

表 1. [¹⁸F]Compound 3 の開発タイムスケジュール

2007 年 2 月	2007 年 10-12 月
毒性試験スタート [¹⁸ F]Compound3・発熱・無菌・被爆試験 等 倫理委員会等申請 臨床研究登録機関登録	探索的臨床試験 スタート

分 担 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 分担研究報告書

[¹¹C]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 —

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
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	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
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
研究協力者	古川勝敏	東北大学大学院医学系研究科 先進漢方治療医学・助教授
研究協力者	田代 学	東北大学サイクロトロン R I センター 核医学部・助教授
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： アミロイドイメージング用プローブとして開発された BF-227 の ¹¹C 標識体を用いて、昨年度に引き続き Positron emission tomography を用いた臨床評価を実施した。本年度は、健常高齢者、アルツハイマー病患者に加えて、軽度認知障害、前頭側頭型認知症の症例も対象に加えて比較検討した。アルツハイマー病患者では、老人斑の好発部位である大脳皮質領域において [¹¹C]BF-227 の集積を認め、健常高齢者と明瞭に区別された。また軽度認知障害の半数以上の症例においても、アルツハイマー病患者と同様に大脳皮質における [¹¹C]BF-227 の集積上昇を認めた。一方、前頭側頭型認知症の症例ではアルツハイマー病患者とは異なり、健常者と同様の集積パターンを示した。以上の所見から、 [¹¹C]BF-227 がアルツハイマー病の脳病理像を生体画像化する PET プローブとして、アルツハイマー病の早期診断や鑑別診断に有用であることが確認された。

A. 研究目的

認知症の最大の原因疾患であるアルツハイ

マー病（AD）の脳内では、アミロイドβ蛋白（Aβ）の脳内濃度が上昇し、本来は可溶性であ

る A β が線維化して、脳内に蓄積する。こうして形成された老人斑と、タウ蛋白が神経細胞内に蓄積して形成された神経原線維変化は、AD 患者に特徴的な脳病理変化として広く知られている。これらの病理像は、AD の初期症状である物忘れ症状よりも先行して出現すると考えられている。したがって、老人斑、神経原線維変化の蓄積を生体で検出する画像診断法を開発することができれば、AD の理想的な早期診断法となり得る。

現状において、老人斑・神経原線維変化の生体イメージングに最も適した方法は、Positron emission tomography (PET)を用いた核医学的手法である。そのためには、老人斑に選択的に結合する特性を持ったプローブが必要となる。我々は老人斑の脳内蓄積を検出する画像診断用プローブを開発する目的で化合物スクリーニングを行ってきた。その結果、benzoxazole 誘導体をプローブの候補化合物として見出し、その最適化化合物である BF-227 を ^{11}C 標識用アミロイドイメージングプローブとして選定した。本年度も、昨年度に引き続き ^{11}C BF-227 の臨床評価を実施した。本年度は健常高齢者、AD 患者に加えて、AD の発症前段階の症例を高率に含むとされている軽度認知障害、さらには AD との鑑別診断がしばしば困難な前頭側頭型認知症の症例も対象に加えて比較検討した。

B. 研究方法

健常ボランティア 11 名（うち高齢者 8 名）、AD 患者 10 名（平均 MMSE スコア 20.9 点）、軽度認知障害 (MCI) 症例 10 名（平均 MMSE スコア 26.1 点）、前頭側頭型認知症 (FTD) 1 名、クロイツフェルト・ヤコブ病 (CJD) 患者 1 名、ゲルストマン・ストロイスラー・シャインカー症候群 (GSS) 1 名の計 34 症例で PET 検査を実施した。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。

PET 検査は全例、東北大学サイクロトロン RI センターで実施した。PET スキャナーは SET-2400W (島津製) を 3D モードで使用した。 ^{11}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。

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}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皮質を参照領域として、投与後 40~60 分の平均 SUV 値の対小脳比 (SUV ratio) を算出した。ROI 解析には AJS 株式会社製 Dr.View/LINUX を使用した。また同一被検者群において、FDG-PET を実施し、 ^{11}C BF-227-PET において SUVR を用いた場合と AD 診断精度を比較した。ROI 解析には GraphPad Prism 4 ソフトウェアを使用した。さらに SPM2 ソフトウェアを用いて SUV 画像の解剖学的標準化を行い、voxel 単位で健常者群と AD 患者群の画像の統計学的解析を行った。

(倫理面への配慮)

臨床研究は、ヘルシンキ宣言を遵守して倫理面には最大限の配慮を行い、倫理委員会、薬剤委員会の承認を経て実施した。東北大学では「東北大学における新規 PET 薬剤の臨床開発の指針」という内部基準を作成して新規標識リガンドによる探索的 PET 臨床研究を行っている。東北大学における審査体制は以下の 3 委員会構成されている。

- 1) 放射性薬剤品質管理委員会 (委員長: 後藤 順一 薬剤部長、PET 関連委員会)
- 2) 放射性核種を用いる臨床研究委員会 (委員長: 菅村和夫 医学系研究科長)

3) 東北大学医学部医学部倫理委員会 (委員長 : 小林俊光教授)

C. 研究結果

[¹¹C]BF-227 投与後の時間一放射能曲線を健常高齢者と AD 患者で比較したところ、前頭葉、側頭葉、頭頂葉などの老人斑の好発部位では健常高齢者に比べて AD 患者で [¹¹C]BF-227 のクリアランスが遅延していた (図 1)。このクリアランス遅延は、 [¹¹C]BF-227 の老人斑との結合を反映していると思われる。一方、脳幹部、白質、視床においても、 [¹¹C]BF-227 の排泄が遅延する傾向が認められた。ただし、その集積レベルは健常高齢者と AD 患者でほぼ同レベルにあることから、AD 特有の病理変化を反映したものではないと考えられる。

健常高齢者、MCI、AD 患者、FTD 患者の [¹¹C]BF-227 投与後の PET 画像を図 2 に示した。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。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 ratio を算出したところ、図 3 に示すように AD 患者の全例で高値を示した。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 (図 3)。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)。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 の症例においても本 PET 検査を実施した (図 2)。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。

本 PET 検査の AD 患者と健常高齢者の鑑別能力を、同一被検者で施行した FDG-PET と比較した。ROC 解析の AUC 値は、FDG-PET (0.8016) に比べて、BF-227-PET では 0.9875~1 と高く、

BF-227 を用いた PET 検査の方が AD 診断能力が優れていると考えられた (図 4)。

最後に、健常者に比べて AD 患者で集積上昇のみられた脳領域を SPM2 ソフトウェアを用いて抽出した。その結果、側頭一頭頂葉領域を中心とする大脳皮質の広範な領域で有意な集積上昇が確認された (図 5)。このような集積分布は、病理学的研究で示されている Neuritic plaque の沈着分布に近いことから、BF-227 の脳内集積は比較的成熟した老人斑の蓄積を反映しているものと推測された。

D. 考察

以上で述べた臨床成績から、 [¹¹C]BF-227 を用いた PET 検査が AD 診断に有用であることには疑いの余地がない。少数例の検討ではあるが、FDG-PET よりも優れた診断能を示唆するデータも得られており、アミロイドイメージングが今後 AD 画像診断のスタンダードになる可能性は高い。ただし PET における計測値が老人斑の集積をどの程度忠実に反映しているのかについては不透明であり、今後、画像所見と病理所見の対比を通じた検証が必要である。また MCI で異常集積を示した症例が AD の発症予備段階の症例か否かについても現時点では確認がとれておらず、今後のフォローアップを通じた検証が求められる。

アミロイドイメージング法の普及をはかるには、¹¹C 標識プローブでは薬剤供給面での制約があり、実施施設が限定される。現在実用化されている ¹⁸F 標識プローブは FDDNP のみであるが、今後 FDDNP、あるいは PIB の ¹⁸F 標識体に優る特性を有する ¹⁸F 標識薬剤の早期実用化をめざして研究を進めたい。

E. 結論

本研究結果から、 [¹¹C]BF-227 は老人斑を生体画像化する PET プローブとして AD 早期診断や鑑別診断に有用であることが確認された。

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. 長寿フロンタライン 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)
6. 福田寛, 岡村信行. 分子イメージング総論. *BRAIN and Nerve* 59:203-207.2007

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. *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. 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

12. 月 14 日 名古屋

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況（予定も含む）

特許出願状況については下記参照

1. 特許取得

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		

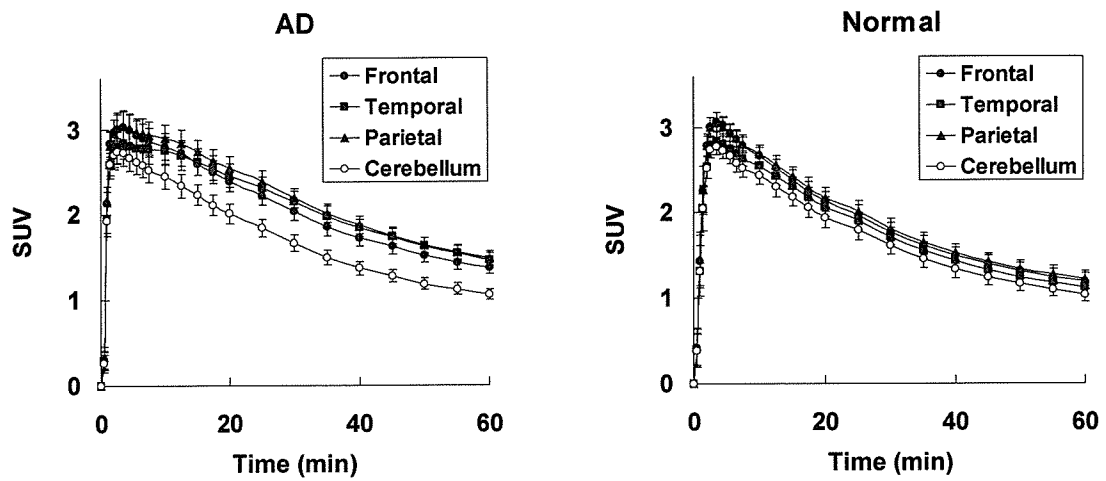


図1 アルツハイマー病患者 (AD) と健常人 (Normal) の ^{11}C BF-227 静注後の時間放射能曲線
 Normal: 健常人、前頭葉 (Frontal)、側頭葉 (Temporal)、頭頂葉 (Parietal)、小脳 (Cerebellum)

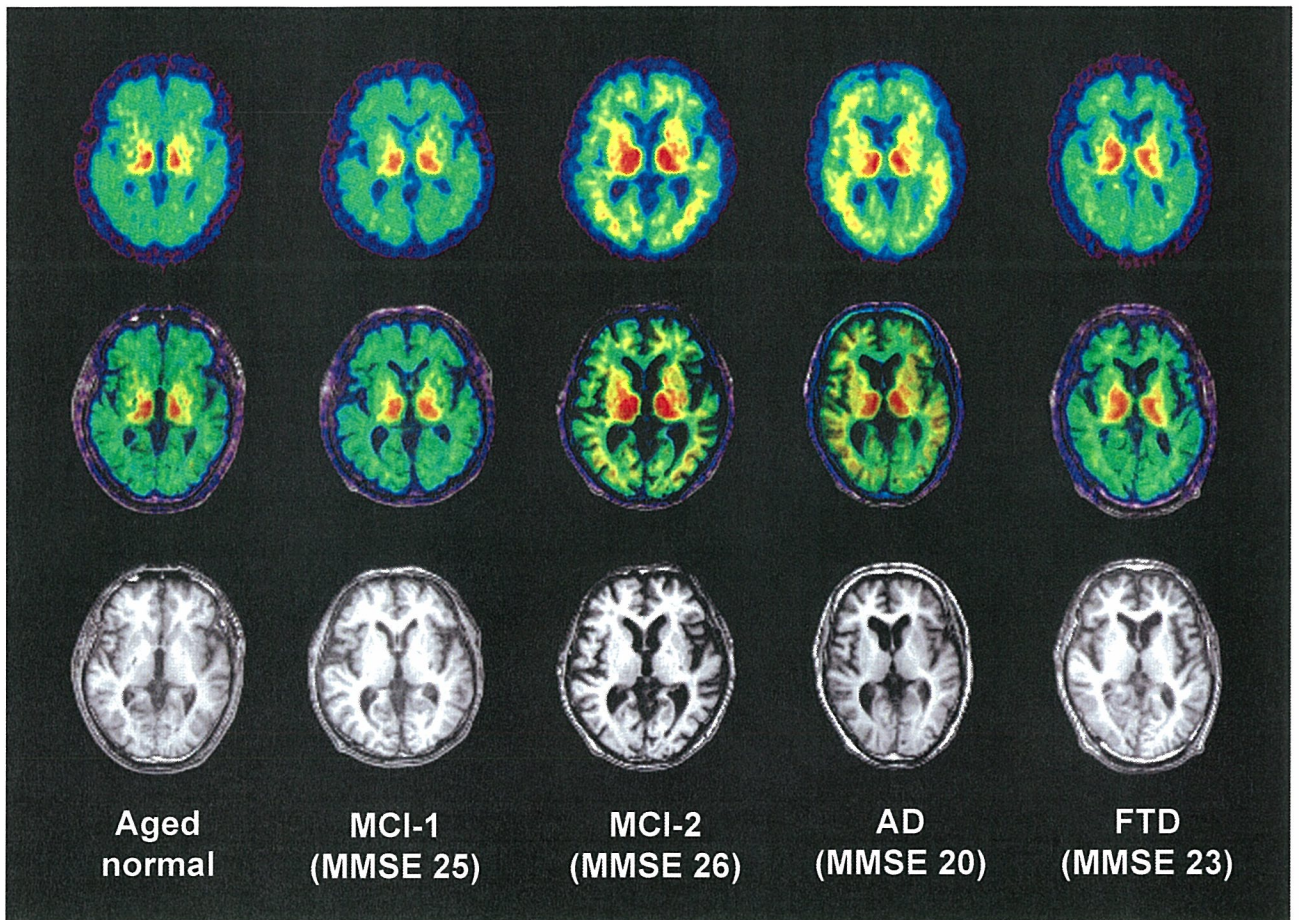


図2. 健常高齢者 (Aged normal)、軽度認知障害 (MCI) 2 名、アルツハイマー病 (AD) 患者、前頭側頭葉型認知症 (FTD) 患者の $[^{11}\text{C}]\text{BF-227}$ PET 画像 (投与 20~40 分後の SUV 加算画像)

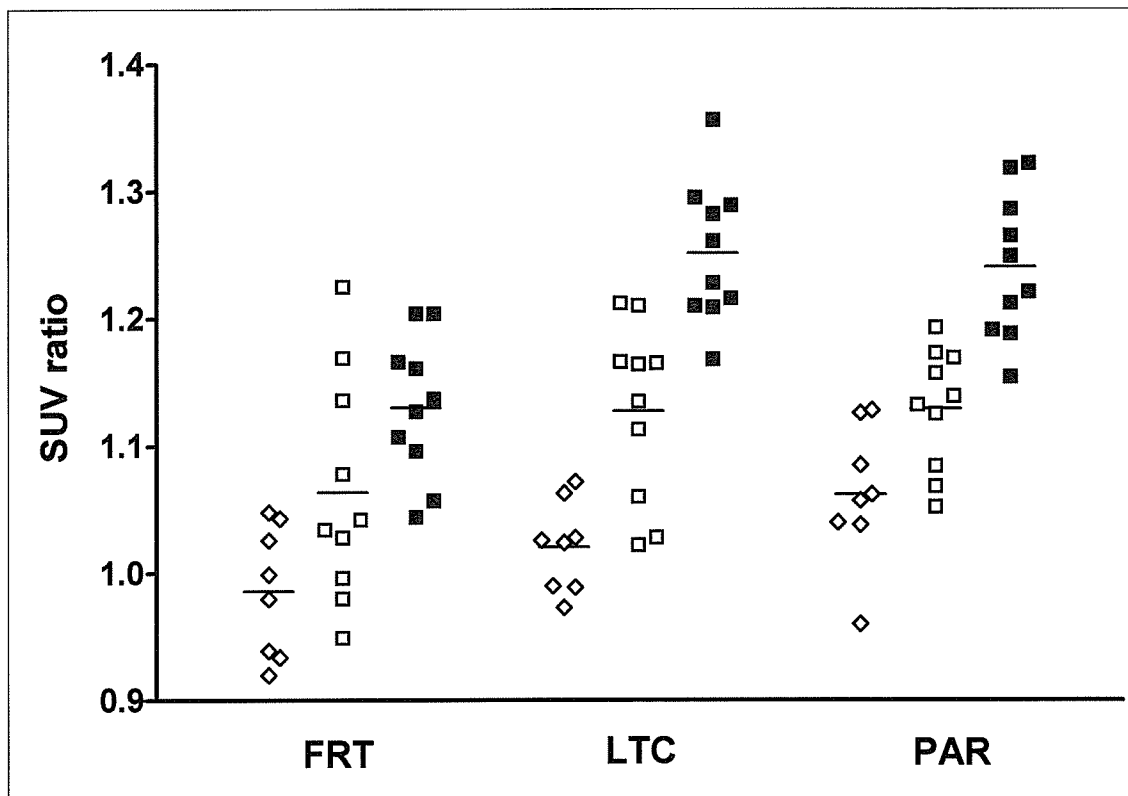


図3 前頭葉 (FRT)、側頭葉 (LTC)、頭頂葉 (PAR) における SUV 対小脳比の比較
 ◇：健常高齢者、□：軽度認知障害 (MCI)、■：アルツハイマー病 (AD)

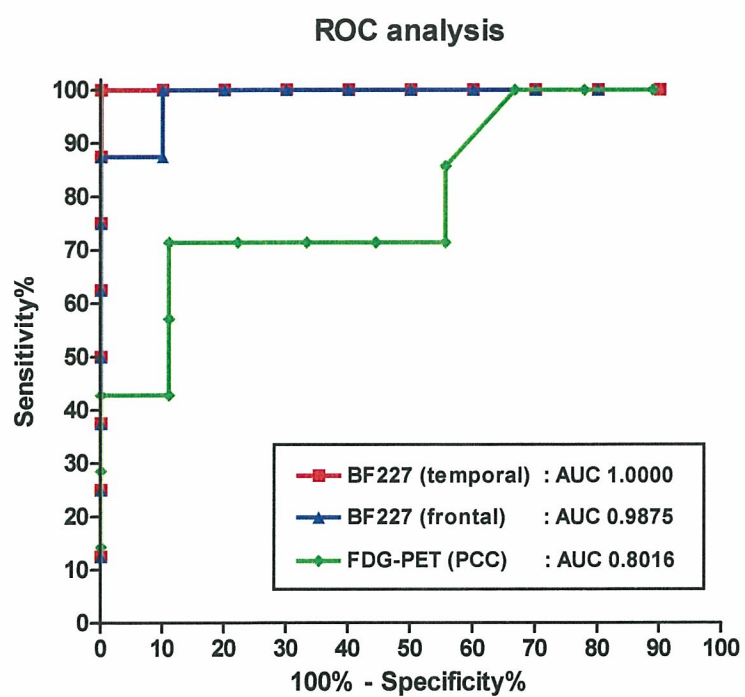


図4 アルツハイマー病患者と健常高齢者の鑑別能の比較 (ROC 解析)

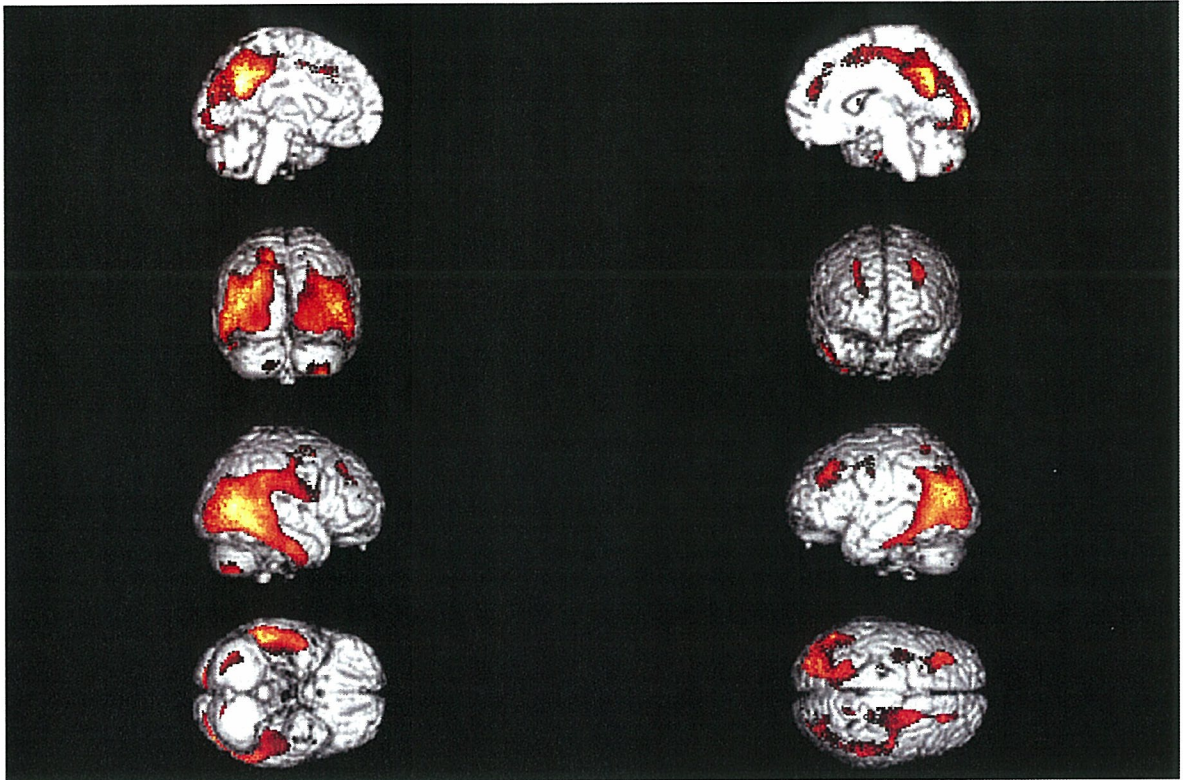


図5 健常高齢者（8名）に比べて、AD患者（10名）で有意に SUV ratio の上昇していた領域（SPM2 analysis, $p < 0.001$ uncorrected）

厚生労働科学研究費補助金（基礎研究成果の臨床応用推進研究事業）
平成 18 年度 分担 研究報告書

¹⁸F 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)

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
研究協力者	岩田錬	東北大学サイクロトロン RI センター 核薬学部・教授
研究協力者	石川洋一	東北大学サイクロトロン RI センター 核薬学部・助手
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：現在、当研究グループでは炭素 11 標識アミロイドイメージング剤 [¹¹C]BF227 を用いた臨床研究を実施しているが、将来的に大規模な臨床研究・治験への展開、さらには PET 検診への導入を想定した場合、より半減期の長いフッ素 18 で標識した標識アミロイドイメージング剤の開発が必要となる。本研究では、現在開発中のフッ素 18 標識用アミロイドイメージング剤の候補化合物について、実際にフッ素 18 標識化合物の合成法を確立し、標識化合物についてマウスを使った脳移行性を調べてその動態性の評価を行った。結果として、4 候補化合物([¹⁸F]Cpd-2, -3, -5, -7) についてそれぞれの標識合成法を確立し、脳移行性評価から [¹⁸F]Cpd-2 および [¹⁸F]Cpd-3 がアミロイドイメージング剤として相応しい脳内動態性を示すことが明らかにされた。この [¹⁸F]Cpd-2 および [¹⁸F]Cpd-3 の脳内動態性は、 [¹¹C]BF227 のマウス脳移行性評価実験の結果と比べても優れており、フッ素 18 標識アミロイドイメージング剤の有力な候補化合物であることが確認された。

A：研究目的

アミロイドイメージングは、アルツハイマー病 (Alzheimer's Disease; AD) の重要な病理所見である脳内アミロイドβタンパク (Aβ) の蓄積を生体画像化する方法であり、AD の早期診断や Aβ 標的治療薬の評価への応用が期待されている。当研究グループでは PET によるアミロイドイメージングを

目指して、これまでに Aβ 凝集体のリガンド [¹¹C]BF227 を開発し、AD 患者を対象とした臨床研究を展開してきた。そして、 [¹¹C]BF227 を用いることで PET イメージングにより脳内 Aβ の沈着を定量的に評価できることが確認されつつある。将来的に、大規模な臨床研究・治験への展開、さらには PET 検診への導入を想定した場合、炭素 11(半

減期:約 20 分)よりも半減期の長いフッ素 18(半減期約 110 分)で標識した PET 用アミロイドイメージング薬剤の開発が必要となる。このような背景から、現在、当研究グループでは F18 標識アミロイドイメージング剤の開発を進めている。本研究では、当研究グループがこれまでに非標識体を使った蛍光染色、蛍光結合試験などでスクリーニングした F18-標識アミロイドイメージング剤候補化合物(Cpd-2, -3, -5, -7)について、その有用性の評価を目的として実際に標識化合物の合成を行い、動物実験により標識化合物の脳移行性の検討を行った。

B: 研究方法

B-1 標識合成

サイクロトロン HM12(住友重機械社製)で加速した 12MeV の陽子ビームを同位体純度 95%以上の $^{18}\text{O}]\text{H}_2\text{O}$ に 30 分間照射して $^{18}\text{F}^-$ を合成した。続いてその溶液を陰イオン交換樹脂(AG1-X8)に通して $^{18}\text{F}^-$ を樹脂上に捕捉し、33mM K_2CO_3 溶液で溶出させた。この $^{18}\text{F}^-$ 含有 K_2CO_3 水溶液 300 μL (3.28GBq) を褐色バイアル(容量 10mL)にとり、Kryptofix222(16mg)、アセトニトリル(2 mL)を加えてオイルバス(110 $^\circ\text{C}$)で加熱しながら He ガスを吹き付け、水を共沸させながらアセトニトリルを完全に除去した。さらにアセトニトリルを加え同様に加熱条件下でアセトニトリルを除去する操作を 3 回繰り返して、バイアル内を無水の状態にした。そこに、標識前駆体化合物(2-4 mg)を溶解した DMSO 溶液(0.4-0.8 mL)を加え、オイルバス(110 $^\circ\text{C}$)で 10 分間加熱攪拌した。生成物の粗精製については、DMSO 反応溶液を Sep-Pak $^\circ\text{R}$ Alumina カートリッジ(Waters 社製)とフィルター(0.5 μm)に通してフッ素 18 アニオンを除去する方法、または、反応溶液を蒸留水(8 mL)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 で溶出する方法によって行った。目的とする F18 標識化合物は、得られた粗生成物から逆相セミ分取 HPLC によって分離し精製した。この分取フラクションの放射能を減衰補正し、放射化学的収率を求めた。

標識合成した化合物については、分取 HPLC フ

ラクションから固相抽出法によって単離し、可溶化剤としてポリソルベート 80 を添加して生理食塩液に溶解し、注射用製剤として動物実験に使用した。

B-2 F18-標識薬剤の脳移行性および骨集積性の評価

上記方法で合成し、注射用製剤として調製したフッ素 18 標識アミロイドイメージング剤(^{18}F]Cpd-2, -3, -5, -7)を ICR マウス(雄、28-32 g)に尾静脈内投与し一定時間後(2, 30, 60 分後)に屠殺して血液、脳、骨を速やかに摘出した。摘出した臓器試料の放射能をガンマカウンターで測定した後、重量を測定して各組織の重量あたりの投与放射能に対する放射能集積率(%ID/g)を算出した。

C: 研究結果

C-1 標識合成

新規フッ素 18 標識アミロイドイメージング剤(^{18}F]Cpd-2, -3, -5, -7)はいずれも良好な放射化学的収率(27-45%)で標識合成することができた。いずれの化合物も分取 HPLC において目的化合物のピークを不純物のピークときれいに分離することができた(図 1)。

C-2 F18-標識薬剤の脳移行性および骨集積性の評価

尾静脈投与した標識化合物(^{18}F]Cpd-2, -3, -5, -7)の脳取り込み率については、いずれも投与 2 分後で約 4-5%ID/g と優れた値を示した(図 2A)。4 標識化合物のうち、 ^{18}F]Cpd-2 と ^{18}F]Cpd-3 は投与後 30 分で脳取り込み率は 1%ID 以下となり、脳からの消失は速やかであることが明らかになった。同 2 化合物は、投与後 60 分でさらに脳取り込み率は低下し、投与 2 分後の 10 分の 1 以下になった。骨への放射能集積率については、 ^{18}F]Cpd-5 と ^{18}F]Cpd-7 は時間依存的に増加し、60 分後には 8% ID/g 以上となった(図 2B)。一方、 ^{18}F]Cpd-2 と ^{18}F]Cpd-3 の場合は時間依存的骨集積性がみられず、60 分後でも 2%ID/g 以下となった。

D: 考察

PET 用アミロイドイメージング剤に求められる重要な特徴の一つとして、薬剤を投与した後、速やかに脳内に取り込まれ、正常脳組織に対して非特異的結合を示さず、短時間で脳内から排泄される必要がある。この性質を持つことにより、脳内に老人斑の沈着があった場合、その領域にアミロイドイメージング剤が保持されることになり、正常脳組織に対してコントラストの高い画像が得られることになる。特に、排泄速度が速ければ速いほど短い撮像時間で高コントラストの画像が得られることになり、実用性の観点からも相応しいものとなる。このような点から本研究で評価した 4 化合物について考察してみると、投与直後における脳内への取り込みはいずれも優れた性質を有していることが明らかになった。しかし、脳内からの排泄という観点では、 $[^{18}\text{F}]\text{Cpd-2}$ と $[^{18}\text{F}]\text{Cpd-3}$ が非常に優れた排泄性を示した。これらの排出速度は、現在臨床で評価している $[^{11}\text{C}]\text{BF227}$ よりも優れていることから、BF227 よりも正常脳組織に対する非特異的結合性が低いと考えられる。さらに特筆すべき点として、 $[^{18}\text{F}]\text{Cpd-2}$ と $[^{18}\text{F}]\text{Cpd-3}$ を投与した場合、骨への放射能集積の時間依存的増加がみられないことから、生体内での脱フッ素代謝反応に対して耐性を有することが推察される。老人斑の高沈着部位である大脳皮質の周辺には頭蓋骨が存在するため、骨に非常に高い放射能集積が存在すると老人斑の画像化や定量解析などにも影響を与える可能性があることから、F18 標識アミロイドイメージング剤を開発する場合は、脱フッ素化されにくい化合物を開発することが重要になるが、この点からも $[^{18}\text{F}]\text{Cpd-2}$ と $[^{18}\text{F}]\text{Cpd-3}$ はアミロイドイメージング剤として優れた性質を有していると考えられる。

E: 結論

本研究により、F18 標識アミロイドイメージング剤の有力な候補化合物として新規標識化合物 $[^{18}\text{F}]\text{Cpd-2}$ および $[^{18}\text{F}]\text{Cpd-3}$ の開発に成功した。今後、 $[^{18}\text{F}]\text{Cpd-2}$ および $[^{18}\text{F}]\text{Cpd-3}$ の老人斑結合性・特異性および安全性の評価を進め、臨床応用の実

現に向けた研究を展開する。

F: 研究発表

F-1 論文発表 (著者: 論文名, 雑誌名 巻(号): ページ, 発行年)

- ① 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
- ② 岡村信行, 古本祥三, 工藤幸司, 谷内一彦: 臨床応用一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

F-2 学会発表 (発表者: 演題名, 学会名, 開催地, 開催日, 開催年)

- 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, Yanai K, Kudo Y: $[^{11}\text{C}]\text{-BF-227}$ 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 Molecular Imaging (Hawaii) Aug 30-Sep 2. 2006
- ④ 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 $[^{11}\text{C}]\text{BF227}$ の臨床評価. 第 4 6 回日本核

- ⑤ 医学会学術総会(鹿児島). 11月9日-11日. 2006
- 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
- 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 プロープの開発. 第57回日本薬理学会北部会(弘前). 9月14日-15日. 2006
- 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 プロープ. 第57回日本薬理学会北部会(弘前). 9月14日-15日. 2006
- 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、岩田錬、工藤幸司、谷内一彦: アミロイド画像化用プロープ[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
- ⑩ 古本祥三、岡村信行、石川洋一、船木義仁、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プ[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
- ⑪ 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
- ⑫ 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 プロープ. 第79回日本薬理学会年会(横浜). 3月8日. 2006

G: 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

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2件の特許について「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/JP2006/32396 2		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 断用プロープ	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/JP2006/32580 4		平成18年 12月25日		

図1 分取 HPLC クロマトグラム

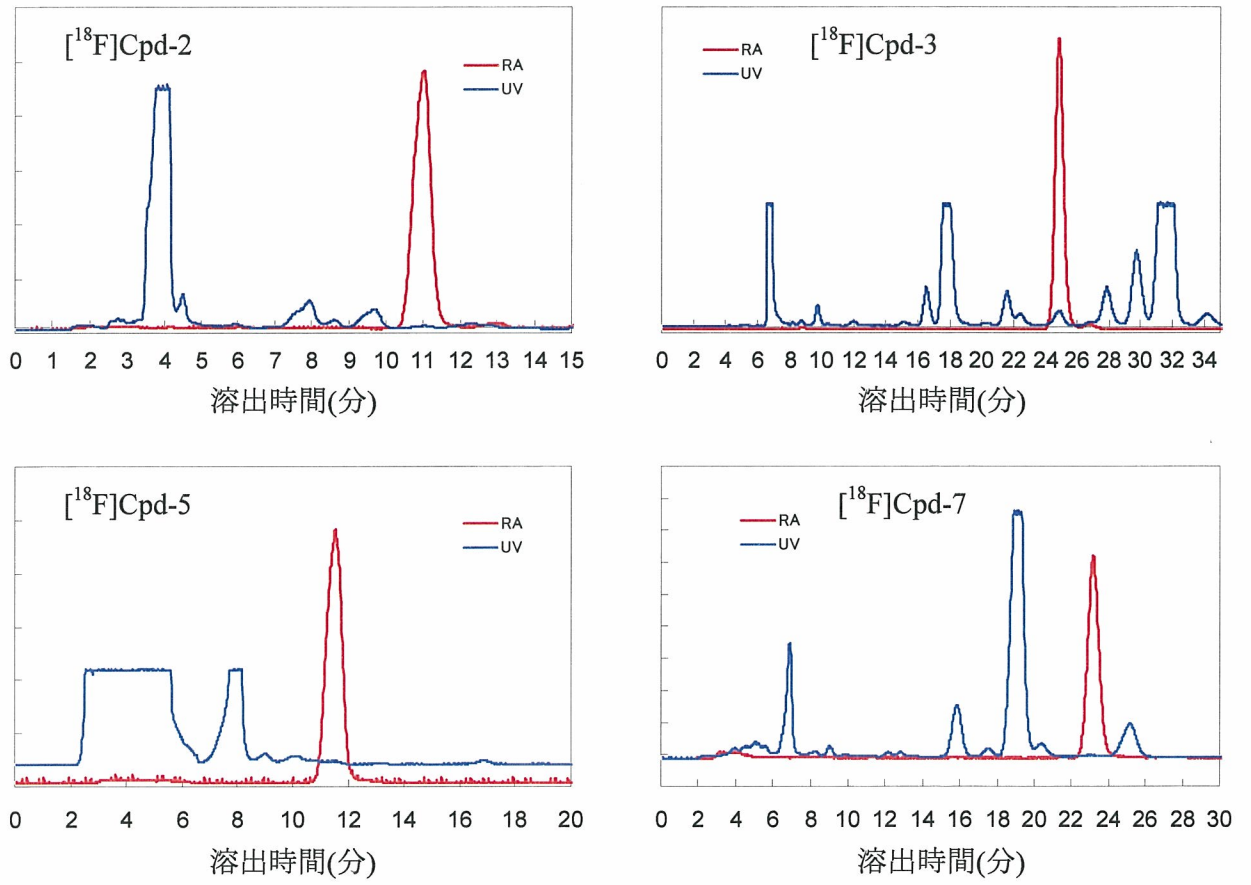
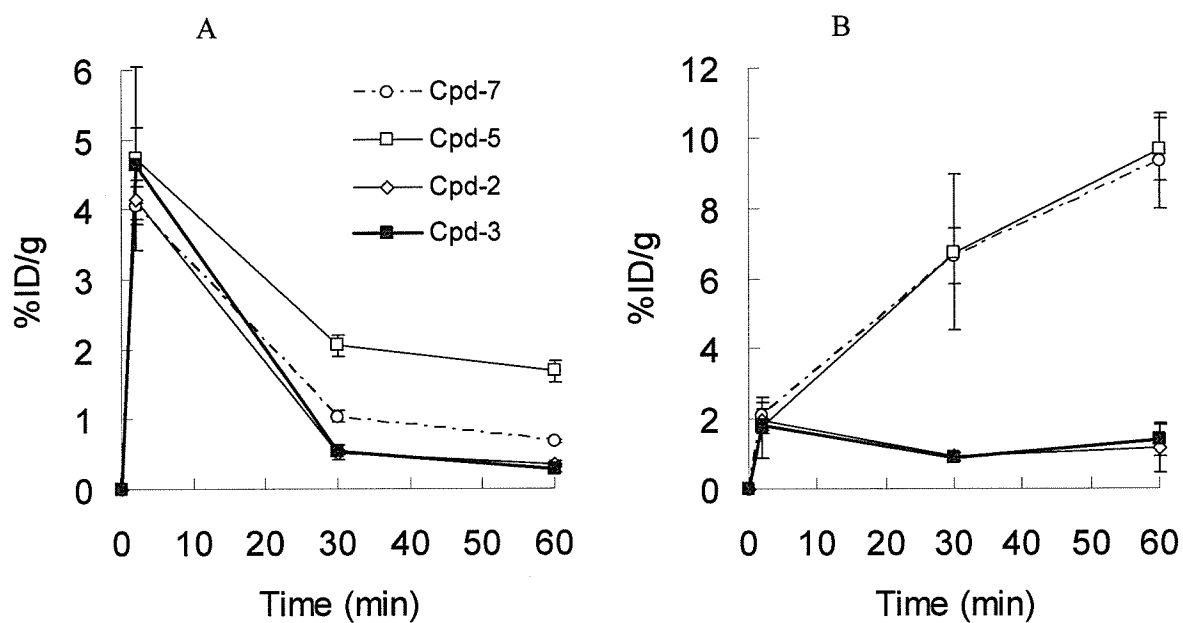


図2 F18-標識薬剤の脳移行性および骨集積性



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 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
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
研究協力者	岩田 錬	東北大学サイクロトロン RIセンター核薬学部・教授
研究協力者	石川洋一	東北大学サイクロトロン RIセンター核薬学部・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850化合物をスクリーニングした。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結果、[¹⁸F]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。平成19年度中に同[¹⁸F]標識体（[¹⁸F]Compound 3）の探索的臨床試験を実施する予定である。また、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。

A.研究目的

主任研究者らによって開発されたアルツハイマー病（AD）診断用プローブ、BF-227は[¹¹C]標識体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作成し、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 $[^{11}\text{C}]\text{PIB}$ 、 $[^{11}\text{C}]\text{SB-13}$ そして $[^{11}\text{C}]\text{BF-227}$ 等のアミロイドイメージングプローブはすべて $[^{11}\text{C}]$ 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 $[^{18}\text{F}]$ 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 $[^{18}\text{F}]$ 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 $[^{18}\text{F}]$ 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 $[^{18}\text{F}]$ 標識化するかである。

平成18年度末までに約850化合物をスクリーニングし、それらのデータを基に10数個のF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 $[^{18}\text{F}]$ 標識体を用いて各種試験を実施した。

本年度検討した総ての標識体の薬理作用を網羅するのはデータが多量すぎることから、本報告書ではその中の代表的な4つの $[^{18}\text{F}]$ 標識および非標識Compound 5、7、2、3の主なデータを紹介する。

また、平成18年度中に2つの新規基本化学構造を発見したが本報告書では、新規1化合物のAD患者脳切片の染色性につき紹介する。

B. 研究方法

1. AD診断用 $[^{18}\text{F}]$ 標識プローブの開発

1) Compound 5、7、2、3のAD患者脳切片における染色性の検討

各CompoundがAD患者の脳内に蓄積した老人斑と選択的に結合するか否かを検証する目的で、AD患者脳病理切片における染色性を蛍光顕微鏡により評価した。厚さ $6\mu\text{m}$ の脳切片に各Compound溶液($100\mu\text{M}$)を滴下し、10分間反応させた後の脳標本を蛍光顕微鏡で観察した。また連続切片において抗 $\text{A}\beta$ 免疫染色を行った。

2) Compound 5、7、2、3の急性毒性検討(マウス、静脈内投与)

CRJ:CD1(ICR)系雄性マウスを一群3匹として使用した。溶解した各Compound 10mg/kg を尾静脈を介して単回投与し、以後7日目まで観察した。

3) $[^{18}\text{F}]$ Compound 5、7、2、3の血液-脳関門透過

性の検討(インビボ)

古本らの分担研究報告書「 $[^{18}\text{F}]$ 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)」から引用。

標識合成した $[^{18}\text{F}]$ 各CompoundをICRマウス(雄、28-32g)に尾静脈内投与し一定時間後(2, 30, 60分後)に屠殺して摘出した脳の放射能をガンマカウンタで測定した後、重量を測定して脳の重量あたりの投与放射能に対する放射能集積率(%ID/g)を算出した。

4) $[^{18}\text{F}]$ Compound 5、7、2、3の骨集積性の検討(インビボ)

古本らの分担研究報告書「 $[^{18}\text{F}]$ 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)」から引用。

標識合成した $[^{18}\text{F}]$ 各CompoundをICRマウス(雄、28-32g)に尾静脈内投与し一定時間後(2, 30, 60分後)に屠殺して摘出した骨(大腿骨)の放射能をガンマカウンタで測定した後、重量を測定して骨の重量あたりの投与放射能に対する放射能集積率(%ID/g)を算出した。

5) Compound 2、3の $\text{A}\beta$ 蛋白脳内蓄積Tgマウスでの検討(インビボ)

脳内にアミロイド斑が自然沈着するTg2576トランスジェニックマウスを用いて静脈内投与と実験を行った。マウスの尾静脈よりCompound 2および3溶液(4mg/kg)を静注投与し、その1時間後に脳を摘出し、蛍光顕微鏡で観察した。併せて同一切片を抗 $\text{A}\beta$ 抗体染色し両染色像を比較した。

2. プリオン病診断用 $[^{18}\text{F}]$ 標識プローブの開発

プリオン病関連については、堂浦らの分担研究報告書「 $[^{11}\text{C}]\text{BF-227}$ 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 $[^{18}\text{F}]$ 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。

3. 新しい基本化学構造を有する化合物群の発見

1) 新規1化合物のAD患者脳切片における染色性の検討

「1. 1) Compound 5、7、2、3のAD患者脳切片における染色性の検討」と同様に行った。

(倫理面への配慮)

AD患者脳、プリオン病患者脳を使用する場合、