

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

蛋白コンフォメーションのイン ビボ画像診断

平成18年度 総括研究報告書

主任研究者 工藤 幸司

平成19年（2007年） 4月

目 次

I. 総括研究報告

蛋白コンフォメーションのイン ビボ 画像診断	1
工藤 幸司 (東北大学先進医工学研究機構)	

II. 分担研究報告

1. [^{11}C]BF-227を用いた脳内アミロイド蓄積の非侵襲的PET計測	
— アルツハイマー病患者を対象とした探索的臨床試験 —	19
岡村信行 (東北大学医学系研究科)	
2. ^{18}F 標識アミロイドイメージング剤の開発	
(標識合成法の確立および脳移行性評価)	29
古本祥三 (東北大学先進医工学研究機構)	
3. [^{18}F]標識アミロイド イメージングプローブ開発のための	
F 化合物の最適化	35
工藤 幸司 (東北大学先進医工学研究機構)	
4. [^{11}C]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 ^{18}F 標識プリオン イメージング	
プローブ開発のための基礎試験	49
堂浦 克美 (東北大学医学系研究科)	

III. 研究成果の刊行に関する一覧表	57
---------------------	----

IV. 研究成果の刊行物・別刷	61
-----------------	----

総括研究報告

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 18 年度 総括研究報告書

蛋白コンフォメーションのイン ビボ画像診断

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：平成 18 年度（3 年計画の 2 年目）の研究計画は、1) 主任研究者らによって開発されたコンフォメーション変化（ β シート構造）蛋白を認識するプローブ $[^{11}\text{C}]\text{BF-227}$ のヒトにおける探索的臨床試験を継続すること、2) $[^{11}\text{C}]$ 標識プローブに比しより臨床有用性の高い $[^{18}\text{F}]$ 標識プローブを開発するための F 化化合物の最適化を行うことであった。1) についてはこれまでに 34 名の探索的臨床試験の画像処理を終了し、 $[^{11}\text{C}]\text{BF-227}$ はアルツハイマー病診断用プローブとして有用性の高いことが確認された。MCI（軽度認知障害）の症例では健常高齢者と同様の集積レベルを示す症例と、アルツハイマー病患者と同様に大脳皮質領域で高集積を示す症例が混在していた。プリオン病についてはスボラディック クロイツフェルト・ヤコブ病患者 1 名、ゲルストマン・ストライヤー・シャインカー病患者 1 名の PET 画像を撮影し、両疾患において知られている異常型プリオン蛋白の空間的分布に一致していることが示唆される $[^{11}\text{C}]\text{BF-227}$ 集積画像を得ることができたが、1 例ずつの結果であり今後例数を増やして検討する予定。2) については約 850 化合物をスクリーニングし、その中から見いだされた代表的な 4 つの $[^{18}\text{F}]$ 標識および非標識 Compound 5、7、2、3 の薬理作用を検討した結果、 $[^{18}\text{F}]\text{Compound 3}$ が臨床試験に進捗させるに充分なる特性を有していると判断された。平成 19 年度中に同 $[^{18}\text{F}]$ 標識体 ($[^{18}\text{F}]\text{Compound 3}$) の探索的臨床試験を実施する予定。また、またアミロイドイメーシングプローブとして応用可能な 2 つの新規基本化学構造を発見した。

分担研究者

谷内一彦	東北大学大学院 医学系研究科 機能薬理学分野・教授
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・教授
堂浦克美	東北大学大学院 医学系研究科 創生応用医学研究センター プリオン蛋白分子解析分野・教授
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
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

A. 研究目的

アルツハイマー病 (AD) は現状では臨床症状を指標に MMSE (Mini Mental State Examination) や長

谷川式などの神経心理学的テストによって主として診断されている。しかし患者を取り巻く家族、または臨床家が AD 特有の臨床症状に気付いた時

には、それぞれアミロイドβ蛋白 (Aβ) および過剰リン酸化タウ蛋白を主構成成分とする老人斑および神経原線維変化、さらに神経細胞脱落 (脳萎縮) 等の病理像はもはや取り返しのつかないほど進行していることが知られている。すなわち、現状の AD 診断をガンのそれに例えるなら、末期状態に達した時点でしか検出されていないことになる。近年、一部 AD の前駆状態と考えられている MCI (Mild Cognitive Impairment; 軽度認知障害) という概念が起こってきたが、AD に進行する MCI においても病理学的にはすでに立派な AD 状態であることが明らかにされている。AD の病理像は老人斑、神経原線維変化、神経細胞脱落の順にあらわれ、最初の病理像である老人斑蓄積は臨床症状が顕在化する数 10 年前 (40 年前からとする研究者もいる) から始まると考えられている。これらの事実は AD の臨床像と病理像、言い換えると clinical AD と pathological AD との間には大きな乖離が存在することを示唆している。この乖離にはいわゆる代償機能が関与しているものと考えられる。AD 病理像が進行してもかなりの部分代償機能がこれを補いつつ症状発現を抑えているが、病理像が代償機能を上回り症状が表に現れたときにはすでに手遅れの病理像を呈することになるであろう。脳は AD に関しては沈黙の器官とすることができる。

しかし、臨床像と病理像とが乖離しているという AD におけるこの現象は、もし的確に生体の病理像を捉えることができるならば、AD の発症前診断 (予知) が可能となること、また診断時点において例え高リスク者であっても診断時点で発症前、すなわち十分に代償機能が働いている時点でありさえすれば、これに根本治療を加えることにより、その後 AD に陥らずに一生を過ごせることが可能になることを示唆させる。

主任研究者らはこれまで約 10 年間にわたり AD における病理像としてのアミロイドβ蛋白 (ないしは老人斑) に結合するプローブ (低分子有機化合物) を開発につとめてきた。その成果としてプローブ^[11C]BF-227 の開発に成功し、平成 17 年度よりヒト探索的臨床試験を実施してきた。

従って平成 18 年度は¹¹C]BF-227 のヒトにおける探索的臨床試験の継続を本研究課題の第 1 の目的とした。

現在、世界中で主として研究用に使用されているアミロイド イメージング用 PET プローブのほとんどは^[11C]標識体である。^[11C]標識プローブはその半減期の長さ (約 20 分) から、これを使用

するためには PET 施設の近隣にサイクロトロンおよび合成装置の併設が必要である。一方、もう 1 つの代表的 PET 用標識体である^[18F]はその半減期 (約 110 分) が^[11C]のそれに比し長いこと、また^[18F]標識体はサイクロトロンおよび合成装置を備えた製造拠点で標識合成し、PET 施設へのデリバリーが可能であることなどから、診断用 (臨床用または商業用) プローブとしての^[18F]標識体の有用性は^[11C]標識体のそれに比し圧倒的に優れている。

従って^[18F]標識プローブを開発するための F 化合物の最適化度アップを本年度の第 2 の目的とした。

B. 研究方法

1. ^[11C]BF-227 を用いたヒトにおける探索的臨床試験

1) ^[11C]BF-227 を用いた AD における探索的臨床試験

岡村らは^[11C]BF-227 を用いた AD における探索的臨床試験を実施した。PET 検査は全例、東北大学サイクロトロン RI センターで実施し、PET スキャナーは SET-2400W (島津製) を 3D モードで使用した。^[11C]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。

2) ^[11C]BF-227 を用いたプリオン病における探索的臨床試験

堂浦らは^[11C]BF-227 を用いたヒトプリオン病 (スボラディック クロイツフェルト・ヤコブ病: 1 例、ゲルストマン・ストライヤー・シャインカー病: 1 例) における探索的臨床試験実施を実施した。PET 検査は、東北大学サイクロトロン RI センターで実施し、PET スキャナーは SET-2400W (島津製) を 3D モードで使用した。^[11C]BF-227 を静注投与し、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

2. ^[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 化合物の最適化

1) AD 診断用^[18F]標識プローブの開発

工藤らはこれまでに約 850 化合物をスクリーニングし、その中から見いだされた代表的な 4 つの^[18F]標識および非標識 Compound 5、7、2、3 の薬理作用を検討した。

古本らは代表的な 4 つの^[18F] Compound 5、7、2、3 の標識合成法の確立およびそれらの脳移行性を

評価した。

2) プリオン病診断用¹⁸F標識プローブの開発

堂浦らはヒトプリオン病 (ゲルストマン・ストライヤー・シャインカー病) 患者脳病理標本を Compound 3 で染色し、蛍光顕微鏡で観察した。

(倫理面への配慮)

AD および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 を用いたヒトにおける探索的臨床試験

1) ¹¹C]BF-227 を用いた AD における探索的臨床試験

これまでに 34 例の探索的臨床試験の画像処理を終了した。その結果、健常高齢者に比べて AD 患者では、大脳皮質領域で¹¹C]BF-227 の高集積が確認された (図 1)。線維化したアミロイドβ蛋白が蓄積しない小脳を参照領域として、大脳皮質における SUV (Standardized Uptake Value) ratio を算出したところ、図 2 に示すように AD 患者の全例で高値を示した。MCI(軽度認知障害) の症例では、健常高齢者と同様の集積レベルを示す症例と、AD 患者と同様に大脳皮質領域で高集積を示す症例が混在していた (図 2)。前頭葉、側頭葉、頭頂葉における SUV ratio は、MCI の過半数の症例で高値を示していた (図 2)。MCI が heterogeneous な集団であることを裏付ける所見といえる。また、AD と鑑別を要する神経変性疾患である FTD(前頭側頭葉型認知症)の症例においても本 PET 検査を実施した (図 1)。その結果、健常者と同様の集積パターンを示し、本検査が FTD と AD との鑑別診断にも有用であることを確認することができた。

2) ¹¹C]BF-227 を用いたプリオン病における探索的臨床試験

スポラディック クロイツフェルト・ヤコブ病患者 1 名、ゲルストマン・ストライヤー・シャインカー病患者 1 名 (図 3) の PET 画像を撮影し、両疾患において知られている異常型プリオン蛋白の空間的分布に一致していることが示唆される¹¹C]BF-227 集積画像を得ることができたが、1 例ずつの結果であり今後例数を増やして検討する予定。

2. 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 化合物の最適化

1) AD 診断用¹⁸F標識プローブの開発

平成 18 年度末までに約 850 化合物をスクリーニングし、その中から見いだされた代表的な 4 つの¹⁸F標識および非標識 Compound 5、7、2、3 の薬理作用を検討した。その結果、静脈内投与された 4 つの¹⁸F標識 Compound はいずれも脳移行性および脳からのクリアランスに優れていたが、脳からのクリアランスに関しては¹⁸F Compound 2、3 が特に優れていた (図 4,5)。また、¹⁸F Compound 2、3 は¹⁸F標識体において懸念される骨集積性がほとんど認められなかった (図 6)。遺伝的にアミロイドが脳に蓄積する Tg マウスにおいては静脈内投与された Compound 2、3 は血液-脳関門を透過し選択的にアミロイド斑に結合した (図 7)。また、Compound 3 は AD 患者脳切片において選択的にアミロイドβ蛋白ないしは老人斑に結合した (図 8)。

2) プリオン病診断用¹⁸F標識プローブの開発

F 化最適化 Compound 3 は選択的にゲルストマン・ストライヤー・シャインカー病患者脳内の異常型プリオン蛋白に結合した (図 9)。

D. 考察

平成 18 年度 (3 年計画の 2 年目) の研究計画は、1) 主任研究者らによって開発された β シート構造を有する蛋白を認識するプローブ ¹¹C]BF-227 のヒトにおける探索的臨床試験を継続すること、2) ¹¹C]標識プローブに比し より臨床有用性の高い¹¹C]標識プローブを開発するための F 化合物の最適化を行うことであった。

1) については平成 17 年 7 月から ¹¹C]BF-227 を用いた探索的臨床試験を開始し、これまでに 34 例の同試験の画像処理を終了した。その結果、¹¹C]BF-227 は AD 診断用アミロイドイメージングプローブとして高い有用性を有することが確認された。

MCI の症例では健常高齢者と同様の集積レベル

を示す症例と、AD 患者と同様に大脳皮質領域で高集積を示す症例が混在していた。MCIにおけるこの現象は ^{11}C PIB においても観察されることが多くの研究者によって学会および論文で報告されており (Lopresti BJ et al. J Nucl Med. 46. 1959-1972. 2005)、高集積症例のみから AD へ進行することが知られている。その意味で、 ^{11}C BF-227 による MCI の症例の追跡は興味あるところである。

スポラディック クロイツフェルト・ヤコブ患者 1 名、ゲルストマン・ストライヤー・シャインカー病患者 1 名の PET 画像を撮影し、両疾患において知られている異常型プリオン蛋白の空間的分布に一致していることが示唆される ^{11}C BF-227 集積画像を得ることができた。特に AD には見られない所見、すなわち AD では小脳にアミロイド β 蛋白の蓄積はほとんど見られない一方、プリオン病では小脳に異常型プリオン蛋白が蓄積することが知られているが、 ^{11}C BF-227 集積画像はこれを裏付ける結果であった。しかし、このプリオン病のデータは、各 1 例ずつの結果であり今後例数を増やして検討する予定。

2) については AD 診断用 ^{18}F 標識プローブに求められる特性には、以下が挙げられる。

- ① アミロイド β 蛋白に高い親和性を持つこと、
- ② 脳移行性が高いこと、
- ③ 脳内の標的 (アミロイド β 蛋白) 以外からは速やかにクリアランスされること、
- ④ 生体内で ^{18}F 標識体が代謝を受け ^{18}F が外れないこと (脱フッ素を受けないこと)、脱フッ素を受けると、 ^{18}F は骨に集積することが知られている。

^{18}F 標識プローブ開発の困難さは化合物にフッ素を導入すると、

- (1) 脳移行性は高まる、
- (2) 一方、脳内の標的以外からのクリアランスは遅くなる、
- (3) (1) と (2) を同時に満足させることを目的にドラッグデザインされた多くの標識体は脱フッ素を受けやすく、結果として ^{18}F が骨に集積する、

に帰結される。

このように ^{18}F 標識プローブは相反するいくつかの特性を持たせることが必要であり、競合研究者 (機関および企業)、すなわち ピッツバーグ大 (=General Elctrics)、ペンシルベニア大 (=シェ

ーリング)、UCLA (=シーメンス) 達もこれら (1) から (3) を同時に満たす ^{18}F 標識プローブの開発に苦慮している。

我々はこれまで約 850 化合物をスクリーニングし、その中から見いだされた代表的な 4 つの ^{18}F 標識および非標識 Compound 5、7、2、3 の薬理作用を検討した結果、 ^{18}F Compound 3 が臨床試験に進捗させるに充分なる特性を有すると判断された。

^{18}F 標識または非標識 Compound 3 は脳移行および脳からのクリアランスに優れ、 ^{18}F 標識体においてしばしばみられる骨への集積がほとんど観察されず、また Tg マウスにおける試験では血液-脳関門を透過してアミロイド斑に結合し、AD 患者脳切片においてアミロイド β 蛋白ないしは老人斑に結合した。平成 18 年度末現在、Compound 3 の毒性試験を実施中であり、同試験において特に問題となる作用がみられなければ、平成 19 年度中に同 ^{18}F 標識体 (^{18}F Compound 3) の探索的臨床試験を実施する予定 (表 1)。

また、研究の途中でアミロイドイメージング用プローブに応用可能であり、これまでの内外の特許の範疇に属さない新しい 2 つの基本化学構造を見いだした。図 10 には新規基本化学構造を有する 1 化合物の AD 患者脳切片における染色像を示した。新規化合物は選択的にアミロイド β 蛋白ないしは老人斑に結合した。

E. 結論

1. これまでに 34 名の探索的臨床試験の画像処理を終了し、 ^{11}C BF-227 は AD 診断用プローブとして有用性の高いことが確認された。

2. プリオン病についてはスポラディック クロイツフェルト・ヤコブ病患者 1 名、ゲルストマン・ストライヤー・シャインカー病患者 1 名の PET 画像を撮影し、両疾患において知られている異常型プリオン蛋白の空間的分布に一致していることが示唆される ^{11}C BF-227 集積画像を得ることができたが、1 例ずつの結果であり今後例数を増やして検討する予定。

3. 約 850 化合物をスクリーニングし、その中から見いだされた代表的な 4 つの ^{18}F 標識および非標識 Compound 5、7、2、3 の薬理作用を検討した結果、 ^{18}F Compound 3 が臨床試験に進捗させるに充分なる特性を有していると判断された。平成 19 年度中に同 ^{18}F 標識体 (^{18}F Compound 3) の探索的臨床試験を実施する予定。

4. アミロイドイメージングプローブとして応用可能な 2 つの新規基本化学構造を発見した。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 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 Technology. 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) Doh-ura K, Tamura K, Karube Y, Naito M, Tsuruo T, Kataoka Y: Chelating compound, chrysoidine, is more effective in both anti-prion activity and brain endothelial permeability than quinacrine. Cell. Mol. Neurobiol., (in press)
- 5) Fukuuchi T, Doh-ura K, Yoshihara S, Ohta S: Metal complexes with superoxide dismutase-like activity as candidates for anti-prion drug. Bioorg. Med. Chem. Lett., 16:5982-5987 2006
- 6) Sasaki K, Doh-ura k, Ironside J, Mabbott N, Iwaki T: Clusterin expression in follicular dendritic cells associated with prion protein accumulation. J. Pathol., 209(4):484-91 2006
- 7) Wakisaka Y, Santa N, Doh-ura K, Kitamoto T, Ibayashi S, Iida M, Iwaki T: Increased asymmertric pulvinar magnetic resonance imaging signals in Creutzfeldt-Jakob disease with florid plaques following a cadaveric dura mater graft. Neuropathol., 26:82-88 2006
- 8) Shintaku M, Yutani C, Doh-ura K: Brain stem lesions in sporadic Creutzfeldt-Jakob disease: A histopathological and immunohistochemical study. Neuropathol., 26:43-49 2006
- 9) 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., 29(5):927-932 2006
- 10) 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
- 11) 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
- 12) 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
- 13) 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. Innervation. 21:43. 2006
- 14) 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
- 15) 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
- 16) 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. 20.216-225. 2007
- 17) 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. 20.253-261. 2007
- 18) 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
- 19) 逆瀬川裕二、堂浦克美. プリオン病の治療 — その現状と展望 —. Brain Medical, 18(4):356-370, 2006
- 20) 逆瀬川裕二、堂浦克美. 孤発性クロイツフェルトーヤコブ病と 6 種類のサブタイプ. Medical Briefs in Brain & Nerve, 15(4):5-6, 2006
- 21) 石川謙介、堂浦克美. プリオンイメージングの試み. Clinical Neuroscience, 24(3):313-316, 2006
- 22) 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: ^{18}F -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: [^{11}C]-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) Doh-ura K: Therapeutic strategies for prion diseases. SFB-596 Meeting for Molecular Mechanisms of Neurodegeneration, Munich, October 16, 2006
- 6) Tsuboi Y, Doh-ura K, Yamada T: Experimental treatment with intraventricular pentosan polysulphate injection in prion disease. TheraPrion 2006, Paris, November 21, 2006
- 7) Doh-ura K, Rainov N, Ishikawa K, Kawasaki Y, Tsuboi Y: Pentosan polysulfate and amyloidophilic chemicals for prion diseases. NeuroPrion 2006, Torino, October 3-6, 2006
- 8) Sakasegawa Y, Doh-ura K: Aggregation and degradation of cellular prion protein by Novobiocin. NeuroPrion 2006, Torino, October 3-6, 2006
- 9) Ishikawa K, Kudo Y, Nishida N, Iwaki T, Doh-ura K: Styrylbenzazole derivatives for imaging of prion plaques and treatment of prion diseases. NeuroPrion 2006, Torino, October 3-6, 2006
- 10) Kawasaki Y, Kawagoe K, Chen C.J, Doh-ura K: Effectiveness of an orally administered anti-prion chemical. NeuroPrion 2006, Torino, October 3-6, 2006
- 11) Rainov N.G, Doh-ura K, Tsuboi Y, Krolak-Salmon P, Heidecke V: Experimental treatments for human prion diseases. NeuroPrion 2006, Torino, October 3-6, 2006
- 12) Sakasegawa Y, Doh-ura K: A coumarin antibiotic Novobiocin directly induces aggregation of the cellular prion protein. The 20th IUBMB Congress and 11th FAOBMB Congress, Kyoto, June 18-23, 2006
- 13) 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、岩田錬、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
- 14) 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.
- 15) 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
- 16) 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
- 17) 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(弘前). 9月14日-15日. 2006年
- 18) 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
- 19) 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、岩田錬、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
- 20) 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
- 21) 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: A β 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
- 22) 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
- 23) 堂浦克美: プリオン病の治療戦略を展望するー即戦力的方略ー. 第28回日本薬学会九州支部コロキウム、福岡、2006年10月21日
- 24) 堂浦克美: プリオン病の治療開発. 第64回慶應神経病理カンファレンス、東京、2006年9月9日
- 25) 照屋健太、魚本幸、堂浦克美: プリオン感染細胞からの迅速かつ効率的な PrPres 回収法. 2006年プリオン研究会、安比高原、2006年9月2、3日
- 26) 川崎ゆり、川越敬一、陳忠正、堂浦克美: 経口投与型プリオン病治療予防薬の開発に関する研究. 2006年プリオン研究会、安比高原、2006年9月2、3日
- 27) 堂浦克美、魚本幸、西澤桂子、川崎ゆり、伊波真彦: Prophylactic effect of dietary seaweed fucoidan against enteral prion infection. 2006年プリオン研究会、安比高原、2006年9月2、3日
- 28) 坪井義夫、堂浦克美、山田達夫: プリオン病に対するペントサンポリサルフェート脳室内持続投与の試み(続報). 2006年プリオン研究会、安比高原、2006年9月2、3日
- 29) 石川謙介、木村朋寛、工藤幸司、西田教行、岩城徹、堂浦克美: Styrylbenzazole 誘導体を用いたプリオンアミロイド斑のイメージングおよび伝達性海綿状脳症の治療. 2006年プリオン研究会、安比高原、2006年9月2、3日

- 30) Sakasegawa Y, Hachiya NS, Doh-ura K, Kaneko K. Heat shock protein 90 kDa unfolds the copper loaded full length recombinant prion protein in a nucleotide dependent manner. 2006年プリオン研究会、安比高原、2006年9月2、3日
- 31) 照屋健太、堂浦克美：蛋白質ライゲーションを利用したカルボキシ末端選択的に修飾を施したプリオン蛋白質の調製。東北大学バイオサイエンスシンポジウム、仙台、2006年5月29日
- 32) 山口恭史、三浦隆史、照屋健太、堂浦克美、竹内英夫：銅イオンによるプリオンタンパク質のコンホメーション変化。東北大学バイオサイエンスシンポジウム、仙台、2006年5月29日

H. 知的所有権の出願・登録状況

特許出願状況については下記参照

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

下記 1 および 2 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 荒井啓行 岡村信行 古本祥三 丸山将浩 堂浦克美
	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 荒井啓行 岡村信行 古本祥三 丸山将浩 堂浦克美
	PCT/JP2006/325804		平成 18 年 12 月 25 日		
3	特願2006-117294	コンフォメーション病医薬 組成物	平成 18 年 4 月 20 日	東北大学 伊藤ハム	堂浦克美
4	特願 2006-071881	異常型プリオン蛋白質濃縮 方法、および除去方法。	平成 18 年 3 月 15 日	東北大学 九州工業 大学	堂浦克美 照屋健太 竹中繁織 大塚圭一
5	特願 2006-65744	電気化学的抗原検出法とそ のための装置並びに検出チ ップ	平成 18 年 3 月 10 日	九州工業 大学 東北大学	竹中繁織 大塚圭一 堂浦克美 照屋健太

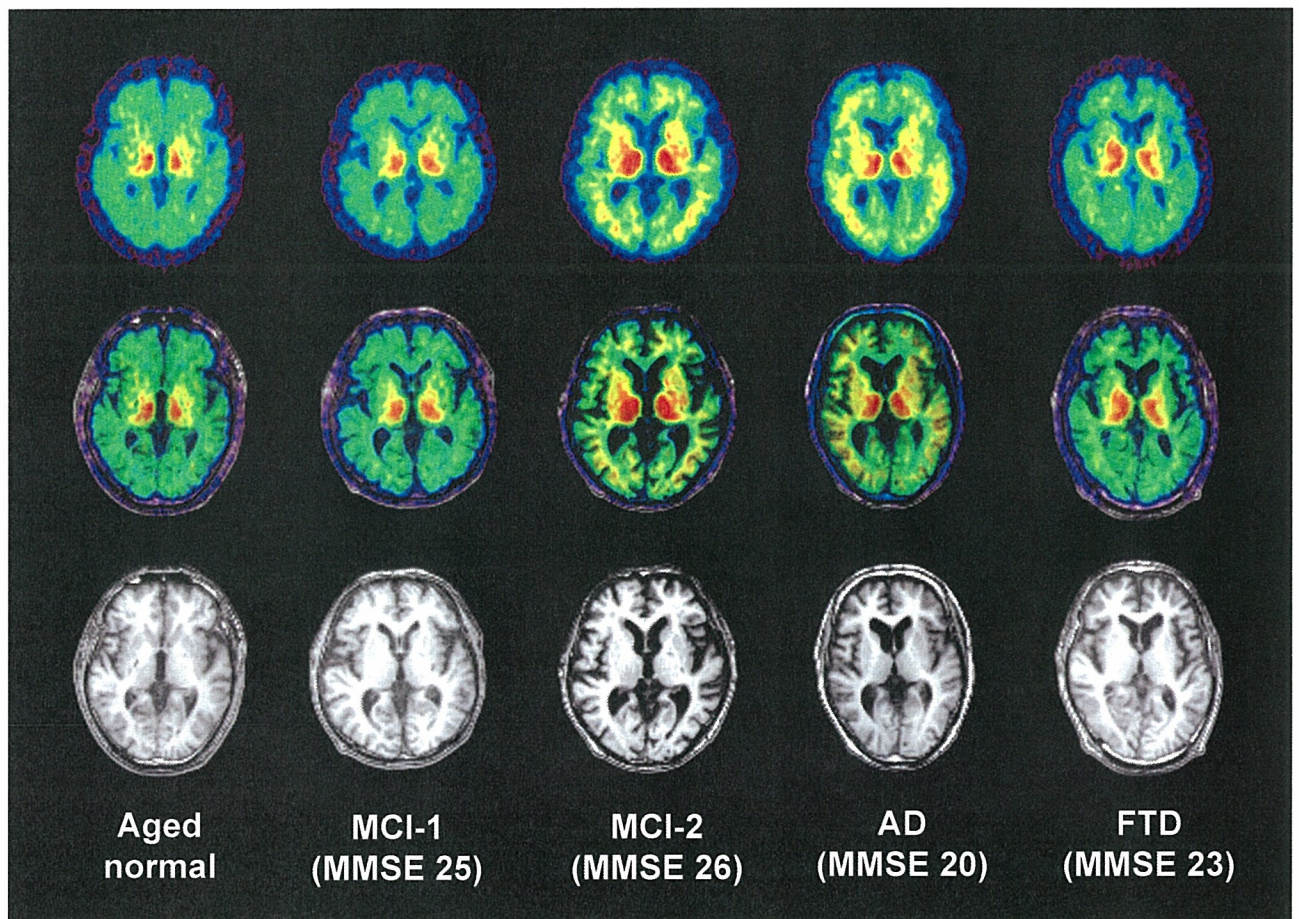


図 1. 健常高齢者 (Aged normal)、軽度認知障害 (MCI) 2 名、アルツハイマー病 (AD) 患者、前頭側頭葉型認知症 (FTD) 患者の ^{11}C BF-227 PET 画像 (投与 20~40 分後の SUV 加算画像)
 上段： ^{11}C BF-227 PET 画像 下段：MRI T1 強調画像 中段：上段と下段の重ね画像

アルツハイマー病においては、大脳皮質領域において ^{11}C BF-227 の高集積が観察された。MCI (軽度認知障害) の症例では、健常高齢者と同様の集積レベルを示す症例と、アルツハイマー病 AD 患者と同様に大脳皮質領域で高集積を示す症例が混在していた。アルツハイマー病と鑑別を要する神経変性疾患である FTD (前頭側頭葉型認知症) の症例においては、健常者と同様の集積パターンを示した。

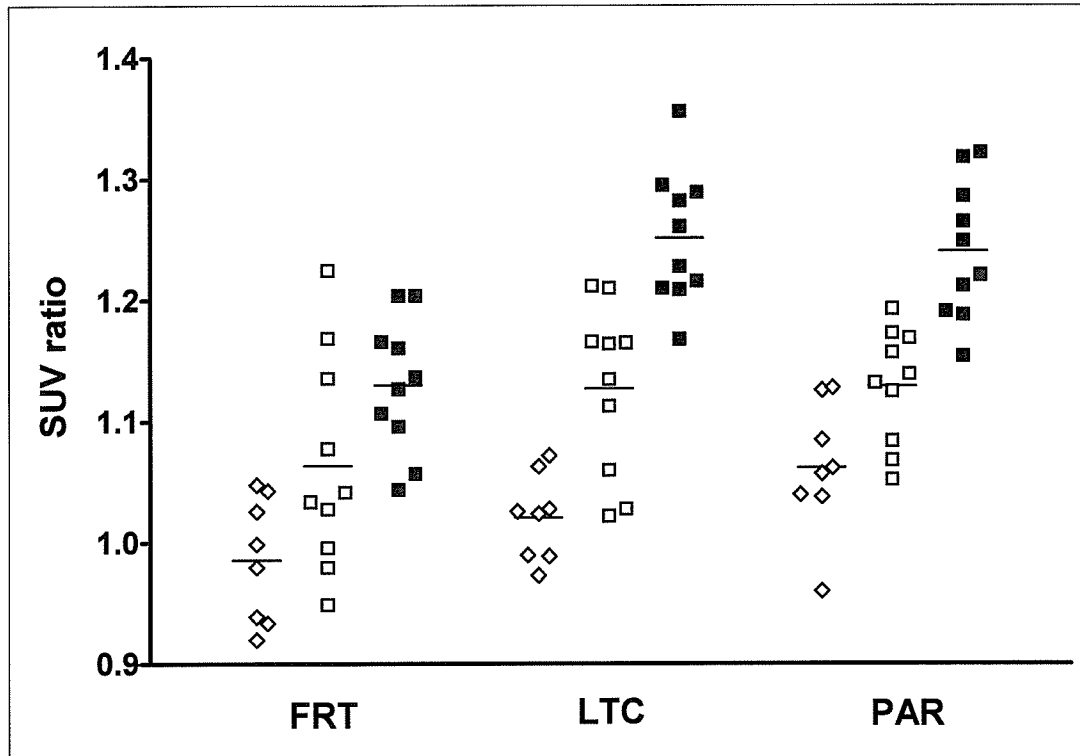


図2 前頭葉 (FRT)、側頭葉 (LTC)、頭頂葉 (PAR) における SUV 対小脳比の比較
 ◇ : 健常高齢者、□ : 軽度認知障害 (MCI)、■ : アルツハイマー病 (AD)

線維化したアミロイドβ蛋白が蓄積しない小脳を参照領域として、前頭葉、側頭葉、頭頂葉における SUV (Standardized Uptake Value) ratio を算出したところ、アルツハイマー病患者の全例で高値を示した。MCI(軽度認知障害) の症例では、健常高齢者と同様の集積レベルを示す症例と、アルツハイマー病患者と同様に大脳皮質領域で高集積を示す症例が混在していた。前頭葉、側頭葉、頭頂葉における SUV ratio は、MCI の過半数の症例で高値を示していた。

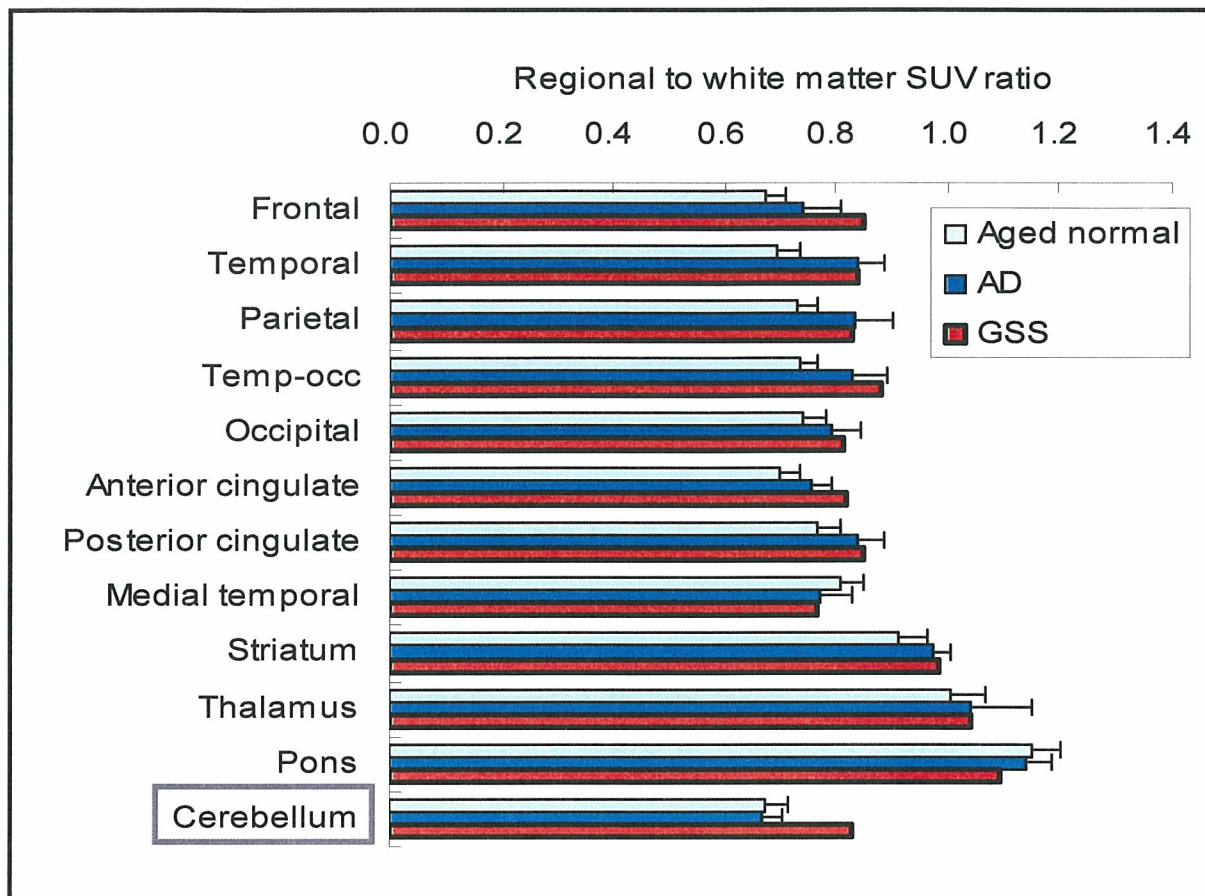


図3. 遺伝性プリオン病、ゲルストマン・ストライヤー・シャインカー (GSS) 病患者脳における $[^{11}\text{C}]\text{BF-227}$ の集積。SUV(Standardized Uptake Value)で表示。白質 (White Matter) を参照領域とした。全般的にアルツハイマー病患者と類似した SUV であったが、小脳 (Cerebellum) においてはアルツハイマー病ではアミロイド β 蛋白がほとんど蓄積しないが、GSS 患者では異常型プリオン蛋白が蓄積するという両疾患の病理像の違いを裏付ける画像が得られた。

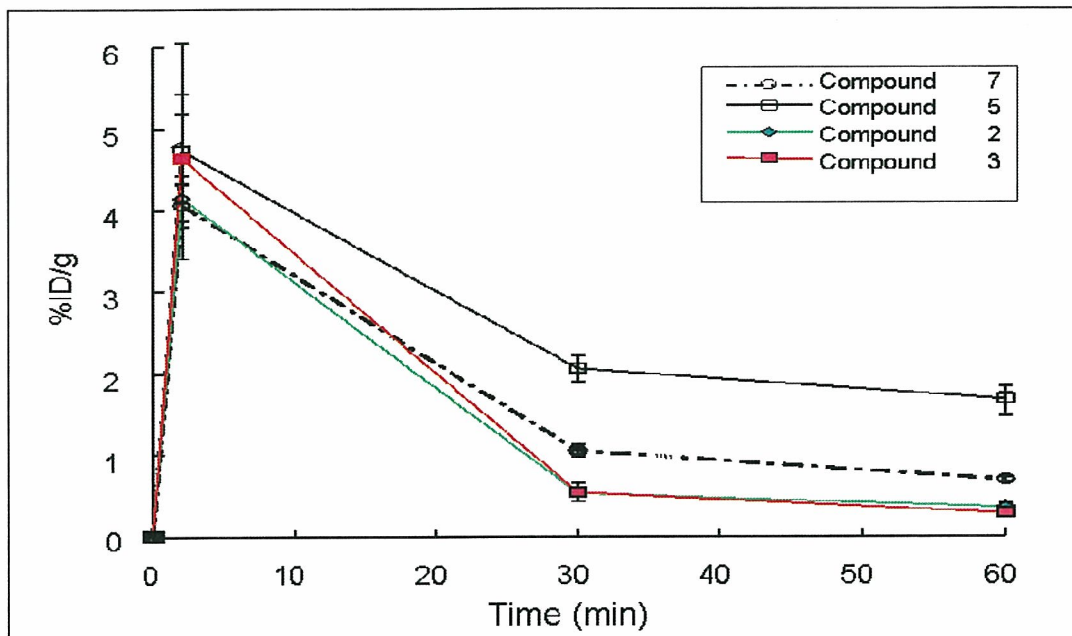


図 4. 正常マウスにおける静脈内投与された 4 つの最適化 ^{18}F 標識プローブの脳移行と脳からのクリアランス

4 つの最適化 ^{18}F 標識プローブは脳に充分量が速やかに移行し、またクリアランスにも優れていた。特にクリアランスに優れていたのは ^{18}F Compound 2 および 3 であった。

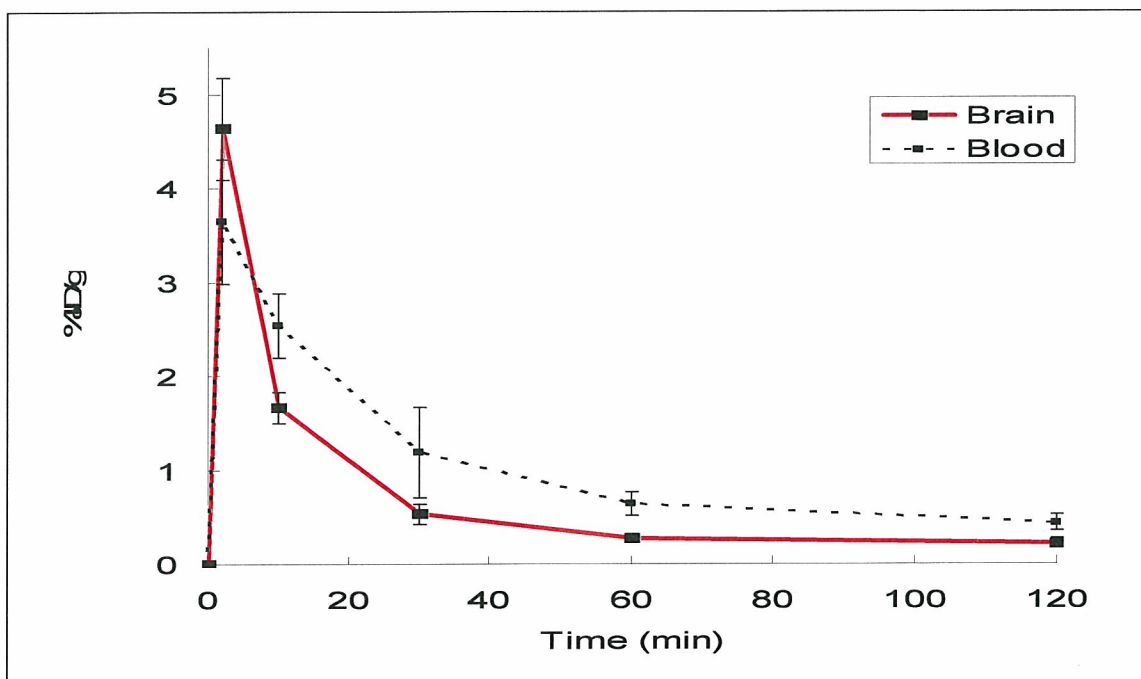


図 5. 正常マウスにおける静脈内投与された ^{18}F Compound 3 の脳移行と脳からのクリアランス

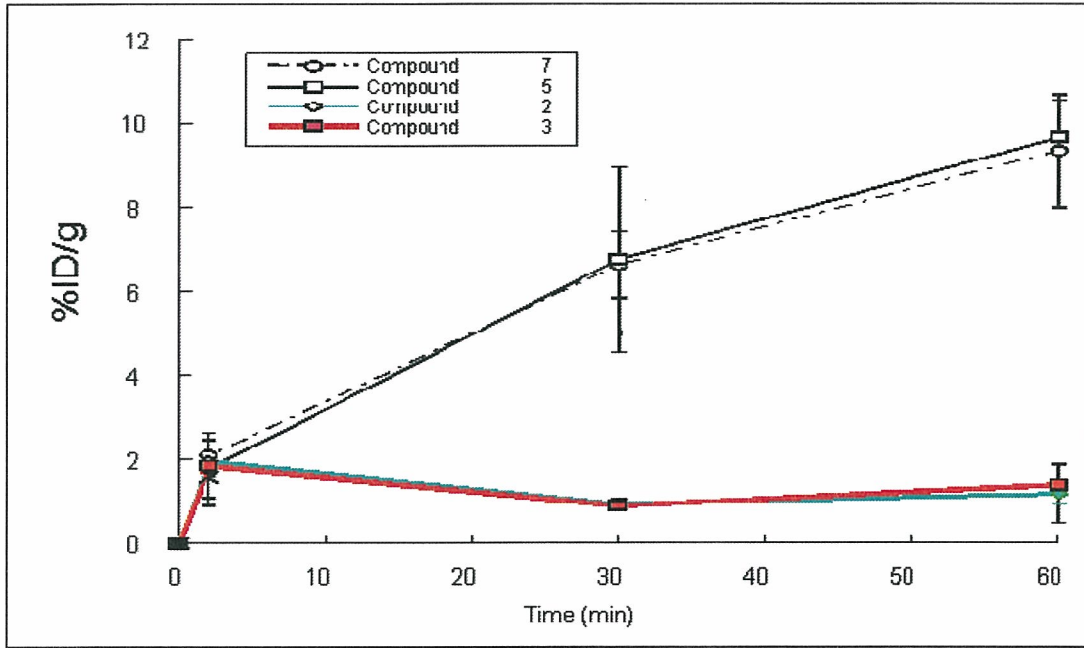


図 6. 正常マウスにおける静脈内投与された 4 つの最適化 ^{18}F 標識プローブの骨集積性
 ^{18}F Compound 2、3 には骨集積性はほとんど認められなかった。

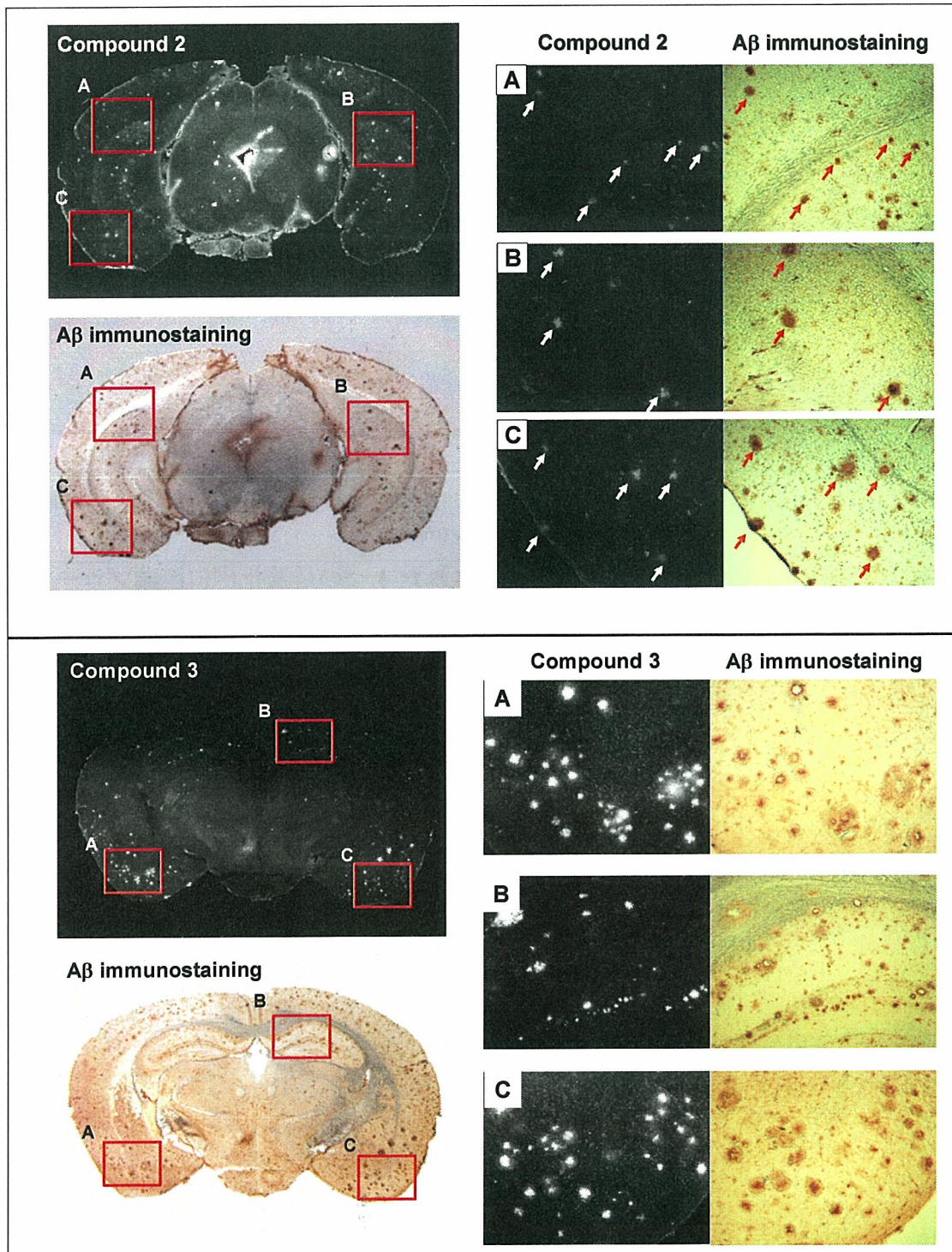


図 7. Tg マウスにおける静脈内投与された Compound 2 および 3 のアミロイド斑への結合性 Compound 2 (上段パネル) および 3 (下段パネル) それぞれの左側上段は静脈内投与後の実体蛍光顕微鏡画像を示す。それぞれの左側下段は左側上段と同一切片の抗 A β 抗体染色像。それぞれ右側の A、B および C は左の対応する同一部位の強拡大。Compound 2 および 3 は血液-脳関門を透過し選択的に脳内アミロイド斑に結合した。

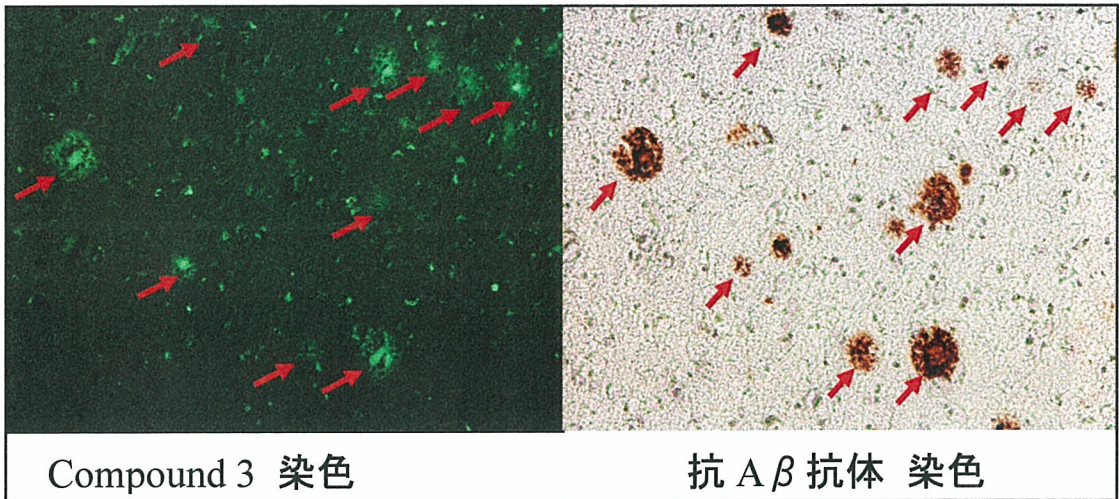


図 8. アルツハイマー病患者脳切片における Compound 3 の染色性
Compound 3 はアルツハイマー病患者脳切片においてアミロイド β 蛋白 (老人斑) に選択的に結合した。

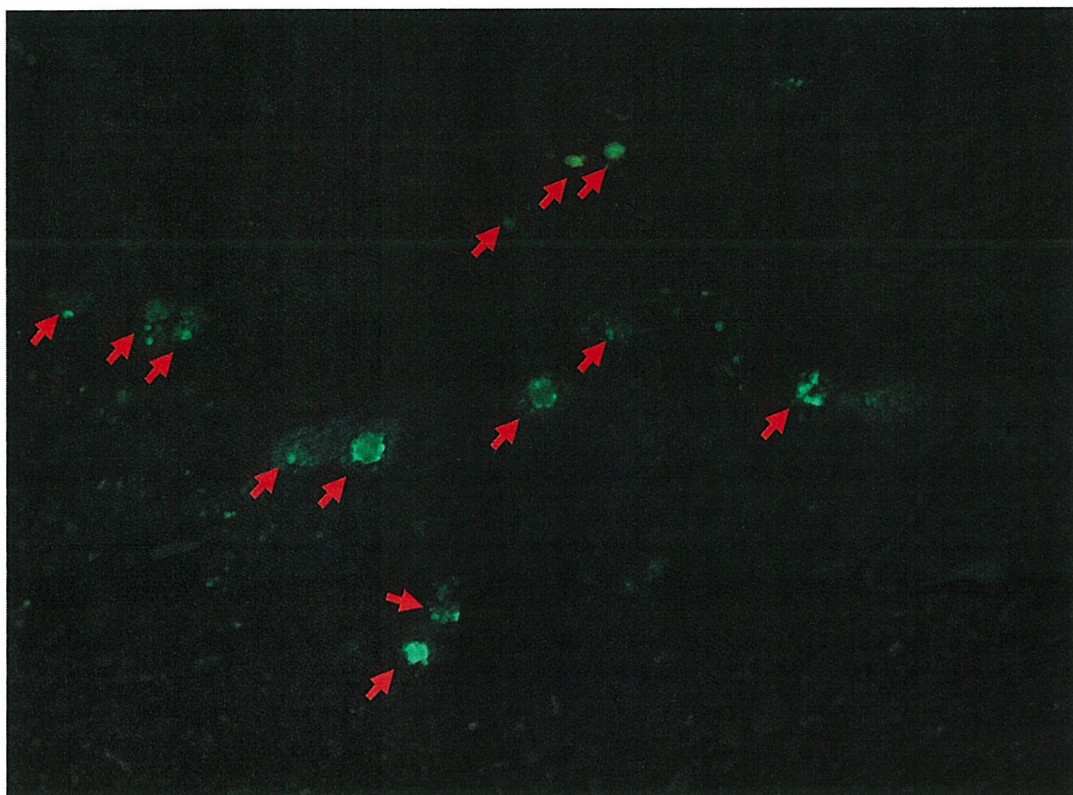


図 9. 遺伝性プリオン病、ゲルストマン・ストライヤー・シャインカー (GSS) 患者脳切片における Compound 3 の染色像
Compound 3 は選択的に GSS 病患者脳の異常型プリオン蛋白に結合した。
赤矢印は Compound 3 と異常型プリオン蛋白との結合を示す。

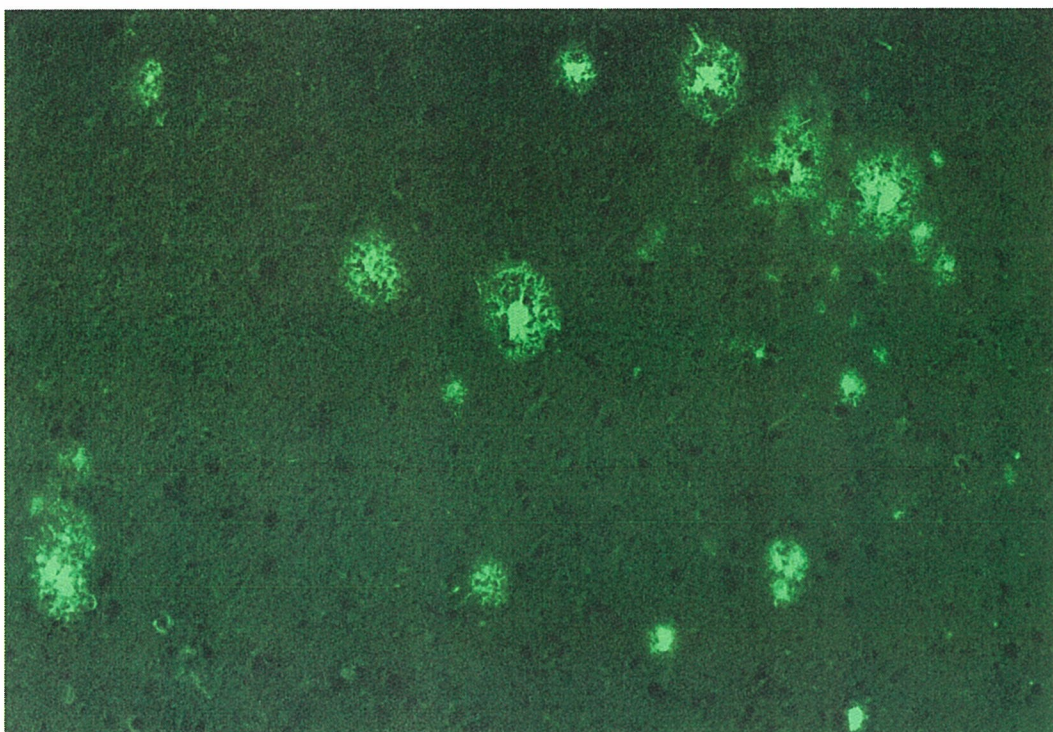


図 10. 新規基本化学構造を有する化合物のアルツハイマー病患者脳切片における染色像

新規基本化学構造を有する化合物はアルツハイマー病患者脳切片においてアミロイド β 蛋白（老人斑）に選択的に結合した。