

厚生労働科学研究費補助金

医療機器開発推進研究事業：ナノメディシン分野

PET を用いた多施設共同臨床試験による  
アルツハイマー病の超早期診断法の確立と普及

平成20年度 総括研究報告書  
総 合 研 究 報 告 書

主任研究者 谷内 一彦

平成21年（2009年） 4月

厚生労働科学研究費補助金

医療機器開発推進研究事業：ナノメディシン分野

PET を用いた多施設共同臨床試験による  
アルツハイマー病の超早期診断法の確立と普及

平成20年度 総括研究報告書

主任研究者 谷内 一彦

平成21年(2009年) 4月

# 目 次

I. 総括研究報告書	
PET を用いた多施設共同臨床試験によるアルツハイマー病の 超早期診断法の確立と普及	1
谷内 一彦 (添付資料 1 : Colin L. Masters 教授のセミナーファイル) (添付資料 2 : Daniel Skovronsky 博士のファイル)	
II. 分担研究報告書	
1. 「東北大学における FACT 臨床研究の現状」	21
岡村信行	
2. 「簡易定量法の開発を目的とした BF227 の生体動態解析」	27
田代 学	
3. 「BF227 検査の簡略化」	31
岡村 信行	
4. 「 $[^{18}\text{F}]$ FACT の代謝分析法の確立」	35
工藤 幸司	
5. 「PET 診断利用を目的とした $^{18}\text{F}$ -標識 FACT 自動合成装置の開発」	42
岩田 錬・青木 康・新屋 洋	
6. 「国立長寿医療センターにおける BF-227PET の臨床 -AD, MCI, 健常者における検討」	48
伊藤 健吾	
7. 「臨床使用を目指した $[^{18}\text{F}]$ FACT 及び $[^{18}\text{F}]$ BF227 の合成」	51
石渡 喜一	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	55
IV. 研究成果の刊行物・別刷	57

# 總 括 研 究 報 告



## PET を用いた多施設共同臨床試験によるアルツハイマー病の超早期診断法の

### 確立と普及

主任研究者：谷内一彦<sup>1</sup>

研究協力者：岡村信行<sup>1</sup>、伊藤健吾<sup>2</sup>、石渡喜一<sup>3</sup>、工藤幸司<sup>4</sup>、岩田錬<sup>5</sup>、田代学<sup>5</sup>、荒井啓行<sup>6</sup>

（<sup>1</sup> 東北大学大学院医学系研究科機能薬理学分野、<sup>2</sup> 国立長寿医療センター研究所・長寿脳科学研究部、<sup>3</sup> 財団法人東京都高齢者研究福祉振興財団・東京都老人総合研究所、<sup>4</sup> 東北大学先進医工学機構、<sup>5</sup> 東北大学・サイクロトロンRIセンター、<sup>6</sup> 東北大学大学院医学系研究科先進漢方治療医学）

#### [研究要旨]

アルツハイマー病（AD）の神経病理学的研究によると、ADに特徴的な脳病理所見とされる老人斑の脳内蓄積は、臨床症状の出現よりも数十年先行し、その後に神経原線維変化、神経脱落、臨床症状の顕在化と進行する。最も初期に起きる老人斑の脳内蓄積を分子イメージング法で非侵襲的に可視化できれば、ADの診断精度が向上するばかりでなく、ADの発症予知も可能となり、予防的治療介入と連動することで、AD患者数の減少に結びつくことが期待される。東北大学研究グループは、これまでピーエフ研究所との共同研究を通じて、老人斑、神経原線維変化の生体画像化に必須とされるプローブの開発に成功した。このうちBF-227と関連するbenzoxazole誘導体は日本国内に特許があり、Aβ非蓄積部位における非特異的集積が少なく、他の競合プローブと同様の成績を収めている。本研究は、東北大学、国立長寿医療センター、東京都老人総合研究所による多施設共同臨床試験により、東北大学研究グループが今まで開発してきたアミロイド標識薬剤<sup>11</sup>C]BF-227とその<sup>18</sup>F-標識体である<sup>18</sup>F]FACT（Fluorinated Amyloid Imaging Compound of Tohoku University）を用いてPET臨床研究を多施設共同にて行い、アミロイドAβ蛋白の非侵襲的分子イメージング測定法を確立し普及させることを最終目標としている。3年目の<sup>11</sup>C]BF-227と<sup>18</sup>F]FACTの臨床研究では、期待通りの結果が蓄積されつつあり、<sup>11</sup>C]BF-227あるいは<sup>18</sup>F]FACTにおける<sup>11</sup>C]PIBとは異なる特徴も明らかになってきた。また平成20年度は東北大学と連携大学院を組織する放射線医学総合研究所において<sup>18</sup>F]FACTを用いた臨床試験を開始した。今年度までの研究内容は以下の通りである。

- 1) <sup>11</sup>C]BF-227を用いた東北大学、東京都老人総合研究所、国立長寿医療センターの3施設共同臨床試験の実施と3施設のデータ比較
- 2) <sup>11</sup>C]BF-227と<sup>11</sup>C]PIBの比較臨床試験の実施と3施設以外での<sup>11</sup>C]BF-227を用いた臨床研究実施
- 3) PETアミロイド・イメージング用新規<sup>18</sup>F]FACTの臨床試験の実施、および多施設共同臨床試験の実施
- 4) 超小型<sup>18</sup>F]FACT自動標識合成装置の実用化と東京都老人総合研究所、国立長寿医療センターにお

## ける合成・検定の実施

### A. 研究目的

ADの神経病理学的研究によると、ADに特徴的な脳病理所見とされるアミロイドA $\beta$ 蛋白を老人斑の脳内蓄積は、臨床症状の出現よりも数十年先行する。その後タウ蛋白を主成分とする神経原線維変化、神経細胞の脱落、臨床症状の顕在化と進行する。ADの進行を完全に抑止する根本的治療薬や健康食品が開発されれば、ADの予防的治療への期待が大きく膨らむ。臨床症候を全く認めない無症候の高齢者の中から、将来ADを発症する“AD発症予備群”を見つけ出すことが現在の急務である。老人斑の主成分であるアミロイドA $\beta$ 蛋白の脳内蓄積を可視化によりADの診断精度が向上するばかりでなく、超早期の段階でADの発症予知も可能となり、予防的治療介入と連動することで、AD患者数の減少に結びつくことが期待される。また、脳内A $\beta$ の蓄積量を定量化できればAD治療薬の薬効評価における重要なバイオマーカーとなるため、臨床症状の観察評価に依存した現在の認知症治療薬の薬効評価システムに変革をもたらし、新薬の開発を促進することにも繋がる。

当研究グループは㈱ビーエフ研究所との共同研究を通じて、老人斑、神経原線維変化の生体画像化に必須とされるプローブ化合物群の開発に成功した。その最適化プローブである<sup>11</sup>C標識BF-227やその関連標識体[<sup>18</sup>F]FACT: (Fluorinated Amyloid Imaging Compound of Tohoku University)を用いた探索的臨床試験を、東北大学、東京都老人総合研究所、国立長寿医療センターの三施設共同で行う。これまでのところ初期AD患者やMCI (Mild Cognitive Impairment)でプローブの集積異常を確認しており、本プローブがADの超早期診断に有用であることを示す結果が得られている。多施設共同研究によって多数の患者を対象とし

た臨床試験を進めれば、本プローブのAD診断における有用性と信頼性が証明される。また普及を図るためには㈱住友重機械と共同で[<sup>18</sup>F]標識プローブの超小型自動標識合成装置を開発することも重要である。超小型装置の開発によりどの施設でもアミロイド・イメージングが可能になる。本イメージング法はADの発症前診断や予防に繋がる画期的な技術であり、その社会的意義は極めて大きい。

### B. 研究方法

#### 1. [<sup>11</sup>C]BF-227を用いた東北大学、東京都老人総合研究所、国立長寿医療センターの3施設共同臨床試験の実施と3施設のデータ比較

多施設共同臨床試験を円滑に行うために、東北大学、東京都老人総合研究所、国立長寿医療センターの研究グループで共通プロトコールの作成して、多施設共同を実施した。そのプロトコールは大学病院医療情報ネットワーク研究センター(UMIN-CTR)の臨床試験として登録されている(UMIN00000558)。平成21年1月24日において、東北大学83例、東京都老人総合研究所12例、国立長寿医療センター46例(AD10例、MCI11例、正常14例、FTD1例)の総計141名の検査を行った。

#### 2. [<sup>11</sup>C]BF-227と[<sup>11</sup>C]PIBの比較臨床試験の実施と3施設以外での臨床研究実施

競合プローブである[<sup>11</sup>C]PIBと[<sup>11</sup>C]BF-227の両方を用いて臨床試験を行っている東京都老人総合研究所にて比較臨床試験を実施した。さらに[<sup>11</sup>C]BF-227-PETによるアミロイド・イメージングを用いた脳ドッグを創生するために、財団法人脳神経疾患研究所・附属南東北病院との研究打ち合わせをおこなった。



### 3. アミロイド・イメージング用新規<sup>18</sup>F]FACTの臨床試験の実施、および多施設共同臨床試験の実施

東北大学を中心に benzoxazole 誘導体の F-18 標識体である FACT (東北大学の機関特許) を用いて臨床試験を行った。健常高齢者 6 名 (平均年齢 68 歳)、AD 患者 9 名、MCI 患者 2 名、診断未確定 2 名の計 19 名を対象として実施した。また放射線医学総合研究所と東北大学の連携研究により、放射線医学総合研究所でも FACT による臨床研究を平成 21 年 2 月から開始した。

### 4. 超小型<sup>18</sup>F] FACT 自動標識合成装置の実用化と東京都老人総合研究所、国立長寿医療センターにおける標識合成の実施

東北大学で確立した<sup>18</sup>F] FACT 標識合成法を用いた超小型<sup>18</sup>F] FACT 自動標識合成装置を東北大学と住友重機械工業株式会社と共同で試作し、製品化した。完成した製品を東京都老人総合研究所と国立長寿医療センター 2 箇所への導入してセットアップを行い、<sup>18</sup>F] FACT の標識合成を行い、多施設共同臨床試験の開始準備を行った。

## C. 研究結果

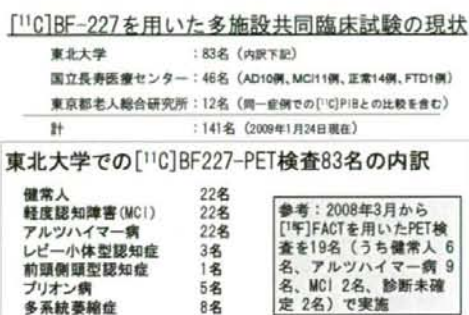
### 1. [<sup>11</sup>C]BF-227 を用いた東北大学、東京都老人総合研究所、国立長寿医療センターの 3 施設共同臨床試験の実施と 3 施設のデータ比較

図 1 に 3 施設合計の臨床試験の症例数と東北大学における 83 症例の内訳を示す。現在までにどの施設でも有害事象は報告されておらず、開始以来安全に臨床試験を継続している。これは PET による検査がマイクロドーズであることに起因している。

東北大・老人研・長寿研の 3 施設で得られたデータを比較すると基本的に同じデータが得られている。どの施設の PET 機種や方法を用いても健

康老年 < MCI < AD の順にしたがって [<sup>11</sup>C]BF-227 結合が増加する。しかし施設間で多少の違いがあり、他施設のデータとの互換性には十分に注意を要する。今後どのように補正するか検討が必要である。

図 1. 3 施設における症例数



PET によるアミロイド・イメージングはマイクロドーズであることに関して、現在まで臨床試験の有害事象は認められていない

本研究では AD の診断能を比較するために、主に東北大学の症例を用いて FDG-PET と [<sup>11</sup>C]BF-227 を ROC (receiver operating characteristic; 受信者動作特性) 解析により比較した。図 2 に示すようにどの脳部位でも [<sup>11</sup>C]BF-227 の ROC 曲線の AUC が有意に FDG-PET より大きく、優れた診断能を持つことが証明された。

図 2. FDG-PET と [<sup>11</sup>C]BF-227-PET の感度・特異度の比較

### アルツハイマー病患者と健常高齢者の鑑別能力の比較 (BF227-PET vs FDG-PET)

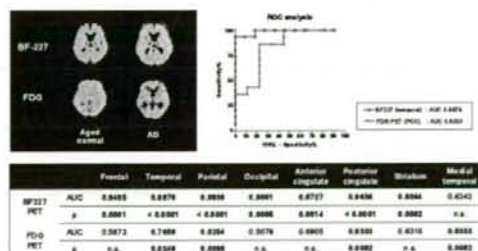
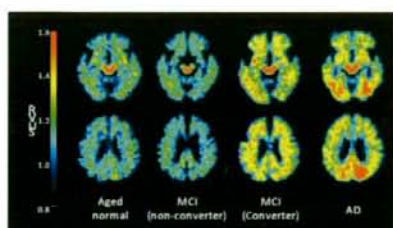


図 3、4 に MCI、AD 症例の [<sup>11</sup>C]BF-227 の結果を示す。MCI 症例で高い集積のある例とない例があ

り、MCI の段階で高い集積を示す群は経過中に AD に進行した (MCI converter)。 $[^{11}\text{C}]\text{BF-227}$  の集積の少ない群は MCI に留まる傾向が認められた (MCI non-converter)。本研究は $[^{11}\text{C}]\text{BF-227}$  によるアミロイド・イメージングにより MCI の段階での超早期診断の可能性を示しており、さらに長期にわたる継続的研究が必要である。

図 3. MCI converter、non-converter の比較

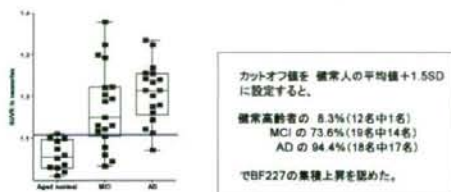
$[^{11}\text{C}]\text{BF227}$  投与後 20~40 分の加算画像 (MCI converter, non-converter の比較)



1年以上経過観察を行ったMCI 14例中、7名がADへ進行 (converter)、7名がMCIに留まっている (non-converter)

図 4.  $[^{11}\text{C}]\text{BF-227}$  による MCI の予後予測

MCI 症例の BF-227 集積量は高い群と低い群に分かれる: アミロイドイメージングによる超早期診断の実用化には継続的研究が必要



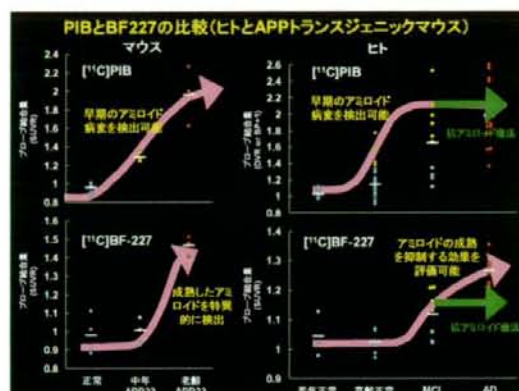
大脳皮質における  $[^{11}\text{C}]\text{BF227}$  SUVR 値

## 2. $[^{11}\text{C}]\text{BF-227}$ と $[^{11}\text{C}]\text{PIB}$ の比較臨床試験の実施と 3 施設以外での臨床研究実施

脳への移行は BF227 の方がやや高く速やかであるが洗い出しは PIB よりも遅かった。アルツハイマー病症例では、BF227 と PIB とともに大脳皮質で健常者に比べ高い集積が見られたが、前頭側頭型認知症では集積の上昇はなく、両者ともアミロイド  $\beta$  蓄積を反映していると考えられた。PIB と

BF227 ではアルツハイマー病における集積分布がやや異なり、PIB のほうが親和性が高く、早期に検出できるが疑陽性も多い (図 5)。アミロイド  $\beta$  蓄積から発症にいたるプロセスを評価する場合に異なる情報となる可能性がある。

図 5. PIB と BF227 の違い



さらに $[^{11}\text{C}]\text{BF-227}$ -PET によるアミロイド・イメージングを用いた脳ドッグについて、財団法人脳神経疾患研究所との研究打ち合わせをおこない、9 月から $[^{11}\text{C}]\text{BF-227}$  を用いた臨床研究を南東北病院で開始した。既に 20 症例以上の被験者に PET 検査を行っており、共同研究契約を結び、今年度から脳ドッグへの普及と応用を目指している。

## 3. PET アミロイドイメージング用新規 $[^{18}\text{F}]\text{FACT}$ の臨床試験の実施、および多施設共同臨床試験の実施

半減期の短い $[^{11}\text{C}]\text{}$ 標識プローブ (半減期 20 分) から $[^{18}\text{F}]\text{}$ 標識 benzoxazole 誘導体プローブ (半減期 110 分) への展開を図るために、 $[^{18}\text{F}]\text{FACT}$  を用いた PET 検査のアルツハイマー病 (AD) 診断における有用性について検討を行った (図 6)。AD 患者では健常高齢者に比べて前頭葉、外側側頭葉、頭頂葉、後部帯状回における集積上昇が確認され、AD 患者の外側側頭葉における $[^{18}\text{F}]\text{FACT}$  SUVR



は健康人に比べ平均 17-18%上昇していた。同一被検者で $^{18}\text{F}$ FACT-PET と $^{11}\text{C}$ BF227-PET の画像所見を比較した結果、両者の脳各領域における集積はよく相関した。以上の結果から $^{18}\text{F}$ FACT を用いた PET 検査は、 $^{11}\text{C}$ BF227-PET と同様に AD 早期診断に有用であることが示唆された (図 7)。東北大学のほか放射線医学総合研究所においても FACT の臨床試験を開始している。

図 6.  $^{18}\text{F}$ FACT の臨床試験

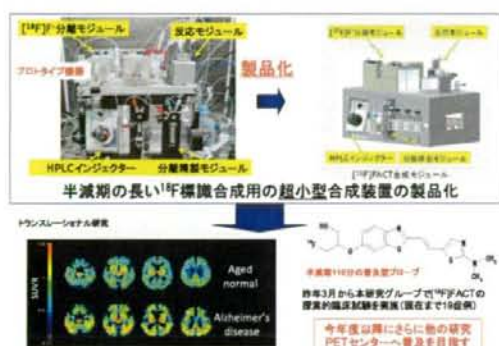
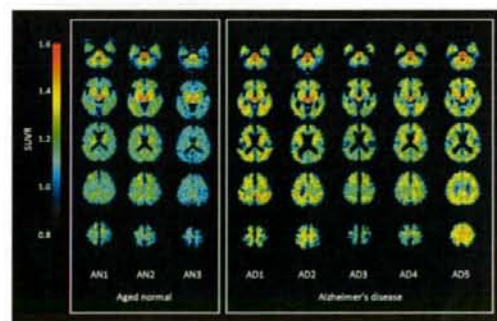


図 7. FACT の PET イメージ



また $^{11}\text{C}$ PIB-PET を世界で最多症例数を行っているメルボルン大学の Colin L. Masters 教授と基礎的結合特性について情報交換を行った (添付資料 1)。さらに米国で F-18 化合物の臨床試験を実施している Avid Radiopharmaceuticals の CEO である Daniel Skovronsky 博士と情報交換を行った (添付資料 2)。

#### 4. 超小型 $^{18}\text{F}$ FACT 自動標識合成装置の実用化と東京都老人総合研究所、国立長寿医療センターにおける標識合成の実施

多施設共同臨床試験を行うためには超小型の $^{18}\text{F}$ 自動合成装置が必須である。東北大学で使用している超小型 $^{18}\text{F}$ 自動標識合成装置のプロトタイプを製品化して、 $^{18}\text{F}$ FACT の製造試験を老人研と長寿研において実施した。詳細は分担研究者の岩田錬、石渡喜一の報告書参照。東京都老人総合研究所、国立長寿医療センターにおける $^{18}\text{F}$ FACT 多施設共同臨床試験の実施する準備を終了した。

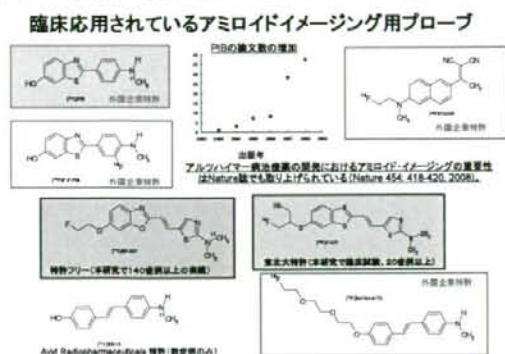
#### D. 考察

厚生労働省科学研究費補助金・萌芽的先端医療技術推進研究事業：ナノメディスン分野における研究課題「PET を用いた多施設共同臨床試験によるアルツハイマー病の超早期診断法の確立と普及」(平成 18 年—20 年) の 3 年目として順調な進捗状況と成果であった。 $^{11}\text{C}$ BF-227-PET は既に 3 施設で 140 症例を超え、先行している $^{11}\text{C}$ PIB-PET の結果をほぼ同様な結果を示し、少し結合親和性が弱い、その特徴を生かした臨床研究が可能である。さらに脳ドック検診への普及と応用を目指して、共同研究契約を締結している南東北病院において $^{11}\text{C}$ BF-227 の PET 臨床試験を開始している。超小型 $^{18}\text{F}$ 自動標識合成装置の製品化に成功して、東北大学と放射線医学総合研究所において新規 F-18 標識アミロイドプローブの $^{18}\text{F}$ FACT の臨床試験を行った。アミロイドイメージングプローブとして $^{18}\text{F}$ FACT および $^{11}\text{C}$ BF-227 はほぼ同様な性質を持つことが明らかになった点も大きな収穫である。 $^{18}\text{F}$ FACT の標識法は benzoxazole 誘導体のみでなく PIB や SB13 の基本骨格にも応用可能であり、動物における脱フッ素も起きなく大変優れた標識法であ

る (図 8)。

最終年度の平成 20 年度に $[^{18}\text{F}]\text{FACT}$  の多施設共同臨床試験ができ、一部ではあるが技術移転ができたことは評価に値する。

図 8. 世界で使用されているプローブ剤



## E. 結論

Benzoxazole 誘導体プローブ $[^{11}\text{C}]\text{BF-227}$  と $[^{18}\text{F}]\text{FACT}$  を用いたアルツハイマー病の超早期診断法の確立し、その普及を精力的に行った。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

- Okamura N, Funaki Y, Tashiro M, Kato M, Ishikawa Y, Maruyama M, Ishikawa H, Meguro K, Iwata R, Yanai K. In vivo visualization of donepezil binding in the brain of patients with Alzheimer's disease. *Br J Clin Pharmacol*. 2008; 65: 472-479.
- Okamura N, Furumoto S, Arai H, Iwata R, Yanai K, Kudo Y. Imaging amyloid pathology in the living brain. *Curr Med Imaging Rev*. 2008; 4: 56-62.
- Suzuki M, Okamura N, Kawachi Y, Tashiro M, Arai H, Hoshishiba T, Gyoba J, Yanai K. Discrete cortical regions associated with the musical beauty of major and minor chords. *Cogn Affect*

*Behav Neurosci*. 2008; 8: 126-131.

- Jia F, Mobarakeh JI, Dai H, Kato M, Xu A, Okuda T, Sakurai E, Okamura N, Takahashi K, Yanai K. Blocking histamine H(1) improves learning and mnemonic dysfunction in mice with social isolation plus repeated methamphetamine injection. *J Pharmacol Sci*. 2008; 107: 167-174.
  - Tashiro M, Sakurada Y, Mochizuki H, Horikawa E, Maruyama M, Okamura N, Watanuki S, Arai H, Itoh M, Yanai K. Effects of a sedative antihistamine, D-chlorpheniramine, on regional cerebral perfusion and performance during simulated car driving. *Hum Psychopharmacol*. 2008; 23: 139-150.
  - 岡村信行, 谷内一彦, 古本祥三, 工藤幸司, 古川勝敏, 荒井啓行.  $[^{11}\text{C}]\text{BF-227}$  を用いた脳アミロイド斑の画像化. *臨床放射線*, 53(7):876-884, 2008.
  - 谷内一彦, 岡村信行, 田代学. レビュー: ポジトロン医学と創薬. *PET journal*, 1:21-23, 2008.
  - 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*, 66 Suppl 1:288-292, 2008.
  - 谷内一彦, 須原哲也 序にかえて「脳の核医学分子イメージング」 *臨床放射線* 53(7): 845-848 (2008)
  - 谷内一彦, 岡村信行 分子イメージング研究における PET の現状と今後の展望: アルツハイマー病を中心に *Medical Now* 2009 (No. 65):8-10
- ### 2. 学会発表
- Yanai K, Okamura N. Molecular PET in Alzheimer disease: From basic development to clinical application. 4<sup>th</sup> Japan-China Joint Meeting of Basic and Clinical Pharmacology, March 16-18,



- 2009, Yokohama
2. Okamura N, Furumoto S, Kudo Y, Yanai K. PET amyloid imaging probe BF-227 for early detection of Alzheimer's disease. 9<sup>th</sup> International Symposium of Tohoku University Global COE Program, March 27-28, 2009, Sendai
  3. Okamura N, Yanai K. Molecular PET imaging of acetylcholine esterase (AChE), histamine H1 receptor and amyloid deposits in Alzheimer disease. The 13th International Conference on Biomedical Engineering (ICBME2008), December 3-6, 2008, Singapore
  4. Yanai K, Tashiro M, Okamura N. Molecular imaging and its application to drug development. 7<sup>th</sup> International Symposium of Tohoku University Global COE Program, October 16-17, National Cheng Kung University, Tainan, Taiwan
  5. Okamura N, Furumoto S, Furukawa K, Tashiro M, Kato M, Mori M, Iwata R, Yanai K, Arai H, Kudo Y. PET imaging of brain amyloid deposits using BF-227 and its derivative. Alzheimer's Imaging Consortium Pre-conference, July 26, 2008, Chicago, USA
  6. Okamura N, Furumoto S, Furukawa K, Tashiro M, Kato M, Mori M, Iwata R, Yanai K, Arai H, Kudo Y. PET imaging of brain amyloid deposits using BF-227 and its derivative. Alzheimer's Association International Conference on Alzheimer's Disease 2008, July 27-31, 2008, Chicago, USA
  7. Okamura N, Furumoto S, Tashiro M, Kato M, Funaki Y, Furukawa K, Arai H, Iwata R, Yanai K, Kudo Y. In vivo imaging of brain amyloid deposits using BF-227 and its derivative. SNM 2008 Annual Meeting, June 14-18, 2008, New Orleans, USA
  8. Okamura N, Kato M, Funaki Y, Tashiro M, Yanai K. In Vivo Measurement of Cholinesterase Density in the Brain using [<sup>11</sup>C]donepezil. 5th International Symposium of 2007 Global COE Program Global Nano-Biomedical Engineering Education and Research Network Centre. March 27-28, 2008, Miyagi, Japan
  9. 岡村信行. アミロイド沈着と認知機能障害: アミロイドイメージングによる解析. 第8回日本抗加齢医学会総会 シンポジウム 2008年6月7日 東京
  10. 岡村信行. アルツハイマー病の画像診断の最前線 アミロイドイメージングの進歩と可能性. 第17回日本脳ドック学会総会 2008年6月29日 郡山
  11. 岡村信行. アルツハイマー病診断におけるアミロイドイメージング. 第5回新潟県脳機能解析研究会 2008年8月21日
  12. 岡村信行, 古川勝敏, 藁谷正明, 古本祥三, 田代学, 森雅憲, 岩田鍊, 谷内一彦, 荒井啓行, 工藤幸司. BF227-PET による脳内沈着アミロイド斑の検出. 第27回日本認知症学会学術集会 2008年10月11日 前橋
- G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定も含む)
1. 特許取得  
PCT/JP2008/061032 (EN) PET PROBE HAVING ALKOXY GROUP SUBSTITUTED BY FLUORINE AND HYDROXY GROUP 平成20年6月17日 東北大学 工藤幸司古本祥三 岡村信行
  2. 実用新案登録  
なし
  3. その他  
なし



**Therapeutic strategies for modifying Alzheimer's disease:  
A $\beta$  oligomers as therapeutic and diagnostic targets**

Yokohama/Sendai  
March, 2009

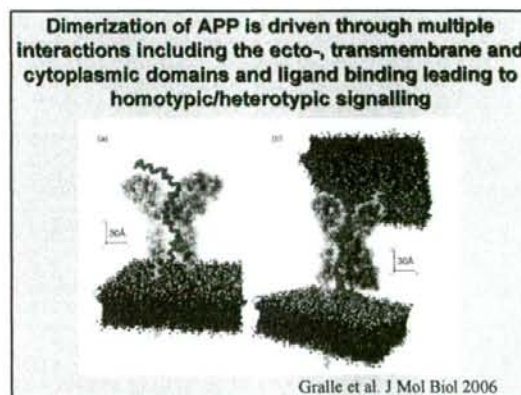
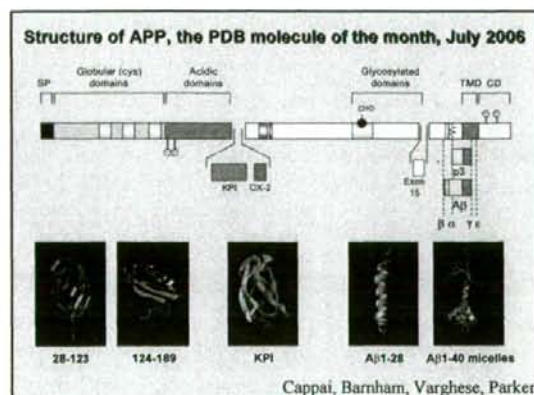
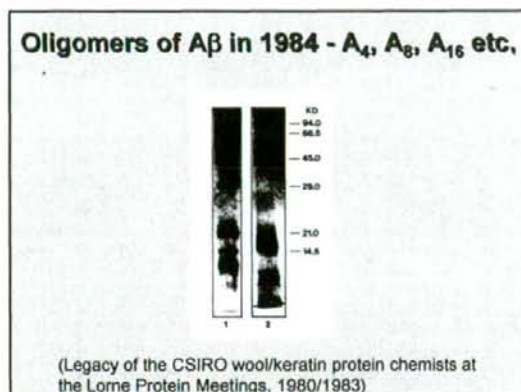
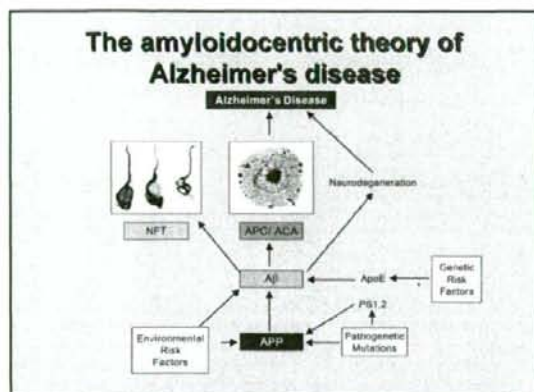
**The Amyloid Plaque**

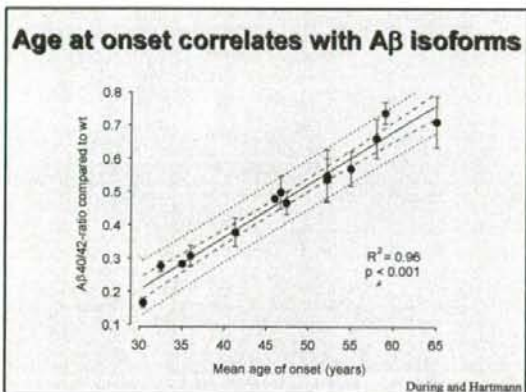
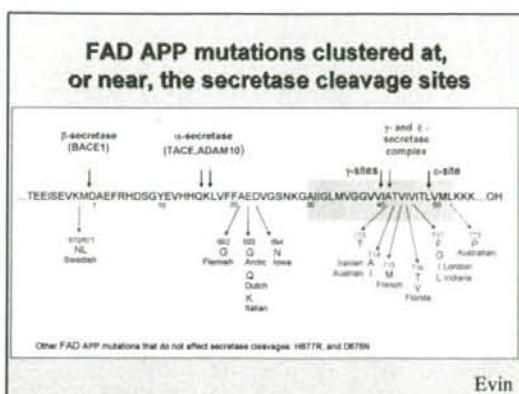
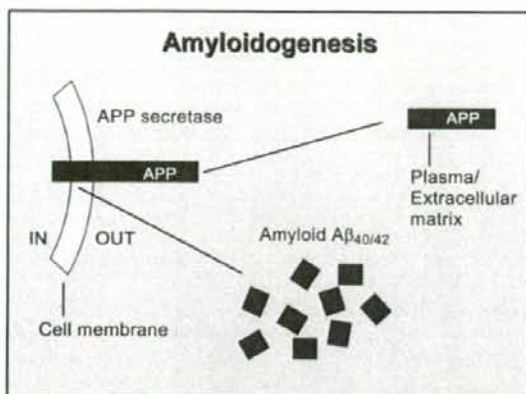
From W Spielmeyer,  
Histopathologie des Nervensystems,  
1922

184. 201 a und b. Zwei neue Typen von Alzheimer'scher Amyloidbildung. In 201a gibt es eine amyloide Linie, welche aus Körnchen aus hohen  $\beta$ -globulinen und ein Band in einer Richtung, meistens das senkrechte. In 201b ist der Kern weniger, körnchen weniger, stärker nach außen. In den beiden Fällen liegen Körnchen und faserige Substratmaterialien. Die faserigen Kerne sind nicht immer deutlich. (18)

Disclosures

PRANA  
BIOPHARMACEUTICALS



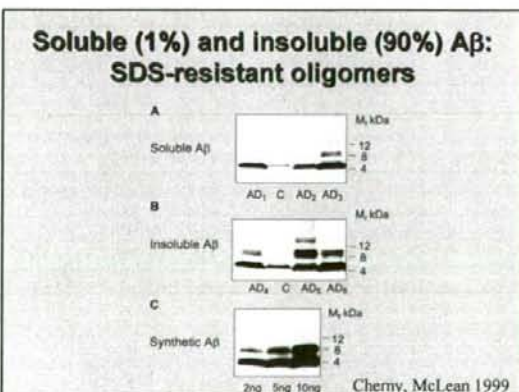


### Is it possible to modify AD and delay onset by 5 years (from 80 years to 85 years)

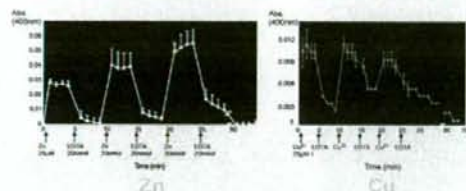
- Step 1: Identify population with specific AD diagnosis and determine what extent is vascular ("microinfarct").
- Step 2: Determine which primary outcome is acceptable: conversion of normality to MCI, or MCI to AD?
- Step 3: What measure of conversion is acceptable: Neuropsych vs. Imaging vs. CSF/blood test?
- Step 4: Is there a smarter way to design clinical trials to evaluate the delayed onset through measurement of rates of change (slope analysis), staggered starts, baseline stabilization, etc?
- Step 5: Determine interventions to be trialed based on current evidence, specifically the AD and vascular components?

### What is the best target for a disease-modifying drug (DMD) ?

- $\gamma$ -secretase inhibitor?
- $\beta$ -secretase inhibitor?
- **A $\beta$  oligomer?**
- Aggregated fibrillar A $\beta$  ?
- A $\beta$  clearance mechanism?
- APP/ A $\beta$  processing?



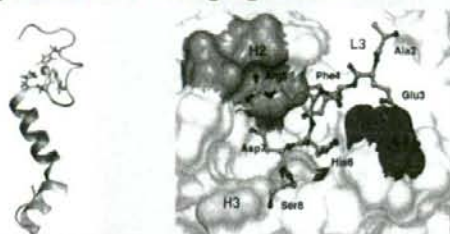
### A $\beta$ does NOT self-aggregate in the absence of metals



- Zinc drives fibrillogenesis of non-toxic polymers in glutamatergic rich, high resting/default areas of the brain
- Copper induces oligomers, stabilizes  $\beta$ -sheet, His cross-bridges, Tyr radical, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> formation, and di-Tyr cross-links

(Bush, Barnham)

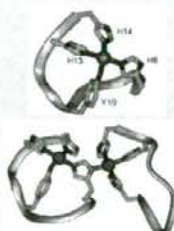
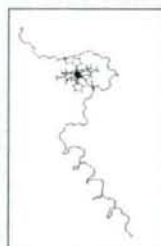
### A $\beta$ amyloid: conversion from alpha helix to beta sheet...a conformational change which has escaped evolutionary pressure in the aging human brain



Tiltnuss / Varghese

Miles / Parker

### A $\beta$ metal binding and dimerization modes

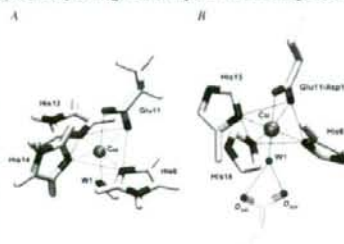


DAEFRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVVIA

Rodent: R5G, Y10F, H13R

Curtain, Barnham

### A $\beta$ pleotropic high-affinity Cu-II binding sites



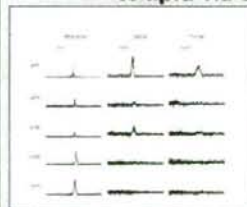
EXAFS studies (above) model a single site with simultaneous coordination of all three His residues; more recent NMR studies show an equilibrium between several pH-dependant modes in which the three His residues do not coordinate simultaneously.

Streltsov, Varghese et al. *Biophys J*, 2008. Drew, Barnham et al. *JACS*, 2009

### Current working model of A $\beta$ toxicity

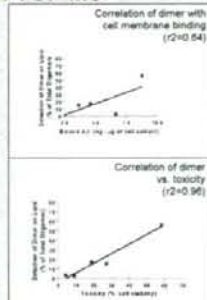
- Dimerization of A $\beta$  is driven by metal binding site and the GXXXG motifs
- Zn-induced oligomerization leads to amyloid fibrils (plaques) in Zn-enriched areas (Bush)
- Cu-induced dimers preferentially bind to PS (Hung 2008), and also induce  $\beta$ -sheet soluble species (Tew 2008), with higher affinity for lipid (Lau 2005, Hung 2008), only partially penetrating lipid bilayer (Lau 2007), cause lipid and cholesterol oxidation (Bush)
- Cu:peptide ratio is important: at sub-equimolar ratios, amyloid fibrils form; at supra-equimolar ratios, soluble oligomers form first, then with dityrosine cross-linkages (Smith 2007)
- Toxicity correlates with metal-induced dimers and trimers, blocked by annexin-V, stereospecific for L-handed forms interacting with PS (Ciccotosto 2009)

### Detection of oligomeric A $\beta$ species binding to lipid via SELDI-TOF MS



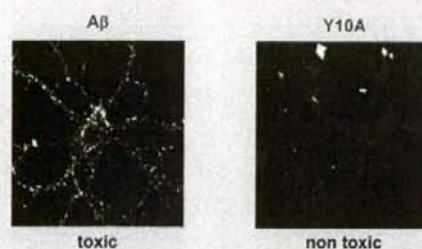
Detection of oligomeric A $\beta$  species binding to lipid via SELDI-TOF MS. Oligomeric species up to tetramers could be seen binding to the lipid. Oligomers belonging to G25L and G37L peptides exhibit diminished ability to bind to lipid while no oligomeric species for G33L and G37L were detected on the lipid.

Hung, Barnham et al. (2008)



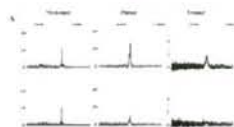


### Cell membrane binding of A $\beta$ peptides pivotal for toxicity



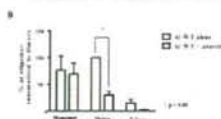
(Ciccotosto, Barnham)

### Annexin-V inhibition of lipid binding by oligomeric A $\beta$ species



Annexin-V was incubated on the synthetic lipid membrane for 10 minutes prior to addition of A $\beta$  42 WT. The synthetic lipid binding assay is the same as the one described in the previous figure. A $\beta$  42 WT was incubated for 1 day shaking at 37 $^{\circ}$  C before incubation onto the lipid system.

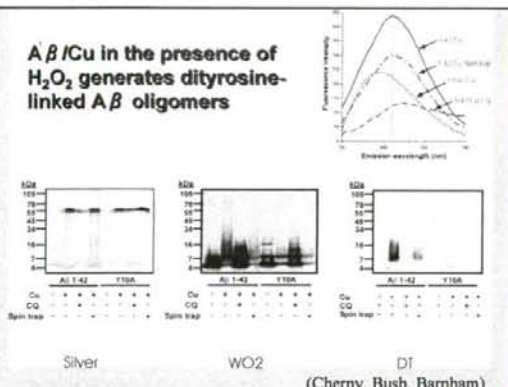
A) SELDI-TOF MS spectra of the monomer, dimer and trimer with and without the presence of Annexin-V.



Values are quantified using the area under the curve for the respective peaks obtained by SELDI-TOF MS. The signals are expressed as % of dimer present in the absence of Annexin-V.

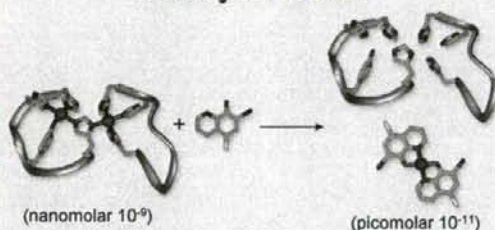
Hung et al., (2008)

### A $\beta$ /Cu in the presence of H $_2$ O $_2$ generates dityrosine-linked A $\beta$ oligomers



(Cherny, Bush, Barnham)

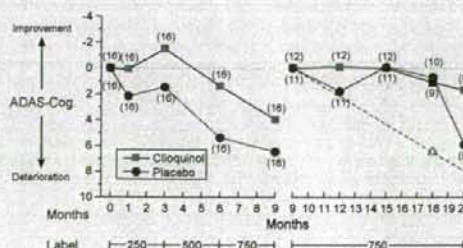
### Model: metal-protein attenuating compound (MPAC) with moderate affinity for metals



Xilinas, Barnham, Bush, Curtain

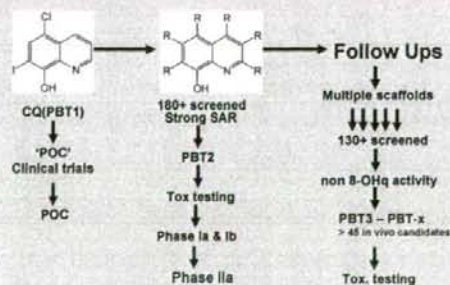
Prana Biotechnology (Geoffrey Kempler), 1998-2002

### CQex ADAS-cog change from baseline



Ritchie et al., 2003

### PBT2: SAR based on rational drug design



Barnham, Kripner, Kok, Gautier (Prana Biotechnology), 2002

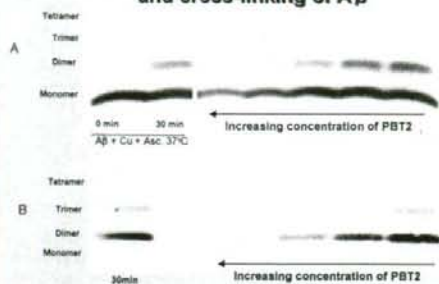
## Mechanism of Action of PBT2

PBT2, a Metal Protein Attenuating (picomolar,  $10^{-11}$ ) Compound (MPAC), prevents the interaction between  $A\beta$  and Cu/Zn (nanomolar,  $10^{-9}$ ).

In preclinical testing, PBT2:

- inhibits the formation of covalently crosslinked toxic  $A\beta$  oligomers (Adlard/Cherry 2008) and rapidly lowers oligomers and plaques in Tg mouse model (Adlard/Finkelstein 2008)
- protects synaptic function from  $A\beta$ -induced toxicity, reverses LTP inhibition (Adlard/Lal 2008), reverses impaired behavior in MWM (Adlard 2008), lowers tau and increases synaptophysin (Adlard 2008), rescues loss of basal dendritic spines (Adlard/Finkelstein)
- promotes the solubilization of  $A\beta$  plaques (Cherry 1999)
- facilitates degradation by enhancing the production of  $A\beta$ -degrading enzymes (White 2006)
- Potential Ionophoric properties?

## PBT2 inhibits oxidative oligomerization and cross-linking of $A\beta$

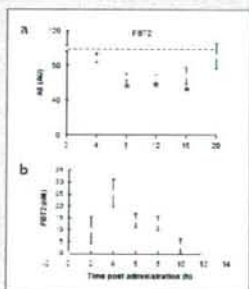


A.  $A\beta$  oligomers detected using mAb against N-terminus  
B. Cross-linked oligomers detected by anti-dityrosine mAb (Cherry)

## Effect of PBT2 on interstitial $A\beta$ levels from Tg2576 mice obtained by in vivo microdialysis

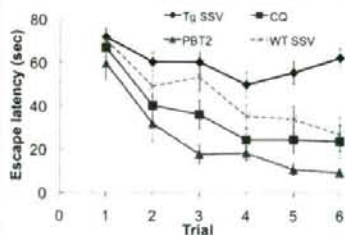
(a) 14-18 month old male mice (n=5) were administered a single gavage dose of PBT2 (30mg/kg) and hippocampal interstitial fluid collected over the subsequent 20 hours.  $A\beta$  was assayed by western blot densitometry in the collected dialysate (4 hour collection bins). The average  $A\beta$  level over the 8 hours prior to administering PBT2 was used as the baseline (100 AU, dotted line).

(b) Concentrations of PBT2 in the hippocampal dialysates of male, 12 week old, C57Bl6 mice (n=5) following a single gavage dose of PBT2 30 mg/kg.



Adlard et al, *Neuron* (2008)

## PBT2 Improves the performance of APP/PS1 mice in the Morris water maze



Adlard et al, *Neuron* (2008)

## Prana Phase 2a Randomised, Double-Blind, Placebo-Controlled, Multicenter Study of PBT2

<b>Dose</b>	0 mg (n=29), 50mg(n=20) and 250mg (n=29) capsules, orally once daily for 12 weeks
<b>Objectives</b>	Safety & Tolerability; Biomarkers; Cognition
<b>Key Patient Selection Criteria</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Mild AD; MMSE score 20 - 26</li> <li>• Vascular or multi-infarct dementia excluded</li> <li>• Stable dose of AChE-I for at least 4 month</li> <li>• (75% ApoE4 positive)</li> </ul>
<b>Findings</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➢ PBT2 was safe and well tolerated</li> <li>➢ 250mg PBT2 demonstrated statistically significant reduction of CSF <math>A\beta_{42}</math> compared with placebo</li> <li>➢ 250mg PBT2 demonstrated statistically significant improvement in two of the four Executive Function tests (of a Neuropsychological Test Battery (NTB)) compared with placebo</li> </ul>

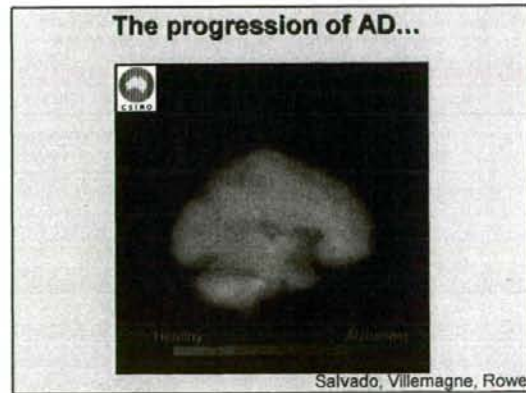
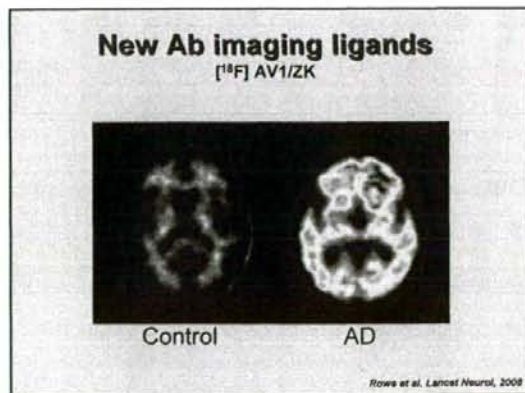
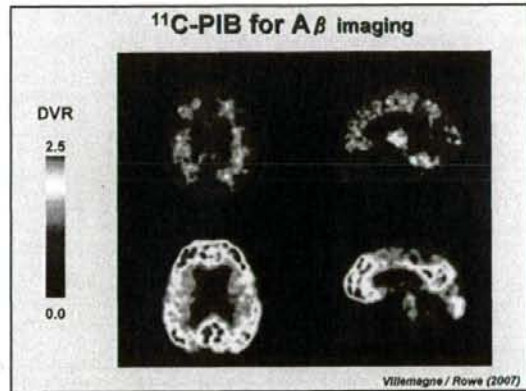
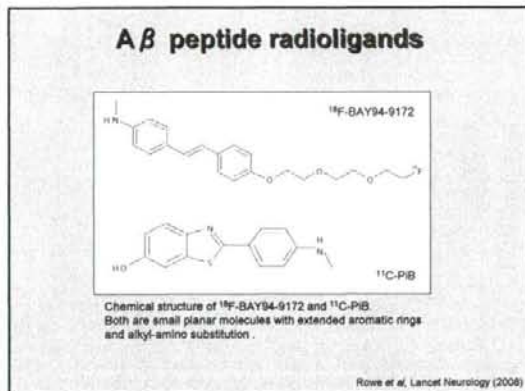
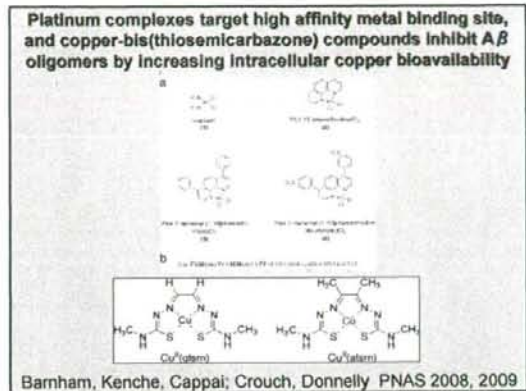
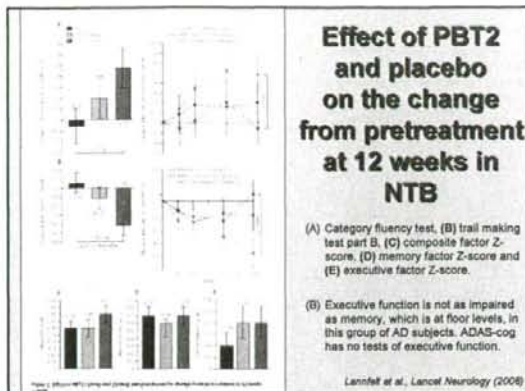
Lannfelt et al, *Lancet Neurology* (2008)

## Effect of PBT2 and placebo on the change in biomarkers from baseline at 12 weeks

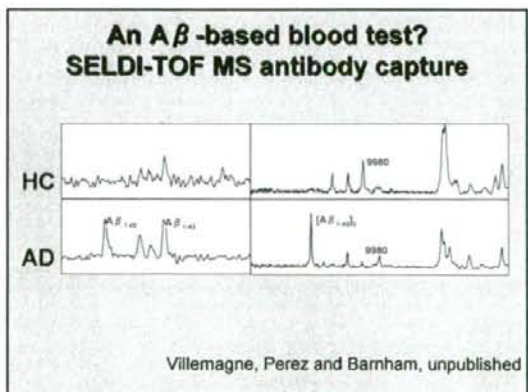
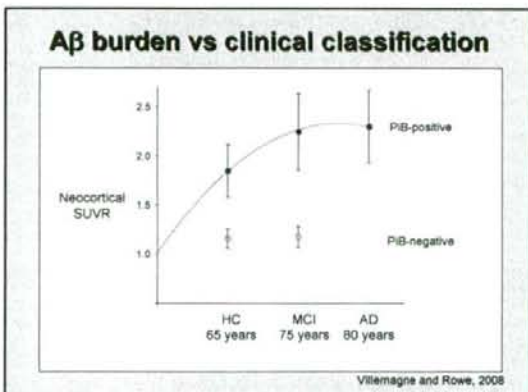
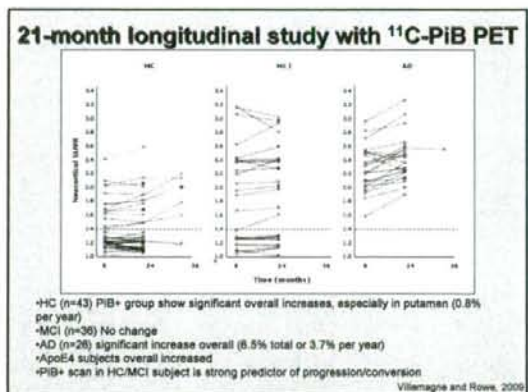
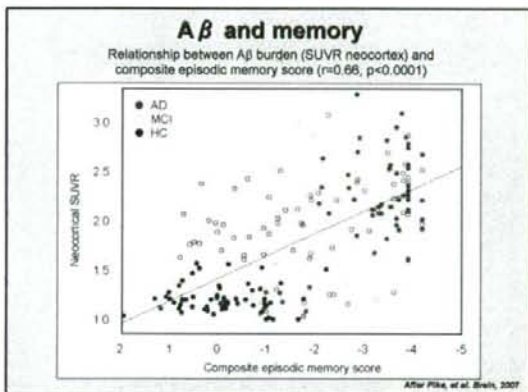
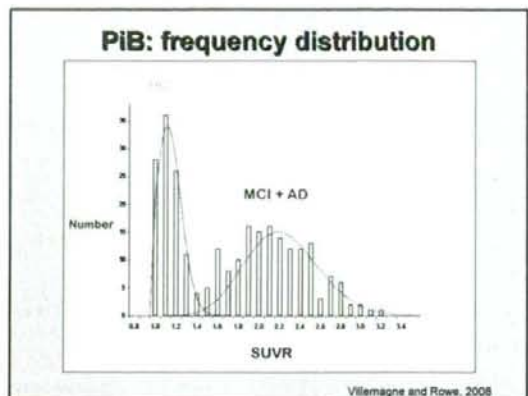
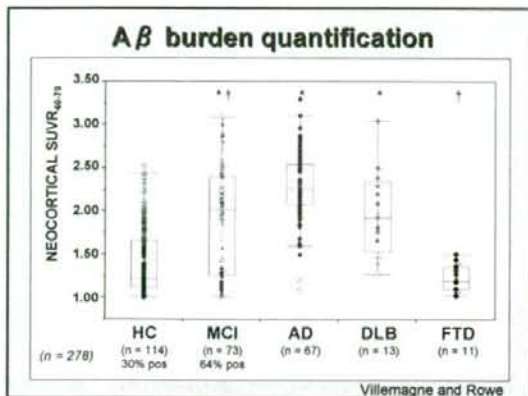
(A) CSF  $A\beta_{42}$ , (B) CSF  $A\beta_{40}$ , (C) CSF T-tau, and (D) CSF P-tau.

Data are least mean squares (SE). Scatter plots of individual actual changes from baseline at 12 weeks for CSF  $A\beta_{42}$  and  $A\beta_{40}$  are shown, with mean values (horizontal bars) included for each treatment group.

Lannfelt et al, *Lancet Neurology* (2008)

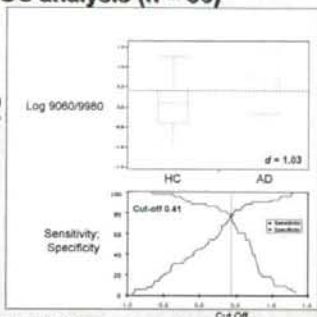






### SELDI-TOF for diagnosis of AD ROC analysis (n = 96)

Sensitivity = 0.79  
Specificity = 0.77  
Accuracy = 0.78  
PPV = 0.74  
NPV = 0.82  
+LK = 3.49  
-LK = 0.27



Villemagne, Perez and Bamham, unpublished

### Alzheimer's disease A $\beta$ -directed therapeutics in clinical development: drugs

August 2008			
STAGE	COMPANY	DRUG	TARGET
Phase I	Colten	CTS-21186	BACE1 inhibitor
	Exel	E 2012	$\gamma$ -secretase modulator
	ProteinTech	Exlyv-1	A $\beta$ aggregate
	Wyeth	GW-953	$\gamma$ -secretase inhibitor
Phase II	Merck	MK 0752	$\gamma$ -secretase inhibitor
	Prana Biotechnology	PR2	A $\beta$ metal oligomer
	Transition Therapeutics/Eli	Bykavonol (AZD-103/ELND005)	A $\beta$ target
Phase III	Lilly	LY 400136	$\gamma$ -secretase inhibitor

### Alzheimer's disease A $\beta$ -directed therapeutics in clinical development: biologics

August 2008			
STAGE	COMPANY	DRUG	TARGET
Phase I	Hoffman-La Roche / Novartis	Hu-CAL R1400	A $\beta$ antibody
Phase II	GSK, Pfizer	venuz	A $\beta$ antibody active / passive
	Merck	V90	A $\beta$ immunogen (N-terminal)
	Novartis / Cytis	CA0-106	A $\beta$ immunogen (N-terminal)
	Wyeth / Eli	ACC-001	A $\beta$ immunogen (N-terminal)
Phase III	Baxter	Gemgagan (Mg)	A $\beta$ antibody
	Eli / Wyeth	Bapineuzin AAB-001	A $\beta$ antibody (N-terminal epitope, humanized, IV)
	Lilly	LY2062400	A $\beta$ antibody (mid-region)

### Phase II results of potential A $\beta$ targeting AD modifying drugs

August 2008			
PBT2	LY400136	Bapineuzinab	LY2062400
Prana Biotechnology	Lilly	Eli / Wyeth	Lilly
A $\beta$ MPAC n=74	$\gamma$ -secretase inhibitor n=43	Anti-A $\beta$ (N-terminal) n=24	Anti-A $\beta$ (mid-region) n=52
12 weeks 2 doses	12 weeks 2 doses	78 weeks 3 doses	12 weeks 4 doses
Safe, well tolerated	Significant "skin, subconjunctiva" and other concerns	Vasogenic edema (more in ApoE4+) and other adverse events	Safe, well tolerated
Plasma A $\beta$ : no change	Plasma A $\beta$ : increase (drives with overhours)	Not reported	Plasma A $\beta$ : increase; plaque specific fragments
CSF A $\beta$ : significant dose-response decrease, A $\beta$ 42 decrease	CSF A $\beta$ : no change	CSF A $\beta$ : no change	CSF A $\beta$ : increase; unbound A $\beta$ 40 decrease; unbound A $\beta$ 42 increase
Cognition: improved NTB tests of executive function	Cognition: no change	Cognition: overall no effect, but subgroup analysis shows some efficacy; increased results ApoE+ vs. ApoE-	Cognition: no change
Larvel et al (2008)	Fleisher et al (2008)	ICAD 2008	ICAD 2008

### Neurodegeneration Research Group



The University of Melbourne



The Mental Health Research Institute



- Paul Adlard
- Kevin Bamham
- Brynne Bellamy
- Ashley Bush
- Roberta Cappell
- Michael Cotter
- Robert Cherry
- Joe Cozzolino
- Steven Collins
- Peter Crouch
- Janelle Culvenor
- Cyril Curtain
- James Duce
- Genevieve Evin

- David Ferenstein
- Andrew Hill
- Ya Hui Hung
- Vijaya Kirche
- Vicky Leaven
- Olac-Lip 11
- So San Mui
- Victoria Parreau
- Stane Roberts
- Deborah Teer
- Victor Villemagne
- Tony White
- Silvan Wilkins

Supported in part by



Baxter Trust

### Collaborators

- Alfred Hospital: Catriona McLean
- Austin Health: Chris Rowe
- Chemistry (Uni Melb): Paul Donnelly, Frances Separovic
- Cogstate: Paul Maruff
- CSIRO (Structural Biology): Jose Varghese, Ian Macreadie
- CSIRO (AIBL Study): Peter Hudson
- Geneva: Michel Xilinas
- Imperial College London: Craig Ritchie
- Mass General Hospital / Harvard Med School: Rudy Tanzi
- NARI: David Ames, Kathryn Ellis
- SVIMR: Michael Parker, Luke Miles
- ZMBH (Heidelberg): Konrad Beyreuther

# 添付資料 2



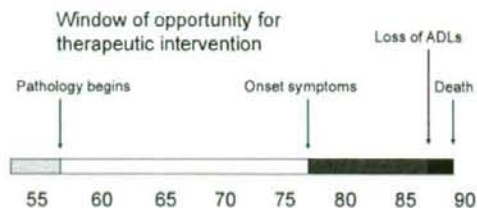
## Clinical Application of Florpiramine F-18 (<sup>18</sup>F-AV-45) for Amyloid Plaque Imaging

Daniel Skovronsky, M.D. Ph.D.

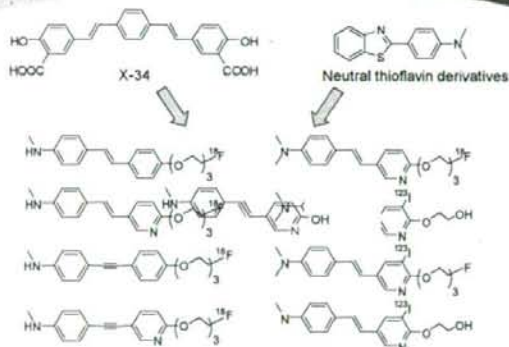
Research Support:  
Avid Radiopharmaceuticals, Inc.  
NIH grants (SBIR to DMS, AG-022559)



## Alzheimer's Disease Timeline



## The Challenge: Make an <sup>18</sup>F or <sup>123</sup>I Agent as Good as <sup>11</sup>C-PIB



## Development Process

>1000 Synthesized

• Ki for target

12 amyloid imaging agents tested in Phase I  
150 subjects imaged at 15 clinical sites  
+  
Florpiramine F 18 (<sup>18</sup>F-AV-45) now in Phase III  
310 subjects imaged at 30 clinical sites

• Safety Pharmacology

12 Tested In Phase I  
Clinical Trials

• Safety & Dosimetry  
• Brain Imaging  
• Metabolism

~ 150 subjects imaged at 15 clinical sites



## Success Criteria

### • Must Haves

- High specific signal (BP<sub>ND</sub>)
- Low background (white matter)
- Rapid kinetics
- Simple quantitation (no input function required)
- Robust radiochemistry
- Specific for amyloid plaques vs tangles

### • Nice to have

- High initial brain uptake
- Favorable dosimetry
- Binds neuritic plaques >> diffuse plaques
- Images mouse plaques



Name	Structure	Affinity (K <sub>i</sub> or K <sub>d</sub> )	Mouse Brain Uptake (%/gm)		Human Section Labeling
			2 min	60 min	
<sup>18</sup> F-AV-19		2.5 nM	7.8%	1.3%	
<sup>18</sup> F-AV-45		3.1 nM	7.3%	1.9%	
<sup>18</sup> F-AV-138		1.9 nM	4.6%	0.4%	
<sup>18</sup> F-AV-144		4.5 nM	2.4%	0.4%	