

by 6H4 antibody. The agent isolated was designated Nagasaki University-1 isolate (Nu-1).

Mouse BSE model. Primary infection of a BSE agent isolated from a cow in the UK was done using RIII mice (killed at 412 days) and the affected brains were kindly provided to us by Dr. Yokoyama (Tsukuba). We then passed this mouse-adapted BSE into ddY mice twice. Mice intracerebrally inoculated with brain homogenate all developed disease at around 150 days, with infectivity in the brain reaching around $10^{8.9}$ LD₅₀/g. At the third passage, 100 µl of a 10% brain homogenate were inoculated into the peritoneal cavity, and samples of bone marrow, spleen, and brain were collected every 4 weeks. Infected mice showed abnormal gait and other neurological signs at around 20 weeks post inoculation and died at 28 wpi. In some experiments, mouse-adapted GSS agent, Fukuoka-1 strain [11], was also inoculated into ddY mice.

Ex vivo infection (Prion infection to the MSC). Normal rat MSCs (passage 5) growing in a T25 flask were exposed to 0.2% of Nu-1 rat brain homogenate for 24 h, after which an equal volume of fresh medium was added and the incubation was continued for another 48 h. Then, after washing the cells several times with PBS, we split the cells at a ratio of 1:3. At every passage, confluent cells were lysed and subjected to Western blotting for PrP^{Sc} as described below.

PrP^{Sc} detection. Brain, spleen, and lymph node were homogenized at 10% in phosphate buffered saline. Total proteins were extracted by mixing with 1% Triton X-100/DOC buffer (1% Triton X-100, 1% Deoxycholic acid, 300 mM NaCl, 50 mM Tris-HCl pH 7.5) and the mixture was centrifuged at 500g at 4 °C for 15 min to remove cell debris. The supernatants were digested with Proteinase-K (20 µg/mg protein, 37 °C, 30 min) and mixed with sodium dodecyl sulfate (SDS) loading buffer (50 mM Tris-HCl, pH 6.8, containing 5% glycerol, 1.6% SDS, and 100 mM dithiothreitol) and boiled for 10 min. Confluent cell cultures were lysed for 30 min at 4 °C in 0.5% Triton X-100/DOC buffer (0.5% Triton X-100, 0.5% Deoxycholic acid, 150 mM NaCl, 50 mM Tris-HCl, pH 7.5). The supernatant was collected after a short centrifugation at 10,000g, and the total protein concentration was measured using the BCA protein assay (Pierce). The protein concentration was adjusted to 1.0 mg/ml, and digested with proteinase K (PK) (40 µg/mg protein, 37 °C, 30 min), and then PK-resistant and insoluble PrP was concentrated by centrifugation at 19,000g for 45 min at 4 °C. The pellet was dissolved in 1 × SDS loading buffer and boiled for 10 min.

In the cell samples as well as the tissues samples, PrP^{Sc} was detected by Western blotting. SDS-polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE) was performed using 1.5 mm, 12% acrylamide gels. The proteins were transferred onto an Immobilon-P membrane (Millipore) in transfer buffer containing 20% methanol, and the membrane was blocked with 5% nonfat dry milk in TBST (10 mM Tris-HCl pH 7.8, 100 mM NaCl, 0.1% Tween 20) for 60 min at room temperature. Blocked membranes were reacted with anti-PrP antibodies diluted 1:1000 in 1% nonfat dry milk/TBST overnight at 4 °C. The membranes were then washed 3 times for 5 min in TBST, reacted with horseradish peroxidase (HRP)-conjugated secondary antibodies diluted 1:5000 in 1% nonfat dry milk/TBST for 60 min at room temperature and washed again 5 times for 5 min in TBST. Immunoreactive bands were visualized using an enhanced chemiluminescence system (ECL; Amersham Pharmacia Biotech). The anti-PrP polyclonal mouse antiserum (SS#28) used has been described previously. The M20 goat antibody to C-terminal PrP peptides was purchased from Santa-Cruz Biotech (Santa Cruz, CA) [12]. Horseradish peroxidase (HRP)-conjugated anti-goat immunoglobulin G antibodies were purchased from Santa-Cruz Biotech.

Immunohistochemistry. Tissue samples were fixed in 10% neutral buffered formalin, embedded in paraffin, and sectioned into 5 µm slices. The tissue sections were stained with hematoxylin and eosin (HE), or subjected to immunological staining of PrP, using the

hydrolytic autoclaving and formic acid method prior to incubating with primary antibodies such as SAF32 (SPI bio, France) and 6H4 (Prionics AG, Switzerland) overnight, and then the sections were reacted with envision polymer horseradish peroxidase (HRP)-conjugated anti-mouse immunoglobulin G antibodies (Vectastain ABS Kit, Dako Cytomation) for 60 min. Immunostaining was visualized by 3,3'-diaminobenzidine chromogen via a horseradish peroxidase reaction.

Results and discussion

MSCs have unique characteristics. They grow well ex vivo without transformation and are multipotential progenitor cells which can be used for auto-cell transplant therapy⁸. We isolated and subcultured bone marrow cells, and were able to obtain relatively uniform cell types from human, rat and bovine samples, but not from those of mouse and hamster. (Fig. 1A). The rat bone marrow cells grew for more than 2 years (100 passages), but the human cells stopped dividing at about 15 passages, and the bovine, mouse and hamster cells continued to grow for only a few passages. To confirm that the cells isolated from rat bone marrow were indeed MSCs, we tried to differentiate them into neurons, according to the method described by Dezawa et al. [9] (data not shown). To examine the expression of PrP^{Sc}, MSCs were analyzed by Western blotting. Anti-PrP monoclonal antibody (SAF32) raised against N-terminal octapeptide repeats of PrP could detect normal PrP in the MSCs from all species (Fig. 1B), and its expression on the cell surface was also confirmed by immunostaining (Fig. 1C).

Isolated MSCs from uninfected rat bone marrows were subjected to an ex vivo transmission study using a rat-adapted GSS strain, Nagasaki isolate (Nu-1). Primary cultured rat MSCs (P3) were incubated with 0.2% brain homogenate and passaged for more than 2 years. In the early phase, little or no PrP^{Sc} could be detected in the cultured MSCs, but with repetition of passages, the amount increased (Fig. 2) and multinuclear cells were observed. The ex vivo infected MSCs initially produced only small amounts of PrP^{Sc}, which increased with passaging, and stable PrP^{Sc} production was confirmed after 50 passages, suggesting that the infection spread only gradually. A similar observation has been reported in mouse neuronal cells [12]. To confirm that the MSC/Nu-1 cells were indeed infected with the agent, we inoculated the cell lysates (P25 and P50) intracerebrally into Wistar rats (4 weeks old). After one year, the rats all showed signs such as reflection abnormality, and Western blotting of the brains confirmed the presence of PrP^{Sc} (data not shown). These results provide evidence that the MSCs express PrP^{Sc} and are susceptible to TSE agents, and are capable of supporting stable infection.

To elucidate whether or not MSCs can be infected with the TSE agent in vivo, we isolated MSCs from terminally sick animals. The MSCs from Nu-1 Wistar rat at 300 dpi grew slowly compared with those from young rats, and we were able to detect PrP^{Sc} (data not shown). In addition, MSCs from terminally sick mice infected with mouse-adapted BSE or Fukuoka-1 agents were also positive for PrP^{Sc} (Fig. 3A). Next, we inoculated MSCs from four terminal BSE-infected mice into the brains of normal ddY mice (five each). After 20 weeks, all exhibited a yellowish pubic region and abnormal hind limb reflex, but after that, clinical signs worsened only slowly. After 25 weeks, we sacrificed some of the mice and were able to confirm accumulation of abnormal PrP in the spleens (Fig. 3B, arrows). This result provides evidence that MSCs in vivo do indeed carry the agent.

We next asked how soon the PrP^{Sc} could be seen in MSCs from infected mice. After intraperitoneal inoculation of 100 µl of the BSE mouse 10% brain homogenate, brains, spleens, and bone marrows were collected from 4 or 5 animals every 4 weeks. PrP^{Sc} was first

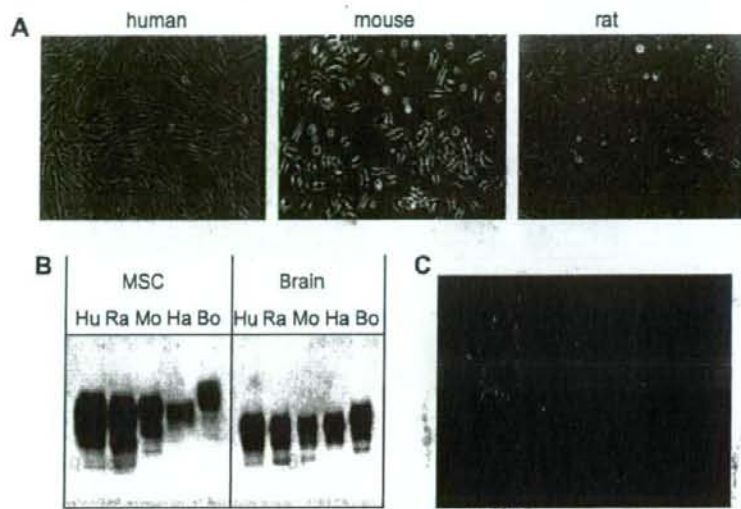


Fig. 1. Bone marrow stromal cells express PrP^{Sc}. (A) Phase-contrast pictures of human, mouse, and rat MSCs. (B) Western blotting shows PrP^{Sc} expression in these cells. All MSCs isolated from different animals were positive for PrP^{Sc}. (C) Immunostaining for PrP on rat MSCs. Typical punctuated staining was seen on the cell surface.

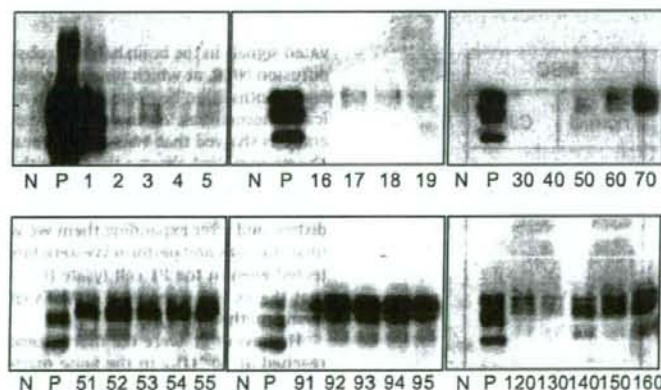


Fig. 2. Ex vivo transmission of Nu-1 agent on rat MSCs. PrP signals for the Proteinase-K resistant form of PrP (PrP^{Sc}) were seen in the culture. N: uninfected normal control. P: Nu-1 rat brain homogenate sample. Numbers indicate times of passages from infection.

detected in spleen at 4 wpi and in brains at 24 wpi. MSCs from bone marrow were isolated and expanded (passaged 3 times) in order to harvest enough cellular proteins, and showed weak PrP^{Sc} signals at 4 wpi, which disappeared at 8 wpi, and were again detected at 16–28 wpi. (Fig. 3C). This indicates that infection of the MSCs in vivo could precede the accumulation of PrP^{Sc} in brain.

PrP is expressed mainly in the brain but also in many other organs, including the lymphoreticular system tissues (LRS) [13,14]. Although the role of PrP^{Sc} in blood cells remains to be established, PrP^{Sc} is known to be expressed by hematopoietic stem cells (HSCs) [15], immature and mature T cells, B cells, monocytes and dendritic cells (DCs) [16]. CD43+ Gr-1+ granulocyte precursors in bone marrow have also been shown to express PrP [17]. When we analyzed murine bone marrow by in situ hybridization, PrP^{Sc} mRNA stained in HSCs but not MSCs (data not shown). Therefore, although we cannot exclude the possibility that MSCs start expressing PrP when the cells are cultured ex vivo, our data would suggest that MSCs

could express PrP and be a long-term reservoir for TSE agents in vivo, in which case circulating white blood cells could also become infected by contact with the MSCs.

To determine whether human MSCs are also susceptible to TSE agents, we examined bone marrows obtained at autopsy from two CJD patients. The first case was a 66-year-old female who had been clinically diagnosed as having sporadic CJD. The patient had died 27 months after the onset. An autopsy was held 7 h after her death, and we collected bone marrow from the sternum. Because coagulation of the blood had already advanced, we were able to collect only an extremely small amount of bone marrow cells and it took about 2 months to grow sufficient MSCs for the experiment. One milligram of extracted protein was digested and concentrated at 10,000g for 1 h, then subjected to Western blotting for PrP^{Sc} using 3F4 antibody. A relatively weak but clear signal was seen in this patient's MSCs (Fig. 4A). The second case was a 70-year-old male who also had been diagnosed with sporadic CJD. Abnormally ele-

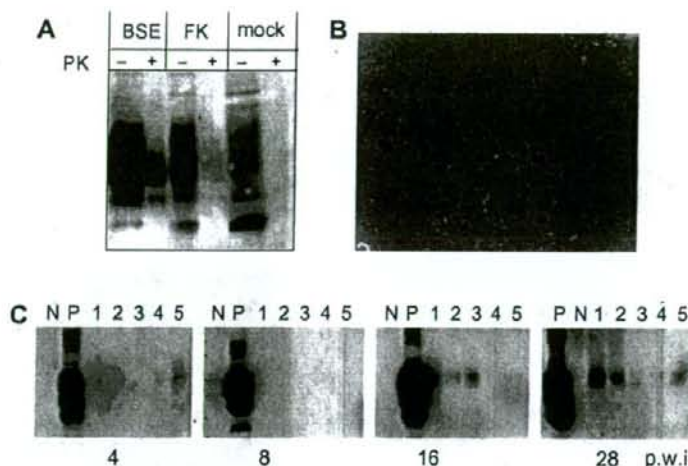


Fig. 3. PrP^{Sc} was detected in MSC culture from terminally sick animals and was infectious. (A) MSCs were isolated from mouse-BSE infected and Fukuoka-1 infected ddY mice. Both cultures were positive for PrP^{Sc}. (B) Immunostaining for PrP^{Sc} in spleen obtained from a mouse inoculated with BSE-MSCs, indicating the cells were truly carrying infectivity. (C) Time-course analysis of PrP^{Sc} in BSE-inoculated mice. MSCs were isolated from intraperitoneally infected mice and PrP^{Sc} was detected. Note that PrP^{Sc} was seen in MSCs as early as 16 wpi.

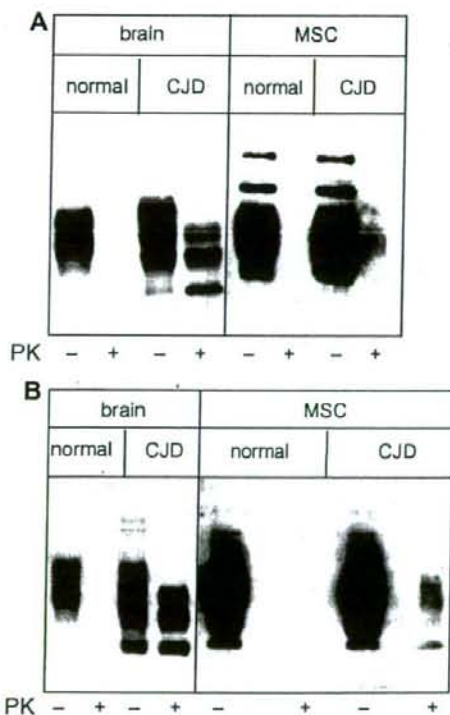


Fig. 4. (A) Ex vivo expanded MSCs from CJD patients were positive for PrP^{Sc}. (A) Bone marrow cells were isolated at autopsy of a sporadic CJD patient. After expansion of MSCs for a month, Western blotting for human PrP could detect PrP^{Sc} in the cell lysate. (B) MSCs from another sporadic CJD patient. Bone marrow was obtained immediately after death. PrP^{Sc} was seen in the culture even at P1. PK: Proteinase-K digested sample.

ated signals in the brain had been observed during screening with diffusion NMR, at which time the patient was free of symptoms. A few months later, he presented with mild dementia and neurological abnormalities. As the clinical manifestations progressed, CSF analysis showed that 14-3-3 was elevated and CJD was diagnosed. The patient died about a year after the onset. This time, we were able to collect bone marrow immediately after death. A good amount of adherent cells was observed in the primary culture dishes, and after expanding them we were able to recover the cellular proteins and perform Western blotting analysis. PrP^{Sc} was detected even in the P1 cell lysate (Fig. 4B). These findings suggest that the ex vivo expansion of MSCs could be an alternative diagnostic method for CJD.

Hadlow et al. were the first to report that infectivity could be reached at 10^5 LD₅₀ in the bone marrow (whole femur) of Swiss mice infected with a mouse-adapted scrapie strain, Chandler isolate [18,19]. Others, however, subsequently failed to detect PrP^{Sc} in bone marrow by Western Blotting [20]. Brown et al. inoculated the bone marrow from CJD patients into two normal primates, neither of which went on to develop TSE [21]. These results might mean that there was little infectivity in the samples used, or accumulation of PrP^{Sc} and infectivity in bone marrow might depend on either the strain of agent or the host species. How real the risk of infectivity is in the bone marrow of CJD patients remains to be assessed using sensitive models. At this point, it is too early to state that CJD could be transmitted during bone marrow transplantation, as no accidental transmission has been reported to date.

Because the clinical features of CJD vary, definitive diagnosis relies on typical brain pathology and the post mortem detection of the pathological form of prion protein in the brain tissue. Protein analysis of the cerebrospinal fluid (CSF) and diffusion NMR are useful tools for differential diagnosis of neurodegenerative disorders and contribute to the clinical diagnosis of typical CJD [22]. Recently, a method for the amplification of abnormal PrP in vitro (PMCA) from biological samples has been developed and has great potential for application to clinical practice [23,24], but it still remains to be approved for use on human blood samples. The histological examination of brain biopsy specimens is currently the only

way to confirm the clinical diagnosis of TSE before death. Bone marrow biopsy could thus lead to an early definitive diagnosis, enhancing the possibility of successful treatment.

Acknowledgments

We thank Dr. Yasushi Miyazaki, Dr. Hisako Furukawa, and Dr. Susumu Shirabe for support during the CJD patients' bone marrow biopsies. We thank Dr. T. Yokoyama for providing mouse-BSE agent. We also thank Dr. Norbert Zilka and Dr. Kazuto Shigematsu for helping the experiments. This study was partially supported by the Program for Promotion of Fundamental Studies in Health Sciences of the National Institute of Biomedical Innovation (06-4) and a Grant from the Ministry of Health, Labor and Welfare, Japan (H16-Kokoro-024). The authors have no conflicting financial interests.

References

- [1] S.B. Prusiner, Novel proteinaceous infectious particles cause scrapie, *Science* 216 (1982) 136–144.
- [2] J. Tateishi, Transmission of Creutzfeldt-Jakob disease from human blood and urine into mice, *Lancet* 2 (1985) 1074.
- [3] C.A. Llewellyn, P.E. Hewitt, R.S. Knight, et al., Possible transmission of variant Creutzfeldt-Jakob disease by blood transfusion, *Lancet* 363 (2004) 417–421.
- [4] S.J. Wroe, S. Pal, D. Siddique, et al., Clinical presentation and pre-mortem diagnosis of variant Creutzfeldt-Jakob disease associated with blood transfusion: a case report, *Lancet* 368 (2006) 2061–2067.
- [5] J.D. Wadsworth, S. Joiner, A.F. Hill, et al., Tissue distribution of protease resistant prion protein in variant Creutzfeldt-Jakob disease using a highly sensitive immunoblotting assay, *Lancet* 358 (2001) 171–180.
- [6] M.F. Pittenger, A.M. Mackay, S.C. Beck, et al., *Science* 284 (1999) 143–147.
- [7] S.A. Azizi, D. Stokes, B.J. Augelli, C. DiGirolamo, D.J. Prockop, Engraftment and migration of human bone marrow stromal cells implanted in the brains of albino rats—similarities to astrocyte grafts, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95 (1998) 3908–3913.
- [8] M. Dezawa, M. Hoshino, C. Ide, Treatment of neurodegenerative diseases using adult bone marrow stromal cell-derived neurons, *Expert Opin. Biol. Ther.* 5 (2005) 427–435.
- [9] M. Dezawa, H. Kanno, M. Hoshino, et al., Specific induction of neuronal cells from bone marrow stromal cells and application for autologous transplantation, *J. Clin. Invest.* 113 (2004) 1701–1710.
- [10] S. Hamasaki, S. Shirabe, R. Tsuda, et al., Discordant Gerstmann-Strausler-Scheinker disease in monozygotic twins, *Lancet* 352 (1998) 1358–1359.
- [11] N. Nishida, S. Katamine, L. Manuelidis, Reciprocal interference between specific CJD and scrapie agents in neural cell cultures, *Science* 310 (2005) 493–496.
- [12] A. Arjona, L. Simarro, F. Islinger, N. Nishida, L. Manuelidis, Two Creutzfeldt-Jakob disease agents reproduce prion protein-independent identities in cell cultures, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101 (2004) 8768–8773.
- [13] M. Moser, R.J. Colello, U. Pott, B. Oesch, Developmental expression of the prion protein gene in glial cells, *Neuron* 14 (1995) 509–517.
- [14] M.J. Ford, L.J. Burton, R.J. Morris, S.M. Hall, Selective expression of prion protein in peripheral tissues of the adult mouse, *Neuroscience* 113 (2002) 177–192.
- [15] C.C. Zhang, A.D. Steele, S. Lindquist, H.F. Lodish, Prion protein is expressed on long-term repopulating hematopoietic stem cells and is important for their self-renewal, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 103 (2006) 2184–2189.
- [16] J.D. Isaacs, G.S. Jackson, D.M. Altmann, The role of the cellular prion protein in the immune system, *Clin. Exp. Immunol.* 146 (2006) 1–8.
- [17] R. Li, D. Liu, G. Zanusso, et al., The expression and potential function of cellular prion protein in human lymphocytes, *Cell Immunol.* 207 (2001) 49–58.
- [18] C.M. Eklund, R.C. Kennedy, W.J. Hadlow, Pathogenesis of scrapie virus infection in the mouse, *J. Infect. Dis.* 117 (1967) 15–22.
- [19] W.J. Hadlow, C.M. Eklund, R.C. Kennedy, et al., Course of experimental scrapie virus infection in the goat, *J. Infect. Dis.* 129 (1974) 559–567.
- [20] T. Maignien, C.I. Lasmezas, V. Beringue, D. Dormont, J.P. Deslys, Pathogenesis of the oral route of infection of mice with scrapie and bovine spongiform encephalopathy agents, *J. Gen. Virol.* 80 (Pt 11) (1999) 3035–3042.
- [21] P. Brown, C.J. Gibbs, P. Rodger-Johnson, et al., Human spongiform encephalopathy: the National Institutes of Health series of 300 cases of experimentally transmitted disease, *Ann. Neurol.* 35 (1994) 513–529.
- [22] S.J. Collins, P. Sanchez-Juan, C.L. Masters, et al., Determinants of diagnostic investigation sensitivities across the clinical spectrum of sporadic Creutzfeldt-Jakob disease, *Brain* 129 (2006) 2278–2287.
- [23] J. Castilla, P. Saa, C. Soto, Detection of prions in blood, *Nat. Med.* 11 (2005) 982–985.
- [24] P. Saa, J. Castilla, C. Soto, Presymptomatic detection of prions in blood, *Science* 313 (2006) 92–94.

III. 臨床編

アルツハイマー病の診断
新しい診断法の開発

アミロイド画像化用プローブ

The probes for amyloid imaging

工藤幸司¹ 古本祥三¹ 岡村信行²

Key words : アルツハイマー病, アミロイドイメージングプローブ, タウイメージングプローブ, 近赤外線蛍光プローブ

はじめに

アミロイド画像化(イメージング)用プローブは、アルツハイマー病(AD)の代表的病理像の一つ、老人斑の主構成成分であるアミロイド β 蛋白(A β)の β シート構造に高い親和性を有する標識ないしは非標識化合物であり、画像としてのアミロイドイメージングを可能にするために用いられる。

AD診断におけるアミロイドイメージングの有用性については本誌岡村らおよび樋口らの別稿に譲るとして、本稿ではpositron emission tomography (PET)プローブを中心に、アミロイドイメージングに用いられる種々のプローブ群の現状、開発状況、薬理学的特性などにつき概説するとともに、併せてタウイメージング用PETプローブのそれらについても若干言及してみたい。

1. アミロイドイメージング用プローブに求められる一般的な特性および特徴

いずれのアミロイドイメージング用プローブもまず第1に β シート構造をとったA β に対して高い親和性をもつことが必要である。プローブは化学構造的にCongo redタイプ、thioflavin

Tタイプおよびそのほかに大きく分類される。普通のレセプターアッセイでは多少の標識リガンドの構造の違いは克服できるが、例えばCongo redタイプ標識リガンドのA β バインディングは同タイプのプローブによってよく置換されるが、その他のタイプのそれらによっては極めて置換されにくく、またその逆も真であることが知られている^{1,2)}。このことはプローブの基本構造の違いによってA β バインディングサイトはそれぞれ異なること、いかえればプローブの基本構造の違いの数だけバインディングサイトが存在することを示唆している。

A β はAD患者脳内に蓄積する。当然プローブは血液-脳関門を透過することが必要であるが、投与直後には急速かつ大用量が脳へ移行し、その後急速に脳からウォッシュアウトされるという極めて相反する2つの特性をもたせなければならないことが、これらプローブの開発を難しくしている最大の要因である。

現状のアミロイドイメージングはプローブのいずれかの部位に標識された同位体を追跡することから、代謝された同位体が標的以外に集積するような標識法は避けなければならない。¹⁸F標識体において脱フッ素により¹⁸Fイオンが骨に集積し、あたかも(頭蓋)骨PET画像とな

¹Yukitsuka Kudo, Shozo Furumoto: Biomedical Engineering Research Organization (TUBERO), Tohoku University 東北大学先進医学研究機構 ²Nobuyuki Okamura: Department of Pharmacology, Tohoku University School of Medicine 東北大学大学院医学系研究科 機能薬理学分野

ることはよく経験することである³⁾。プローブごとに適切な標識法および部位を開発しなくてはならないことも、プローブ開発を難しくしている一因である。

2. アミロイドイメージング用 PET プローブ

A β に親和性が高く、しかも血液-脳関門を容易に透過する化合物を標識し、ADの診断に応用しようとするアイデアは1990年代初めのころから提唱されていたが、具体例として我々の目に触れたのはこの分野のバイオニア、ピッツバーグ大学 Klunk らのプロトタイププローブ chrysamine-G⁴⁾が最初である(図1)。彼らの chrysamine-G 系統プローブは X-34、更に methoxy-X04 へと引き継がれている。X-34 が更に修飾されたのがペンシルベニア大 Kung 夫妻らによって報告された BSB, ISB, IMSB であり、夫妻らは更に TZDM, TZPI, IBOX をも報告している(図1)。著者らのプローブは BF-108 から始まり、次いで BF-168 へと研究が転換した(図1)。

これら以外にも数多くのプローブが学術誌および学会で報告されてきたが、それらの集大成が図2に示した臨床研究に供されたプローブ群である。2002年初頭、世界で初めてAD患者にアミロイドイメージング用PETプローブが投与された画像が紹介された。この栄誉に浴したのは UCLA Barrio らのチーム、プローブは [¹⁸F] FDDNP⁵⁾であった。しかし [¹⁸F] FDDNP は非特異的結合があまりにも多く、このプローブがスタンダードなAD診断用プローブになるとは考えにくい。

現時点で最も臨床試験実施例の多いプローブは、ピッツバーグ大 Klunk らによって開発されたその数100例を超えると思われる [¹¹C] PIB⁶⁾である。 [¹¹C] PIB の最も優れた特徴は脳からのウォッシュアウトに優れていることであり、この特性に基づくと思われる非特異的結合が少ないことである。

[¹¹C] SB-13⁷⁾はペンシルベニア大 Kung 夫妻らによって開発されたプローブであるが、ヒト

画像はほとんど [¹¹C] PIB と同様といわれている。

著者らによって開発された [¹¹C] BF-227⁸⁾のAD患者脳における集積像は、A β ないしは老人斑の空間的分布とほぼ一致するのが特徴である。

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 [¹¹C] 標識体である。 [¹¹C] 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施設の極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 [¹⁸F] はその半減期(約110分)が長く、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)プローブとしての有用性は [¹¹C] のそれに比し圧倒的に優れている。これらのことから、次世代のアミロイドイメージング用プローブとして [¹⁸F] 標識体の開発が進行中であり、著者らもこれに取り組んでいる。

2007年6月末までに探索的臨床研究が実施されている [¹⁸F] 標識プローブはピッツバーグ大・General Electrics 社の [¹⁸F] PIB⁹⁾、ペンシルベニア大(Avid社)・Bayer (Schering) 社の [¹⁸F] AV1/ZK¹⁰⁾である。両プローブとも今後臨床例数が積み重ねられた後、プローブごとの評価が下されるであろう。また、開発者に巨大企業名がみられることから、AD診断用の [¹⁸F] 標識プローブがいよいよ巨大ビジネスとして動き出すであろう未来をうかがわせる。

3. その他のアミロイドイメージング用 プローブ

ADの病理像を追跡することにより同病を診断しようとするPETプローブ・PETを用いたアミロイドイメージングは、これまでのあらゆる診断法に比し、感度、特異度、診断精度などのいずれをとっても明らかに優れていることは確かである。しかしこの診断法には、将来的にみてもどうしても克服できないと予想される一つの課題がある。それは診断装置、すなわちPETの普及台数の問題である。今後、標識プロ

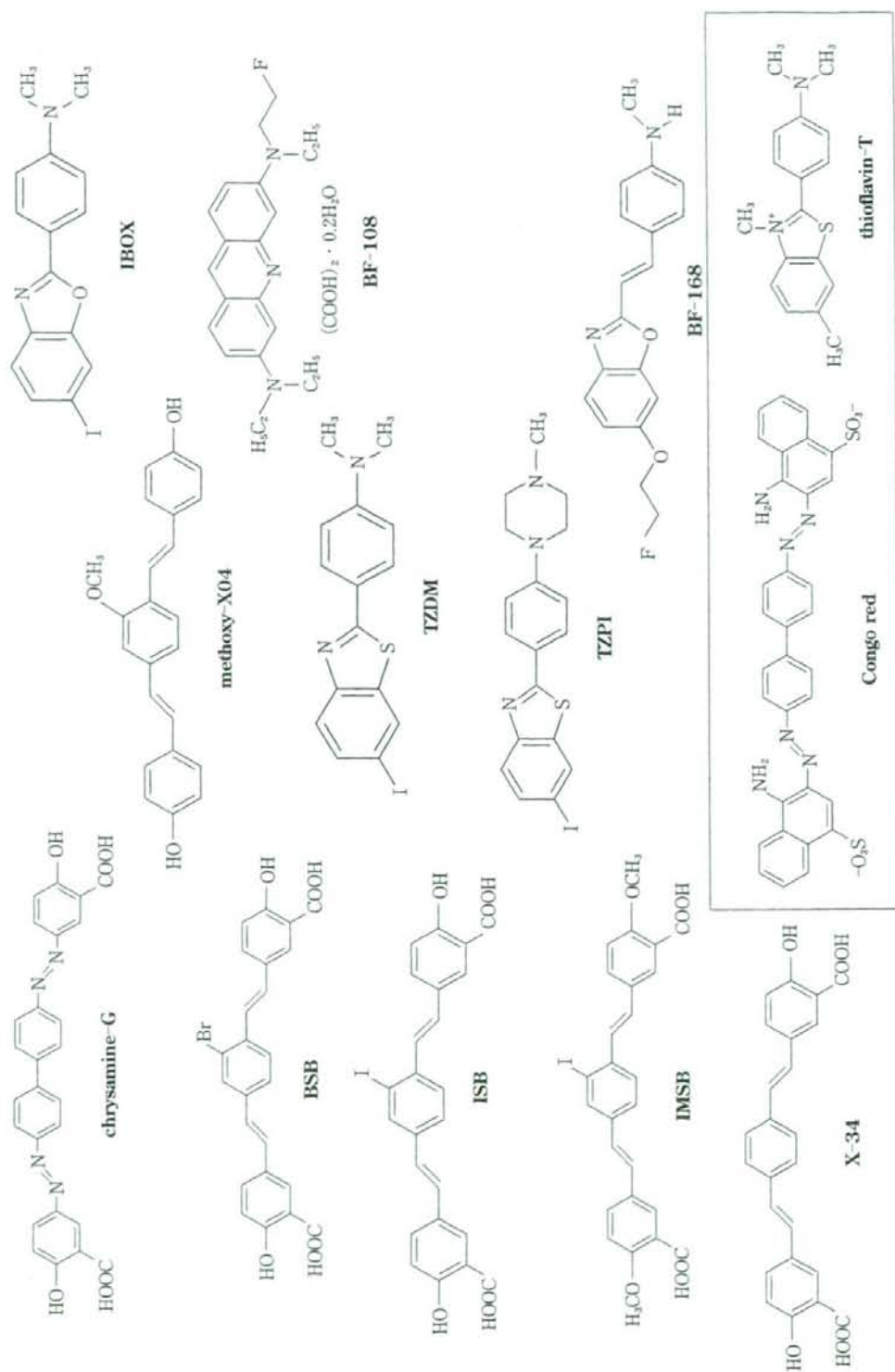


図 1 アミロイドメージング用に開発された PET プローブ群

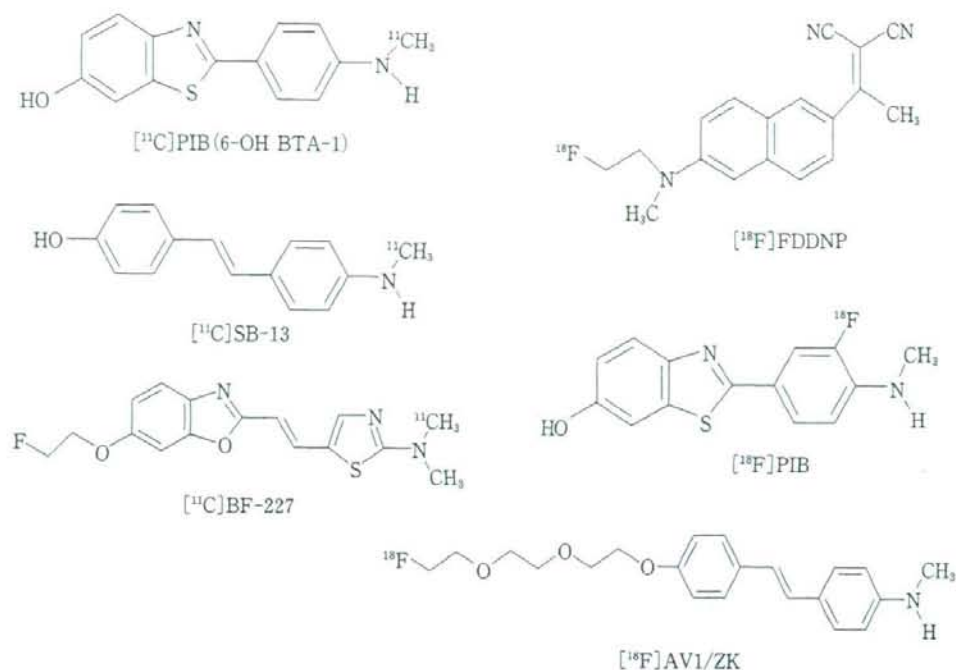


図2 臨床試験に供されたアミロイドイメージング用PETプローブ

ープのデリバリーが日常化されたとしても、MRIやSPECTのように国内設置台数が数千といった普及は、PETにおいては到底到達不可能であろう。

そこでMRIまたはSPECTにそれぞれ対応したプローブを用いたアミロイドイメージングが試みられつつある。MRI用プローブについては、本誌樋口らの別稿を参照していただきたい。

次にSPECT用プローブであるが、ペンシルベニア大Kungらによって開発された[¹²⁵I]IMPY¹¹(図3)は、AD患者においてA β が蓄積することが知られている部位においてuptakeが増加していることが第10回国際アルツハイマー病学会にて報告された¹¹。また、KungらはIMPY後も精力的にSPECT用プローブ候補化合物を報告している。一方、国内においてもSPECT用プローブの開発を進めている企業が存在することを聞いている。

最近、より簡便なAD診断法として近赤外線蛍光(near infra-red fluorescence: NIRF)プローブ・蛍光イメージング診断装置が注目されて

いる。その診断原理はA β に親和性をもち、しかも血液-脳関門を越え、更に生体を透過する光(波長約600-1,000nm、いわゆる生体の分光学的窓領域)を照射することによって同領域波長の蛍光を発するNIRFプローブをAD診断に応用しようとするものである。

この診断に用いる蛍光イメージング診断装置はベッドサイド、外来を問わず可搬性に優れており、放射線を利用せず、また、短時間での診断、集団検診または人間ドックへの応用が可能である。

この診断に用いるプローブについては最初のプロトタイププローブAOI-987¹²、更にNIAD-4¹³(いずれも図3)も既に紹介されており、著者らもその開発に取り組んでいる。

図4は著者らが見いだしたA β に親和性を有するNIRFプローブを、脳内にA β が蓄積するTgおよび野生型マウスに静脈内投与し、小動物用NIRFイメージング装置で撮影した例であるが、Tgマウス脳においてA β とプローブとの結合が示唆される画像が観察された。

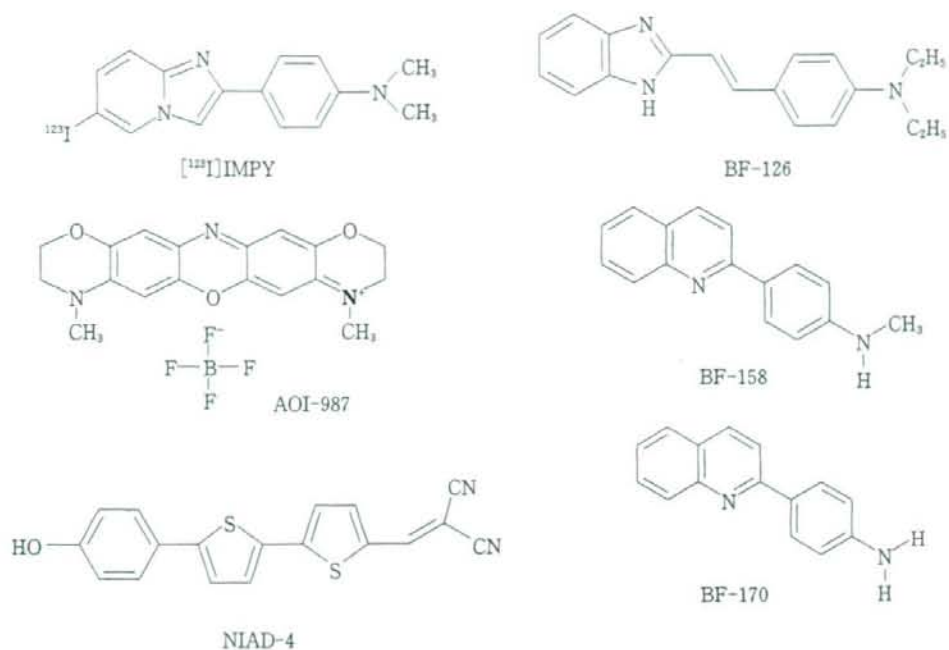


図3 アミロイドイメージング用に開発されたSPECTプローブ(IMPY)および近赤外線蛍光(NIRF)プローブ(AOI-987, NIAD-4), ならびにタウイメージング用に開発されたプローブ(BF-126, BF-158, BF-170)

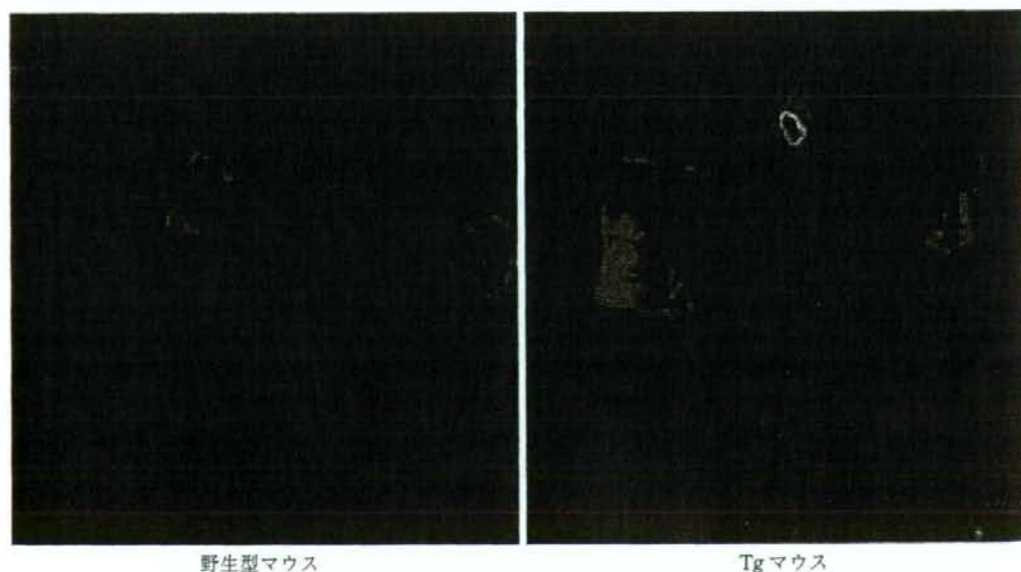


図4 TgマウスにA β 親和性近赤外線蛍光(NIRF)プローブを投与した際の蛍光イメージング

著者らが見いだしたNIRFプローブをA β 脳内蓄積Tgおよび野生型マウスに静脈内投与し、小動物用NIRFイメージング装置で撮影した。Tgマウス脳においてA β とプローブとの結合が示唆される画像が観察された。(提供: GEヘルスケアバイオサイエンス株式会社)

AD診断用NIRFプローブ開発の難しさは、従来のアミロイドイメージング用プローブの備えるべき特性に加えて、波長、量子収率、ストークスシフトなど、多くの克服すべき課題が存在することである。更に現状の蛍光イメージング装置は小動物用においてでさえも必ずしもプローブ開発者を満足させるレベルにはなく、プローブとともに診断装置の更なる進化も必要であることを痛感している。

しかし、将来のAD診断はその簡便さからNIRFプローブ・蛍光イメージング診断装置で最初のスクリーニングが行われ、疑わしい場合はPETプローブ・PETで診断という2段階になる可能性が高いと著者らは推測している。

4. タウイメージング用PETプローブ

AD患者脳内において特有の病理像を示す蛋白、すなわちA β (ないしは老人斑)と(過剰リン酸化)タウ蛋白(ないしは神経原線維変化)の両者は β シート構造をとるが、これまでA β を認識する、あるいはA β とタウ蛋白の両者を認識するプローブは数多く報告されているが、選択的にタウ蛋白を認識するプローブは著者らが見いだした化合物群(BF-126, BF-158, BF-

170)¹⁴⁾のみである(図3)。

タウイメージングはADの進行度ないしは重症度診断にはむしろアミロイドイメージングに勝る有用性を示すと予想されているが、臨床試験に供されたタウイメージング用PETプローブはいまだ報告されていない。

謝辞 著者らの研究には科学技術振興調整費、独立行政法人医薬基盤研究所の「保健医療分野における基礎研究推進事業」、厚生労働科学研究費補助金の「基礎研究成果の臨床応用推進研究事業」、同「長寿科学総合研究事業」、同「難治性疾患克服事業」、新エネルギー・産業技術総合開発機構(NEDO)産業技術研究助成事業の支援をいただきました。またBF研究所に出資していただきました医薬品医療機器総合機構および各社に感謝いたします。本研究には「平成16年度三井住友海上福祉財団研究助成金」、「ノバルティス老化および老年医学研究基金」、「アストラゼネカ・リサーチグラント」の支援をいただきました。最後に共同研究者の福祉村病院 長寿医学研究所 赤津裕康、山本孝之、東北大学医学部 老年/漢方内科 荒井啓行、同機能薬理学分野 谷内一彦諸先生、旧BF研究所アミロイドイメージング研究チームおよび現東北大学PETイメージング研究チームの同僚に感謝の意を表します。

■ 文 献

- 1) Zhuang ZP, et al: Radioiodinated styrylbenzenes and thioflavins as probes for amyloid aggregates. *J Med Chem* 44: 1905-1914, 2001.
- 2) Lockhart A, et al: Evidence for the presence of three distinct binding sites for the thioflavin T class of Alzheimer's disease PET imaging agents on beta-amyloid peptide fibrils. *J Biol Chem* 280: 7677-7684, 2005.
- 3) Tipe DN, et al: PET imaging of brain 5-HT1A receptors in rat in vivo with ¹⁸F-FCWAY and improvement by successful inhibition of radioligand defluorination with miconazole. *J Nucl Med* 47: 345-353, 2006.
- 4) Klunk WE, et al: Development of small molecule probes for the beta-amyloid protein of Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 15: 691-698, 1994.
- 5) Shoghi-Jadid K, et al: Localization of neurofibrillary tangles and beta-amyloid plaques in the brains of living patients with Alzheimer disease. *Am J Geriatr Psychiatry* 10: 24-35, 2002.
- 6) Klunk WE, et al: Imaging brain amyloid in Alzheimer's disease with Pittsburgh Compound-B. *Ann Neurol* 55: 306-319, 2004.
- 7) Verhoeff NP, et al: In-vivo imaging of Alzheimer disease beta-amyloid with [¹¹C]SB-13 PET. *Am J Geriatr Psychiatry* 12: 584-595, 2004.
- 8) Kudo Y, et al: 2-(2-[2-Dimethylaminothiazol-5-yl]ethenyl)-6-(2-[fluoro]ethoxy) benzoxazole: a novel PET agent for in vivo detection of dense amyloid plaques in Alzheimer's disease patients. *J Nucl Med* 48: 553-561, 2007.
- 9) Mathis CA, et al: Comparison of the amyloid imaging agents [F-18]3'-F-PIB and [C-11]PIB in

- Alzheimer's disease and control subjects. *J Nucl Med* 48(Suppl 2): 56, 2007.
- 10) Rowe CC, et al: First results from human studies of a novel F-18 PET ligand for brain β -amyloid imaging. *J Nucl Med* 48(Suppl 2): 57, 2007.
 - 11) Clark CM, et al: Imaging amyloid with ^{123}I IMPY SPECT. *Alzheimer's & Dementia* 2(Suppl 2): 342, 2006.
 - 12) Hintersteiner M, et al: In vivo detection of amyloid-beta deposits by near-infrared imaging using an oxazine-derivative probe. *Nat Biotechnol* 23: 577-583, 2005.
 - 13) Nesterov EE, et al: In vivo optical imaging of amyloid aggregates in brain: design of fluorescent markers. *Angew Chem Int Ed Engl* 44: 5452-5456, 2005.
 - 14) Okamura N, et al: Quinoline and benzimidazole derivatives: candidate probes for in vivo imaging of tau pathology in Alzheimer's disease. *J Neurosci* 25: 10857-10862, 2005.

III. 臨床編

アルツハイマー病の診断
新しい診断法の開発
アミロイドイメージング
PET

In vivo amyloid imaging using PET

岡村信行¹ 谷内一彦¹ 古川勝敏² 荒井啓行² 工藤幸司³

Key words : アルツハイマー病, 老人斑, アミロイドβ蛋白, positron emission tomography (PET)

はじめに

認知症の診断プロセスにおいて、脳内の器質性変化を正確に把握することは重要であり、その手段としての画像診断の役割は大きい。従来の画像診断では、萎縮や血流・代謝の低下を認知症診断の指標としてきた。これらは主として神経細胞の脱落を反映した変化である。軽度認知機能障害(MCI)以降の症状が顕在化した段階での診断には優れた指標となるが¹⁾、神経細胞の脱落が軽微な段階では、その検出力に限界がある。

アルツハイマー病(AD)では、神経細胞の脱落に先立って、アミロイドβ蛋白、タウ蛋白を主要構成成分とする老人斑、神経原線維変化の脳内沈着が出現する²⁾。これらは同時に疾患特異性の高い変化でもある。したがって、上記病理像を生体で非侵襲的に検出し得る検査こそが、ADを早期診断するうえで理想的な診断法となる。こうした理由から、アミロイドの脳内蓄積を非侵襲的に計測する画像診断法(アミロイドイメージング)が近年脚光を浴びるようになった。ここ数年の研究の進展により、ADの早期

診断におけるアミロイドイメージングの有用性が広く認知された。更に、MCIあるいは無症候段階における進行予測や、脳内のアミロイドβ蛋白蓄積量をモニタリングする新たな薬効評価系としても、その活用が強く期待されている。

そこで本稿では、近年進歩の著しいpositron emission tomography (PET)を用いたアミロイドイメージングについて紹介する。

1. アミロイドイメージング用プローブ

PETを用いてアミロイドを画像化するには、アミロイドのβシート構造に結合親和性を有する低分子化合物をポジトロン放出核種(¹¹Cあるいは¹⁸F)で標識し、これをプローブとして用いる³⁾。静脈から投与されたプローブが脳内へ移行し、老人斑に選択的に結合して局所からの排出が遅延する性質を利用して、プローブの結合した老人斑の脳内濃度を計測する。これまでに、¹⁸F]FDDNP、¹¹C]PIB、¹¹C]SB-13、¹¹C]BF-227などの複数のアミロイドイメージング用プローブが臨床応用されている。プローブの開発状況の詳細については本誌の工藤らの別稿を参照されたい。本稿ではPIBとBF-227

¹Nobuyuki Okamura, Kazuhiko Yanai: Department of Pharmacology, Tohoku University School of Medicine 東北大学大学院医学系研究科 機能薬理学分野 ²Katsutoshi Furukawa, Hiroyuki Arai: Department of Geriatrics and Gerontology 同 老年病態学分野 ³Yukitsuka Kudo: Tohoku University Biomedical Engineering Research Organization (TUBERO) 東北大学先進医工学研究機構

のPET所見を中心に述べる。

2. PIB

a. アルツハイマー病早期診断への応用

現在最も多くの施設で利用されているプローブは、 ^{11}C で標識されたPIB(正式名6OH-BTA-1)である。母化合物であるthioflavin Tと同様にAD脳内に蓄積した老人斑に選択的に結合する特性に加えて、高い脳血液関門透過性を有する⁴⁾。このPIBを用いてAD患者でPET検査を実施すると、大脳皮質領域を中心にPIBの顕著な集積が観察され、その集積分布はBraak and Braakが記載した老人斑の蓄積分布に一致する^{5,6)}。更にMCIの約半数の症例でもAD患者と同様の高集積が観察される^{6,7)}。これらの症例は既に老人斑の沈着が進行し、ADと同等の病理像を呈した‘AD発症予備群’と推測される。実際にMCIでPIB高集積を示した症例の多くがADに進行したとのpreliminaryな報告もあり、PIB-PETでMCIの予後予測ができる可能性は高い。

b. 非アルツハイマー型変性認知症での所見

PIBの異常集積を示す疾患はADには限定されず、レビー小体型認知症(DLB)の多くの症例でも集積上昇を認める。ただし、この集積上昇がレビー小体の沈着を反映しているとは考えにくい。in vitroでの検討では、PIBの α シヌクレインとの結合性は $\text{A}\beta$ に比して低いとされている⁸⁾。DLBにおけるPIBの集積分布はAD患者とほぼ共通しているため、むしろ併存する $\text{A}\beta$ 蓄積病変を反映した変化と考えられる⁹⁾。一方、前頭側頭葉型認知症(FTD)などのタウオパチーでは正常な集積像を示し、ADとの鑑別に有用である。またPIBは神経原線維変化への結合性も低く⁸⁾、辺縁系への神経原線維変化の蓄積を主体とする認知症の検出力は低いと予想される。

c. 発症前診断への応用は可能か

アミロイドイメージングに課された役割として、無症候例での老人斑沈着が検出可能か否かに注目が集まる。41人の認知機能正常例を対象とした検討¹⁰⁾では、うち4人でPIBの高集積が認められている。同症例では脳脊髄液中

$\text{A}\beta_{42}$ 濃度の低下も併せて観察されており¹⁰⁾、症状発現前の老人斑沈着を反映している可能性が高い。このような集積が、良性(正常加齢の範囲内)のものか、悪性(ADへの進行を示唆する老人斑の病的沈着)のものかを見極めることは現時点では難しい。今後、PET検査実施例を長期にフォローアップすることにより、結論が下される。

もう1点検証する必要があるのは、PET画像が老人斑の蓄積分布を本当に忠実に反映しているか否かという点である。これには病理と画像の対比研究が求められよう。最近PIB-PETを施行した症例の剖検結果が報告されている¹¹⁾。この症例は、DLBの臨床診断でありながら、生前のPET検査ではPIBの高集積が認められていた。病理でもDLBの診断が下されたが、 $\text{A}\beta$ の病理としては脳アミロイドアンギオパチーが顕著であった。老人斑の沈着はびまん性老人斑を主体とした軽微な変化にとどまっており、本症例では脳血管アミロイドの存在がPIBの集積に大きく関与していると考えられる。したがって、アミロイドイメージングにおける異常集積例に対しては、老人斑以外へのプローブの結合の可能性も念頭に置いた慎重な解釈が求められる。

3. BF-227

著者らはベンズオキサゾール誘導体がアミロイドイメージング用プローブの候補化合物になり得ることを見だし¹²⁾、その最適化化合物であるBF-227の臨床的有用性を検証している。[^{11}C]BF-227投与後20-40分のPET画像を観察すると、AD患者では大脳皮質領域で[^{11}C]BF-227の顕著な集積が確認できる(図1-a)。側頭葉におけるSUV対小脳比を算出すると、AD患者のほぼ全例で高値を示し、診断に有用である¹³⁾。更にSPM2ソフトウェアを用いて、健常者に比べてAD患者で有意な集積上昇のみられた脳領域を抽出した結果、側頭-頭頂葉領域を中心とする大脳皮質の広範な領域で集積上昇が確認された(図1-b)。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

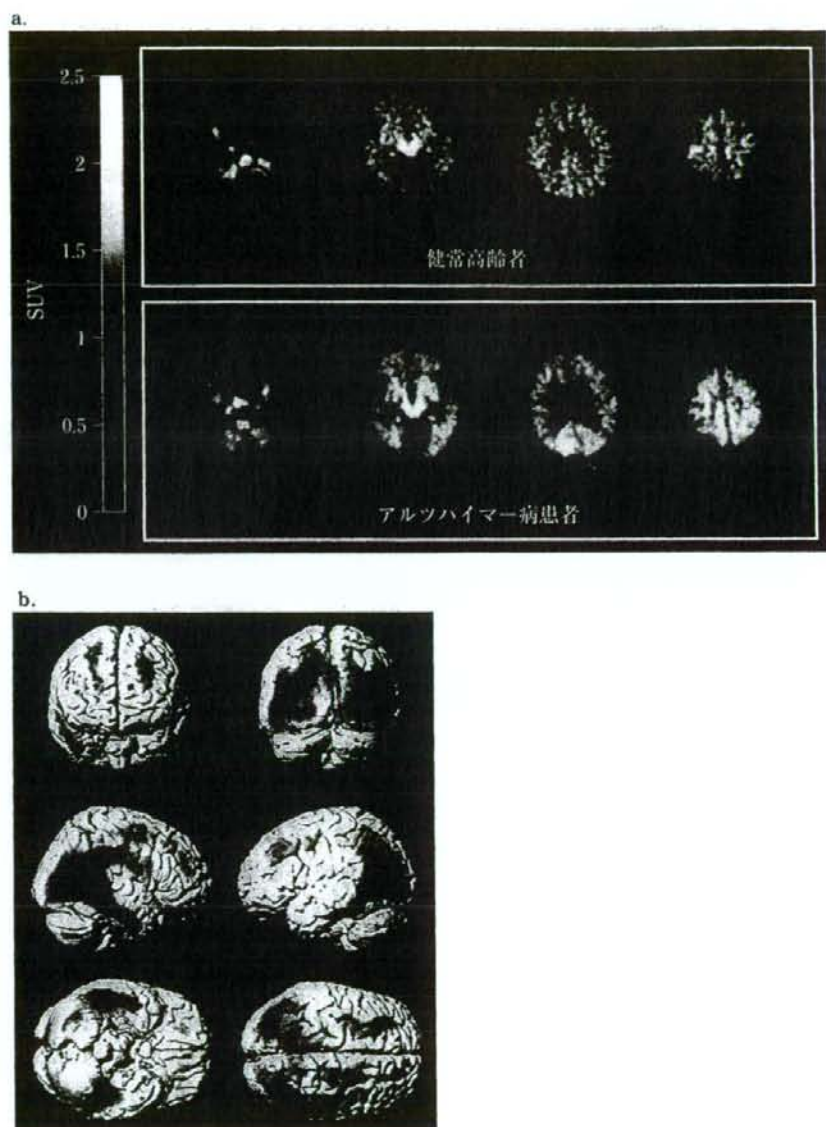


図1 $[^{11}\text{C}]\text{BF-227}$ 投与後 20-40 分の PET 画像(a), アルツハイマー病患者での集積上昇部位(b)

沈着分布に近く、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る。

MCIでは、PIBと同様、半数以上の症例で大脳皮質領域での集積上昇が観察されているが、健康高齢者と同程度の集積を示す症例も存在する。MCIが病理学的にはheterogeneousな集団であることを裏付ける所見といえる。また図2

に示すように、MCI症例におけるBF-227の集積上昇は、AD患者に比べれば相対的に軽度である。このことからMCI段階では、老人斑の脳内蓄積はまだ進行途上にあることが示唆される。

4. ^{18}F 標識プローブの開発状況

現在、PIBやBF-227などは半減期20分の

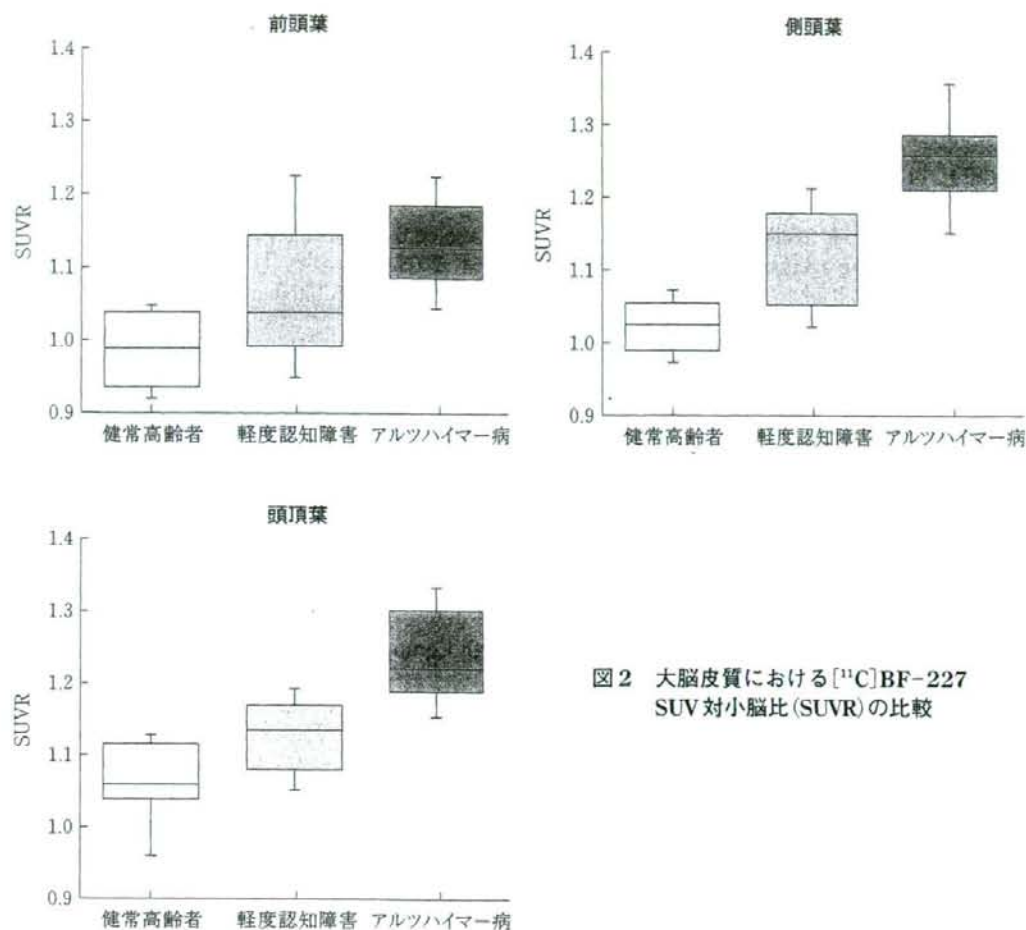


図2 大脳皮質における ^{11}C BF-227 SUV対小脳比(SUVR)の比較

^{11}C で標識されていることから、薬剤供給面での制約があり、検査実施可能な施設が限定されている。本検査の普及を図るには、放射性薬剤として供給できる ^{18}F (半減期 110分)で標識したPETプローブ、ないしはSPECT用に ^{123}I (半減期 13.2時間)で標識したプローブの実用化が望まれる。 ^{18}F 標識プローブとしては、FDDNPが既に実用化されているが¹⁴⁾、PIBなどと比べて、老人斑蓄積部位の非蓄積部位に対するコントラストが不良である。現在、PIB、SB-13の ^{18}F 標識体である ^{18}F 3'-F-PIB、 ^{18}F AV1の臨床評価が海外で進められており、良好な成績を収めている。著者らも新規 ^{18}F 標識プローブの臨床

評価へ向けて準備を進めており、PET診断用薬剤としての供給を目指している。

おわりに

アミロイドイメージング検査が広く普及すれば、今後多くの臨床施設で本検査が認知症の診断や治療評価のプロセスに組み込まれることになる。ただし、本検査が健常人のAD発症予測にどれほど信頼性の高い情報を提供できるのか、まだ十分なエビデンスが得られていない。今後、一般住民を対象とした大規模な長期フォローアップ研究を通じて、正常加齢と病的過程の線引きを行わねばならない。

■ 文 献

- 1) Chong MS, Sahadevan S: Preclinical Alzheimer's disease: diagnosis and prediction of progression. *Lancet Neurol* 4: 576-579, 2005.
- 2) Price JL, Morris JC: Tangles and plaques in nondemented aging and "preclinical" Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 45: 358-368, 1999.
- 3) Cai L, et al: Radioligand development for PET imaging of β -amyloid ($A\beta$)—current status. *Curr Med Chem* 14: 19-52, 2007.
- 4) Mathis CA, et al: Synthesis and evaluation of ^{11}C -labeled 6-substituted 2-arylbenzothiazoles as amyloid imaging agents. *J Med Chem* 46: 2740-2754, 2003.
- 5) Klunk WE, et al: Imaging brain amyloid in Alzheimer's disease with Pittsburgh Compound-B. *Ann Neurol* 55: 306-319, 2004.
- 6) Rowe CC, et al: Imaging β -amyloid burden in aging and dementia. *Neurology* 68: 1718-1725, 2007.
- 7) Lopresti BJ, et al: Simplified quantification of Pittsburgh Compound B amyloid imaging PET studies: a comparative analysis. *J Nucl Med* 46: 1959-1972, 2005.
- 8) Klunk WE, et al: The binding of 2-(4'-methylaminophenyl) benzothiazole to postmortem brain homogenates is dominated by the amyloid component. *J Neurosci* 23: 2086-2092, 2003.
- 9) Mintun MA, et al: [^{11}C]PIB in a nondemented population: potential antecedent marker of Alzheimer disease. *Neurology* 67: 446-452, 2006.
- 10) Fagan AM, et al: Inverse relation between in vivo amyloid imaging load and cerebrospinal fluid $A\beta_{42}$ in humans. *Ann Neurol* 59: 512-519, 2006.
- 11) Bacskai BJ, et al: Molecular imaging with Pittsburgh Compound B confirmed at autopsy: a case report. *Arch Neurol* 64: 431-434, 2007.
- 12) Okamura N, et al: Styrylbenzoxazole derivatives for in vivo imaging of amyloid plaques in the brain. *J Neurosci* 24: 2535-2541, 2004.
- 13) Kudo Y, et al: 2-(2-[2-Dimethylaminothiazol-5-yl]ethenyl)-6-(2-[fluoro]ethoxy) benzoxazole: a novel PET agent for in vivo detection of dense amyloid plaques in Alzheimer's disease patients. *J Nucl Med* 48: 553-561, 2007.
- 14) Small GW, et al: PET of brain amyloid and tau in mild cognitive impairment. *N Engl J Med* 355: 2652-2663, 2006.

アミロイドイメージング

岡村信行* 古本祥三[§] 工藤幸司[§]

人口の高齢化とともに急増するアルツハイマー病 (Alzheimer's disease: AD) への対策として、疾患を早期に発見し、治療する二次予防的アプローチの実現が待ち望まれている。そのためには、アミロイドβ蛋白 (Aβ) の蓄積を抑える根本的治療薬の開発に加えて、脳内 Aβ の沈着過程をモニタリングする新たな検査法の開発が、診断・治療評価の両面から求められる。このような要望にこたえる形で、近年、脳内アミロイドの生体での画像化 (アミロイドイメージング) が、ポジトロン断層撮影 (positron emission tomography: PET) を利用することで実現した。PET を用いたアミロイドイメージングでは、標的分子である老人斑 (neuritic plaque) への結合親和性にすぐれたプローブが必要とされる。同時にこのようなプローブは、高い脳血液関門透過性も求められる。そこで蛋白質の二次構造である β-pleated sheet 構造に結合親和性があり、分子量 300~400 程度の脂溶性の低分子化合物がプローブとして開発されてきた。これまでに Thioflavin-T 誘導体である [¹¹C] PIB のほか、[¹⁸F] FDDNP、[¹¹C] SB-13 などの複数の PET プローブが実用化されるに至っている (図 1)¹⁾。

われわれもプローブ候補化合物としてベンゾオキサゾール誘導体 (benzoxazole derivative) を見出し、その化合物群の一つである BF-227 を国産初の PET プローブとして臨床応用することに成功した²⁻³⁾。AD 患者では、脳内アミロイドとの結合を反映したプローブの特異的集積を大脳皮質領域で観察することができる (図 2)。側頭葉における SUV の対小脳比を算出すると、AD 患者のほぼ全例で上昇しており、健常高齢者と明瞭

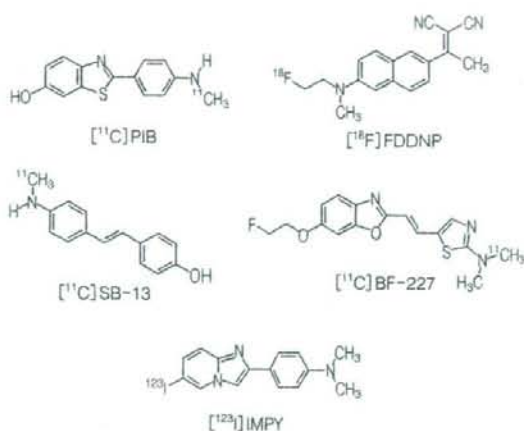


図 1. アミロイドイメージング用に開発されたプローブの化学構造式

に区別される。また軽度認知障害 (Mild cognitive impairment: MCI) の半数以上 (60~70%) の症例でも、大脳皮質領域における [¹¹C] BF-227 集積上昇がみられる (図 3)。この割合は、MCI 症例の中で AD へ進行する症例 (progressive MCI) の割合に近い⁴⁾。まだフォローアップ期間は短いものの、BF-227 PET 検査を実施した MCI 症例の中から、のちに AD へ進行した症例を数例確認することができた。こうした progressive MCI 症例のエントリー時の検査所見を調べると、全例で [¹¹C] BF-227 の集積上昇を認めるものの、他の検査所見 (FDG-PET や脳脊髄液マーカー) の結果にはばらつきがある。したがってアミロイドイメージングは、従来の診断マーカーよりも高精度に、MCI から AD へのコンバートを予測する検査法となる可能性が高い。

OKAMURA Nobuyuki, FURUMOTO Shozo, KUDO Yukitsuka/* 東北大学大学院医学系研究科機能薬理学分野, § 東北大学先進理工学研究機構高度情報通信分野

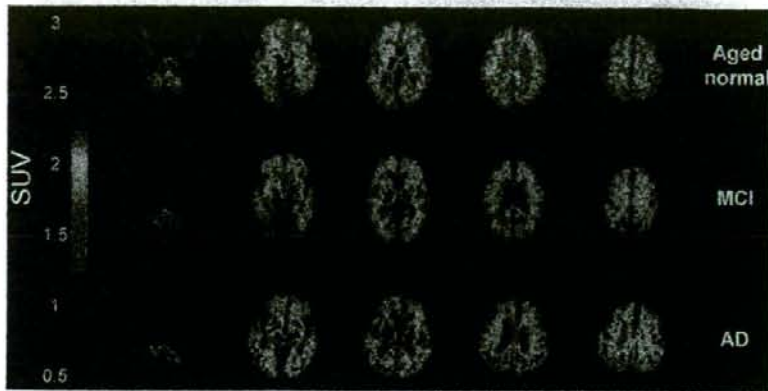


図 2. 健常高齢者 (Aged normal), 軽度認知障害 (MCI), アルツハイマー病患者 (AD) における $[^{11}\text{C}]$ BF-227 PET 画像 (投与後 20~40 分の SUV 加算画像)

ただし MCI 症例における BF-227 の集積の度合は、当初われわれが予想していたよりも軽度であり、多くの症例が AD 患者の平均値を下回るレベルにあった (図 3)。このことから、少なくとも MCI 段階においては、BF-227 の集積によって反映される老人斑の沈着量はまだプラトーには達していないと推定される。BF-227 は線維形成度の高い老人斑に結合しやすい特性をもつ。したがってわれわれの PET 所見は、 $\text{A}\beta$ 線維に富んだ老人斑の沈着量が増加する過程を捉えたものと考えられる。Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative (ADNI) プロジェクトによって、同一個人でのアミロイドイメージングを用いた縦断的評価が行われれば、これまでの後ろ向き (retrospective) な研究では解明しきれなかった老人斑沈着量の経時変化を把握することができるであろう。

アミロイドイメージングに課された最大の使命は、もの忘れ症状を主訴に来院した高齢者の中から、AD へ確実に進行する症例を見出し、早期治療へ導くことにある。将来、AD の根本的治療薬が臨床導入されれば、数百万人といわれる AD およびその予備群が、アミロイドイメージングによる確実な診断を求めて病院を訪れることが予想される。現在わが国で使われている ^{11}C 標識薬剤 (PIB, BF-227) を用いた PET 検査は、実施可能な臨床施設が限定され、上記ニーズを完全に満たすには不十分である。このような理由から、FDG と同様にデリバリー供給可能な ^{18}F 標識薬剤、あるいは単一光子放

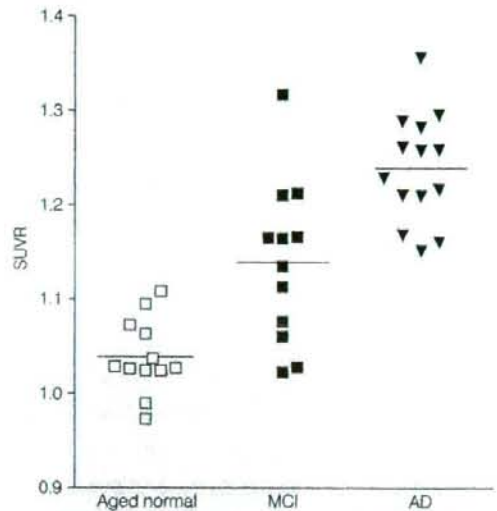


図 3. 健常高齢者 (Aged normal), 軽度認知障害 (MCI), アルツハイマー病患者 (AD) における $[^{11}\text{C}]$ BF-227 側頭葉 SUV 対小脳比 (SUVR) の比較

射断層撮影 (single photon emission computed tomography: SPECT) 用薬剤の実用化へ向けた臨床研究が現在進められている。

文 献

- 1) Nordberg A. Amyloid imaging in Alzheimer's disease. *Curr Opin Neurol* 20: 398-402, 2007
- 2) Sawada T, Okamura N, Suemoto T *et al*: Amyloid

- imaging *in vivo*. Alzheimer's Disease and Related Disorders : Research Advances, ed by Iqbal K, Winblad B, Ana Aslan International Academy of Aging, Bucharest, 2003, pp. 237-245
- 3) Kudo Y. Development of amyloid imaging PET probes for an early diagnosis of Alzheimer's disease. *Minim Invasive Ther Allied Technol* 15 : 209-213, 2006
- 4) Furumoto S, Okamura N, Iwata R *et al* : Recent advances in the development of amyloid imaging agents. *Curr Top Med Chem* 7 : 1773-1789, 2007
- 5) Okamura N, Furumoto S, Arai H *et al* : Imaging amyloid pathology in the living brain. *Curr Med Imaging Rev* 4 : 56-62, 2008
- 6) 荒井啓行 : 軽度認知機能障害と痴呆症の早期診断. 第125回日本医学会シンポジウム記録集 アルツハイマー病, 2003, pp.21-28

症状の進行はあるが 家族性CJD2例は2年以上生存

福岡大学神経内科学教室の坪井義夫准教授らは、2004年からヘパリン類似活性と強い抗プリオン作用を持つペントサンポリサルフェート(PPS)によるプリオン病(CJD)の治療を行っており、このほどその中間報告として「PrP遺伝子180番の変異を有する2例は発症から2年以上生存しており、ミオクロームス出現時期や無動無言までの期間がこれまでの報告よりもやや長い」との成績を発表した。

発症後平均生存期間は23.6か月

同教室では原則として右側脳室内にカテーテルを留置し、右腹部皮下に埋め込んだ微量持続注入ポンプから24時間一定量のPPSを脳室内に送り込む方法で、現在までにCJD患者11例(男性4例、女性7例、平均年齢64.9歳)の臨床試験を行っている。PPS投与量は少量から開始し、現在120 μ g/kg/日を維持量としている。

発症から治療開始までの期間は平均6.7か月、治療開始からの平均生存期間は16.9か月、発症からの平均生存期間は23.6か月で、日常生活の障害度を示すmodified Rankin Scale (mRS: Grade 1~6に分け6は死亡)は治療開始時点で平均3.5、現在は平均5.2である。5月21日現在で11例中7例が死亡している。

坪井准教授によると、MM1型の孤発性CJD(sCJD)症例は非常に進

行が早く、急速にmRSが悪化し、発症早期から治療を開始した場合でも効果は認められなかった。一方、緩徐に進行するMM2型のsCJDと思われる症例や家族性CJD(V180I)の2例はmRSが進んでいるものの、これまでの臨床報告と比べてもより長期に生存しており、治療にも反応している可能性があった(図)。

PPS治療の副作用として硬膜下水腫が11例中10例で見られたが、水腫による症状の悪化は認められなかった。また、PPSはヘパリン類似活性があるため、凝固異常や出血傾向が懸念されたが、今のところ認められていない。

PPS治療はまだまだ継続中だが、現在までのまとめとして同准教授は、PrP遺伝子180番の変異を有する2例は発症から2年以上生存していることを明らかにした。さらに、ミオクロームス出現時期や無動無言までの期間がこれまでの報告よりもやや長く、現在も治療継続中であるという。「症状の安定化、延命効果に関しては今後の経過の検討が必要」と述べた。

(図) PPS治療による臨床経過

