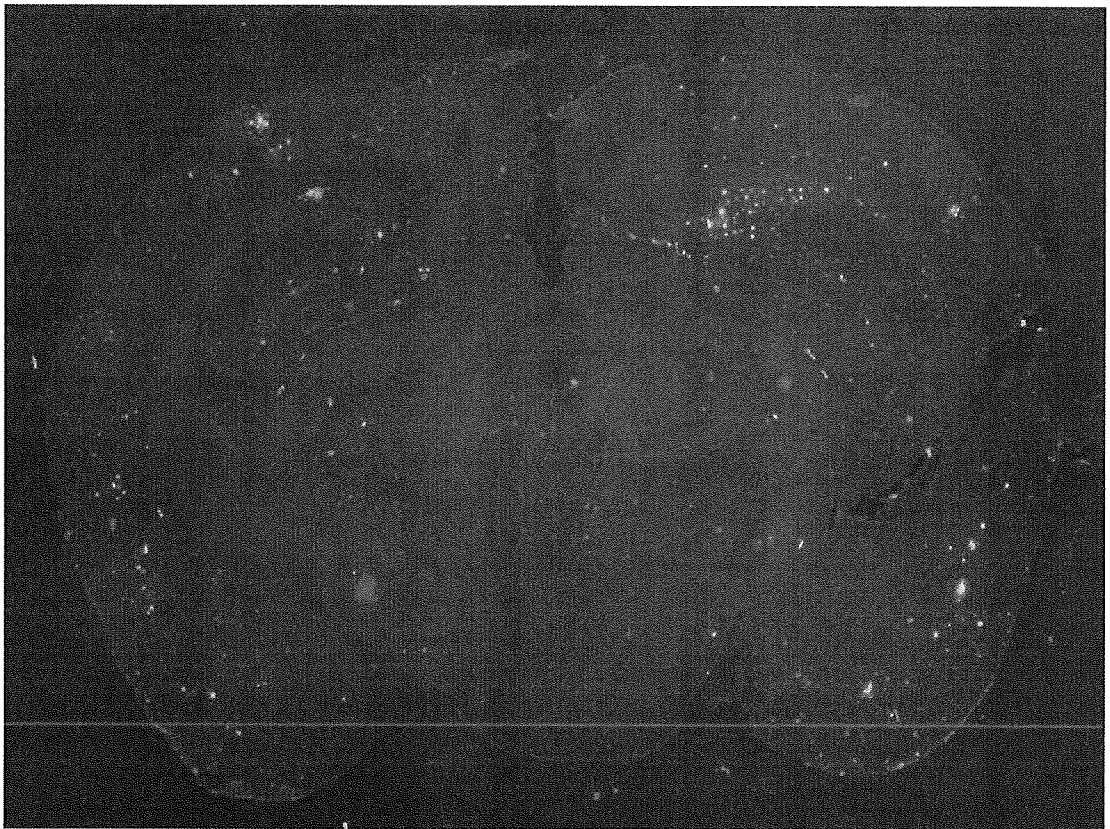


図 4. A β が脳内に蓄積する Tg マウスに THK-5B5 を静脈内投与した 1 例
THK-5B5 は血液-脳関門を透過し、Tg マウス脳内のアミロイド斑に結合した。

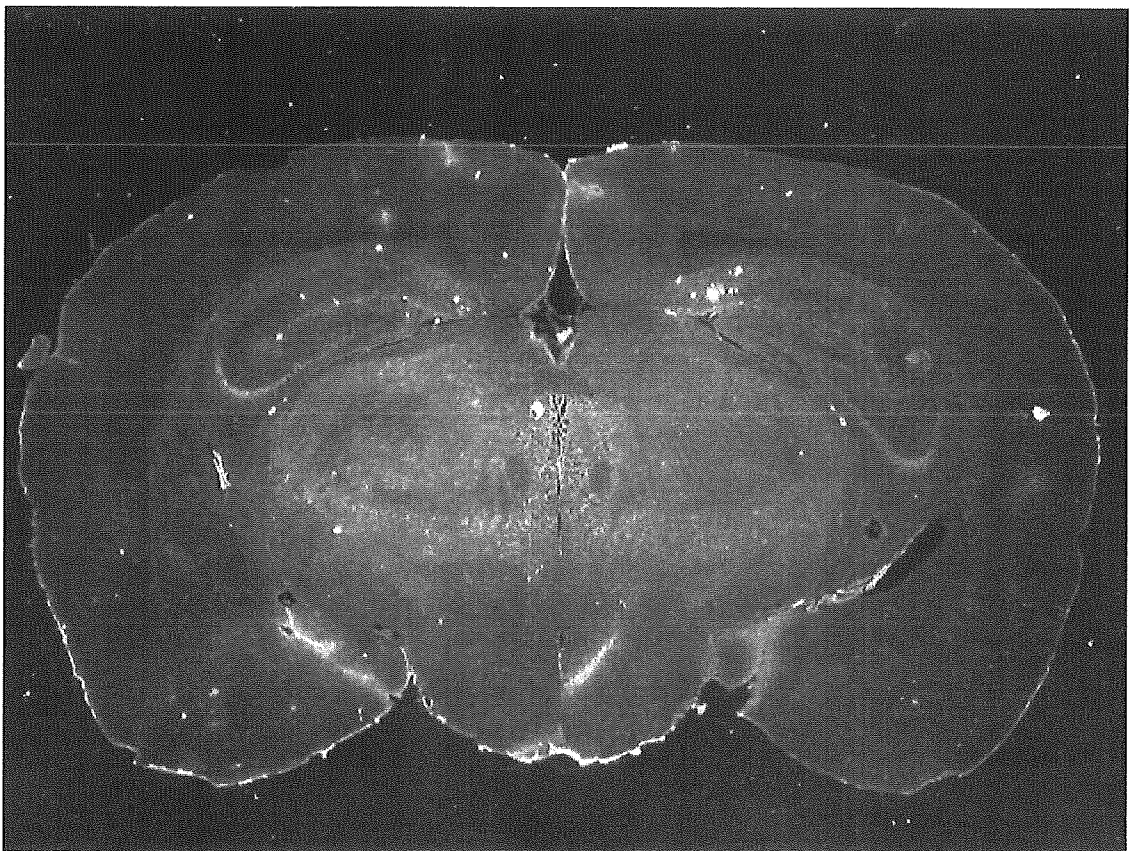


図 4. A β が脳内に蓄積する Tg マウスに THK-7B7 を静脈内投与した 1 例
THK-7B7 は血液-脳関門を透過し、Tg マウス脳内のアミロイド斑に結合した。

研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書 籍 名	出版社名	出版地	出版年	ページ
工藤幸司	アルツハイマー病の画像診断の進歩	日本老年医学会雑誌編集委員会	老年医学 update 2005-06	メディカルビュー社	東京	2005	45-55
工藤幸司	PET によるアミロイド イメージングーアルツハイマー病の新しい診断法ー	福田寛	脳の形態と機能ー画像医学の進歩	新興医学出版社	東京	2005	77-87
岡村信行 工藤幸司	痴呆の画像診断-脳アミロイド`画像化の試み-	平井俊策	よくわかって役に立つ痴呆症のすべて	永井書店	大阪	2005	134-145
Rainov N, Whittle IR., Doh-ura K	Treatment options in patients with prion disease-the role of long term cerebroventricular infusion of pentosan polysulphate	Kitamoto T	Prions-Food and Drug Safety	Springer	Tokyo	2005	41-65

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻	ページ	出版年
Okamura N, Suemoto T, Furumoto S, Suzuki M, Shimadzu H, Akatsu H, Yamamoto T, Fujiwara H, Nemoto M, Maruyama M, Arai H, Yanai K, Sawada T, Kudo Y	Quinoline and Benzimidazole Derivatives: Candidate Probes for In Vivo Imaging of Tau Pathology in Alzheimer's Disease	J Neurosci	25	10857-10862	2005
Todd NV, Morrow J, Doh-ura K, Dealler S, O'Hare S, Farling P, Duddy M, Rainov NG	Cerebroventricular infusion of pentosan polysulphate in human variant Creutzfeldt-Jakob disease	J Infect Dis	50	394-396	2005
Tsuboi Y, Baba Y, Doh-ura K, Imamura A, Fujioka S, Yamada T	: Diffusion-weighted MRI in familial Creutzfeldt-Jacob disease with the codon 200 mutation in the prion protein gene	J Neurol Sci	232	45-49	2005
Sasaki K, Doh-Ura K, Wakisaka Y, Tomoda H, Iwaki T:	Fatal familial insomnia with an unusual prion protein deposition pattern: an autopsy report with an experimental transmission study	Neuropathol Appl Neurobiol	31	80-87	2005

工藤幸司	アルツハイマー病診断用プローブ	日本薬理学雑誌	126	199-205	2005
逆瀬川裕二、堂浦克美	プリオン病の治療法の現状	医学のあゆみ	215	901-905	2005
坪井義夫、山田達夫、堂浦克美	プリオン病の治療－ペントサンポリサルフェート脳室内持続投与－	神経内科	63	441-445	2005
坪井義夫、山田達夫、堂浦克美	プリオン病の治療－経口キナクリン療法とペントサン硫酸の脳室内持続投与方法の現状	Brain Medical	17	259-264	2005
石川謙介、堂浦克美	プリオンイメージングの試み	臨床神経科学	24	313-316	2005

研究成果の刊行物・別刷