

200716003B

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17年度～平成19年度 総合研究報告書

主任研究者 工藤 幸司

平成20年（2008年） 4月

## 目 次

I. 総合研究報告	
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)	
資料	
1. [ $^{18}\text{F}$ ]標識アミロイド イメージング プロープ開発のための F 化化合物の最適化-----	33
工藤 幸司 (東北大学先進医工学研究機構)	
2. 臨床使用を目指した PET 用アミロイドイメージング標識薬剤の開発-----	51
古本祥三 (東北大学先進医工学研究機構)	
3. [ $^{11}\text{C}$ ]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-----	73
岡村信行 (東北大学先進医工学研究機構)	
II. 研究成果の刊行に関する一覧表-----	95
III. 研究成果の刊行物・別刷 -----	101

# 総 合 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）  
総合研究報告書

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：本研究課題の研究目的は、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 PET プローブ [ $^{11}\text{C}$ ]BF-227 のヒトにおける探索的臨床研究を開始し、これを継続すること、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 PET プローブを開発し、同プローブを探索的臨床研究まで進捗させることである。1) については臨床使用可能な PET 用アミロイドイメージング注射剤 [ $^{11}\text{C}$ ]BF227 の開発に成功し、平成 17 年 7 月から平成 20 年 3 月末日までに健常者および AD 患者等を対象に 54 名の探索的臨床研究を実施し、[ $^{11}\text{C}$ ]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。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、その中間の症例が混在していた。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 [ $^{11}\text{C}$ ]BF-227 の集積がすでに上昇していることを確認した。2) については約 900 化合物をスクリーニングし、その中から見いだされた [ $^{18}\text{F}$ ]FACT の臨床使用可能な PET 用注射剤の開発に成功し、探索的臨床研究まで進捗させることができた。[ $^{18}\text{F}$ ]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。臨床使用可能な PET 用アミロイドイメージング注射剤 [ $^{18}\text{F}$ ]FACT の開発に成功し

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、高リスク者の検出)が可能となること、また診断時点において例えば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10年以上にわたりADにおける病理像としてのA $\beta$ (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。A $\beta$ に結合するプローブを用いたAD診断の戦略は以下の通りである。

- 1) ADの代表的病理学像、すなわち老人斑のほとんどは $\beta$ シート構造をとつ

たA $\beta$ によって形成されている。

- 2) 同シート構造をとったA $\beta$ に特異的選択的に結合し、かつ容易に血液-脳関門を透過する低分子有機化合物を見いだす。
- 3) この化合物をPETで扱うことが可能な核種で標識する。
- 4) これをプローブとして生体に静脈内投与する。
- 5) プローブは血液-脳関門を越えて脳内の老人斑を形成しているA $\beta$ に結合する。一定時間後には非結合プローブは洗い流され、A $\beta$ に結合に結合したプローブのみが脳内に残る。
- 6) これをPETを用い、イメージング画像として取り込み、 $\beta$ シート構造をとった脳内A $\beta$ (=老人斑)蓄積量の定量およびその空間的分布からADを診断する。

主任研究者らはこれまで延べ3500以上の化合物をスクリーニングし、その中からプロミシングなプローブとして $^{11}\text{C}$ BF-227を見いだした。

従って $^{11}\text{C}$ BF-227のヒトにおける探索的臨床研究を開始し、これを継続すること本研究課題の第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、もう一つの代表的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。

従って「 $^{18}\text{F}$ 標識PETプローブ

を開発し、同プローブを探索的臨床研究まで進捗させることを本研究課題の第2の目的」とした。

AD診断用<sup>18</sup>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) Aβ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 (Aβ) 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<sup>18</sup>F標識体が代謝を受け<sup>18</sup>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、<sup>18</sup>Fは骨に集積することが知られている。

<sup>18</sup>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<sup>18</sup>Fが骨に集積する、に帰結される。

このように<sup>18</sup>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る。

## B. 研究方法

### 1. <sup>11</sup>C]BF-227 の前臨床および探索的臨床研究

#### 1) Aβとの結合親和性

BF-227 の Aβとの結合親和性を評価する目的で、2-(4-Methylamino)styryl-5-benzoxazole の <sup>125</sup>I 標識体 (<sup>125</sup>I]BF-180) を放射性リガンドとして、37°C で 40 時間インキュベートして作成した合成 Aβ線維との結合飽和試験をまず行った。続いて BF-227 の <sup>125</sup>I]BF-180 との結合阻害試験から、Aβに対する試験化合物の結合阻害定数 (K<sub>i</sub>) を算出した。

#### 2) AD 脳病理標本における結合性の検証

BF-227 の 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 μm の脳切片に BF-227 溶液 (100 μM) を滴下し、10 分間反応させた後の脳標本を励起波長 (400-440 nm)、蛍光波長 (470 nm~) で観察した。また連続切片において 6F/3D を一次抗体に用いて Aβ免疫染色を行った。

#### 3) AD 動物モデルにおける有用性の検証

PS1/APPsw トランスジェニックマウスを用いて静脈内投与実験を行った。32 週齢のトランスジェニックマウスおよび野生型マウスの尾静脈より BF-227 溶液 4 mg/kg を静注投与し、その 2 時間後に脳を摘出し、蛍光顕微鏡で脳切片を観察した。

#### 4) [<sup>11</sup>C]BF-227 の標識合成

[<sup>11</sup>C]メチル基による BF227 標識化反応の条件最適化を行い、独自に開発した標識合成装置を使用した。

#### 5) [<sup>11</sup>C]BF227 注射液の調製と安全性評価

[<sup>11</sup>C]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、エタノールで [<sup>11</sup>C]BF227 を溶出した。このエタノール溶出液に 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 [<sup>11</sup>C]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。臨床で使用する薬剤については、滅菌済みバイアルに封入した。調製した標識薬剤については、東北大学サイクロトロン RI センターで通常行われている標識薬剤(注射液)の無菌試験(嫌気性、好気性)及び発熱性試験により安全性を評価した。

#### 5) [<sup>11</sup>C]BF-227 の脳移行性

正常マウスに [<sup>11</sup>C]BF227 注射液(0.2 mL、1.1-6.3 MBq)を尾静脈内投与し、一定時間後(2、10、30、60、90 分後)に脳、血液を採取し、組織重量と放射能を計測して単位組織重量あたりの放射能集積率(%ID/g)を算出して脳移行性を評価した。(\*%ID/g=(組織放射能/組織重量)/投与放射能×100)

#### 6) [<sup>11</sup>C]BF227 の AD 脳老人斑への結合性

AD と確定診断された患者脳組織切片を [<sup>11</sup>C]BF227 生理食塩液(1.2 MBq/mL)に 20 分間浸した後、水、50%エタノール、水の順に洗浄し、乾燥させた。この切片上の放射能分布は、BAS-5000(Fuji Film)を用いて解析した。また、放射能減衰後、老人斑の存在を確認するために同一切片を Tf-S で染色し、顕微鏡で観察した。

## 7) BF-227 の安全性評価

BF-227 の安全性評価として、雌雄マウス、雌雄ラットに対する静脈内単回投与毒性試験、雌雄マウス、雌雄ラットに対する静脈内投与による 2 週間反復投与毒性試験、雄性マウスに対する安全性薬理試験を行った。

## 8)倫理委員会等への申請

[<sup>11</sup>C]BF227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。

## 9)探索的臨床研究の実施

[<sup>11</sup>C]BF227 を用いた PET 検査は平成 17 年 7 月 1 日から開始された。

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。

## 2.[<sup>18</sup>F]標識プローブ開発のための F 化合物の最適化

### 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 $\mu$ m の脳切片に各 Compound 溶液 (100 $\mu$ 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 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) [<sup>18</sup>F] Compound 5、7、2、3の血液-脳関門透過性の検討 (インビボ)

標識合成した [<sup>18</sup>F]各 Compound 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)に屠殺して摘出した脳の放射能をガンマーカウンターで測定した後、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) [<sup>18</sup>F] Compound 5、7、2、3の骨集積性の検討 (インビボ)

標識合成した [<sup>18</sup>F]各 Compound 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)に屠殺して摘出した骨(大腿骨)の放射能をガンマーカウンターで測定した後、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実験を行った。マウスの尾静脈より Compound 2 および 3 溶液(4 mg/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 A $\beta$  抗体染色し両染色像を比較した。

### 6) F 化最適化化合物 Compound 3 と異常型プリオン蛋白との結合性

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 溶解液で染色し、蛍光顕微鏡で観察した。

## 3. 選 び 出 さ れ た [<sup>18</sup>F]FACT (Compound 3) の前臨床および探索的臨床研究

### 1) Tg マウスにおける小動物用 FinePET® 画像 (in vivo)

Tg マウスに [<sup>18</sup>F]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。

## 2) Tg マウスにおけるオートラジオグラフィ (ex vivo)

1) で使用したマウスから脳を取り出しオートラジオグラフィを実施した。

## 3) AD 患者脳標本におけるオートラジオグラフィ (in vitro)

AD 患者脳標本を用いて [<sup>18</sup>F]FACT の in vitro オートラジオグラフィを実施した

## 4) FACT の前臨床安全性評価

変異原性およびマウスにおける単回静脈内投与急性毒性試験を実施した。

## 5) 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。

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

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。

## 7) 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。

## 8) 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 の前臨床および探索的臨床研究

#### 1) Aβ との結合親和性

[<sup>125</sup>I]BF-180 との結合阻害試験から、BF-227 の Aβ に対する結合阻害定数を算出した。その結果、Ki 値は 1.8±0.42 nM (Aβ 1-40)、4.3±1.5 nM (Aβ 1-42) であった。これまでに報告した benzoxazole 誘導体とほぼ同様の値であり、BF-227 が Aβ に対する優れた結合親和性を有することが確認された。

#### 2) AD 脳病理標本における結合性の検証

AD 患者脳標本を用いた染色の結果、BF-227 と老人斑との結合を示す明瞭な蛍



光像が観察された。この蛍光像は連続切片における A $\beta$  免疫染色とほぼ一致した染色像を示した (図 1)。

### 3) AD 動物モデルにおける有用性の検証

BF-227 溶液 4 mg/kg を静注投与し、その 2 時間後に脳を摘出し、その脳切片を蛍光顕微鏡で観察した。その結果、トランスジェニックマウスの脳切片では、大脳皮質領域に多数の明瞭な蛍光像が観察され、その蛍光像は A $\beta$  免疫染色の分布と一致していた (図 2)。

### 4) [ $^{11}\text{C}$ ]BF-227 の標識合成

室温、DMSO 中でメチル化を行ったところ、非常に効率よくメチル化反応が進行した。分取 HPLC のクロマトグラムから求めた反応収率は 50-75%であった。分取 HPLC 直後の [ $^{11}\text{C}$ ]BF227 の放射化学的純度(分取フラクション中)は、99%以上であった。

### 5) [ $^{11}\text{C}$ ]BF227 注射液の調製と安全性評価

最終的に調製された注射液の放射化学的純度は 95%以上、比放射能は 100-210 GBq/ $\mu\text{mol}$  となり、また、無菌試験および発熱性試験で陰性となり、臨床で使用する上で問題のない事が確認された。

### 5) [ $^{11}\text{C}$ ]BF-227 の脳移行性

[ $^{11}\text{C}$ ]BF-227 投与 2 分後の脳集積率は  $7.9 \pm 1.3\% \text{ID/g}$  と高く、脳イメージング用放射性薬剤として十分な脳移行性を有していた。さらに投与 10、30、60 分後の集積率は、それぞれ  $3.7 \pm 0.37\% \text{ID/g}$ 、 $1.4 \pm 0.36\% \text{ID/g}$ 、 $0.64 \pm 0.15\% \text{ID/g}$  であった (図 3)。

[ $^{11}\text{C}$ ]BF-227 の脳集積率は、投与後 60 分でピークの 10%以下まで低下しており、正常脳組織からの優れたクリアランスを示した。これまでに我々が開発した BF-168 と比較しても、BF-227 はより優れた脳移行性、クリアランスを示していた。

### 6) [ $^{11}\text{C}$ ]BF227 の AD 脳老人斑への結合性評価(in vitro)

オートラジオグラフィにより AD 脳組織切片上の放射能分布を画像的に評価したところ、白質領域と比較して灰白質に相当する領域には相対的に高い放射能集積が確認できた(図 4)。

さらに、所々ホットスポット状に放射能の集積が観察された。この切片をチオフラビン S で染色したところ、放射能集積の高い領域に、同様なパターンで老人斑が密に分布していることが明らかになった。ホットスポットの確認された領域には、各ホットスポットに対応する位置に輪郭のくっきりした老人斑が確認された。また、その切片上ではチオフラビン S で神経原線維変化が密に分布する領域が確認されたが、対応する領域では白質領域と同等の放射能集積しか認められなかった。

### 7) BF-227 の安全性評価

BF-227 の単回投与毒性試験では、マウス、ラットの最大耐容量はそれぞれ 10 mg/kg、1 mg/kg となった。2 週間反復静脈内投与試験では、ラット、マウス共に無毒性量は 25  $\mu\text{g/kg}$  以上と判断された。また、マウスによる安全性薬理試験では、25  $\mu\text{g/kg}$  までの静脈内投与において、一般症状、自発行動量に対する作用は認められなかった。また被曝量に関しては、一回に投与できる最大放射エネルギーは 720 MBq (20 mCi) とし、この投与量以下では、全身の実効線量は 1.82~1.84 mSv 以下となり、「東北大にける新規 PET 薬剤の臨床開発の指針 (平成 16 年 7 月)」で定められている内部基準(最大 10 mSv/5 年で、1 年に 5 mSv を超えない)を満たしていた。

### 8) 倫理委員会等への申請

東北大放射線品質管理委員会、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 17 年 6 月 20 日、[ $^{11}\text{C}$ ]BF-227 を用いた探索的臨床研究を実施することが東北大倫理委員会によって承認された。

### 9) 探索的臨床研究の実施

平成 17 年 7 月 1 日から東北大サイクロトロン RI センターにおいて [ $^{11}\text{C}$ ]BF-227 を用いた探索的臨床研究を開始した。

健常高齢者、MCI、AD 患者の [ $^{11}\text{C}$ ]BF-227 投与後の PET 画像 (投与後 20-40 分の SUVR 画像) を図 5 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 [ $^{11}\text{C}$ ]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ソフトウェアによって抽出した。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6)。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。

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。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。

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。BF227-PETにおける外側側頭葉SUVR値、FDG-PETにおける後部帯状回SUVR値のそれぞれからZスコアを算出した。BF227-PETでは、AD患者16名中15名でZスコアが2以上であったのに対し、健常高齢者のZスコアは全例2以下であった。これに対し、FDG-PETにおけるZスコアはAD患者でも軒並み低く、2以上のZスコアを示した症例は16名中6名のみであった。ROC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7)。

プリオン病症例の解析においては、GSS症例では小脳で高頻度の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。CJD2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8)。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8)。

## 2. [<sup>18</sup>F]標識プローブ開発のためのF化合物の最適化

### 1) Compound 5、7、2、3のAD患者脳切片における染色性の検討

いずれのCompoundも特異的選択的にアミロイドβ蛋白(ないしは老人斑)を染色した。

### 2) Compound 5、7、2、3の急性毒性検討(マウス、静脈内投与)

4つのCompoundの最大耐量はいずれも10mg/kg,i.v. またはそれ以上であった。

### 6) [<sup>18</sup>F] Compound 5、7、2、3の血液-脳関門透過性の検討(インビボ)

4つの[<sup>18</sup>F] 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、その中でも[<sup>18</sup>F] Compound 2、3のクリアランスは特に優れていた(図9)。

### 7) [<sup>18</sup>F] Compound 5、7、2、3の骨集積性の検討(インビボ)

[<sup>18</sup>F] Compound 2および3にはほとんど骨集積性が認められなかった(図10)。

### 8) Compound 2、3のAβ蛋白脳内蓄積Tgマウスでの検討(インビボ)

脳内にAβが蓄積するトランスジェニックマウスにCompound 2、3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。

### 6) F化最適化化合物Compound 3と異常型プリオン蛋白との結合性

Compound 3は特異的選択的にゲルストマン・ストライヤー・シャインカー病脳標本の異常型プリオン蛋白に結合した(図11)。

## 3. 選 び 出 さ れ た [<sup>18</sup>F]FACT (Compound 3) の前臨床および探索的臨床研究

## 1) Tg マウスにおける小動物用 FinePET® 画像 (in vivo)

FinePETによるアミロイド斑の生体画像化の検討では、 $[^{18}\text{F}]\text{FACT}$  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。

## 2) Tg マウスにおけるオートラジオグラフィ (ex vivo)

1)で使用したマウスから脳を取り出しオートラジオグラフィを実施したところ、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 マウスの場合には数多くのホットスポットが観察された(図 12)。同一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 12)。

## 3) AD 患者脳標本におけるオートラジオグラフィ (in vitro)

AD 患者脳標本における in vitro AD 脳切片を用いた in vitro オートラジオグラフィでは老人斑の分布に一致した放射能の特異的集積が確認された。

## 4) FACT の前臨床安全性評価

変異原性およびマウスにおける単回静脈内投与急性毒性試験を実施し、臨床に用いる PET プローブとして特に問題のないことが確かめられた。

## 5) 臨床用 $[^{18}\text{F}]\text{FACT}$ 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 $1 \times 10^{-9}$  g/mL以下のエンドトキシンフリーの無菌注射剤を再現性よく製造することが可能となった。

## 6) $[^{18}\text{F}]\text{FACT}$ 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 $[^{18}\text{F}]\text{FACT}$  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、 $[^{18}\text{F}]\text{FACT}$  注射液の品質評価結果(①~④)については、いずれも PET 用注射剤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、 $[^{18}\text{F}]\text{FACT}$  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  $13.9 \mu\text{Sv}/\text{MBq}$ (男)、 $17.0 \mu\text{Sv}/\text{MBq}$ (女)となった。

## 7) 倫理委員会等への申請

東北大学放射質管理委員会、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、 $[^{18}\text{F}]\text{FACT}$  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。

## 8) 探索的臨床研究の実施

$[^{18}\text{F}]\text{FACT}$  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 (図 13)

## 考察

本研究課題の目的はまず第 1 に、「 $[^{11}\text{C}]\text{BF-227}$  のヒトにおける探索的臨床研究を開始し、これを継続すること」であり、第 2 に、「 $[^{18}\text{F}]\text{FACT}$  標識 PET プローブを開発し、同プローブを探索的臨床研究まで進捗させること」であった。

第 1 の目的については臨床使用可能な PET 用アミロイドイメージング注射剤  $[^{11}\text{C}]\text{BF227}$  の開発に成功し、平成 20 年 3 月末日までに 54 名のボランティア、患者様を用いた探索的臨床研究を実施すること

ができた。最大の目標であった AD 診断については BF-227 を用いた PET 画像は、病変部位のコントラストが FDDNP よりは優れているものの、PIB よりは劣る。これは主として化合物の  $\beta$ シート構造に対する結合親和性の違いに起因すると考えられる。ただし ROI 解析における SUVR 値の分布を見る限り、PIB と比べて臨床的有用性が劣る印象はない。むしろ PIB に比べて健常人データのばらつきが少なく、高特異度を確保したい場合には BF227-PET の方が有利ではないかと思われる。また FDG-PET と比較しても健常人での個体差が小さく、既存の診断法よりも優れた精度で AD 診断を可能にすることは間違いない。さらに AD への進行が確認された Progressive MCI の症例でも、初回検査時に BF-227 の高集積が確認された。AD の根本的治療薬が開発された暁には、当面の治療介入のタイミングは早期段階の AD もしくは MCI 段階に設定される。その際、多くの臨床施設で共通して使用できる早期診断指標が求められる。BF227-PET は MCI から AD への進行を予測する検査法として、このような要求に応えることができるであろう。

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した。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る。

目的の第 2 については、臨床使用可能な PET 用注射剤 [ $^{18}\text{F}$ ]FACT(=Compound 3)の開発に成功し、2 例ではあるが探索的臨床研究まで進捗させることができた。 [ $^{11}\text{C}$ ]標識 PET プローブは、自施設での放射性薬剤の合成が要求され、実施可能な臨床施設が限定される。日本国内では多くても 10~20 施設が限界であろう。本検査の普及には、放射性薬剤としてデリバリー供給できる [ $^{18}\text{F}$ ]標識プローブの実用化が必須である。本研究において [ $^{18}\text{F}$ ]FACT を用いた PET 検査によって、AD 患者で健常人とは異なる集積分布を確認することができた。今後症例数を増やし、本プローブの臨床的有用性

を検証する予定である。

本プローブが放射性薬剤として普及すれば、今後多くの臨床施設で本検査が認知症の臨床診断プロセスに組み込まれることになる。そうすれば AD の早期診断・早期治療へ向けた有望なツールになると同時に、AD の病態解明にも大きく寄与するであろう。

## E. 結論

1. 54 名の探索的臨床研究を実施し、 [ $^{11}\text{C}$ ]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. 約 900 化合物をスクリーニングし、その中から見いだされた [ $^{18}\text{F}$ ]FACT(Compound 3)を探索的臨床研究まで進捗させることができた。
3. [ $^{18}\text{F}$ ]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-Dimethylamino- thiazol -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*. 2541509-1517. 2007
  - 11) 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
  - 12) 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
  - 13) 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
  - 14) 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)
  - 15) 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
  - 16) 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
  - 17) Wakisaka Y, Santa N, Doh-ura K, Kitamoto T, Ibayashi S, Iida M, Iwaki T:

- Increased asymmetric pulvinar magnetic resonance imaging signals in Creutzfeldt-Jakob disease with florid plaques following a cadaveric dura mater graft. *Neuropathol.*, 26:82-88 2006
- 18) 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
  - 19) 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
  - 20) 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.
  - 21) Maruyama M, Ishizawa K, Tomita N, Nemoto M, Ysuda 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
  - 22) 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
  - 23) 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
  - 24) 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
  - 25) 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
  - 26) 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
  - 27) 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
  - 28) 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.
  - 29) 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.
  - 30) 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

- 31) 岡村信行、古本祥三、工藤幸司、谷内一彦:脳分子イメージング「アルツハイマー病」.日本臨床.65.320-326.2007.
- 32) 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.
- 33) 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
- 34) 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.
- 35) 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.
- 36) 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
- 37) 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
- 38) 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
- 39) 荒井啓行、工藤幸司: 認知症診断に役立つ補助検査法ー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
- 40) 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
- 41) 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
- 42) 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
- 43) 工藤 幸司:軽度認知障害ー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
- 44) 岡村信行、古本祥三、工藤幸司、谷内一彦: 臨床応用 脳分子イメージング「アルツハイマー病」.日本臨床. 65. 320-326. 2007
- 45) 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
- 46) 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
- 47) 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
- 48) 逆瀬川裕二、堂浦克美. プリオン病の治療ーその現状と展望ー. Brain Medical, 18(4):356-370, 2006
- 49) 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
- 50) 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
- 51) 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
- 52) 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
- 53) 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
- 54) 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
- 55) 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。 神経内科63 (5) : 441-445, 2005
- 56) 坪井義夫、山田達夫、堂浦克美：プリオン病の治療ー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(3):259-264, 2005
- 57) 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  
(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： $[^{11}\text{C}]\text{BF}-227$  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  $[^{11}\text{C}]\text{BF}-227$  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： $[^{11}\text{C}]\text{BF}-227\text{PET}$  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： $[^{11}\text{C}]\text{BF}-227\text{PET}$  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
- 15) 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 $[^{11}\text{C}]\text{BF}227$  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
- 16) 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  $[^{11}\text{C}]\text{BF}-227$  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。
- 17) 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
- 18) 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
- 19) 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
- 20) 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
- 21) 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
- 22) 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
- 23) 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 $\beta$ 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
- 24) 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
- 25) 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
- 26) 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
- 27) 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
- 28) 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
- 29) 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
- 30) 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
- 31) 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
- 32) 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
- 33) 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
- 34) 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
- 35) 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
- 36) 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
- 37) 坪井義夫、堂浦克美、山田達夫：CJDの新しい治療法の試み□ペントサンポ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
- 38) 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
- 39) 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

- 40) 逆瀬川裕二、渡邊光太、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
- (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 [<sup>11</sup>C]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 [<sup>11</sup>C]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 [<sup>11</sup>C]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
  - 4) 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.
  - 5) Arai H, Okamura N, Furukawa K, Maruyama M, Furumoto S, Narita T, Ito M, Iwata R, Yanai K, Kudo Y: [<sup>11</sup>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.
  - 6) 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
  - 7) 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
  - 8) Doh-ura K: Therapeutic strategies for prion diseases. SFB-596 Meeting for Molecular Mechanisms of Neurodegeneration, Munich, October 16, 2006
  - 9) Tsuboi Y, Doh-ura K, Yamada T: Experimental treatment with intraventricular pentosan polysulphate injection in prion disease. TheraPrion 2006, Paris, November 21, 2006
  - 10) 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
  - 11) Sakasegawa Y, Doh-ura K: Aggregation and degradation of cellular prion protein by Novobiocin. NeuroPrion 2006, Torino, October 3-6, 2006
  - 12) Ishikawa K, Kudo Y, Nishida N, Iwaki T, Doh-ura K: Styrylbenzoxazole derivatives for imaging of prion plaques and treatment of prion diseases. NeuroPrion 2006, Torino, October 3-6, 2006
  - 13) 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
  - 14) 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
  - 15) 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
  - 16) 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)

- 17) 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; “[<sup>11</sup>C]BF227: A New <sup>11</sup>C-Labeled 2-Ethenylbenzoxazole Derivative for Amyloid-β Plaques Imaging” Annual Congress of the European Association of Nuclear Medicine, Istanbul (Turkey), October 15-19, 2005.
- 18) Takai Y., Kaneta T., Hakamatsuka T., Nemoto K., Yamada S., Iwata R., Funaki Y., Furumoto S., Nakata E., Kudo Y. Tujitani N., “[<sup>18</sup>F]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.

- 19) 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

#### 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

特許出願状況

	出願番号	発明の名称	出願日	出願人	発明者
1	特願 2007-176368	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 プローブ	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	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
3	特願 2006-047064	アミロイドが蓄積する疾 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
4	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
5	PCT/JP2006/323962		平成 18 年 11 月 30 日		
6	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
7	PCT/JP2006/325804		平成 18 年 12 月 25 日		