

- 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
- 43) 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
  - 44) 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
  - 45) 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
  - 46) 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
  - 47) 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。
  - 48) 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
  - 49) 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
  - 50) 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
  - 51) 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
  - 52) 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
  - 53) 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
  - 54) 藤川陽介、岡村信行、古本祥三、星井嘉信、山田正仁、石原得博、工藤幸司、谷内一彦：AβリガンドBF-227によるアミロイドーシスの検出。第79回日本薬理学会年会(横浜)。3月8日。2006年
  - 55) 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
  - 56) 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
  - 57) 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
  - 58) 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
  - 59) 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
  - 60) 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
  - 61) 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
  - 62) 石川謙介、木村朋寛、工藤幸司、西田教行、岩城徹、堂浦克美：Styrylbenzoazole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
  - 63) 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
  - 64) 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

- 65) 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
- 66) 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
- 67) 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
- 68) 坪井義夫、堂浦克美、山田達夫：CJDの新しい治療法の試み□ペントサンプ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
- 69) 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
- 70) 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
- 71) 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
- 72)
- (国際学会)
- 20) 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 [11C]BF-227 and PET, Human Amyloid Imaging · Boston 2007, Boston Back Bay Hilton Hotel, 5月4日, 2007年
- 21) 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 [11C]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
- 22) 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 [11C]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
- 23) 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.
- 24) Arai H, Okamura N, Furukawa K, Maruyama M, Furumoto S, Narita T, Ito M, Iwata R, Yanai K, Kudo Y: [11C]-BF-227 and PET to visualize amyloid in Alzheimer's disease. The 10th International Conference on Alzheimer's and Related Disorders. (Madrid, Spain) July 15-20, 2006.
- 25) 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
- 26) 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
- 27) Doh-ura K: Therapeutic strategies for prion diseases. SFB-596 Meeting for Molecular Mechanisms of Neurodegeneration, Munich, October 16, 2006
- 28) Tsuboi Y, Doh-ura K, Yamada T: Experimental treatment with intraventricular pentosan polysulphate injection in prion disease. TheraPrion 2006, Paris, November 21, 2006
- 29) 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
- 30) Sakasegawa Y, Doh-ura K: Aggregation and degradation of cellular prion protein by Novobiocin. NeuroPrion 2006, Torino, October 3-6, 2006
- 31) 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
- 32) 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
- 33) 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
- 34) 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
- 35) 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)

- 36) 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.
- 37) 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 Maker 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.
- 38) 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

## G. 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

	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		

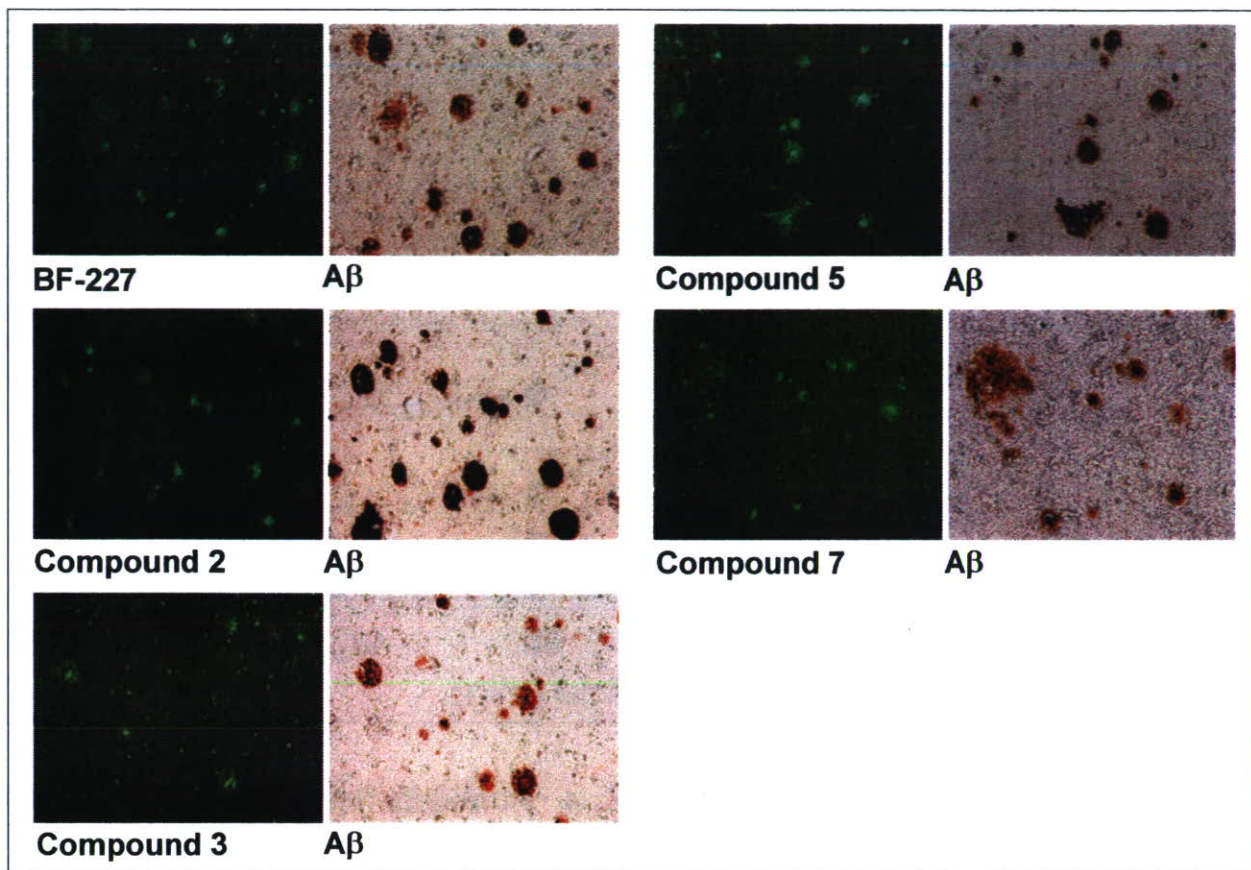


図1. アルツハイマー病患者脳切片における F 化最適化化合物(Compound 2, 3, 5, 7)の染色性  
 4つの Compound はすべてアルツハイマー病患者脳切片においてアミロイドβ蛋白  
 (老人斑) に選択的に結合した。

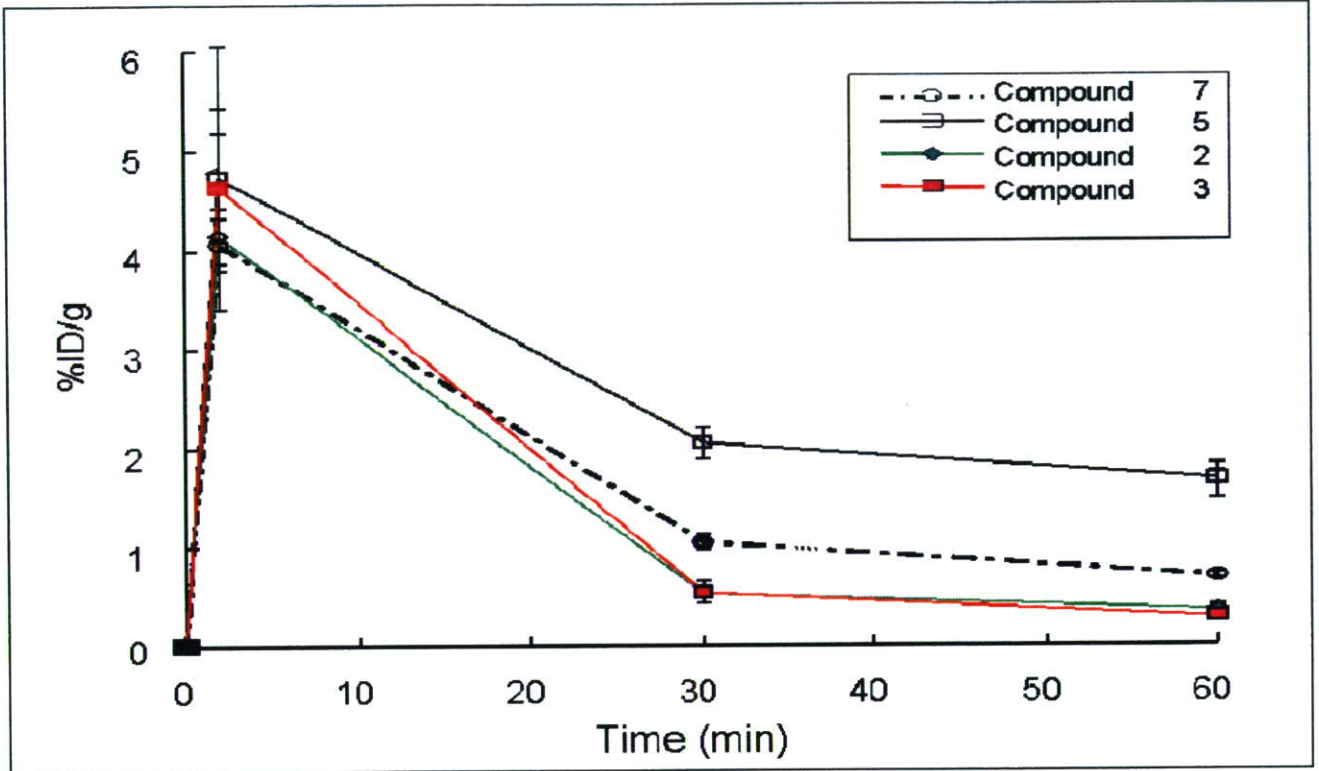


図 2. 正常マウスにおける静脈内投与された 4 つの最適化 $^{18}\text{F}$ 標識プローブの脳移行と脳からのクリアランス  
 4 つの最適化 $^{18}\text{F}$ 標識プローブは脳に充分量が速やかに移行し、またクリアランスにも優れていた。特にクリアランスに優れていたのは $^{18}\text{F}$ Compound 2 および 3 であった。

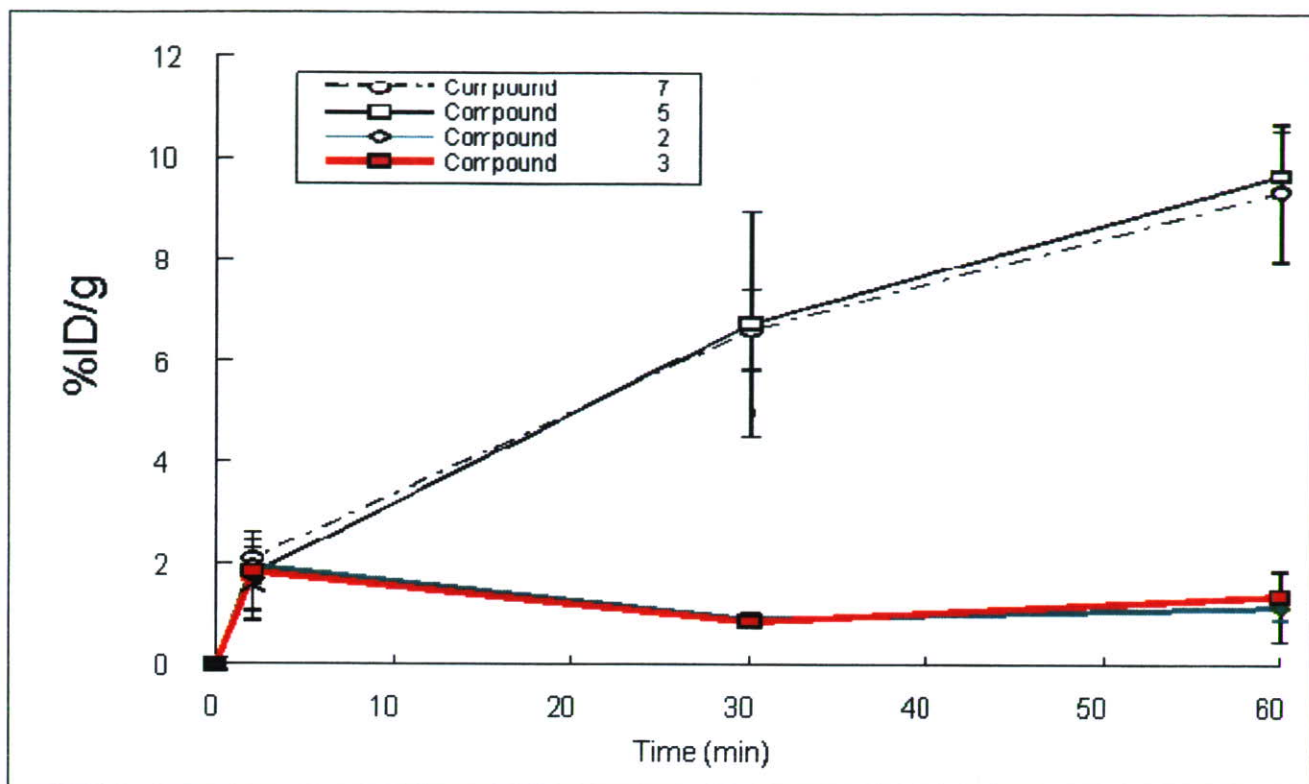
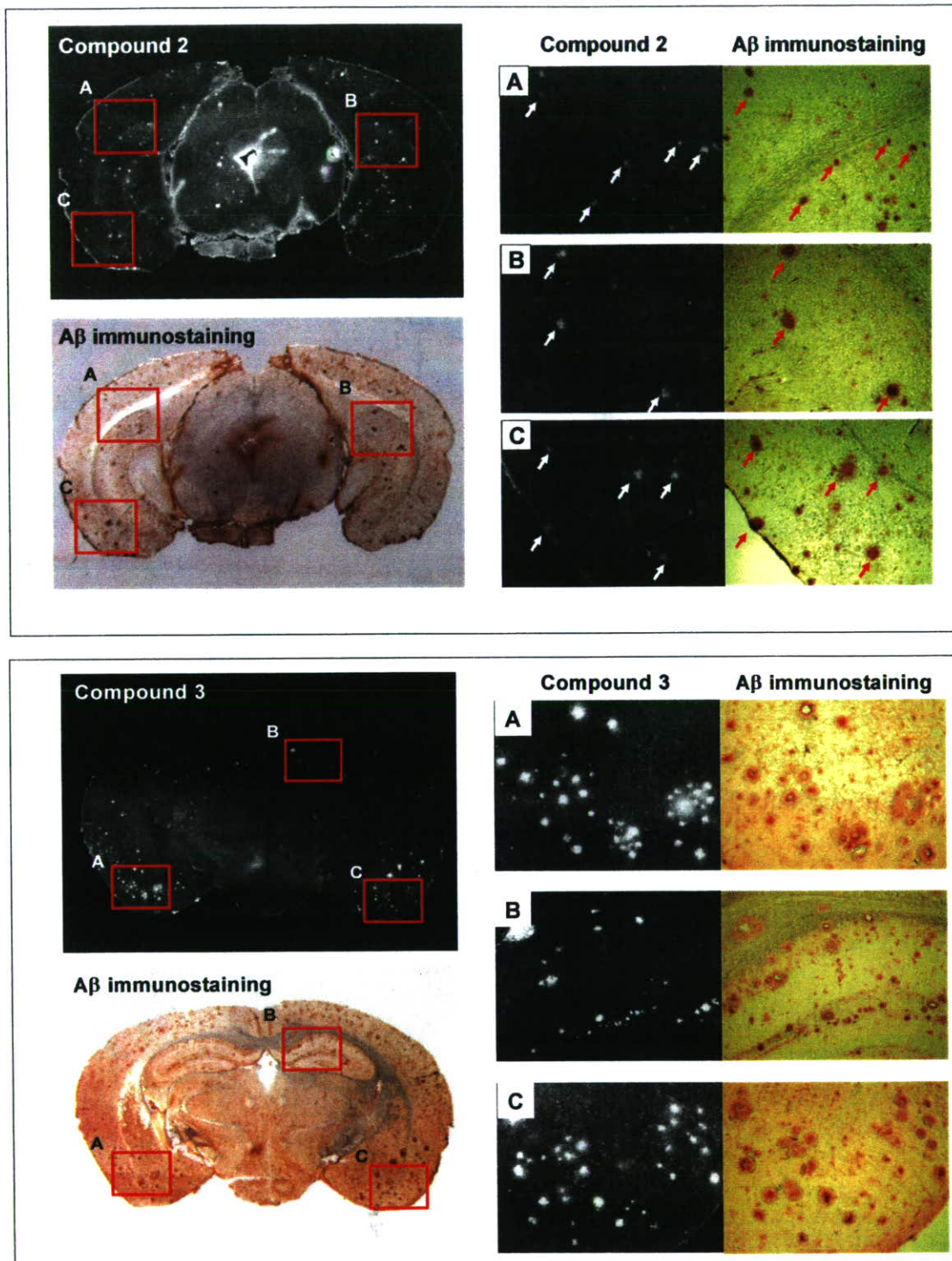


図 3. 正常マウスにおける静脈内投与された 4 つの最適化 $^{18}\text{F}$ 標識プローブの骨集積性  
 $^{18}\text{F}$ Compound 2 および 3 はほとんど骨移行性を示さなかった



**図 4. 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 Aβ 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。



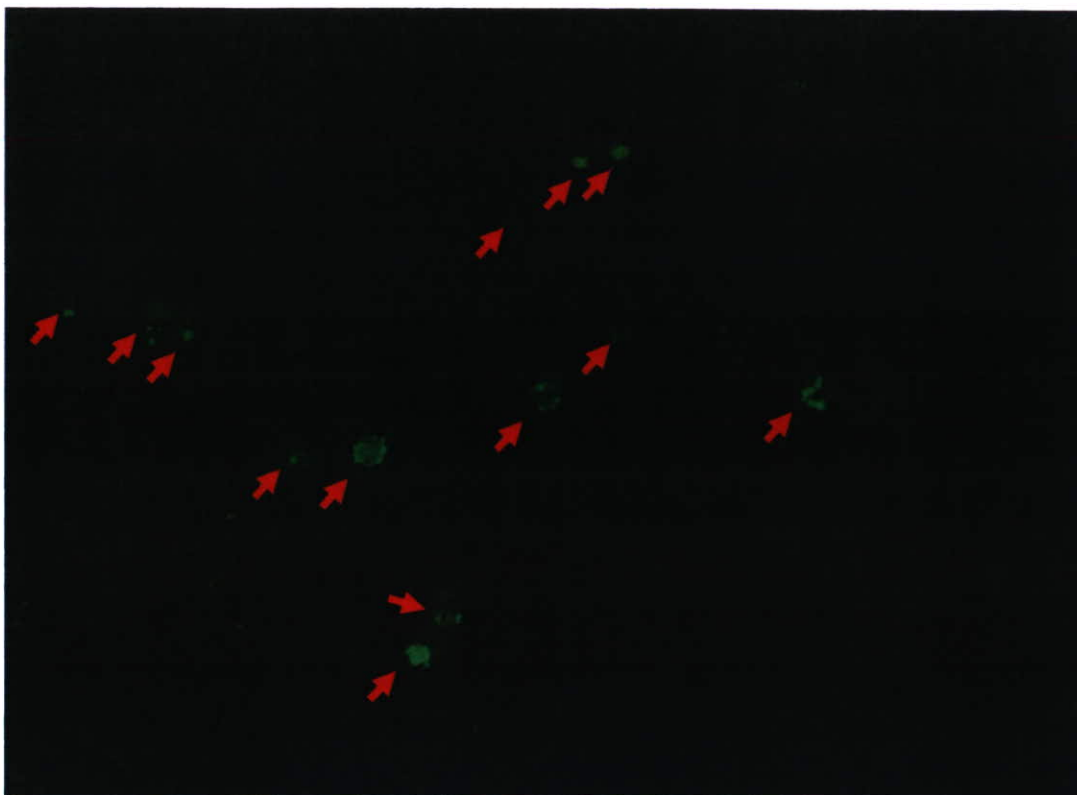


図 5. 遺伝性プリオン病、ゲルストマン・ストライヤー・シャインカー (GSS) 患者脳切片における Compound 3 の染色像

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。

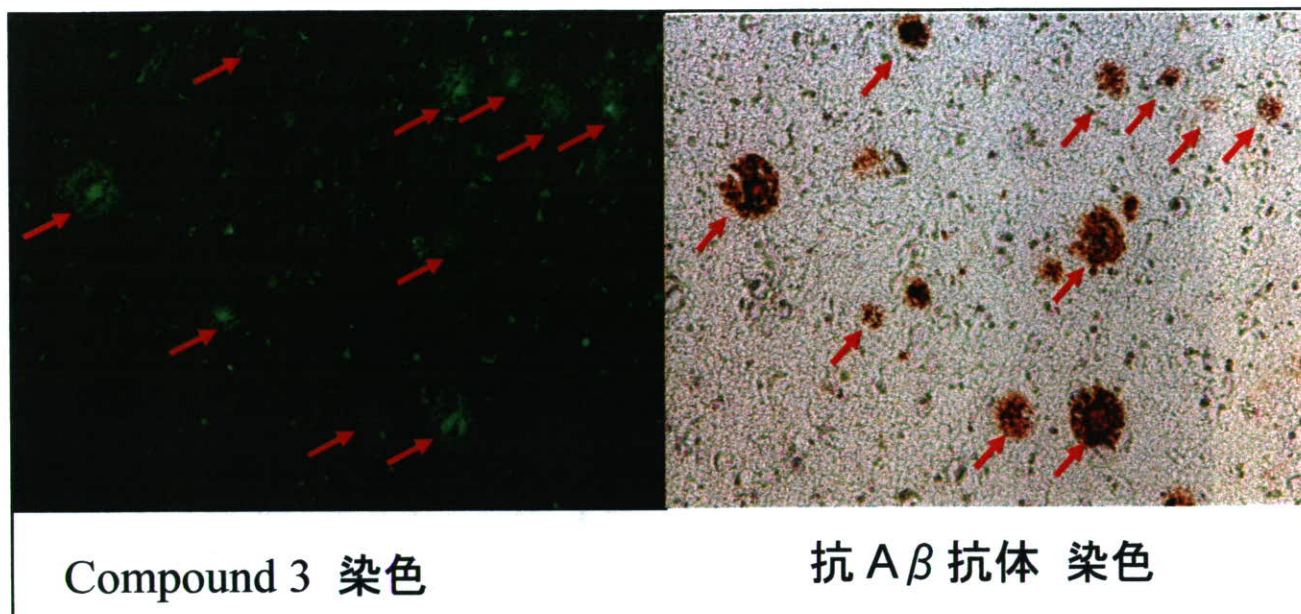


図 6. アルツハイマー病患脳切片における **Compound 3** の染色性（隣接切片）  
Compound 3 はアルツハイマー病患者脳切片においてアミロイド  $\beta$  蛋白（老人斑）に選択的に結合した。

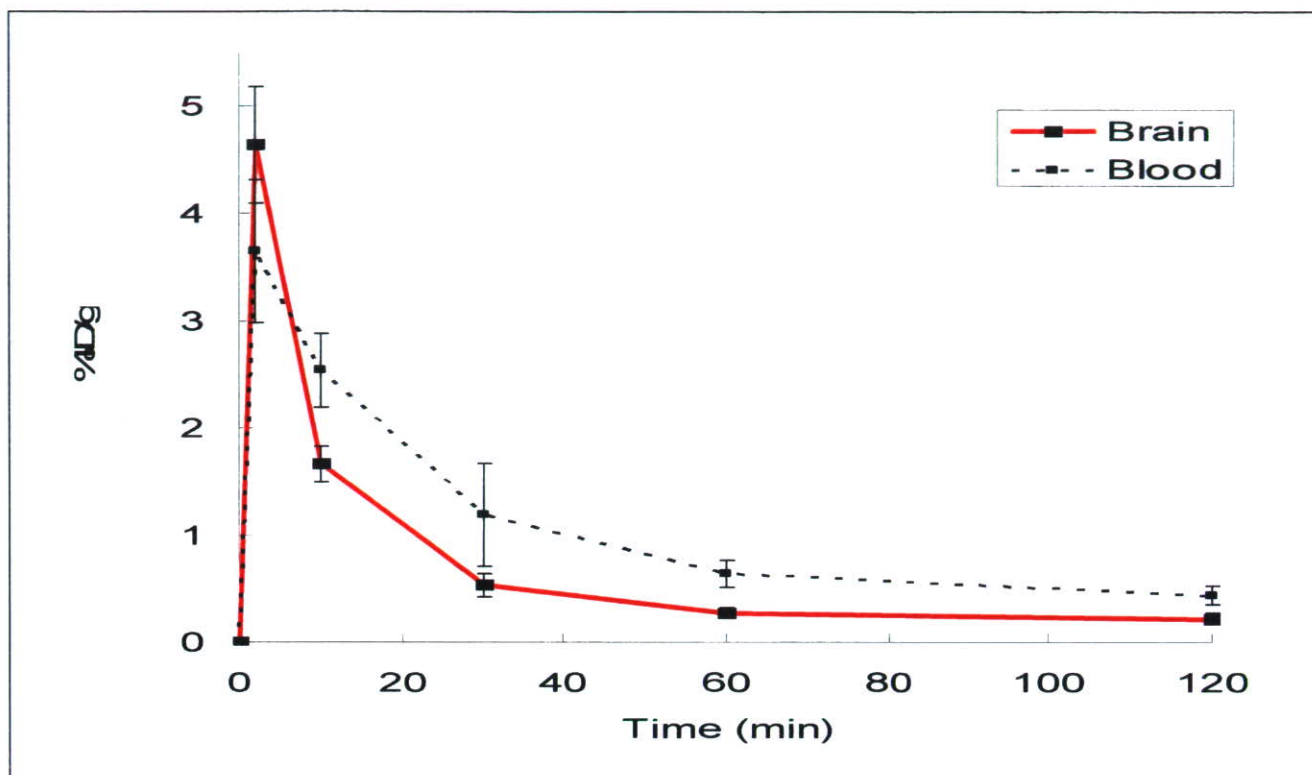


図 7.正常マウスにおける静脈内投与された $[^{18}\text{F}]$ Compound 3 の脳移行と脳からのクリアランス

表 1. Compound 5, 7, 2, 3 のマウス静脈内投与における急性毒性

	最大耐量 (mg/kg、静脈内投与.)
Compound 5	$\geq 10\text{mg/kg}$
Compound 7	$\geq 10\text{mg/kg}$
Compound 2	$\geq 10\text{mg/kg}$
Compound 3	$\geq 10\text{mg/kg}$

各 Compound 10mg/kg を単回静脈内投与し、以後 7 日目まで観察。  
総ての Compound 投与例において死亡は観察されなかった

# 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 17 - 19 年度 分担研究報告書

## 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

分担研究者：古本 祥三<sup>1</sup>、岡村 信行<sup>2</sup>

研究協力者：石川 洋一<sup>3</sup>、岩田 錬<sup>3</sup>

主任研究者：工藤 幸司<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> 東北大学先進医工学研究機構、<sup>2</sup> 東北大学大学院医学系研究科、<sup>3</sup> 東北大学サイクロトロン・RI センター)

**[研究要旨]**本分担研究では、蛋白コンフォメーションの *in vivo* 画像診断として最も臨床応用の期待が高いアミロイドイメージングについて、実際の臨床 PET で使用可能な標識薬剤を開発することを目指した。具体的には、臨床利用を目的とした [<sup>11</sup>C]BF227 注射液の開発(平成 17 年度)、<sup>18</sup>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-(平成 18 年度)、 [<sup>18</sup>F]FACT の前臨床評価及び臨床用注射液製造法の確立(平成 19 年度)について研究課題として取り組んだ。

[<sup>11</sup>C]BF227 については、 [<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うことによって、効率よく安定的に [<sup>11</sup>C]BF227 を標識合成することが可能になった。また、毒性および被曝の観点からも安全である無菌状態の注射液を調製することができた。 [<sup>11</sup>C]BF227 注射液を使って、マウス投与実験による脳移行性の検討を行ったところ、投与直後脳内へ速やかな移行が確認され、さらにその後脳内から排泄され、60 分後で 10 分の 1 以下にまで減少し、老人斑画像化薬剤として優れた薬物動態性を示した。また、 [<sup>11</sup>C]BF227 は、AD 脳組織切片中の老人斑にも選択的に結合することが確認された。以上から、老人斑画像化薬剤として利用可能な安全性の高い [<sup>11</sup>C]BF227 注射液を確立できたといえる。本注射液については分担者の岡村らによって実際に臨床応用研究が展開され、アルツハイマー病の早期診断に有効であることが示唆された。

そこで、炭素 11 よりも半減期が長く、将来的にデリバリー等による供給が可能になると期待されるフッ素 18 標識アミロイドイメージング剤の開発研究に取り組んだ。この研究では、コールド条件で Aβ 凝集体に対する結合性および脳移行性に優れた化合物としてスクリーニングされた 4 つの候補化合物 (Cpd-2, -3, -5, -7) について標識合成法を確立し、実際に各フッ素 18 標識化合物を用いて正常マウスにおける脳移行性評価を行って [<sup>18</sup>F]Cpd-2 および [<sup>18</sup>F]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 [<sup>18</sup>F]Cpd-2 および [<sup>18</sup>F]Cpd-3 の脳内動態性は、 [<sup>11</sup>C]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、生体内において脱フッ素代謝反応に対して耐性があり、*in vivo* 画像診断薬剤として有力な候補化合物であることが確認された。

そして、これらフッ素 18 標識化合物の内、 [<sup>18</sup>F]Cpd-2(薬剤名称： [<sup>18</sup>F]FACT)について臨床応用を目指

すことになり、アミロイド斑の生体画像化に対する有効性及び安全性を前臨床的に評価し、かつ、臨床で使用可能な注射液製造システムの構築を行った。アミロイド斑を有する Tg マウスに $[^{18}\text{F}]\text{FACT}$ を投与し、動物 PET によりその画像化を試みたところ、ワイルドタイプと比較して相対的に高い脳内蓄積性を示すことが明らかになり、その Tg マウス脳のオートラジオグラフィおよびチオフラビン染色から、 $[^{18}\text{F}]\text{FACT}$ は脳内アミロイド斑に結合して脳内集積したことが確認された。FACT の安全性については、変異原性試験および静脈内単回投与急性毒性試験を実施したところ、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、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。この注射剤を PET 撮像用に使用した場合に予想される被曝の影響については、5 mCi 投与時で全身の実効線量は 2.57 mSv(男)、3.15 mSv(女)となり、通常の PET 検査や CT 検査と比較しても問題のない被曝線量となることが推定された。

以上、本研究を通じて臨床使用可能な PET 用アミロイドイメージング注射剤 $[^{11}\text{C}]\text{BF227}$ および $[^{18}\text{F}]\text{FACT}$ の開発に成功し、実際に臨床研究に使用され診断薬としての有用性が示された。

## A. 研究目的

アルツハイマー病の治療薬であるコリンステラーゼ阻害薬の登場に伴い、認知症の早期診断の重要性が強く認識されるようになった。しかしながら現在の認知症の臨床診断プロセスでは、臨床症状が顕在化した患者を診断することはできても、認知機能障害が顕著にみられない早期の症例を診断する精度は十分とはいえず、病初期の患者を高精度かつ非侵襲的に検出できる診断法の開発が求められている。過去の神経病理学的研究によると、アルツハイマー病に特徴的な脳病理所見である老人斑の蓄積は、臨床症状の出現よりも数十年先行すると考えられている。したがって、生体において老人斑を可視化できれば、従来の診断法よりも早期段階で高精度にアルツハイマー病を診断できるようになる。また、アルツハイマー病に特有の病理変化を検出するため、他の非アルツハイマー型痴呆との鑑別診断にも有用と考えられる。

このような背景にあって、アルツハイマー病の重要な病理所見である老人斑を PET により画像化することを目的として、 $\text{A}\beta_{1-40}$ および  $\text{A}\beta_{1-42}$ の

凝集体に対して強い結合性を示す低分子化合物の BF227 が、当研究主任者である工藤によって開発された。そこで、PET で BF227 を利用するために必要となる炭素 11 標識体( $[^{11}\text{C}]\text{BF227}$ )の標識合成法および臨床で使用可能な注射液の調製法確立を目的として実際に合成した $[^{11}\text{C}]\text{BF227}$ を用いて、基礎実験により老人斑画像化薬剤としての有用性(薬物動態性、特異性など)を検討した。

さらに、将来的に大規模な臨床研究・治験への展開、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)で標識したデリバリーによる供給も可能となる 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、フッ素 18 標識アミロイドイメージング剤の開発を目指して非標識体を使った蛍光染色、蛍光結合試験、脳移行性評価などでスクリーニングされた候補化合物(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。

そして、有力な候補としてスクリーニングされ

た  $^{18}\text{F}$ -標識 Cpd-2、すなわち [ $^{18}\text{F}$ ]FACT (Fluorinated Amyloid-imaging Compound of TOHOKU、IUPAC 名: (E)-6-[(1-[ $^{18}\text{F}$ ]Fluoromethyl-2-hydroxy)ethoxy]-2-[2-[2-dimethylaminothiazol-5-yl]ethenyl]benzoxazole)について実際に臨床応用を目指して有用性・安全性を前臨床的に評価し、さらに臨床研究を実施するために必要となる臨床用注射液の製造法確立に向けた研究を行った。

## B. 研究方法

### B-1. [ $^{11}\text{C}$ ]BF227 の標識合成

[ $^{11}\text{C}$ ]BF227 の標識部位は、ジメチルアミノ基のメチル基を [ $^{11}\text{C}$ ]CH<sub>3</sub> で標識することにした。従って、BF227 のモノ脱メチル体を標識前駆体として、[ $^{11}\text{C}$ ]CH<sub>3</sub>OTf を用いてメチル化反応により標識することにした(図 1)。BF227 は難溶性の化合物であることから、溶解性の高い DMSO を標識反応溶媒とした。実際の標識合成は以下の手順で行った。

サイクロトロン HM12(住友重機械社製)で加速した 12MeV の陽子ビームを N<sub>2</sub> ガス(0.5% O<sub>2</sub> ガス含有)に 30 分間照射して [ $^{11}\text{C}$ ]CO<sub>2</sub> を合成した。続いて MicroLab ヨウ化メチル合成システム(GE 社製)を用いて [ $^{11}\text{C}$ ]CO<sub>2</sub> から [ $^{11}\text{C}$ ]CH<sub>3</sub>I を合成し、加熱した AgOTf 充填カラム(約 190°C)に通すことで [ $^{11}\text{C}$ ]CH<sub>3</sub>I を [ $^{11}\text{C}$ ]CH<sub>3</sub>OTf に変換した。そして、図 2 に示した標識合成装置において、標識前駆体(約 1 mg)の DMSO(450  $\mu\text{L}$ )溶液に 2M NaOH 水溶液(7  $\mu\text{L}$ )を添加し、室温条件下、[ $^{11}\text{C}$ ]CH<sub>3</sub>OTf を含有したヘリウムガスを流し込むことで炭素 11 標識メチル化反応を行った。この反応溶液に 5% AcOH(エタノール溶液、150  $\mu\text{L}$ )を加えてよく攪拌し、その混合液をセミ分取 HPLC(カラム: YMC-Pack Pro C18 RS(10 $\times$ 250 mm)+ガードカラム(10 $\times$ 30 mm)、移動相: EtOH/MeCN/20mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>=15/40/45、流速: 6.0 mL/min)にかけて、約 9-10 分に溶出する [ $^{11}\text{C}$ ]BF227 由来の放射性ピークを分取した。この [ $^{11}\text{C}$ ]BF227 含有フラクションから、以下の手順に従って、注射液の調製を行った。

### B-2. [ $^{11}\text{C}$ ]BF227 注射液の調製と安全性評価

[ $^{11}\text{C}$ ]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 [ $^{11}\text{C}$ ]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 [ $^{11}\text{C}$ ]BF227 含有放射性残渣を生理食塩液に溶解して 0.22  $\mu\text{m}$  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。

### B-3. [ $^{11}\text{C}$ ]BF227 の脳移行性(健常マウス)

ICR マウス(雄、28-32g)に [ $^{11}\text{C}$ ]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 $\times$ 100)

### B-4. [ $^{11}\text{C}$ ]BF227 の AD 脳老人斑への結合性評価

AD と確定診断された患者脳組織切片を [ $^{11}\text{C}$ ]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。

### B-5. フッ素 18 標識化合物の合成

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、33 mM  $\text{K}_2\text{CO}_3$ 溶液で溶出させた。この $^{18}\text{F}$ 含有 $\text{K}_2\text{CO}_3$ 水溶液 300  $\mu\text{L}$ (3.28 GBq)を褐色バイアル(容量 10 mL)にとり、Kryptofix222(16 mg)、アセトニトリル(2 mL)を加えてオイルバス(110°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°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® Alumina カートリッジ(Waters 社製)とフィルター(0.5  $\mu\text{m}$ )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、エタノール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-6. 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 ( $[^{18}\text{F}]\text{Cpd-2, -3, -5, -7}$ )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ーカウンターで測定

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。

#### B-7. $[^{18}\text{F}]\text{FACT}$ の老人斑結合性評価

生体内老人斑に対する $[^{18}\text{F}]\text{FACT}$ の結合性および画像化の有効性について評価するために、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ー(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。

さらに、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、A $\beta$ の免疫染色を行い放射能分布と A $\beta$ の分布を比較した。

#### B-8. FACT の前臨床安全性評価

$[^{18}\text{F}]\text{FACT}$ 注射液に含まれる担体、すなわち非標識 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 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FACT濃度を $[^{18}\text{F}]$ 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、 $[^{18}\text{F}]$ FACT投与時の急性毒性に対する安全性評価を行った。

#### B-9. 臨床用 $[^{18}\text{F}]$ FACT注射液製造法の確立

$[^{18}\text{F}]$ FACTは以下の手順に従って製造された。

(1)フッ素18標識試薬 $[^{18}\text{F}]$ KF/Kryptifix222の調製、(2)フッ素18標識反応、(3)標識反応後処理(分取HPLCの前処理に相当)、(4)分取HPLCによる $[^{18}\text{F}]$ FACTの分離精製、(5)HPLC移動相の除去、(6)無菌 $[^{18}\text{F}]$ FACT含有注射液の作製。この手順に従って臨床用 $[^{18}\text{F}]$ FACT注射液を製造するために、手順(1)~(4)までを自動で行える専用装置を開発した(図6)。手順(5)および(6)については、住友重機製のリガンド合成装置を利用した。上記各手順の詳細は以下の通りである。

(1)サイクロトロンHM12(住友重機械社製)で加速した12 MeV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10-60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、33 mM  $\text{K}_2\text{CO}_3$ 溶液で溶出させた。この $^{18}\text{F}^-$ 含有 $\text{K}_2\text{CO}_3$ 水溶液を反応容器に移送し、Kryptifix222、アセトニトリルを

加えて加熱(110°C)しながらHeガスを吹き付け、水との共沸によりアセトニトリルを完全に除去した。この共沸操作を3回繰り返して、無水 $[^{18}\text{F}]$ KF/Kryptifix222を調製した。

- (2) フッ素18アニオンの求核置換反応により標識できるように設計されたTos基を脱離基として有する標識前駆体(3-5 mg)をDMSOに溶解して反応容器内に移送し、加熱(110°C)条件下、手順1で調製したフッ素18標識試薬と10分間反応させた。
- (3) 反応溶液に蒸留水を加えて希釈し、Sep-Pak  $^1\text{C}18$ カートリッジ(Waters社製)にロードして固相上に生成物を捕捉した。次いで蒸留水でカートリッジを洗浄した後、エタノールで生成物を溶出した。
- (4) 粗精製物のエタノール溶液を蒸留水で希釈した後、分取HPLCにより目的物の $[^{18}\text{F}]$ FACTを分離精製した。HPLC条件は、カラムとしてInertsil ODS-3(10x250 mm)を使用し、移動相(MeCN/20 mMNaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> = 35 : 60)を流速6.0 mL/分で流し、溶出物は放射能と吸光度(400nm)でモニターした。
- (5) 分取HPLCの分離精製により得られた $[^{18}\text{F}]$ FACT含有フラクションを蒸留水で希釈し、Sep-Pak  $^1\text{C}18$ カートリッジにロードして固相上に生成物を捕捉した後、蒸留水でカートリッジを洗浄して移動相を除去した。
- (6) Sep-Pak  $^1\text{C}18$ カートリッジ固相上に単離した $[^{18}\text{F}]$ FACTをエタノールで溶出し、あらかじめアスコルビン酸およびポリソルベート80を適量入れたフラスコ内に移送した。減圧下、熱風をフラスコ外部から吹き付け溶媒を留去した後、生理食塩水を加えて $[^{18}\text{F}]$ FACTおよび添加剤を溶解した。溶液は濾過滅菌後に滅菌済バイアルに封入した。

#### B-10. $[^{18}\text{F}]$ 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。

また、同注射液の安全性評価を目的として、⑤の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。対照としては生理食塩液投与群を設定した。さらに、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。方法としては、 [<sup>18</sup>F]FACT 注射液を ICR マウス (5 週齢) に尾静脈内投与 (約 30 μCi/匹) し、一定時間後 (2、10、30、60、120 分後) に麻酔下頸椎脱臼により屠殺し、速やかに採血後、各種臓器組織を採取してそれらの放射能並びに重量を測定した。投与放射能に対する各試料重量 1 グラム当りの放射能の割合 (%ID/g) を算出し、MIRD 法により各種臓器及び全身被曝線量を推定した。

## C. 研究結果

### C-1. [<sup>11</sup>C]BF227 標識合成結果

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 [<sup>11</sup>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。よって、化学的見地からは、先に記した標識合成方法および精製方法は十分に実用性のある方法であることが確認された。

### C-2. [<sup>11</sup>C]BF227 注射液の調製結果と安全性

[<sup>11</sup>C]BF227 は脂溶性の化合物であることから、注射液の調製にあたっては、溶解補助剤として日本薬局方に掲載されているポリソルベート 80 を添加した。溶解率は、ポリソルベート 80 の濃度が 0.1% で 90% 以上の値となり十分な結果であったが、濾過滅菌用のシリンジフィルターに通過させた際、フィルターに吸着を起こすことが明らかになった。そこでポリソルベート 80 の濃度を 1% にしたところ、放射能から算出した薬剤の濾過率は約 90% となった。また、薬液調製のプロセスでエバポレータにより濃縮・蒸発乾固操作を行うが、その際放射線分解が起き、放射化学的純度が低下することが判明したため、安定化剤としてアスコルビン酸を添加することにした。

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/μmol 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。

### C-3. [<sup>11</sup>C]BF227 の脳移行性

脳内の老人斑を PET で画像化するためには、標識薬剤が速やかに脳内へ移行し、PET 撮像時間内に、非結合薬剤が脳外へ排泄されることが必要である。 [<sup>11</sup>C]BF227 がこのような脳移行性を有しているかを健常マウスで評価した。投与 2 分後では、標識薬剤の脳集積率は 7.9 %ID/g という非常に良好な値となり、脳内への移行性に優れていることが確認された。さらに、投与後 10、30、60 分にかけて脳集積率は、3.7、1.4、0.64 %ID/g と速やかな減少を示したことから、 [<sup>11</sup>C]BF227 の脳内からの排泄性は優れていることが明らかになった。

### C-4. [<sup>11</sup>C]BF227 の AD 脳老人斑への結合性評価

ARG 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 3)。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 Tf-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 Tf-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。

### C-5. 標識合成

新規フッ素 18 標識アミロイドイメージング剤 ( $^{18}\text{F}$ 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 4)。

### C-6. $^{18}\text{F}$ -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( $^{18}\text{F}$ 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 5A)。4 標識化合物のうち、 $^{18}\text{F}$ Cpd-2 と  $^{18}\text{F}$ 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、 $^{18}\text{F}$ Cpd-5 と  $^{18}\text{F}$ 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 5B)。一方、 $^{18}\text{F}$ Cpd-2 と  $^{18}\text{F}$ 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。

### C-7. $^{18}\text{F}$ FACT の老人斑結合性評価

Fine PET によるアミロイド斑の生体画像化の検討では、 $^{18}\text{F}$ 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 7)。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 8)。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。また、老人斑を有する AD 脳切片を用いた *in vitro* ARG では、 $\text{A}\beta$  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 9)。

### C-8. 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 78.1  $\mu\text{g}/\text{プレート}$ (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  $30 \times 10^{-6} \text{ g/mL}$  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  $\mu\text{g}/\text{プレート}$ ) 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 溶液を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。

### C-9. 臨床用 $^{18}\text{F}$ FACT 注射液製造法の確立

標識合成反応の条件最適化を目的として、使用する標識前駆体の量を変えてフッ素 18 標識反応を、標識率の変動を調べたところ、用量依存的に標識率は高くなった(図 10)。ただし、標識前駆体は難溶性物質であることから過剰に用いるこ

とは適切でないため、本検討においては 5 mg を最適とした。

続いて前駆大量を 5 mg に固定し、使用する放射エネルギーを変えてフッ素化率の変動を調べたところ、放射エネルギーが増えるにつれてフッ素化率の低下がみられた。ただし、フッ素化率は低下するものの使用放射エネルギーが多いほど、最終 $^{18}\text{F}$ ]FACT 注射液の放射能収量は多くなった(図 11)。

#### C-10. $^{18}\text{F}$ ]FACT 注射液の品質・安全性評価

$^{18}\text{F}$ ]FACT 注射液の品質評価結果(①～④)については表 1 にまとめて示した。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。

安全性評価⑤の結果については、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。安全性評価⑥について、体内分布の結果から MIRD 法により推定される臓器別被曝線量は表 2 の通りとなった。

$^{18}\text{F}$ ]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 57 kg 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。

#### D. 考察

PET 用の標識薬剤を開発する上で重要な点は、再現性良く安定的・効率的に標識化合物を合成できること、および、その標識化合物を含む薬剤(注射液)が十分に安全であること、である。

本研究で確立した $^{11}\text{C}$ ]BF22 の標識合成法については、東北大学サイクロトロン RI センターの既存の装置と独自に開発した標識合成装置を組み合わせて使うことで、半自動的に合成が行えるようになり、標識合成の再現性、安定性については十分な実用性が認められる。

一方安全性については、 $^{11}\text{C}$ ]BF227 注射液には、極少量の非標識体 BF227 が含まれるため、ヒトに

投与した場合の安全性を確保するために、ラットの最大耐容量 1 mg/kg を基準に、安全係数を 1 万、ヒトの体重を 60 kg として、ヒトに単回投与できる非放射性担体量を 6  $\mu\text{g}$  (18 nmol)以下と定めた。この安全性基準以下では、単回投与による急性毒性に関しては全く問題ないと考えられる。変異原性については、最大量となる 6  $\mu\text{g}$  を投与した場合において、分布容積を 42 L(0.7 L/kg x 60 kg)とすれば、非放射性担体の生体内濃度は  $0.142 \times 10^{-9}$  g/mL となり、変異原性試験(Ames test)で有意な変異が認められた最小濃度  $0.0145 \times 10^{-3}$  mg/mL の 10 万分の 1 以下となる。さらに、BF227 は、FDDNP および PIB よりも変異原性比活性が小さいことから、本注射液の変異原性に対する安全性に問題はないと考えられる。

被曝に関しては、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、「東北大学にける新規 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)をみたし、安全性に問題はない。

老人斑画像化薬剤としての有用性については基礎実験の結果から、投与 2 分後の脳集積率は  $7.9 \pm 1.3 \% \text{ID}/\text{g}$  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。さらに投与後時間の経過とともに脳内の $^{11}\text{C}$ ]BF227 は速やかに排泄され、脳集積率は投与後 60 分でピークの 10%以下まで低下していることから、投与後のクリアランスも $^{11}\text{C}$ ]標識薬剤として実用的なレベルにあり、脂溶性薬剤にしばしばみられる大脳白質への非特異的集積は少ないと推定された。また、AD 脳組織切片のオートラジオグラフィから、 $^{11}\text{C}$ ]BF-227 は病理組織中の老人斑に結合するが、神経原線維変化にはほとんど結合しないことが明らかになり、老人斑を選択的に画像化する PET 用標識薬剤として十分に利用できるものと考えられた。