

tTAC) より、Logan plot 法により総分布容積 (distribution volume: DV) を各画素ごとに推定し、小脳に設定した関心領域における DV 値に対する各画素の DV 値の比 (distribution volume ratio: DVR) を求め、集積の指標とした。また、BF227 の解析については、2-組織-3-コンパートメントモデルでの解析も実施した。

それぞれの被験者において FDG-PET の SUV 画像と、BF227-PET、PIB-PET の DVR 画像を MRI 画像に重ねあわせ、同一部位で切り直して比較対照した。

C. 研究結果

1. BF227 と PIB の pTAC と tTAC の違い

図 1 に、同一のアルツハイマー病患者で施行した BF227 と PIB の動脈血と脳における SUV の経時変化を示す。動脈血濃度のピークに対する脳組織濃度のピーク高さは BF227 で 50% 程度であるのに対し、PIB では 120% 程度であり、PIB の方が脳へ移行しやすい性質がある。また、PIB の法が脳組織濃度カーブの立ち上がり、洗い出しとも速

やかであった。小脳に対する皮質領域の SUV で見た比は、アルツハイマー病患者脳の最も高い部位で BF227 では 1.4 であったのに対し、PIB では 2.8 と、PIB の方が SUV イメージのコントラストは良好であった。

健常者 2 例及びアルツハイマー症例 1 例について、2-組織-3-コンパートメントモデルでの解析を実施した。推定アルゴリズムには、Interior reflective Newton method を使用し、コンパートメントモデルを構成する全ての速度定数、 $K_1 \sim k_4$ を推定することができた。その結果、アルツハイマー症例では、BF227 の特異的結合サイトへの結合能を反映する binding potential (BP) が健常症例と比較して亢進傾向が見られた。しかし、本年度の例数が 3 例と少ないことから、追加症例を通して次年度に更に検討が必要である。

また、BF227 の結合サイト (DV) 画像化のための Logan plot は、その可用性を示され、図 2 及び 3 のような画像を得た。この DV 画像がどの程度特異的結合 (BP) を反映するかは、例数を増や

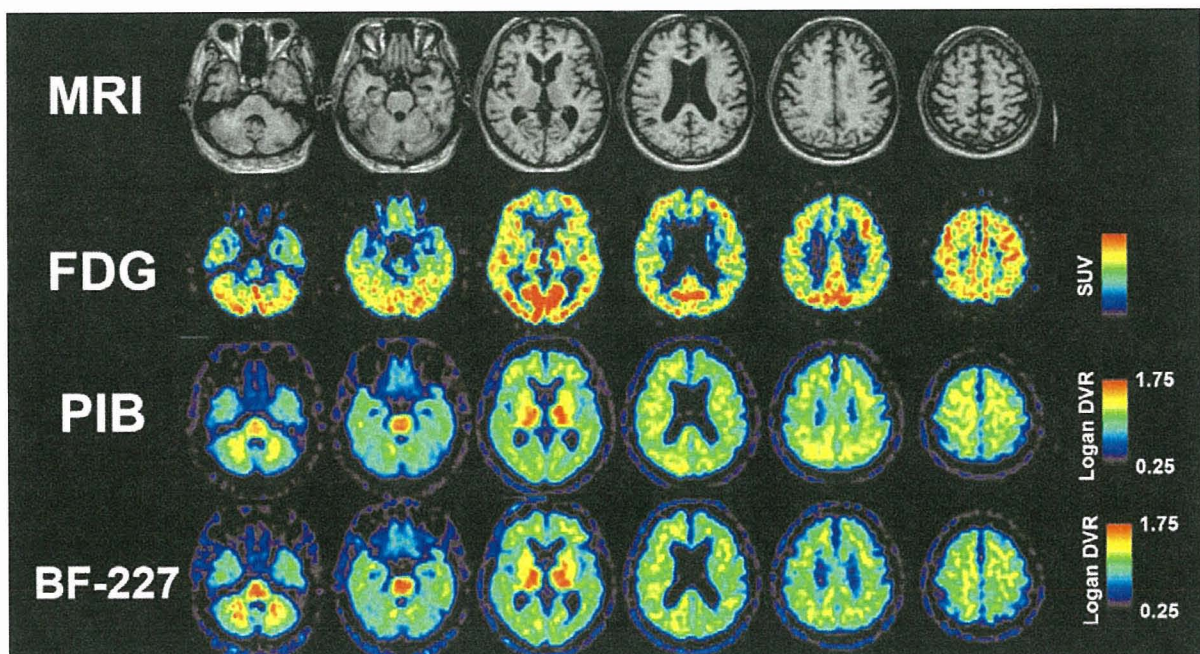


図 2 健常者 (79 歳 男性) における画像。PIB、BF227 は Logan DVR で比較。ともに大脳皮質には同程度の集積を認める。

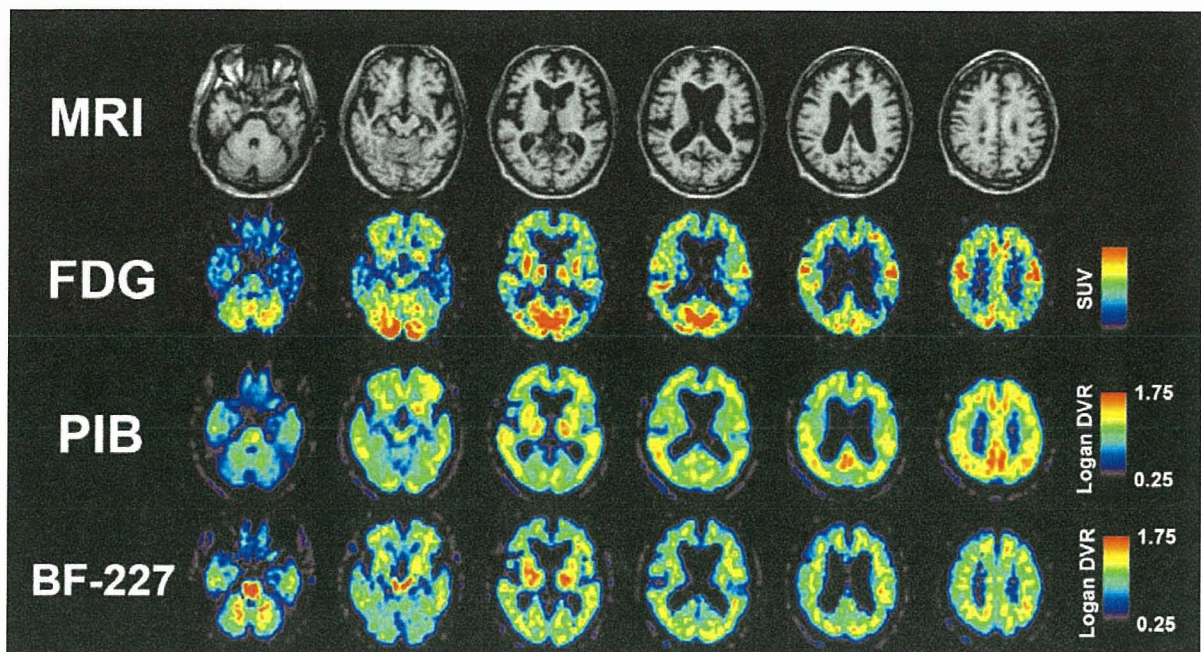


図3 アルツハイマー病患者（82歳 男性）における画像。PIB、BF227はLogan DVRで比較。ともに大脳皮質への集積は健常者に比べ高いがPIBではコントラストが明瞭である

しての追加検討が必要である。

図2に健常者におけるDVR画像、図3にアルツハイマー病患者におけるDVR画像を示す。DVR値で見たBF227とPIB集積は、健常者では大脳新皮質楔前部においていずれも1.2前後の値であったが、アルツハイマー病患者では、同一部位でBF227が1.4、PIBが1.9であり、PIBの方が良好なコントラストを示した。また、視床、橋、小脳髄質における非特異的集積はPIBよりもBF227の方が高い傾向が見られた。

D. 考察

BF227とPIBは、いずれも健常者に比べ、アルツハイマー病患者脳で集積が高く、アミロイドの集積を反映した情報をPETにより得ることができると考えられた。正常と患者の差はPIBの方が大きく、診断の感度は優れていると考えられた。両者の性質はやや異なり、アミロイドカスケード

におけるどのようなステージをとらえているかについて今後の検討を要する。両トレーサの集積が異なったステージをとらえているのであれば、疾患の進展の経時的評価に役立つ可能性がある。

E. 結論

BF227とPIBはアルツハイマー病において集積が上昇する。BF227は非特異的集積が多く、PIBの方が感度が高いと考えられる。両者を使い分けることで、より詳しい病態解析ができる可能性がある。

[参考文献]

1. Klunk WE et al. Ann Neurol. 2004;55:306-319
2. Price JC et al. J Cereb Blood Flow Metab. 2005;25:1528-1547
3. Mintun MA et al. Neurology. 2006;67:446-452
4. 石井賢二. Cognition and Dementia 6(1), 68-73, 2007.

F. 研究発表

1. 論文発表

なし。

2. 学会発表

石井賢二、石渡喜一、木村裕一、織田圭一、橋本昌也、Klunk William、Mathis Chester、金丸和富、齋藤祐子、村山繁雄・アミロイドプローベ PIB によるアルツハイマー病脳内アミロイド蓄積の検討・第 46 回日本核医学会学術総会・鹿児島・2006.11.9-11

G. 知的財産権の出願・登録状況（予定も含む）

1. 特許取得

なし。

2. 実用新案登録

なし。

3. その他

なし。

アルツハイマー病の早期診断を目的としたアミロイドイメージング用 PET プ ローブ [¹¹C]BF-227 の開発

分担研究者：岡村信行¹

研究協力者：古川勝敏²、加藤元久¹、伊藤啓¹、荒井啓行²

(¹ 東北大学大学院医学系研究科機能薬理学分野、² 東北大学病院老年科・漢方内科)

[研究要旨]

本研究では、[¹¹C]BF-227 のアルツハイマー病 (AD) 早期診断における有用性を検討する目的で、AD 患者、軽度認知機能障害 (MCI) 症例を対象とした [¹¹C]BF-227 PET 検査を実施した。その結果、AD 患者の全例、および過半数の MCI 症例で [¹¹C]BF-227 の大脳皮質領域での集積上昇が確認された。本研究結果から [¹¹C]BF-227 を用いた PET 検査の AD 早期診断における有用性が示唆された。

A. 研究目的

高齢化社会の進展とともに、わが国におけるアルツハイマー病 (AD) 患者数は急増している。AD の特徴的な病理所見変化は、老人斑と神経原線維変化の脳内への蓄積であり、認知症の初期症状が現れる数十年前から蓄積が始まるものと考えられている。臨床的には軽度認知機能障害 (MCI) に相当するごく早期の段階でも老人斑の蓄積は進行しており、このような臨床像と病理像のギャップを埋めることが、早期段階からの治療介入をはかるうえで重要となる。

我々は、アミロイドイメージング用プローブの候補化合物として BF-168 などの Benzoxazole 誘導体を開発し、さらにその最適化化合物である [¹¹C]BF-227 (図 1) の臨床評価を 2005 年夏から開始している。そこで我々は、本 PET プローブの AD 早期診断における有用性を検証することを目的として、本年度は 25 名の症例で [¹¹C]BF-227 を

用いた PET 検査を実施した。AD の発症予備群とみなされている MCI 症例の画像所見を AD 患者と比較し、AD 早期診断法としての本画像診断プローブの可能性を探索した。

B. 研究方法

1. 対象

PET 検査の対象となったのは、東北大学病院老年科もの忘れ外来に通院中の AD 患者 8 名 (平均 MMSE スコア 21 点)、MCI 症例 10 名 (平均 MMSE スコア 26 点)、その他の認知症 3 名、健常高齢者 4 名の計 25 症例である。AD の臨床診断は、NINCDS-ADRDA による probable AD の基準を用いた。また MCI は、Petersen らの amnesic MCI の定義 (Arch Neurol 1999;56:303-308) に従った。

2. PET 検査

PET 検査は全て東北大学サイクロトロン RI センターで実施した。PET スキャナーは島津製作所

製 SET-2400W を 3D モードで使用した。 $[^{11}\text{C}]$ BF-227 を 185~370 MBq 静注投与し、その直後から 60 分間のダイナミックスキャンを実施した。スキャンのプロトコールは、30 秒×5 フレーム、60 秒×5 フレーム、150 秒×5 フレーム、300 秒×8 フレームの計 23 フレームとした。図 1 に $[^{11}\text{C}]$ BF-227 の標識合成法を示した。

画像データの解析は以下の手順で実施した。まず SPM2 ソフトウェアの coregistration 機能を用いて、 $[^{11}\text{C}]$ BF-227-PET の SUV 画像を各被験者の MRI T1 強調画像に一致させた。各個人の MRI T1 強調画像を参照にして、前頭葉、外側側頭葉、頭頂葉、側頭後頭葉、後頭葉、前部帯状回、後部帯状回、線条体、視床、内側側頭葉、小脳、橋、皮質下白質に関心領域 (ROI) を設定した。次に設定された ROI を、 $[^{11}\text{C}]$ BF-227-PET SUV 画像上に読み込み、ROI データを収集した。線維化アミロイドの沈着しない小脳を参照領域として、小脳の ROI データに対する各 ROI データの比率を SUV 比 (SUV ratio) として算出した。

C. 研究結果

$[^{11}\text{C}]$ BF-227 投与後の脳各領域における時間放射能曲線を図 2 に示した。AD 患者では、投与後 20 分以降の段階で、前頭葉、側頭葉、頭頂葉などの大脳皮質領域においてプローブの排出が遅延していた。一方、小脳、視床、皮質下白質などの線維化アミロイドが通常蓄積しない領域では、AD 患者と健常人の間に差は認められなかった。健常高齢者と AD 患者の代表的な PET 画像を図 3 に示した。健常者では脳幹部、視床において $[^{11}\text{C}]$ BF-227 の集積を認めたが、大脳皮質領域における明らかな集積は観察されない。これに対して、ここに示した AD 症例の脳画像では、脳幹部、視床における集積に加えて、側頭~頭頂葉領域を中心に顕著な $[^{11}\text{C}]$ BF-227 の集積を認めた。AD との鑑別を要する前頭側頭葉型認知症 (FTD) の症例

においても本 PET 検査を実施した (図 4)。その結果、健常者と同様の集積パターンを示す画像が得られ、AD 患者と区別された。さらに 10 名の MCI 症例の PET 画像を検討した結果、7 名の MCI 症例では大脳皮質における $[^{11}\text{C}]$ BF-227 の集積値が健常高齢者よりも高く、残り 3 名の MCI 症例は健常高齢者と同レベルの集積値を示した (図 5)。老人斑非蓄積部位における $[^{11}\text{C}]$ BF-227 の集積値は、健常人、MCI、AD の三群間で差を認めなかった。また内側側頭葉領域においても、AD 患者、MCI 症例と健常人の集積値に有意差を認めなかった。最後に健常高齢者と AD 患者の $[^{11}\text{C}]$ BF-227 SUV 画像を SPM2 ソフトウェアを用いて、ボクセル単位で統計学的比較を行った (図 6)。その結果、側頭葉~頭頂葉を中心とした大脳皮質の広範な領域で、AD 患者の SUV 値が有意に上昇していることが確認された。

D. 考察

$[^{11}\text{C}]$ BF-227 の集積上昇は、AD 患者における老人斑好発部位である大脳皮質領域において観察されることから、その集積はプローブの老人斑との結合を反映していると考えられる。老人斑の蓄積しない FTD 症例で正常画像所見を示したことも、このことを支持する所見といえる。競合するアミロイドイメージング用 PET プローブである PIB¹⁾ に比べて、 $[^{11}\text{C}]$ BF-227 の AD 患者における集積は大脳皮質の後方領域でより顕著に観察される傾向にあった。プローブのアミロイド線維との結合親和性の違いが、このような集積パターンの違いを生み出す要因となっている可能性があり、PIB に比べてより線維形成度の高い老人斑の蓄積量を反映していることが予想される。一方、内側側頭葉領域における集積上昇は AD 患者でも少ないことから、 $[^{11}\text{C}]$ BF-227 は神経原線維変化との結合性が低く、老人斑への結合選択性の高いプローブと考えられる。ただし PET 検査における計測値

が病理像をどの程度忠実に反映しているかについては検証が必要であり、今後、剖検例の画像所見と病理所見の比較研究が求められよう。

本PETプローブがAD早期診断に有用か否かを検証する上で注目したいのは、MCI症例の画像所見である。今回の検討では過半数のMCI症例で大脳皮質領域での集積上昇が観察された。本検査のMCI段階での早期診断の有用性を証明するには、これら高集積を示す症例のADへの進行の有無を確認する必要があり、今後数年間のフォローアップが求められる。

本プローブの欠点は、白質、脳幹部や視床など本来線維化アミロイドが殆ど蓄積しない領域においても ^{11}C BF-227の集積が目立つ点である。正常ラットを用いた基礎レベルでの検討では、脂溶性の高いプローブほど白質領域におけるクリアランスが遅延することを確認している。本研究結果において健常者とAD患者間では上記領域における集積量に差はみられないことから、同領域における集積はAD病変とは関連性が低く、脂質に富んだミエリン線維へのトラップを反映したものと考えられる。今後臨床応用を予定している ^{18}F 標識新規プローブにおいては、このような非特異的集積を低減化することが課題と思われる。

E. 結論

^{11}C BF-227の脳内集積は、AD患者の老人斑好発部位で上昇していた。さらにADの発症予備段階の症例を高率に含むMCIの症例群においても、過半数の症例で ^{11}C BF-227の異常集積が確認されたことから、本検査のAD早期診断における有用性が示唆された。

[参考文献]

1. Klunk WE, Engler H, Nordberg A, Wang Y, Blomqvist G, Holt DP, Bergstrom M, Savitcheva I, Huang GF, Estrada S, Ausen B, Debnath ML,

Barletta J, Price JC, Sandell J, Lopresti BJ, Wall A, Koivisto P, Antoni G, Mathis CA, Langstrom B
Imaging brain amyloid in Alzheimer's disease with Pittsburgh Compound-B. *Ann Neurol* 55:306-319 (2004)

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Kudo Y, Okamura N, Furumoto S, Tashiro M, Furukawa K, Maruyama M, Itoh M, Iwata R, Yanai K, Arai H. 2-[2-(2-dimethylaminothiazol-5-yl)ethenyl]-6-[2-(fluoro)ethoxy]benzoxazole (BF-227): A novel PET imaging agent for in vivo detection of dense amyloid plaques in Alzheimer's disease patients. *J Nucl Med* (2007) in press
2. 岡村信行. 老人斑および神経原線維変化の非侵襲的検出を目的とした新規PETプローブの開発研究. *東北医学雑誌* 118: 143-147 (2006)
3. 岡村信行, 谷内一彦, 工藤幸司. アミロイドイメージングの進歩. *Dementia Japan* 20(3):216-225 (2006)
4. 岡村信行. アルツハイマー病と関連疾患の画像診断 その未来. *クリニシアン* 53(10): 932-937 (2006)
5. 岡村信行. 長寿フロントライン 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. *Aging & Health* 39:34-35 (2006)

2. 学会発表

1. Okamura N, Furumoto S, Ito S, Fujikawa Y, Tashiro M, Funaki Y, Akatsu H, Yamamoto T, Iwata R, Arai H, Yanai K, Kudo Y. ^{18}F -labeled ethenyl-benzoxazole derivatives for in vivo detection of amyloid plaques in the brain. ICAD2006, July 14-21, 2006, Madrid, Spain
2. Okamura N, Furumoto S, Tashiro M, Funaki Y,

- Ishikawa Y, Furukawa K, Arai H, Sawada T, Itoh M, Iwata R, Yanai K, Kudo Y. Novel Benzoxazole Derivatives for In Vivo Imaging of Amyloid Plaques in the Brain. The Society for Molecular Imaging. The Fifth Annual Meeting, Aug 30- Sep 2, 2006, Hawaii, USA
3. Okamura N, Kudo Y, Furumoto S, Furukawa K, Tashiro M, Kato M, Ito S, Funaki Y, Akatsu H, Sawada T, Yanai K, Arai H. In vivo imaging of amyloid plaques in the brain: [11C]BF-227 PET study. The 6th Annual Meeting of International College of Geriatric Psychoneuropharmacology (ICGP). Oct 3-6, 2006, Hiroshima, Japan
 4. 岡村信行、古本祥三、田代学、加藤元久、伊藤啓、稲田義行、古川勝敏、荒井啓行、岩田錬、工藤幸司、谷内一彦. アミロイド画像化用プローブ[11C]BF-227の臨床評価 第57回日本薬理学会北部会 2006年9月14日 弘前
 5. 岡村信行、工藤幸司、古本祥三、古川勝敏、田代学、加藤元久、伊藤啓、船木善仁、赤津博康、澤田徹、谷内一彦、荒井啓行. In vivo imaging of amyloid plaques in the brain: [11C]BF-227 PET study 第25回日本認知症学会学術集会 2006年10月6日 広島
 6. 34. 岡村信行. アルツハイマー病の新しい画像診断法. 第6回老年診療の病診連携を考える会 2006年10月12日 仙台
 7. 岡村信行、工藤幸司. アミロイドイメージング. 第22回 Brain Function Imaging Conference 特別講演 2006年10月14日 神戸
 8. 岡村信行. アミロイドイメージングによるアルツハイマー病の早期診断. 第18回日本脳循環代謝学会総会ランチョンセミナー 2006年11月11日 東京
 9. 岡村信行. BF-227を用いたアルツハイマー病の早期診断. AD研究会 画像診断サブコミッ
 ティ 2007年2月3日 東京
 10. 岡村信行、工藤幸司. アミロイドイメージングによる認知症早期診断. 第15回 関東脳PET・SPECT研究会 2007年3月10日 東京
 11. 岡村信行、工藤幸司、荒井啓行、谷内一彦. アミロイド斑の生体イメージング. 第80回日本薬理学会年会 シンポジウム 2007年3月14日 名古屋
- G. 知的財産権の出願・登録状況（予定も含む）
1. 特許取得
 名称：コンフォーメーション病診断プローブ
 PCT 出願番号：PCT/JP2006/325804
 発明者：国立大学法人東北大学
 工藤幸司、荒井啓行、岡村信行、丸山将浩、古本祥三、堂浦克実
 2. 実用新案登録
 なし
 3. その他
 なし

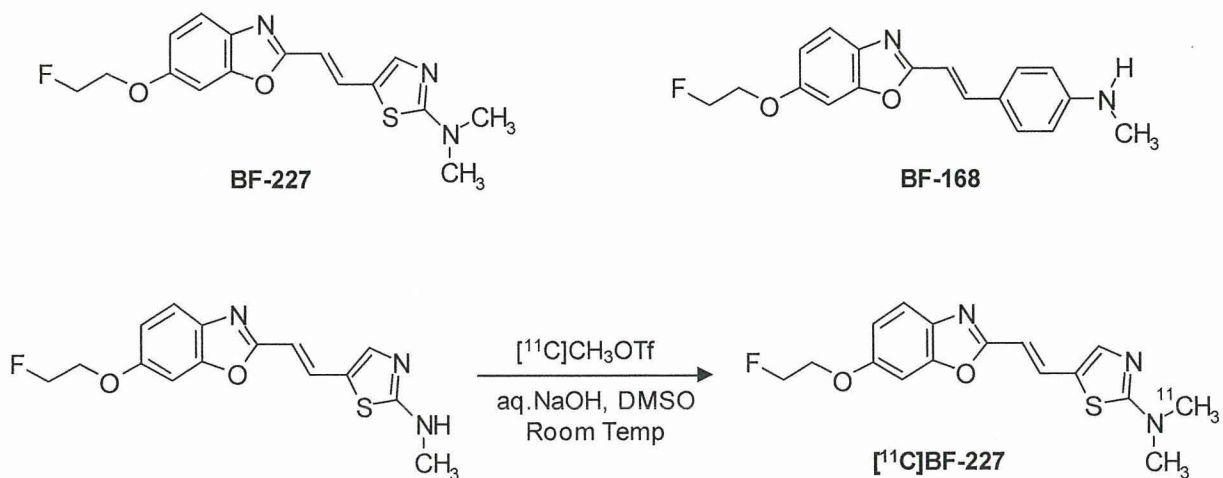


図1 BF-227 の構造式と ^{11}C 標識体の標識合成法

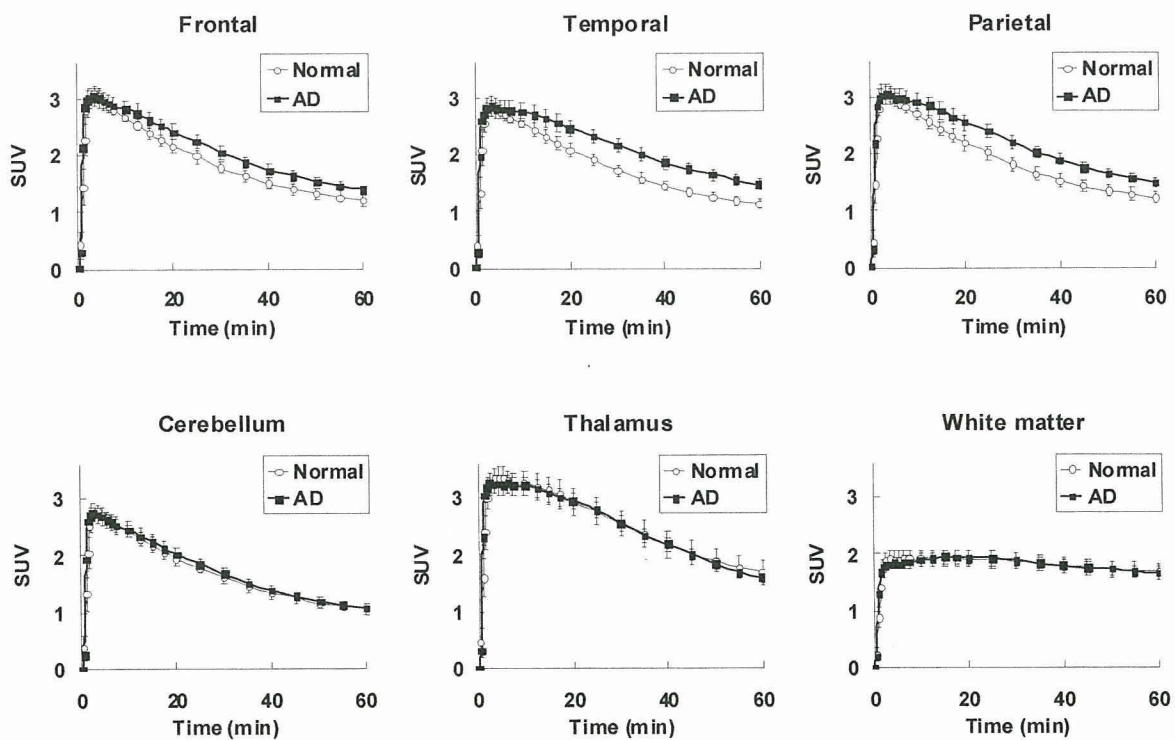


図2 ^{11}C BF-227 投与後の脳各領域における時間放射能曲線

Frontal : 前頭葉、Temporal : 側頭葉、Parietal : 頭頂葉、Cerebellum : 小脳、Thalamus : 視床
 White matter : 皮質下白質

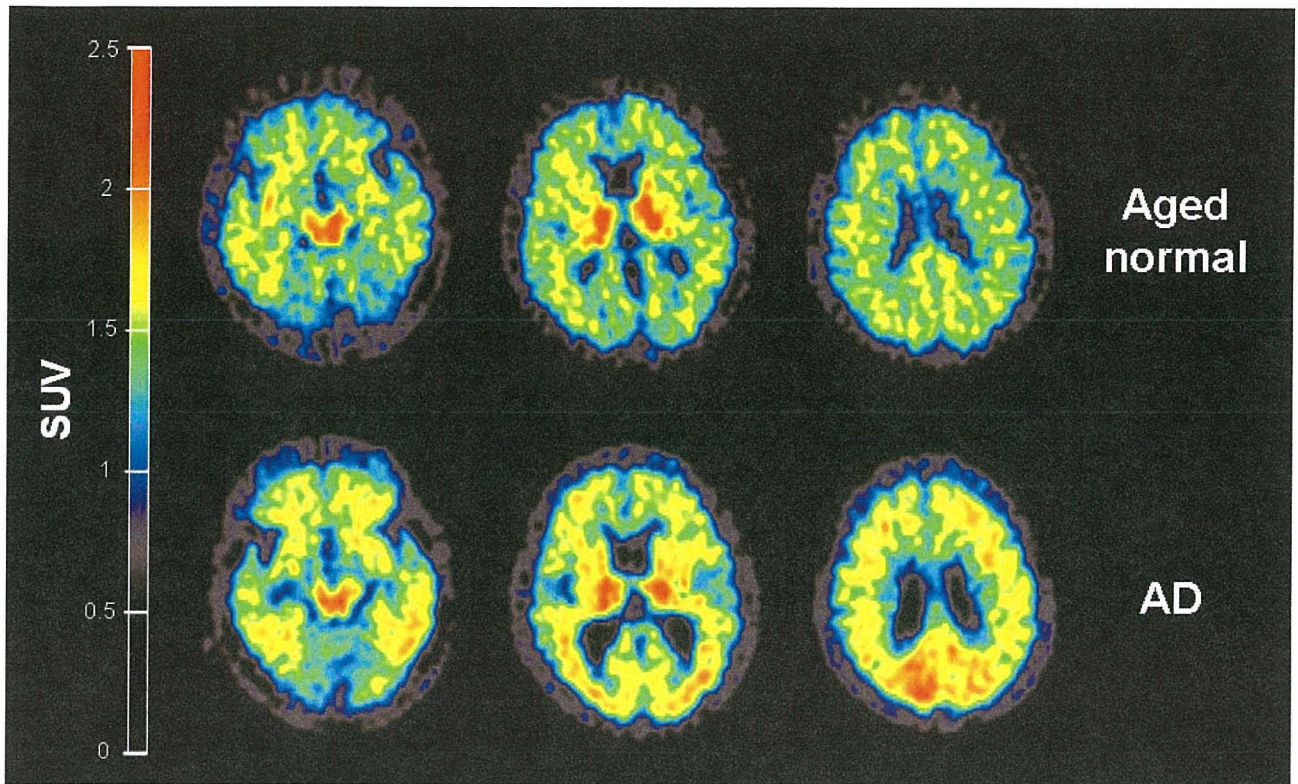


図3 健常高齢者 (Aged normal) とアルツハイマー病患者 (AD) の $[^{11}\text{C}]\text{BF-227}$ 投与 20~40 分後の SUV 加算平均画像

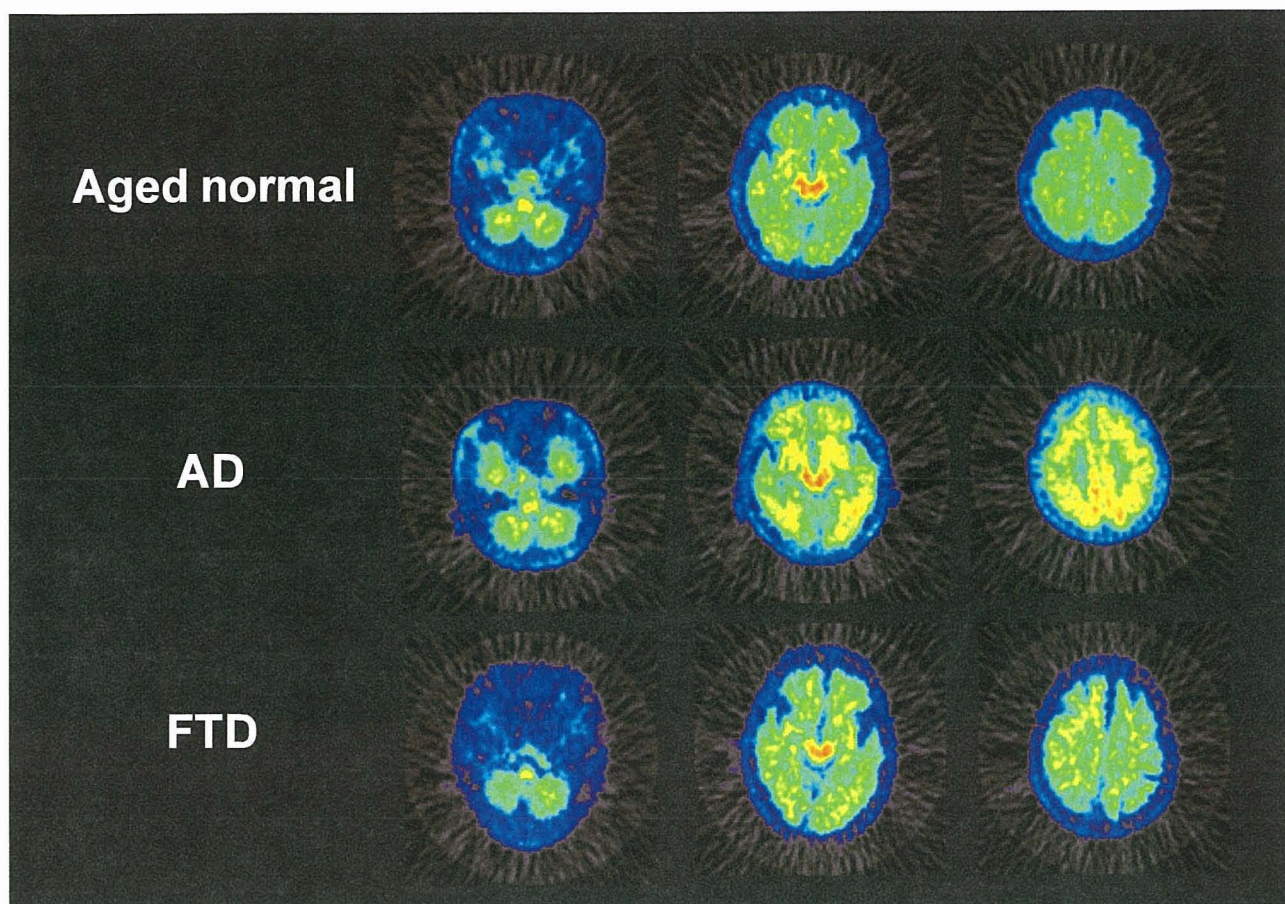


図4 健常高齢者 (Aged normal)、アルツハイマー病 (AD) 患者、前頭側頭型認知症 (FTD) 患者の $[^{11}\text{C}]\text{BF-227}$ 投与 20~40 分後の SUV 加算平均画像

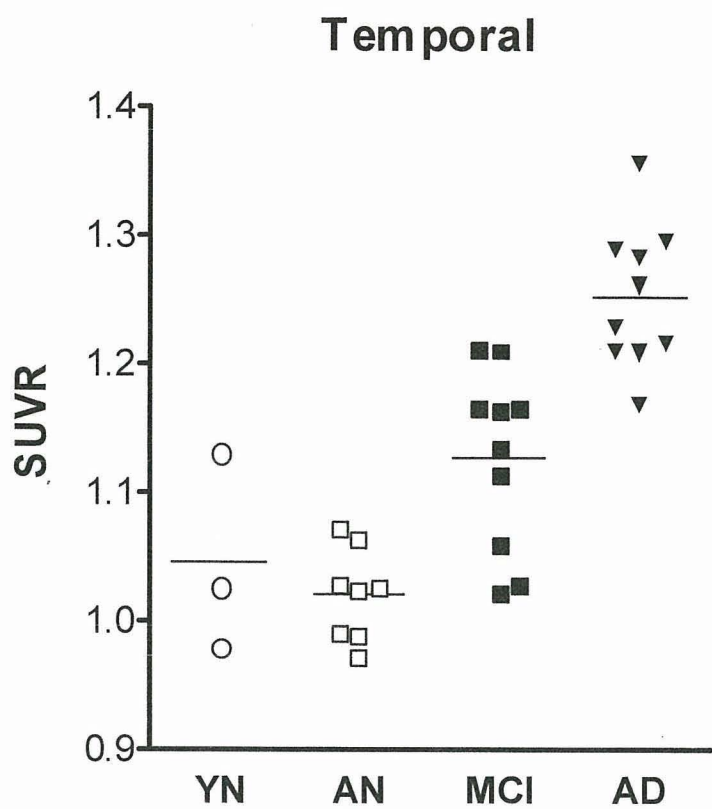


図5 側頭葉領域における SUV 対小脳比 (SUVR) の群間比較
 YN : 健常若年者、AN : 健常高齢者、MCI : 軽度認知機能障害、AD : アルツハイマー病

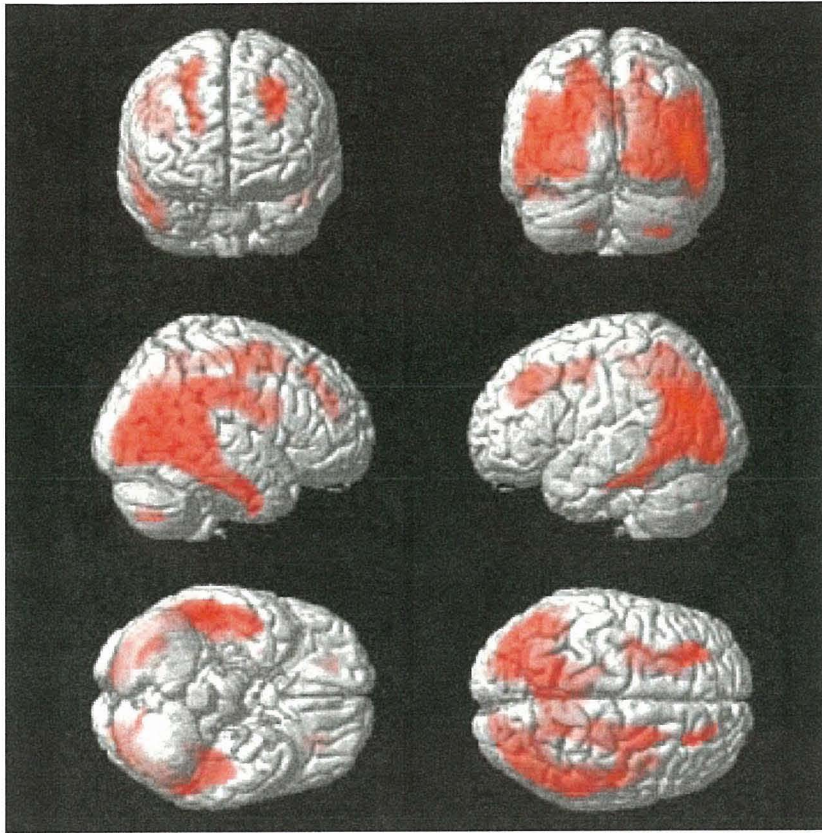


図6 健常高齢者に比べてAD症例で有意にSUVR値の上昇していた領域
(SPM2 analysis, $p < 0.001$, uncorrected)

厚生労働科学研究費補助金（萌芽的先端医療技術推進事業）
分担研究報告書

[¹¹C]BF-227 標識合成法の最適化
および
次世代分子プローブの創生

分担研究者：工藤幸司¹、岡村信行²、岩田鍊³

主任研究者：谷内一彦²

研究協力者：古本祥三¹、伊藤啓^{1,2}、藤川陽介^{1,2}、石川洋一³、

(¹ 東北大学先進医工学研究機構、² 東北大学大学院医学系研究科機能薬理学分野、³ 東北大学サイクロトロンRIセンター)

[研究要旨] 本研究では、1) [¹¹C]BF227 標識合成法に最適化を加え、[¹¹C]BF227 薬剤の放射化学的純度の改善につながる改良型標識合成法を確立した。 2) 次世代[¹⁸F]標識分子プローブの創生のために4つのF化最適化化合物の薬理作用を検討し、なかでもCompound 2 および3 がアルツハイマー病診断用プローブとして備えるべき優れた特性を有していることが示唆された。

A. 研究目的

A-1. 放射化学的純度の向上を目指した [¹¹C]BF227 標識合成法の改良

[¹¹C]BF227 によるアミロイドイメージングの臨床研究を多施設で展開する場合、高品質の標識薬剤を安定的に供給できる標識合成法が必要である。これまでに筆者らが確立した[¹¹C]BF227 の標識合成法は、十分に臨床研究で利用できるものであったが、標識合成回数を重ねるうちに、最終製剤の[¹¹C]BF227 の比放射能が高い場合、放射化学的純度が若干低下する傾向が見られるようになった。そこで本研究では、従来の標識合成法で得られる[¹¹C]BF227 の比放射能と放射化学的純度の関係を明らかにするとともに、放射化学的純度の改善を目指した改良型標識合成法の確立を目的とした。

A-2. 次世代分子プローブの創生

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]：約20分、[¹⁸F]：約110分）。すなわち、[¹¹C]標識プローブでは短い半減期のゆえに、PET装置の極く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。

現時点において研究用に使用されている PIB、そして BF-227 等のアミロイドイメージングプローブは[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^{1,2)}。

そこで分担研究者らはこれまで培ってきたノウハウを基に優れた新規次世代分子プローブとして[¹⁸F]標識アミロイドイメージングプローブの開発に着手し、探索的臨床試験に進捗させるに十分な特性を有すると思われる候補化合物を見いだすことができた。本報告ではその候補化合物の試験成績の一部を紹介する。

B. 研究方法

B-1 $[^{11}\text{C}]\text{BF227}$ 標識合成法の改良

$[^{11}\text{C}]\text{BF227}$ の標識合成は以下の手順(従来法)に従った。まず、サイクロトロン HM12(住友重機械社製)で加速した 12MeV の陽子ビームを N_2 ガス(0.5% O_2 ガス含有)に 30 分間照射して $[^{11}\text{C}]\text{CO}_2$ を合成した。続いて MicroLab ヨウ化メチル合成システム(GE 社製)を用いて $[^{11}\text{C}]\text{CO}_2$ から $[^{11}\text{C}]\text{CH}_3\text{I}$ を合成し、加熱した AgOTf 充填カラム(約 190°C)に通すことで $[^{11}\text{C}]\text{CH}_3\text{I}$ を $[^{11}\text{C}]\text{CH}_3\text{OTf}$ に変換した。そして、標識前駆体(0.125 mg)を DMSO (300 μL)に溶解し、2M NaOH 水溶液(2 μL)を添加した溶液中に、室温条件下、 $[^{11}\text{C}]\text{CH}_3\text{OTf}$ を含有したヘリウムガスを流し込むことで炭素 11 標識メチル化反応を行った。

この反応溶液に分取 HPLC 移動相(300 μL)を加えてよく攪拌し、その混合液をセミ分取 HPLC(カラム: YMC-Pack Pro C18 RS(10×250 mm)+ガードカラム(10×30 mm)、移動相: $\text{EtOH}/\text{MeCN}/20\text{mM NaH}_2\text{PO}_4 = 15/45/40$ 、流速: 6.0mL/min)にかけて、約 7-8 分に溶出した $[^{11}\text{C}]\text{BF227}$ 由来の放射性ピークを分取した。

この $[^{11}\text{C}]\text{BF227}$ 含有フラクションを蒸留水(約 30mL)で希釈して Sep-Pak tC18 カートリッジ(Waters 社製)にロードし、蒸留水でカートリッジを洗浄後、 EtOH で $[^{11}\text{C}]\text{BF227}$ を溶出した。この EtOH 溶出液に 25%アスコルビン酸水溶液および 5%ポリソルベート 80 エタノール溶液を適量加えて 80°C で加熱しながらロータリーエバポレーターで溶媒を留去し、得られた $[^{11}\text{C}]\text{BF227}$ 含有放射性残渣を生理食塩液に溶解して 0.22 μm フィルターに通し濾過滅菌した。得られた生理食塩液を分析 HPLC で分析し、 $[^{11}\text{C}]\text{BF227}$ の放射化学的純度並びに比放射能を調べた。そして、この従来法による標識合成の結果(n=41)について、 $[^{11}\text{C}]\text{BF227}$ の比放射能と放射化学的純度の相関性について調べた。

また今回の標識合成手順の改良では、分取 HPLC 後の固相抽出操作時に懸念されている放射線分解を防ぐ目的で、そのフラクションの希釈の際に 25%アスコルビン酸水溶液(1 mL)を加えるという操作を追加し、それによる放射線分解抑制効果の検討(n=4)を行った。

B-2 次世代分子プローブの創生

B-2-1.F 化最適化化合物のアミロイド β 蛋白結合性 (蛍光バインディングアッセイ)

アミロイド β 蛋白($\text{A}\beta$)1-40 を溶解して 24 時間以上インキュベーションし、これに等容量の F 化最適化化合物(Compound 2,3,5,7)を添加して得られる化合物の蛍光を蛍光マイクロプレートリーダー(モレキュラー デバイス)にて測定し、 EC_{50} を算出した。なお、 $\text{A}\beta$ 1-40 の最終濃度は 5 μM とし、また、あらかじめ測定した F 化最適化化合物のそれぞれの最適励起および蛍光波長を用いて実験を行った。

B-2-2. アルツハイマー病患者脳切片における F 化最適化化合物の染色性

アルツハイマー病患者脳切片に 4 つの F 化最適化化合物(Compound 2,3,5,7)溶液を滴下し、10 分間反応させた後、蛍光顕微鏡下に化合物とアルツハイマー病患者脳病理像との結合性を観察した。また隣接切片を抗 $\text{A}\beta$ 抗体染色し、両切片における化合物染色像と免疫染色像との対応を観察した。

B-2-3. Tg マウスにおけるアミロイド班へのインビボ結合性 (F 化最適化化合物 Compound 2 および 3 静脈内投与)

遺伝的に脳内に $\text{A}\beta$ が蓄積する Tg2576 マウスに F 化最適化化合物 Compound 2 および 3 を静脈内投与し、その 1 時間後に深麻酔下に致死せしめ脳を摘出した。クリオスタットで薄切脳切片を作製し、実体蛍光顕微鏡および蛍光顕微鏡下に両化合物とアミロイド班との結合を観察した。併せて同一切片を抗 $\text{A}\beta$ 抗体染色し、同一切片における両化合物の蛍光像と免疫染色像との対応を観察した。

(倫理面への配慮)

アルツハイマー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(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

C-1 $[^{11}\text{C}]\text{BF227}$ 標識合成法の改良

従来の標識合成法、すなわち、分取 HPLC 後

のフラクション希釈時にアスコルビン酸を添加しないで ^{11}C]BF227 を固相抽出し生理食塩液の調製を行うという方法では、得られた溶液の比放射能が高い場合ほど、放射化学的純度が低下した(図 1)。この従来法での放射化学的純度の平均(±SD)は、96.0(±0.86)%であった。一方、その固相抽出時の放射線分解の抑制を目的とした改良法では、放射化学的純度の平均(±SD)は、98.4(±0.54)%であった。また、この改良法による標識合成実施回数は従来法に比べて少ないものの、比放射能と放射化学的純度に関する散布図においては、改良法による合成結果は従来法の結果と異なる分布を示し、従来法のように比放射能に依存した放射化学的純度の低下は認められなかった(図 1)。

C-2 次世代分子プローブの創生

C-2-1.F 最適化化合物のアミロイドβ蛋白結合性 (蛍光バインディングアッセイ)

4 つの F 最適化化合物(Compound 2,3,5,7) は濃度依存的に Aβ 1-40 に結合し、それらの EC₅₀ は 0.56 から 5.08 μM の範囲内であった(図 2)。Compound 5, 7 および Compound 2,3 のポテンシは、それぞれ BF-227 および Thioflavin T のそれらとほぼ同等であった。

C-2-2.アルツハイマー病患者脳切片における F 最適化化合物の染色性

アルツハイマー病患者脳切片における 4 つの F 最適化化合物(Compound 2,3,5,7)の蛍光染色像と、隣接切片の抗 Aβ 抗体染色像はほとんど一致したことから、これら 4 化合物はアルツハイマー病患者脳のアβ (老人斑) に高い結合性を示すことが確認された(図 3)。

B-2-3.Tg マウスにおけるアミロイド班へのインビボ結合性 (F 最適化化合物 Compound 2 および 3 静脈内投与)

Tg マウスにおいて静脈内投与された Compound 2 および 3 の脳内蛍光像と、同一切片の抗 Aβ 抗体染色像はほぼ完全に一致したことから、Compound 2 および 3 は血液-脳関門を透過し、選択的に脳内アミロイド班に結合することが確認された(図 4)。

D. 考察

D-1 ^{11}C]BF227 標識合成法の改良について 従来法による標識合成の結果(41 回分)について

比放射能と放射化学的純度は有意(p<0.001)に負の相関を示すことが明らかになったが、これまでに分取 HPLC 直後のフラクション中の ^{11}C]BF227の放射化学的純度は99%以上であることがわかっていることから、放射化学的純度の低下は分取 HPLC 後の固相抽出時に放射線分解により起こっていることが疑われた。

固相抽出操作では ^{11}C]BF227 が固相担体上に濃縮されるが、その場合、比放射能が高いほど理論的に放射線分解を起こす ^{11}C]BF227 の割合が増えることになり、放射化学的純度の低下につながったと考えられる。一般的に標識化合物の放射線分解にはラジカルが関与することから、固相抽出操作を行う水溶液にラジカルスカベンジャーのアスコルビン酸を添加することで固相濃縮時の放射線分解を抑制できると考え、今回の改良法の検討を行うこととなった。結果として改良法では放射化学的純度は従来法に比べて平均で 2%程度高くなり、改良法における分取フラクションへのアスコルビン酸の添加は放射線分解の抑制に有効であることが示された。またこの結果は、分取 HPLC 後の放射化学的純度の低下は主に固相抽出時に起きていることを強く裏付けるものである。

臨床で利用できる ^{11}C]BF227 薬剤の放射化学的純度は95%以上であることから、平均で放射化学的純度が約96%の従来法よりも、同純度が約98%の改良法の方がより実用性に優れた標識合成法であるといえる。

D-2 次世代分子プローブの創生

4 つの F 最適化化合物(Compound 2,3,5,7) は濃度依存的に Aβ に結合し、それらの EC₅₀ は Aβ に対して高い親和性を持つ BF-227 または Thioflavin T とほぼ同等であったことから、これら 4 つの F 最適化化合物もまた、Aβ に対して高い親和性を有していることが示唆された。

4 つの F 最適化化合物はアルツハイマー病患者脳のアβ (老人斑) に高い結合性を示すことが確認された。

Tg マウスにおいて静脈内投与された Compound 2 および 3 は血液-脳関門を透過し、選択的に脳内アミロイド班に結合することが確認された。

以上より、4 つの F 最適化化合物のうち、Compound 2 および 3 がアルツハイマー病診断用プローブとして備えるべき優れた特性を有していることが示唆された。

E. 結論

E-1 [¹¹C]BF227 標識合成法の改良

本研究により、^[11C]BF227 薬剤の放射化学的純度の改善につながる改良型標識合成法を確立した。

E-2 次世代分子プローブの創生

本研究により、4 つの F 化最適化合物は 4 つの F 化最適化合物のうち、Compound 2 および 3 がアルツハイマー病診断用プローブとして備えるべき優れた特性を有していることが示唆された。

[参考文献]

1. Zhan W et al.: J Med Chem. **48**. 5980-5988 (2005)
2. Zhan W et al.: Nucl Med Biol. **32**. 799-809 (2005)

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kudo Y: Development of amyloid imaging PET probes for an early diagnosis of Alzheimer's disease. Minimally Invasive Therapy and Applied Thechnology. 15: 209-213. 2006
- 2) Ishikawa K, Kudo Y, Nishida N, Suemoto T, Sawada T, Iwaki T, Doh-ura K: Styrylbenzoxazole derivatives for imaging of prion plaques and treatment of transmissible spongiform encephalopathies. J Neurochem. 99: 198-205. 2006
- 3) Fujiwara H, Iwasaki K, Furukawa K, Seki T, He M, Maruyama M, Tomita N, Kudo Y, Higuchi M, Saido TC, Maeda S, Takashima A, Hara M, Ohizumi Y, Arai H: Uncaria rhynchophylla, a Chinese medicinal herb, has potent antiaggregation effects on Alzheimer's beta-amyloid proteins. J Neurosci Res. 84 : 427-433. 2006
- 4) 荒井啓行、工藤幸司: 認知症診断に役立つ補助検査法—生物学的診断マーカーと脳分子イメージング. Cognition and Dementia. 5: 101-105. 2006
- 5) 工藤幸司: PET によるアミロイドイメージング. Medical Practice. 23:1183-1184. 2006
- 6) 工藤幸司、荒井啓行: 脳アミロイドの分子イメージング. Current Insights in Neurological Science. 14: 8-9. 2006
- 7) 岡村信行、谷内一彦、古本祥三、工藤幸司、荒井啓行: 脳内アミロイドβ蛋白およびタウ

蛋白の PET イメージング技術の開発. Innervision. 21:43. 2006

- 8) 工藤 幸司:軽度認知障害—アルツハイマー型認知症の初期、その前駆状態を中心に「今後の画像診断」.Modern Physician. 26: 1835-1838. 2006
- 9) 岡村信行、古本祥三、工藤幸司、谷内一彦: 臨床応用 脳の分子イメージング「アルツハイマー病」.日本臨床. 65. 320-326. 2007
- 10) 岡村信行、谷内一彦、工藤幸司: アミロイドイメージングの進歩. Dementia Japan. 216-225. 2007
- 11) 古川勝敏、温 世栄、岡村信行、工藤幸司、荒井啓行: アルツハイマー病におけるシナプス障害. Dementia Japan. 253-261. 2007
- 12) 荒井啓行、工藤幸司: 病理像を画像化する分子神経イメージング法による Alzheimer 病の早期診断 —日本での BF-227 の開発と臨床応用. 医学のあゆみ. 220. 404-408. 2007
- 13) 工藤幸司: 分子イメージング. In” 老年期認知症ナビゲーター” (監修 平井俊策) メディカルビュー社. 248-249. 東京. 2006

2. 学会発表

- 1) Okamura N, Furumoto S, Ito S, Fujikawa Y, Tashiro M, Funaki Y, Akatsu H, Yamamoto T, Iwata R, Arai H, Yanai K, Kudo Y: ¹⁸F-labeled ethenyl-benzoxazole derivatives for in vivo detection of amyloid plaques in the brain. The 10th International Conference on Alzheimer's and Related Disorders. (Madrid, Spain) July 15-20. 2006.
- 2) Arai H, Okamura N, Furukawa K, Maruyama M, Furumoto S, Narita T, Ito M, Iwata R, Ynai K, Kudo Y: [¹¹C]-BF-227 and PET to visualize amyloid in Alzheimer's disease. The 10th International Conference on Alzheimer's and Related Disorders. (Madrid, Spain) July 15-20, 2006.
- 3) Okamura N, Furumoto S, Tashiro M, Funaki Y, Ishikawa Y, Furukawa K, Arai H, Sawada T, Ito M, Iwata R, Yanai K, Kudo Y: Novel benzoxazole derivatives for in vivo imaging of amyloid plaques in the brain. The 5th Annual Meeting of the Society for Mlecular Imaging (Hawaii) Aug 30-Sep 2. 2006
- 4) Fujiwara H, Iwasaki K, Furukawa K, Seki T, Kudo Y, Ohizumi Y, Arai H: Uncaria rhynchophylla, a Chinese medicinal herb, has potent antiaggregation effects on Alzheimer's beta-amyloid proteins. The 10th International Conference on Alzheimer's and Related Disorders. (Madrid, Spain) July 15-20. 2006.

- 5) 古本祥三、岡村信行、田代学、船木義仁、石川洋一、古川勝敏、伊藤正敏、岩田鍊、谷内一彦、荒井啓行、工藤幸司: 新規アミロイドイメージング剤[¹¹C]BF227 の臨床評価. 第46回日本核医学会学術総会(鹿児島). 11月9日-11日. 2006年
 - 6) Okamura N, Kudo Y, Furumoto S, Furukawa K, Tashiro M, Kato M, Ito S, Funaki Y, Akatsu H, Sawada T, Yanai K, Arai H: In vivo imaging of amyloid plaques in the brain in [¹¹C]BF-227 PET study. 第25回日本認知症学会学術集会(広島). 10月6日-7日. 2006年.
 - 7) 藤川陽介、岡村信行、古本祥三、星井嘉信、石原得博、山田正仁、工藤幸司、谷内一彦: Amyloidosis 特有の病理像を認識する PET プローブの開発. 第57回 日本薬理学会北部会(弘前). 9月14日-15日. 2006年
 - 8) 伊藤啓、岡村信行、加藤元久、古本祥三、赤津裕康、山本孝之、稲田義行、荒井啓行、工藤幸司、谷内一彦: アルツハイマー病のアミロイドを検出する新規 PET プローブ. 第57回日本薬理学会北部会(弘前). 9月14日-15日. 2006年
 - 9) 岡村信行、古本祥三、田代学、加藤元久、伊藤啓、稲田義行、古川勝敏、荒井啓行、岩田鍊、工藤幸司、谷内一彦: アミロイド画像化用プローブ[¹¹C]BF-227の臨床評価. 第57回 日本薬理学会北部会(弘前). 9月14日-15日. 2006年
 - 10) 工藤幸司: アルツハイマー病の診断用プローブ. 日本薬学会第126年会「アイソトープ放射線薬学研究会懇話会・アイソトープ放射線薬学研究会」(仙台). 3月28日. 2006年
 - 11) 古本 祥三、岡村信行、石川洋一、船木善仁、加藤元久、田代学、澤田徹、伊藤正敏、谷内一彦、岩田鍊、荒井啓行、工藤幸司: 老人斑画像化プローブ[¹¹C]BF-227 の合成と評価. 日本薬学会第126年会(仙台). 3月28日. 2006年
 - 12) 岡村信行、谷内一彦、工藤幸司: アミロイド イメージング用 PET プローブの開発とその臨床応用. 第79回日本薬理学会年会(横浜). 3月10日. 2006年
 - 13) 藤川陽介、岡村信行、古本祥三、星井嘉信、山田正仁、石原得博、工藤幸司、谷内一彦: Aβリガンド BF-227 によるアミロイドーシスの検出. 第79回日本薬理学会年会(横浜). 3月8日. 2006年
 - 14) 伊藤啓、岡村信行、加藤元久、古本祥三、赤津裕康、山本孝之、澤田徹、荒井啓行、工藤幸司、谷内一彦: アルツハイマー病のタウイメージング用新規 PET プローブ. 第79回日本薬理学会年会(横浜). 3月8日. 2006年
- H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)
- 特許出願状況は下記参照
1. 特許取得
なし
 2. 実用新案登録
なし
 3. その他
なし

特許出願状況

下記2件が「JSTのPCT特許出願支援制度」に採択され、それぞれ平成18年11月30日および平成18年12月25日にPCT出願いたしました。

	出願番号	発明の名称	出願日	出願人	発明者
1	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	工藤幸司ら
	PCT/JP2006/323962		平成18年 11月30日		
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	工藤幸司ら
	PCT/JP2006/325804		平成18年 12月25日		

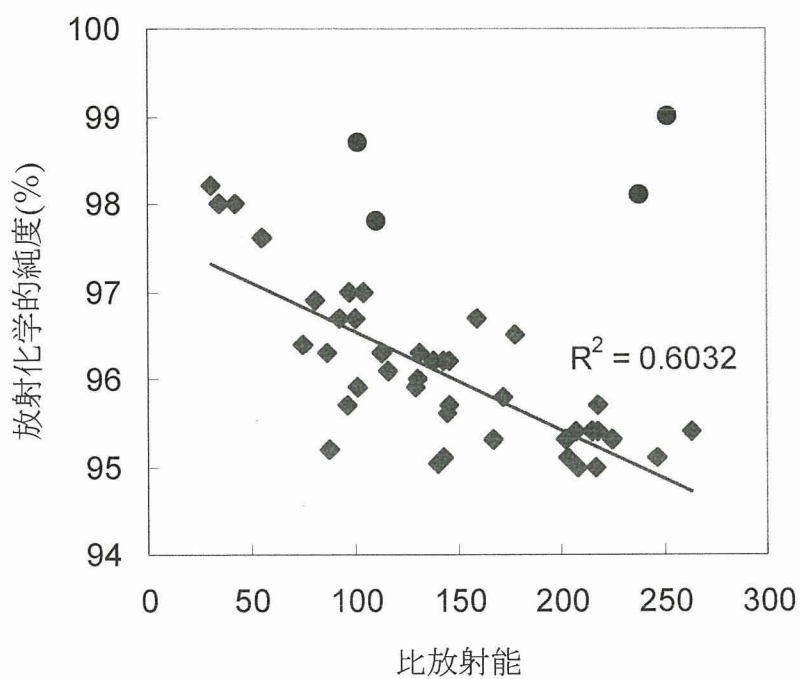


図 1：比放射能－放射化学的純度の散布図。

◆=従来型標識合成法によりえられた $[^{11}\text{C}]\text{BF227}$ 薬剤のデータ。

●=改良型標識合成法により得られたデータ。

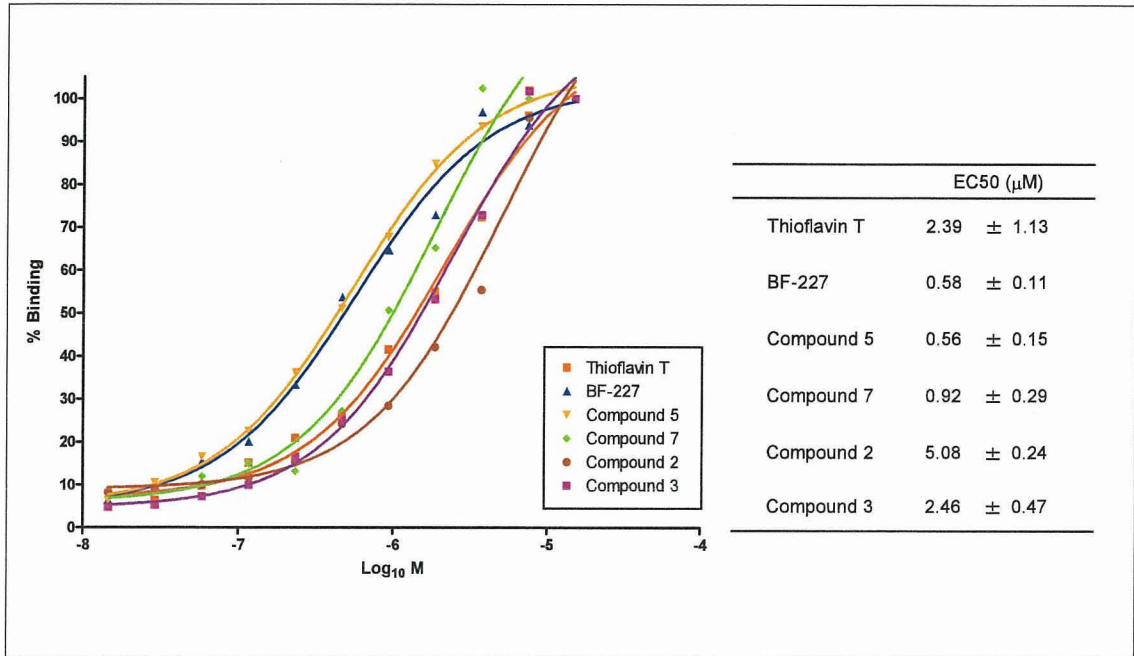


図2. F 化最適化化合物(Compound 2, 3, 5, 7)のアミロイド β 蛋白 結合性 (蛍光バインディングアッセイ)