

200716003A

厚生労働科学研究費補助金

医療技術実用化総合研究事業—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19年度 総括研究報告書

主任研究者 工藤 幸司

平成20年（2008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-----	3
-----------------------------	---

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. [ $^{18}\text{F}$ ]FACTの前臨床評価及び臨床用注射液製造法の確立-----	23
---	----

古本祥三 (東北大学先進医工学研究機構)

2. [ $^{11}\text{C}$ ]BF-227、[ $^{18}\text{F}$ ]FACT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研究 —-----	39
----------------------------------	----

岡村信行 (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-----	51
--------------------------	----

IV. 研究成果の刊行物・別刷-----	55
----------------------	----

# 総括研究報告

# 厚生労働科学研究費補助金（医療技術実用化総合研究事業：基礎研究成果の臨床応用推進研究事業）平成19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19年度（3年計画の3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（ $\beta$ 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研究を継続すること、2) 昨年度まで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 化合物の最適化を行ってきたが、最終年度はいよいよ臨床へ進める標識プローブを決定し、毒性試験、倫理委員会申請等を経て探索的臨床研究を実施することである。1) についてはこれまでに 54 名の探索的臨床研究の画像処理を終了し、 $[^{11}\text{C}]\text{BF-227}$  はアルツハイマー病(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。軽度認知障害 (Mild cognitive impairment; 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、AD 患者と同様に大脳皮質領域で高集積を示す症例、その中間の症例などが混在していた。MCI のなかで経過観察中に AD へ進行した例において、初回検査時に  $[^{11}\text{C}]\text{BF-227}$  の集積がすでに上昇していることを確認した。2) については昨年度までに約 900 化合物をスクリーニングし、その中から  $[^{18}\text{F}]\text{FACT}$  (Fluorinated Amyloid-imaging Compound of Tohoku University) を有力候補として選び出し、Tg マウスを用いた *in vivo* 小動物 PET 画像撮影および *ex vivo* オートラジオグラフィ、AD 患者脳切片を用いた *in vitro* オートラジオグラフィを検討した結果、 $[^{18}\text{F}]\text{FACT}$  は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。FACT の安全性については変異原性試験、静脈内単回投与急性毒性試験を実施したが、臨床用 PET 薬剤として用いても安全性に問題がない結果となった。 $[^{18}\text{F}]\text{FACT}$  注射液製造システムとしては、独自に専用標識合成装置ユニットを開発し、既存のリガンド合成装置と連結使用することで、放射化学的純度 95%以上の注射剤を再現性よく製造することが可能となった。以上を踏まえて $[^{18}\text{F}]\text{FACT}$  の探索的臨床研究実施課題を、東北大学放射性薬剤品質管理委員会、同放射性核種を用いる臨床研究委員会、同医学部医学部倫理委員会に申請し、承認された。これを受け平成20年3月13日、健常高齢者1名、AD患者様1名の $[^{18}\text{F}]\text{FACT-PET}$  画像を撮影した結果、AD患者脳内でのプローブの選択的結合像を確認した。

### 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・助教
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・助教

## 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  $\beta$  蛋白 ( $A\beta$ ) 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続け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のであろう。脳は AD に関しては沈黙の器官と言うことができる。

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  $\beta$  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) の開発につとめてきた。その成果としてプローブ  $[^{11}\text{C}]\text{BF-227}$  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 19 年度は 「 $[^{11}\text{C}]\text{BF-227}$  のヒトにおける探索的臨床研究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  $[^{11}\text{C}]$  標識体である。  $[^{11}\text{C}]$  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  $[^{18}\text{F}]$  はその半減期 (約 110 分) が  $[^{11}\text{C}]$  のそれに比し長いこと、また  $[^{18}\text{F}]$  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  $[^{18}\text{F}]$  標識体の有用性は  $[^{11}\text{C}]$  標識体のそれに比し圧倒的に優れている。

本研究課題では昨年度まで約 900 化合物をスクリーニングして F 化合物の最適化に努めてきたが、その中から  $[^{18}\text{F}]\text{FACT}$  (Fluorinated Amyloid -imaging Compound of Tohoku University) を有力候補として選び出した。

本年度(最終年度)はいよいよ毒性試験、倫理委員会申請等を経て 「 $[^{18}\text{F}]\text{FACT}$  の探索的臨床研究を実施することを本研究課題の第 2 の目的」とした。

## B. 研究方法

1.  $[^{11}\text{C}]\text{BF-227}$  を用いたヒトにおける探索的臨床研究

1)  $[^{11}\text{C}]\text{BF-227}$  を用いた AD における探索的臨床研究

$[^{11}\text{C}]\text{BF-227}$ -PET 検査は、健常ボランティア (18 名、うち 60 歳以上の高齢者 12 名)、AD 患者 (16 名、平均 MMSE スコア 19.8 点)、軽度認知障害 (MCI) 症例 12 名、平均 MMSE スコア 26.0 点)、計 46 症例で実施した。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、PET スキャナーは SET-2400W (島津製) を 3D モードで使用した。 $[^{11}\text{C}]\text{BF-227}$  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) $[^{11}\text{C}]\text{BF-227}$ を用いたプリオン病における探索的臨床研究

$[^{11}\text{C}]\text{BF-227}$  を用いたヒト プリオン病 (スポラディック クロイツフェルト・ヤコブ病: 2 名、ゲルストマン・ストライヤー・シャインカー病: 2 名) における探索的臨床研究を実施した。

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。 $[^{11}\text{C}]\text{BF-227}$  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

## 3) $[^{11}\text{C}]\text{BF-227}$ を用いたその他の疾患における探索的臨床研究

$[^{11}\text{C}]\text{BF-227}$  を用いたレビー小体型認知症 (DLB) (3 名) における探索的臨床研究を実施した。

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。 $[^{11}\text{C}]\text{BF-227}$  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. $[^{18}\text{F}]\text{FACT}$ の前臨床および探索的臨床研究

### 1) $[^{18}\text{F}]\text{FACT}$ の薬理作用

脳内にアミロイド斑が自然沈着する PS1/APPsw トランスジェニック (Tg) マウスに  $[^{18}\text{F}]\text{FACT}$  を尾静脈内投与し、FinePET® により Tg マウス脳の撮像を行った。対照としてワイルドタイプ (WT) のマウスについても同様に撮像を行った。

その撮像に用いたマウスについては、撮像終了後、麻酔下屠殺して脳を摘出し、その切片のオートラジオグラフィ (ARG) を実施して脳内放射能分布を詳細に検証した。ARG に使用した脳切片は、放射能減衰後、老人斑結合性蛍光試薬のチオフラビン-S により染色を行い、放射能分布と老人斑分布の比較を行った。

ヒトの老人斑に対する結合性を評価するため、AD 患者脳切片を用いて  $[^{18}\text{F}]\text{FACT}$  の *in vitro*

ARG を実施した。ARG に用いた切片は、放射能減衰後、抗  $\text{A}\beta$  抗体による免疫染色を行い放射能分布と  $\text{A}\beta$  の分布を比較した。

### 2) $\text{FACT}$ の前臨床安全性評価

$\text{FACT}$  の安全性を調べる目的で、変異原性および単回投与急性毒性について評価試験を行った。

変異原性については、ネズミチフス菌 TA100 株及び TA98 株を用いた復帰突然変異試験により評価した。試験における陰性対照は  $\text{FACT}$  の溶媒である DMSO とし、陽性対照は 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド (AF-2) 及び 2-アミノアントラセン (2-AA) とした。評価方法は、復帰突然変異により生じたプレート上のコロニー数を計測し、その値が陰性対照の 2 倍以上に増加し、かつその増加に用量依存性あるいは再現性がみられた場合、遺伝子突然変異誘発性があると判定した。そしてその復帰突然変異コロニー数が陰性対照の 2 倍以上となる最小設定用量における  $\text{FACT}$  濃度を  $[^{18}\text{F}]\text{FACT}$  投与時の変異原性に対する安全性の評価基準とした。

急性毒性については、ICR 系雌雄マウスの尾静脈内に  $\text{FACT}$  溶液を投与し、一般状態及び体重推移を観察して、最後に剖検を行った。投与用量は 1 mg/kg とし、対照として媒体のみを投与する群を設けた。各群につき雌雄各 5 匹に対して薬液を尾静脈内に毎分約 1 mL の速度で投与し、あらかじめ定めたスケジュールに従って動物の一般状態観察および体重測定を 2 週間行い、その直後に全例について脳、心臓、肺、肝臓、腎臓、脾臓、副腎の剖検を行った。この投与用量 1 mg/kg における急性毒性試験結果を基準に、 $[^{18}\text{F}]\text{FACT}$  投与時の急性毒性に対する安全性評価を行った。

なお、変異原性試験は財団法人食品農医薬品安全性評価センター (静岡県磐田市塩新田 5 8 2-2) および急性毒性試験は株式会社三菱化学安全科学研究所鹿島研究所 (茨城県神栖市砂山 14 番地) にて実施した。

### 3) 臨床用 $[^{18}\text{F}]\text{FACT}$ 注射液製造法の確立

$[^{18}\text{F}]\text{FACT}$  は、独自に開発した専用標識合成装置ユニットと既存のリガンド合成装置と連結して構成されるシステムで注射液製剤を製造した。

### 4) $[^{18}\text{F}]\text{FACT}$ 注射液の品質・安全性評価

[<sup>18</sup>F]FACT 注射液の品質評価を目的として、上記 [<sup>18</sup>F]FACT 注射液製造装置により製造された [<sup>18</sup>F]FACT 注射液について、

①分析 HPLC により放射化学的純度及び FACT 担体量の測定を行った。

② [<sup>18</sup>F]FACT 注射液製造時に用いられる有機溶媒(アセトニトリル、エタノール)の残留量をガスクロマトグラフィーにて測定した。

③ゲル化法によるエンドトキシン試験を実施した。

④血液培養システムを用いた試験法により無菌テストを実施した。

⑤単回投与急性毒性試験を実施した。この場合、 [<sup>18</sup>F]FACT 注射液製造後 1 週間冷凍保存し、放射能が十分に減衰したものを 0.5 mL/kg となるように投与した。

⑥被曝に対する安全性を調べるために、マウスを使った被曝線量推定実験を行った。

#### 5) 倫理委員会等への申請

[<sup>18</sup>F]FACTの探索的臨床研究実施課題を、東北大学放射性薬剤品質管理委員会、同放射性核種を用いる臨床研究委員会、同医学部医学部倫理委員会に申請した。

#### 6) 探索的臨床研究の実施

[<sup>18</sup>F]FACTを用いた PET 検査は平成 20 年 3 月 13 日、健常高齢者 1 名、AD 患者 1 名の計 2 名で実施した。

PET 検査は東北大学サイクロトロン RI センターで行った。PET スキャナーは SET-2400W(島津製)を 3D モードで使用した。[<sup>18</sup>F]FACT 185 MBq 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。

#### (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、また臨床研究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、新規標識リガンドによる探索的 PET 臨床研究では「東北大学における新規 PET 薬剤の臨床開発の指針」に従って、東北大学放射性薬剤品質管理委員会、同放射性核種を用いる臨床研究委員会、同医学部倫理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. [<sup>11</sup>C]BF-227 を用いたヒトにおける探索的臨床研究

##### 1) [<sup>11</sup>C]BF-227 を用いた AD における探索的臨床研究

健常高齢者、MCI、AD 患者の [<sup>11</sup>C]BF-227 投与後の PET (投与後 20-40 分の SUVR ;Standardized Uptake Value) 画像を図 1 に示した。

健常高齢者に比べて AD 患者では、大脳皮質の広範な領域で [<sup>11</sup>C]BF-227 の高集積が観察された。MCI では、健常高齢者と同レベルの集積を示す症例、AD 患者と同レベルの集積を示す症例、その中間の症例などが混在していた。

健常若年者、高齢者、MCI、AD、DLB 各症例の大脳新皮質における SUVR (Standardized Uptake Value) 値を図 2 に示した。健常高齢者の平均 SUVR + 1.5SD (1.111) をカットオフ値に設定すると、AD 患者でこのカットオフ値を上回ったのは 16 名中 15 名 (93.8 %) であった。一方、健常者でこのカットオフ値を上回ったのは 1 名のみであった。MCI の症例でカットオフ値を上回ったのは 12 名中 8 名 (66.7%) であった。PET 検査後、最長 1.5 年の経過観察期間中に MCI の 3 症例で AD への進行が確認された。この 3 名はいずれも、初回の検査時にカットオフ値を上回る SUVR 値を示していた。

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 (Receiver Operating Characteristic) 解析の AUC 値は、FDG-PET (0.8606) に比べて、BF-227-PET では 0.9896 と高く、BF-227 を用いた PET 検査の方が AD 診断において感度・特異度に優れた検査と考えられた (図 3)。

##### 2) [<sup>11</sup>C]BF-227 を用いたプリオン病における探索的臨床研究

プリオン病症例の解析においては、ゲルストマン・ストライヤー・シャインカー病(GSS)症例では小脳で高頻度にアミロイド病変が出現するため、参照領域として橋の ROI 値で代用した。クロイツフェルト・ヤコブ病(CJD)2 名の集積パ

ターンは健常人に近かったが、GSS の 1 例目 (GSS1) では大脳皮質、線条体、視床、小脳皮質での集積上昇が確認された (図 4)。一方 GSS の 2 例目 (GSS2) では大脳皮質における集積は顕著ではなく、小脳皮質と視床で軽度の集積上昇を認めた (図 4)。

### 3) [<sup>11</sup>C]BF-227 を用いたその他の疾患における探索的臨床研究

AD と鑑別を要する DLB の症例では 3 名全例でカットオフ値を上回る SUVR 値を示したが、いずれも AD の平均値を下回っていた。集積分布に関しては AD との大きな違いは認めなかった (図 2)。

## 2. [<sup>18</sup>F]FACT の前臨床および探索的臨床研究

### 1) [<sup>18</sup>F]FACT の薬理作用

FinePET によるアミロイド斑の生体画像化の検討では、[<sup>18</sup>F]FACT 投与 Tg マウスの脳内に WT マウスと比較して相対的に高い放射能集積を認めた (図 5)。

この PET 撮像に用いたマウス脳の切片を ARG で評価したところ、WT マウスの脳では放射能の特異的集積は観察されなかったが、Tg マウスの場合は数多くのホットスポットが観察された (図 6)。

その Tg マウス脳切片をチオフラビン-S で染色してアミロイド斑の分布を調べたところ、ホットスポットの分布ときれいに一致することが確認された (図 6)。

また、老人斑を有する AD 脳切片を用いた *in vitro* ARG では、Aβ老人斑の分布に一致するかたちで放射能の特異的集積が確認された (図 7)。

### 2) FACT の前臨床安全性評価

FACT の変異原性については、FACT 処理群で +S9 処理の TA100 株において、用量が 78.1μg/プレート (2.6 mL) の時に陰性対照群の 2 倍を超える復帰変異コロニー数の増加が認められた。-S9 処理の TA100 株および両処理の TA98 株においては、復帰変異コロニー数の明確な増加は認められなかった。一方、陽性対照物質は、復帰突然変異を顕著に誘発した。しかし、有意に突然変異が観察された FACT の最小濃度は 30×10<sup>-6</sup> g/mL であり、通常用いられる PET 薬剤に含まれる担体濃度よりも十分に高い値であった。また、変異原性の強さに関する相対比較値である比活性値は 3058 (mg 当り : TA100 株、+S9 処理、156 μg/プレート) と算出され、既知変異原性

物質と比較して FACT の変異原性は弱いものと判定された。

単回投与急性毒性については、FACT 1 mg/kg を投与されたすべてのマウスにおいて死亡は発現せず、一般状態にも異常は認められなかった。また、体重推移や剖検にも異常は認められなかった。

### 3) 臨床用 [<sup>18</sup>F]FACT 注射液製造法の確立

独自に開発した専用標識合成装置ユニット (図 8) と既存のリガンド合成装置と連結して構成されるシステムで注射液製剤を製造し、放射化学的純度 95% 以上、担体量含有量 1×10<sup>-9</sup> g/mL 以下のエンドトキシンフリーの無菌注射液を再現性よく製造することが可能となった。

### 4) [<sup>18</sup>F]FACT 注射液の品質・安全性評価

①分析 HPLC により放射化学的純度及び FACT 担体量

②[<sup>18</sup>F]FACT 注射液製造時に用いられる有機溶媒の残留量

③ゲル化法によるエンドトキシン試験

④血液培養システムを用いた試験法により無菌テスト

の測定または実施の結果、[<sup>18</sup>F]FACT 注射液の品質評価結果 (①～④) については、いずれも PET 用注射液として使用できる高品質の結果となった。

⑤単回投与急性毒性試験では投与したすべてのマウスにおいて死亡は発現せず、一般状態にも異常は認められなかった。また、体重推移や剖検にも異常は認められなかった。

⑥被曝に対する安全性を調べるために、マウスを使った被曝線量推定実験では、[<sup>18</sup>F]FACT は血液中からの消失は速やかであり、肝臓小腸排泄、尿中排泄が確認されたため、腹部臓器の被曝線量が高くなった。全身 (体重 57kg で推定) の実効線量当量は 13.9 μSv/MBq (男)、17.0 μSv/MBq (女) となった。

### 5) 倫理委員会等への申請

東北大学放射性薬剤品質管理委員会、同放射性核種を用いる臨床研究委員会の承認を経て、平成 20 年 1 月 21 日、[<sup>18</sup>F]FACT を用いた探索的臨床研究を実施することが東北大学倫理委員会によって承認された。

### 6) 探索的臨床研究の実施

[<sup>18</sup>F]FACT を用いた PET 検査は 2 名の被検者



で実施された。投与後 10-30 分後の SUVR 画像を図 9 に示した。健常高齢者では BF-227 と同様に脳幹部、視床、皮質下白質での集積が認められるが、大脳皮質からの wash out は速やかである。これに対し、AD 患者では側頭部、頭頂部、楔前部を中心に高集積が観察され、老人斑との結合が示唆された。

#### D. 考察

平成 19 年度 (3 年計画の 3 年目) の研究計画は、1) 主任研究者らによって開発された  $\beta$  シート構造を有する蛋白を認識するプローブ [ $^{11}\text{C}$ ]BF-227 のヒトにおける探索的臨床研究を継続すること、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、昨年度まで F 化合物の最適化を行ってきたが、その中から有力候補として選び出した [ $^{18}\text{F}$ ]FACT (Fluorinated Amyloid -imaging Compound of Tohoku University) を毒性試験、倫理委員会申請等を経て探索的臨床研究を実施することであった。

1) については平成 17 年 7 月から [ $^{11}\text{C}$ ]BF-227 を用いた探索的臨床研究を開始し、これまでに 54 例の同研究の画像処理を終了した。その結果、[ $^{11}\text{C}$ ]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、AD 患者と同様に大脳皮質領域で高集積を示す症例、その中間の症例などが混在していた。PET 検査後、最長 1.5 年の経過観察期間中に MCI の 3 症例で AD への進行が確認されたが、これら 3 名はいずれも、初回の検査時にカットオフ値を上回る SUVR 値を示していた。

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 と比較したところ、ROC (Receiver Operating Characteristic) 解析の AUC 値は、FDG-PET (0.8606) に比べて、BF-227-PET では 0.9896 と高く、BF-227 を用いた PET 検査の方が AD 診断において感度・特異度に優れた検査と考えられた。

またプリオン病のうち GSS の 1 例で著明な BF-227 集積を確認したことは興味深い所見といえる。この症例は剖検にて大脳皮質、小脳、線条体、視床でのプラークの沈着が確認されており、BF227-PET における集積分布と一致する。

したがって BF-227 が異常型プリオン蛋白アミロイドを検出する能力をもつことが強く示唆される。プリオン病の臨床においては、キナクリンやペントサンなどの治療薬が試みられている。こうした治療薬のサロゲートマーカーとして本検査を活用できる可能性がある。

2) の [ $^{18}\text{F}$ ]FACT については基礎的な薬理作用から、探索的臨床研究までを実施した。

[ $^{18}\text{F}$ ]FACT のアミロイド斑の結合性、生体画像化の有効性、そして安全性評価 (変異原性試験、急性毒性試験) を行った。さらに、実際に臨床で使用可能な [ $^{18}\text{F}$ ]FACT 注射液製造システムを構築し、その製品の品質・安全性について評価した。

FACT の変異原性を調べる復帰突然変異試験では、 $30 \times 10^{-6}$  g/mL 以上の濃度で有意に遺伝子突然変異の誘発が認められたが、[ $^{18}\text{F}$ ]FACT 注射液に含まれる担体量は  $1 \times 10^{-9}$  g/mL 以下であることが確認されたので、変異原性の観点からは [ $^{18}\text{F}$ ]FACT 注射液の安全性に問題はないと考えられる。またマウスを用いた急性毒性試験では、投与用量 1 mg/kg において一般状態、剖検で異常は確認されず、さらに、仮に [ $^{18}\text{F}$ ]FACT 注射液 10 mL を体重 50 kg 以上の被験者に投与したとしても含まれる担体量は  $2 \times 10^{-10}$  g/kg 以下となることから、[ $^{18}\text{F}$ ]FACT 注射液をヒトに投与した場合の急性毒性については問題ないと考えられる。臨床用に自動合成装置によって製造された [ $^{18}\text{F}$ ]FACT 注射液の化学的品質については、3 回の試験合成においていずれも放射化学的純度は 95% 以上であり、残留溶媒は「医薬品の残留溶媒ガイドライン」に記載されている濃度限界値を十分下回っていることから問題はない。さらに生物学的品質についてもエンドトキシン試験および無菌試験は陰性を示したことから問題は認められなかった。よって、注射液の品質という観点からも安全性に問題はないと見なせる。また、[ $^{18}\text{F}$ ]FACT 注射液を投与した場合に予想される被曝の影響については、十分に PET 撮像が行えると想定される放射能量の 5 mCi を投与した場合であっても全身の実効線量は 2.57 mSv (男)、3.15 mSv (女) となり、一般的な FDG-PET 検査による被曝線量の 2.2 mSv よりも若干高い程度であり、CT 検査の場合の 3-10 mSv と比較しても安全性に問題のない被曝線量の範囲であると考えられる。

FACT は BF-227 を  $^{18}\text{F}$  標識化したプローブである。プレリミナリーな結果ではあるが、AD

患者で健常人とは異なる集積分布を確認できた。今後症例数を増やし、本プローブの臨床的有用性を検証していきたい。

なお、FACT は遺伝性プリオン病、ゲルストマン・ストライヤー・シャインカー (GSS) 患者脳標本において選択的に異常型プリオン蛋白に結合することが昨年度すでに確かめられている (図 10)。

## E. 結論

1. これまでに 54 名の探索的臨床研究の画像処理を終了し、 $[^{11}\text{C}]\text{BF-227}$  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ボラディック クロイツフェルト・ヤコブ病患者 1 名の剖検にて、BF227-PET における集積分布と一致するプラークが確認された。したがって BF-227 が異常型プリオン蛋白アミロイドを検出する能力をもつことが強く示唆された。
3.  $[^{18}\text{F}]\text{FACT}$  はアミロイド斑特異的結合性が高く、安全性についても問題はみられないことから、臨床用アミロイドイメージング剤として利用可能な薬剤であることが確かめられた。
4.  $[^{18}\text{F}]\text{FACT}$  は AD 患者における脳アミロイドを検出できる可能性が示唆される臨床データが得られた。

## F. 健康危険情報

特になし。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Okamura N, Furumoto S, Arai H, Iwata R, Yanai K, Kudo Y: Imaging amyloid in the living brain. *Curr Med Imaging Rev* .4. 56-62. 2008
- 2) 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: A novel PET agent for in vivo detection of dense amyloid plaques in Alzheimer's disease patients. *J Nucl Med*. 48. 553-561.2007.
- 3) Furumoto S, Okamura N, Iwata R, Yanai K, Arai H, Kudo Y: Recent advances in the development of amyloid imaging agents. *Current Topics in Medicinal Chemistry*. 7.1773-1789.2007.
- 4) Okamura N, Furumoto S, Funaki Y, Suemoto T, Kato M, Ishikawa Y, Ito S, Akatsu H, Yamamoto T, Sawada S, Arai H, Kudo Y, Yanai K: Binding and safety profile of novel benzoxazole derivative for in vivo imaging of amyloid deposits in Alzheimer's disease. *Geriatr Gerontol Int* . 7. 393-400.2007.
- 5) Rainov NG, Tsuboi Y, Krolak-Salmon P, Vighetto A, Doh-Ura K :Experimental treatments for human transmissible spongiform encephalopathies: is there a role for pentosan polysulfate?.*Expert Opin Biol Ther*. 7.713-26. 2007
- 6) Doh-ura K, Tamura K, Karube Y, Naito M, Tsuruo T, Kataoka Y: Chelating compound, chrysoidine, is more effective in both antiprion activity and brain endothelial permeability than quinacrine. *Cell Mol Neurobiol*. 27.303-16. 2007
- 7) Doh-Ura K, Kuge T, Uomoto M, Nishizawa K, Kawasaki Y, Iha M: Prophylactic effect of dietary seaweed Fucoidan against enteral prion infection. *Antimicrob Agents Chemother*. 51.2274-7. 2007
- 8) Hao HP, Doh-Ura K, Nakanishi H: Impairment of microglial responses to facial nerve axotomy in cathepsin S-deficient mice.*J Neurosci Res*. 85. 2196-206. 2007
- 9) Kawasaki Y, Kawagoe K, Chen CJ, Teruya K, Sakasegawa Y, Doh-ura K: Orally administered amyloidophilic compound is effective in prolonging the incubation periods of animals cerebrally infected with prion diseases in a prion strain-dependent manner. *J Virol*.

- 81.12889-12889.2007.
- 10) Shiga Y, Satoh K, Kitamoto T, Kanno S, Nakashima I, Sato S, Fujihara K, Takata H, Nobukuni K, Kuroda S, Takano H, Umeda Y, Konno H, Nagasato K, Satoh A, Matsuda Y, Hidaka M, Takahashi H, Sano Y, Kim K, Konishi T, Doh-ura K, Sato T, Sasaki K, Nakamura Y, Yamada M, Mizusawa H, Itoyama Y: Two different clinical phenotypes of Creutzfeldt-Jakob disease with a M232R substitution. *J Neurol.* 254:1509-1517. 2007
  - 11) 工藤幸司、古本祥三、岡村信行：アミロイドイメージング「アミロイド画像化用プローブ」. *日本臨床.* 66Suppl 1:300-306. 2008.
  - 12) 岡村信行、谷内一彦、古川勝敏、荒井啓行、工藤幸司:アミロイドイメージング「PET」. *日本臨床.* 66Suppl 1:288-292. 2008.
  - 13) 荒井啓行、古川勝敏、工藤幸司：アルツハイマー病バイオマーカー開発の現状と Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. *ヒューマンサイエンス.* 19:12-17. 2008
  - 14) 岡村信行、古本祥三、工藤幸司、谷内一彦：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.
  - 15) 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.
  - 16) 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
  - 17) 工藤幸司、古本祥三、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診断. 小川誠司、上野照剛 編集. *In* “非侵襲・可視化技術ハンドブック”. NTS 社. 東京. 562- 566. 2007.
  - 18) 古本祥三、岡村信行、工藤幸司：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. 伊藤正敏 編集. *In* “臨床医のためのクリニカル PET-病期・病態診断のためのガイドブック”. 先端医療技術研究所. 東京. 205-210. 2007.
  - 19) 逆瀬川祐二、堂浦克美：プリオン病の分子標的. *Brain and Nerve.* 59:405-414. 2007
  - 20) 堂浦克美：プリオン病の治療アプローチ. *神経治療学.* 24:647-650. 2007
  - 21) 逆瀬川祐治、堂浦克美：プリオン病の診断支援・治療への試み. *日本松臨床.* 65:1417-1422. 2007
- ## 2. 学会発表
- (国内学会)
- 1) 森雅憲、岡村信行、古本祥三、工藤幸司、谷内一彦：近赤外線蛍光イメージングによる脳内アミロイドの非侵襲的検出、第 58 回日本薬理学会北部会、北海道大学学術交流会館、9月29日、2007年
  - 2) 谷内一彦 岡村 信行 工藤幸司 荒井啓行：<sup>[11C]</sup>BF-227 を用いたアルツハイマー病におけるアミロイド斑の分子イメージング、第 50 回日本神経化学会、パシフィコ横浜、9月10日、2007年
  - 3) Okamura N, Kudo Y, Furumoto S, Furukawa K, Tashiro M, Kato M, Funaki Y, Yanai K, Arai H: Noninvasive detection of amyloid deposits in the patients with Alzheimer's disease using <sup>[11C]</sup>BF-227 PET、第 26 回認知症学会学術集会・第 13 回国際老年精神医学会、大阪国際会議場、10月14日-18日、2007年
  - 4) 古本祥三 渋間祐太郎 金田朋洋 石川洋一 工藤幸司 岩田錬：マトリックスメタロプロテアーゼ-2 のイメージングを目指した PET 用標識薬剤の開発、第 47 回日本核医学会核術総会、仙台国際センター、11月4日-6日、2007年
  - 5) 岡村信行、谷内一彦 古本祥三 工藤幸司：<sup>[11C]</sup>BF-227PET を用いた脳アミロ

イド斑の画像化、第47回日本核医学会核術総会、仙台国際センター、11月4日-6日、2007年

- 10) 古本祥三、本田芳雄、堀勝義、石川洋一、工藤幸司、岩田錬：血管標的薬剤 AVE8062 による誘発される腫瘍低酸素状態の評価、第47回日本核医学会核術総会、仙台国際センター、11月4日-6日、2007年
- 11) 田代学、岡村信行、熊谷和明、古本祥三、船木善仁、木村雄一、石渡喜一、岩田錬 工藤幸司、荒井啓行、谷内一彦： $[^{11}\text{C}]\text{BF-227PET}$  を用いた脳内アミロイド蓄積に関する定量的検討、第47回日本核医学会核術総会、仙台国際センター、11月4日-6日、2007年
- 12) 谷内一彦、岡村信行、工藤幸司、荒井啓行：アルツハイマー病の分子イメージング研究。第81回日本薬理学会年会。パシフィコ横浜。3月17日-3月19日。2008年
- 13) 森雅憲、岡村信行、古本祥三、工藤幸司、谷内一彦：イン ビボにおける脳内アミロイドの近赤外線蛍光イメージング。第81回日本薬理学会年会。パシフィコ横浜。3月17日-3月19日。2008年
- 14) 岡村信行、工藤幸司、古本祥三、田代学、加藤元久、船木善仁、森雅憲、堂浦克美、荒井啓行、谷内一彦：BF-227を用いた神経変性疾患の脳内アミロイドのPET計測。第81回日本薬理学会年会。パシフィコ横浜。3月17日-3月19日。2008年

(国際学会)

- 1) Arai H, Okamura N, Tashiro M, Yanai K, Kudo Y: In Vivo Detection of Amyloid Deposits in Normals, Mild Cognitive Impairment and Alzheimer's Disease Patients Using  $[^{11}\text{C}]\text{BF-227}$  and PET, Human Amyloid Imaging · Boston2007, Boston Back Bay Hilton Hotel, 5月4日, 2007年
- 2) Okamura N, Kudo Y, Furumoto S, Tashiro M, Furukawa K, Funaki Y, Kato M, Ito S, Ishikawa Y, Maruyama M, Arai H, Fukuda H, Iwata R, Itoh M, Yanai K: In vitro detection of amyloid deposits in Alzheimer's disease using  $[^{11}\text{C}]\text{BF-227}$  PET, Brain'07&BrainPET'07, 大阪国際コンベンションセンター, 5月20日-24日, 2007年
- 3) Tashiro M, Kumagai K, Okamura N, Furumoto S, Furukawa K, Funaki Y, Maruyama M, Kimura Y, Itoh M, Iwata R,

Kudo Y, Arai H, Yanai K: Quantitative analysis of detection of amyloid deposition in human brain using PET and a new imaging probe  $[^{11}\text{C}]\text{BF-227}$ , Brain'07&BrainPET'07, 大阪国際コンベンションセンター, 5月20日~24日, 2007年

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得

次頁参照

1) 特許番号 (出願番号) ・ 発明の名称

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

特許出願状況

	出願/登録 の別	出願番号	発明の名称	出願日	出願人	発明者
1	未登録	PCT/JP2007/063350	ベンゾキサゾール誘 導体	平成 19 年 7 月 4 日	東北大学	工藤幸司 古本祥三 岡村信行
2	未登録	特願 2007-176366	フッ素およびヒドロ キシ基で置換された アルコキシ基を有す る PET プロープ	平成 19 年 7 月 4 日	東北大学	工藤幸司 古本祥三 岡村信行

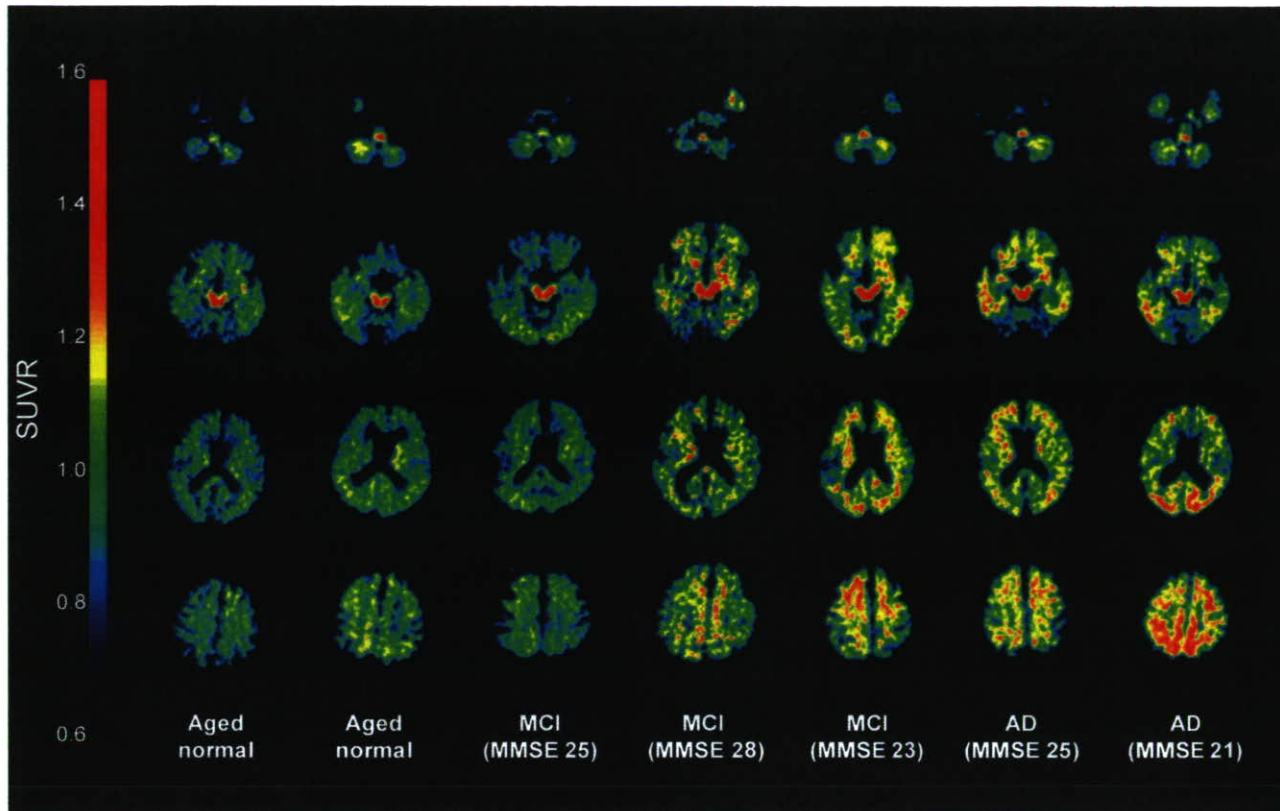


図1 健常高齢者 (Aged normal)、軽度認知障害 (MCI)、アルツハイマー病 (AD) 患者の $[^{11}\text{C}]\text{BF-227}$  PET 画像 (投与 20~40 分後の SUVR 画像)

アルツハイマー病においては、大脳皮質領域において $[^{11}\text{C}]\text{BF-227}$  の高集積が観察された。MCI では、健常高齢者と同レベルの集積を示す症例、AD 患者と同レベルの集積を示す症例、その中間の症例などが混在していた。

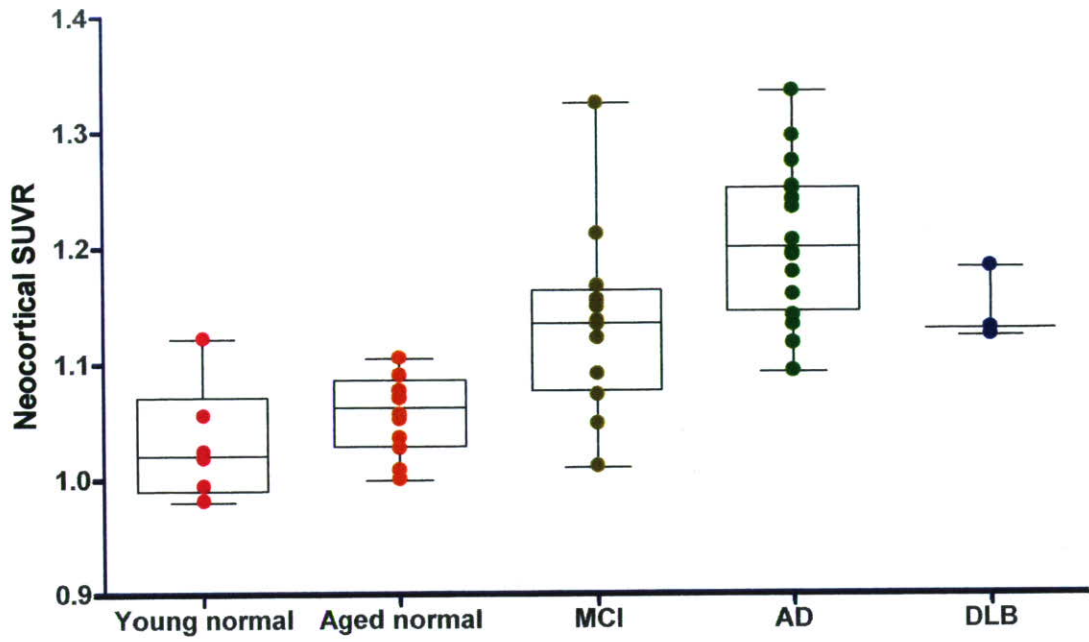


図2 大脳皮質における SUV 対小脳比 (SUVR) の群間比較  
 Young normal : 健常若年者、Aged normal : 健常高齢者、MCI : 軽度認知障害、  
 AD : アルツハイマー病、DLB : レビー小体型認知症

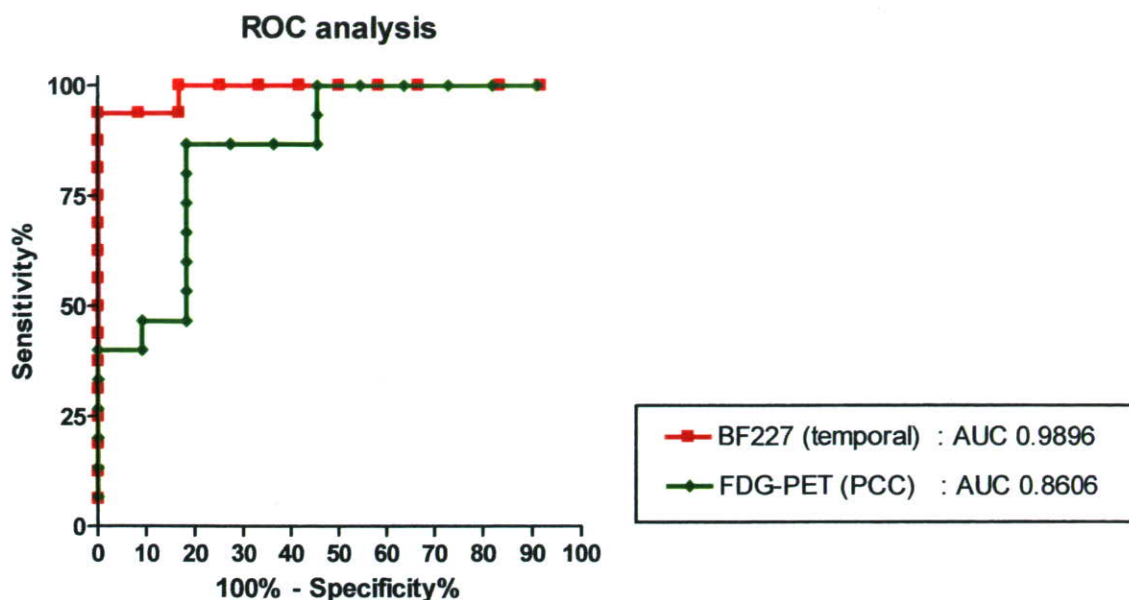


図 3. BF227-PET (外側側頭葉 SUVR 値)、FDG-PET (後部帯状回 SUVR 値) を用いたアルツハイマー病患者と健常高齢者の鑑別能の比較 (ROC 解析)

ROC (Receiver Operating Characteristic) 解析では側頭葉における $[^{11}\text{C}]\text{BF227}$  の AUC (Area Under the Curve) は 0.9896 であり、同プローブの鑑別診断能力は極めて高いことが判明した。

一方、アルツハイマー病では後部帯状回において $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$  の取り込みが比較的選択的に低下することが知られているが、その ROC 解析での AUC は 0.8606 であった。



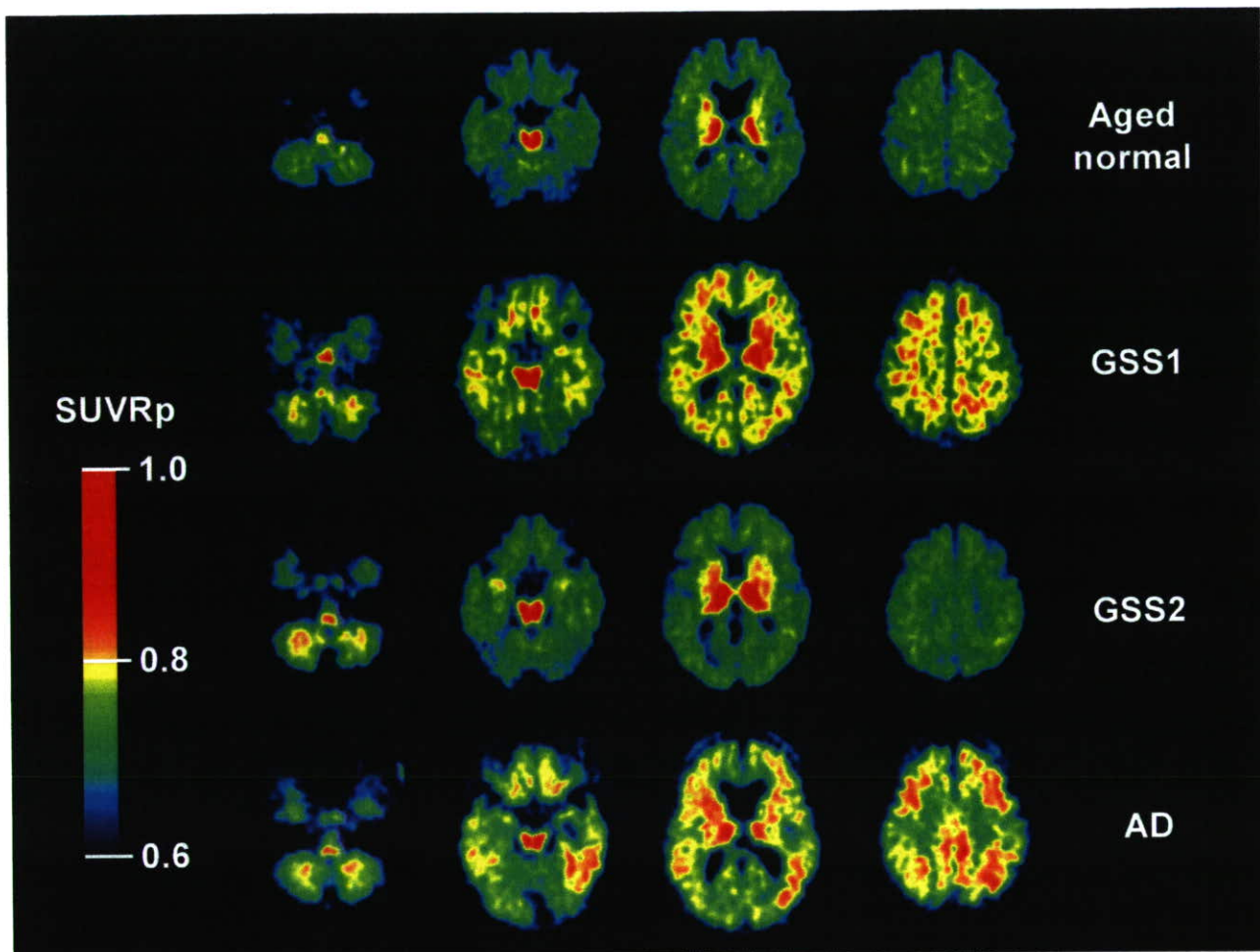


図 4. 健常高齢者 (Aged normal)、ゲルストマン・ストロイスラー・シャインカー症候群 (GSS)、アルツハイマー病 (AD) 患者の $^{11}\text{C}$ BF-227 PET 画像 (投与 20~40 分後の SUV 対橋比(SUVRp)画像)

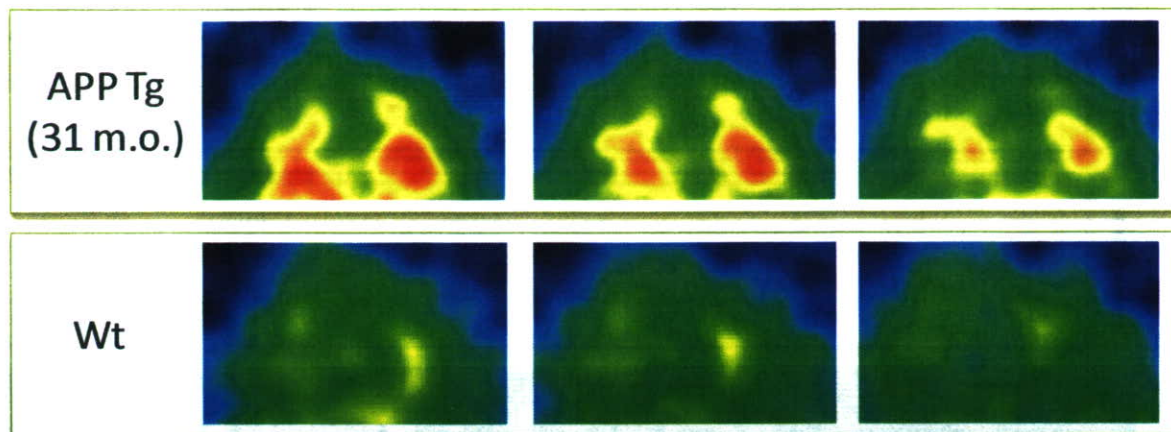
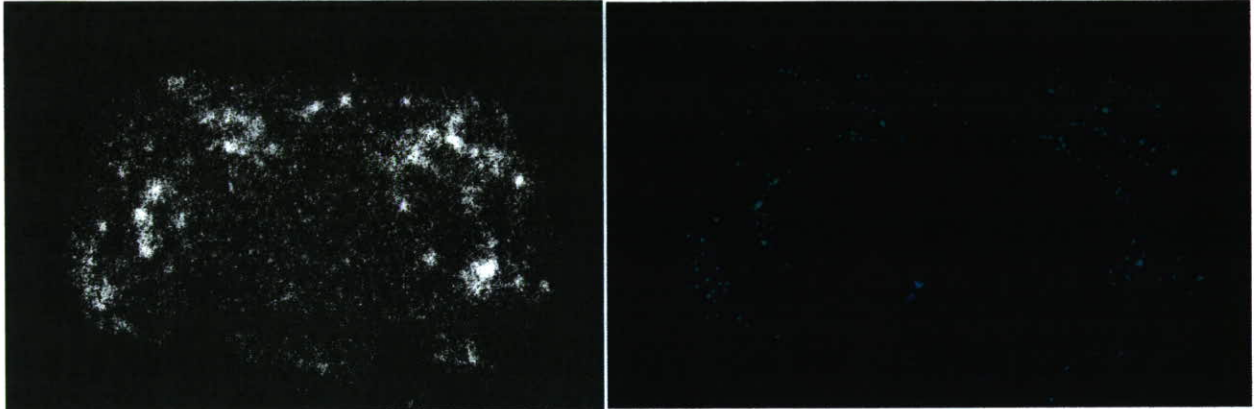


図5. 脳にA $\beta$ が蓄積するトランスジェニック (APP Tg) および蓄積しない野生 (Wt) 型マウスにおける<sup>18</sup>F]FACTのFine PET®イメージ (30-120 min post injection)



[<sup>18</sup>F]FACT の ex vivo オートラジオグラフィ      左と同一標本のチオフラビン S 染色

図 6. 脳に Aβ が蓄積するトランスジェニック (APPTg) および蓄積しない野生 (Wt) 型マウスにおける [<sup>18</sup>F]FACT の ex vivo オートラジオグラフィ (上段および中段)、APPTg マウスにおけるオートラジオグラフィの強拡大 (下段左) および同一標本のチオフラビン S 染色 (下段右)

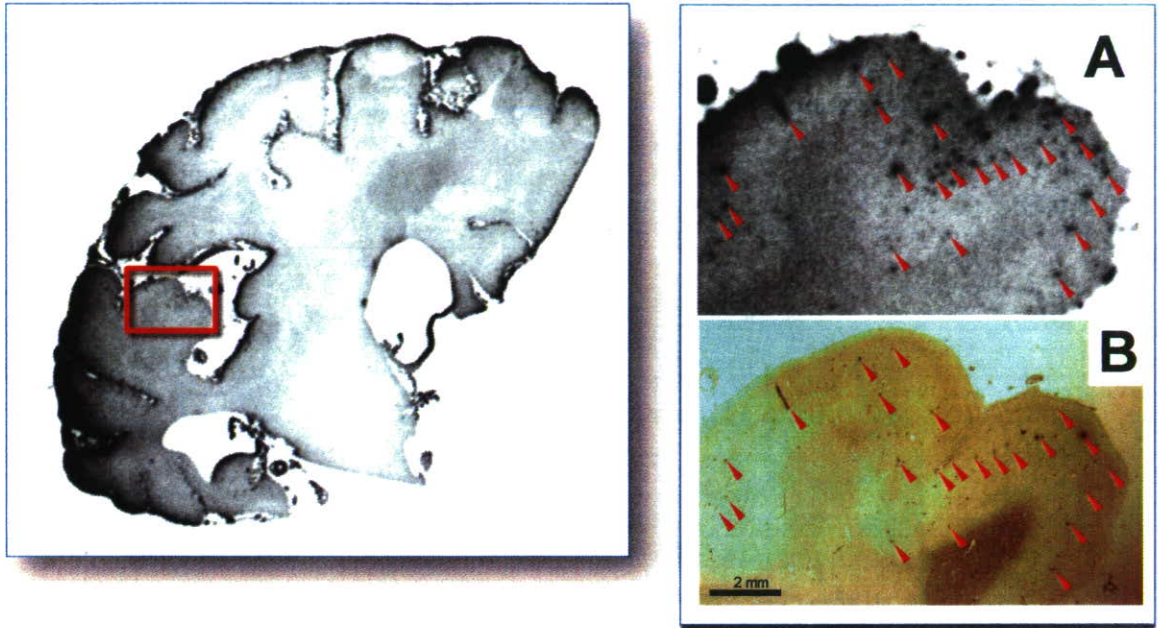


図7. アルツハイマー病患者脳標本における *in vitro* オートラジオグラフィ  
A : 赤長方形で囲まれた部分の強拡大、B : Aの抗A $\beta$ 抗体染色