

Figure 1. Chemical structures of β -sheet binding agents.

FDDNP PET and [¹¹C]PIB PET showed lower specific binding of [¹⁸F]FDDNP in AD patients than that of [¹¹C]PIB [59]. However, marked differences in tracer distribution were observed between these tracers. Intriguingly, negligible PIB but strong FDDNP binding was in the medial temporal cortex of AD patients, suggesting higher binding affinity of FDDNP to NFTs than PIB [60].

At present, the most successful amyloid-binding agent is a thioflavin-T derivative, *N*-methyl-[¹¹C] 2-(4'-methylaminophenyl)-6-hydroxybenzothiazol ([¹¹C]PIB), which has been shown to possess a high affinity for A β fibrils [61,62]. An autoradiographic study using AD brain sections revealed that [¹¹C]PIB, in addition to binding to the classical fibrillar A β plaques, also binds to a range of A β -containing lesions, including diffuse plaques and cerebrovascular amyloid angiopathy [63]. Micro-PET evaluations in transgenic mice models of AD were performed with a high specific activity [¹¹C]PIB, showing [¹¹C]PIB retention colocalizing with plaques [64]. It was also reported that PIB preferentially binds one kind of the N-terminal truncated A β 1-42(43) species in senile plaques, more specifically, the one truncated at position three (A β 3(pE)), displaying a fivefold higher affinity for A β 3(pE)1-42(43) than for A β 1-42(43). This is relevant because the accelerated formation of plaques seems

to be associated with this A β 3(pE)1-42(43) species [65]. *In vitro* binding studies indicated that PIB preferentially binds to A β 1-42 fibrils with high affinity [61]. Positive PIB staining of DLB brain sections colocalized with immunoreactive A β plaques, but failed to stain Lewy bodies, whereas image quantification analysis suggested that given the small size and low density of Lewy bodies within the brains of DLB subjects, any contribution of Lewy bodies to the [¹¹C]PIB PET signal would be negligible [66]. In a similar way as with α -synuclein fibrils, PIB binds to NFTs with a comparatively lower affinity than A β [63], further confirming that the *in vivo* PIB cortical uptake primarily reflects A β -related cerebral amyloidosis.

[¹¹C]PIB retention can be quantified through binding potential (BP), distribution volume ratios (DVR) or, semi-quantitatively, through standardized uptake value ratios (SUVR). DVR can be calculated through Logan graphical analysis of dynamic PET data and either using metabolite-corrected arterial plasma as input function or the radioactivity in the cerebellar cortex – a region generally devoid of SPs – as a reference region. Quantitative assessment of PIB retention was validated by studies performed in controls, MCI and AD patients [67,68]. These studies showed that DVR of PIB in AD patients was nearly twice that in controls in the neocortex.

The quantitative DVR measurement based on arterial input function is generally considered as the gold standard; however, the semiquantitative SUVR method without arterial blood sampling is widely used as a simple approach to estimate A β burden. Comparison of several quantitative and semiquantitative methods showed that the SUVR approach was the most robust in terms of test–retest variability and maximum effect size between AD patients and controls [68]. However, disadvantages of the SUVR include inherent bias and potential for time-varying outcomes. A recent report selected the 50 – 70 min post-injection time window for SUVR measurement in PIB-PET as the best compromise between physiologic validity, agreement of outcomes and study feasibility [69]. Cerebral atrophy can cause underestimation of PET measurements. Thus, the failure to account for the effect of partial-volume effects in brains with expanded sulci has contributed to the confounding results in functional imaging studies of ageing and dementia [70]. A recent study indicated that partial volume correction led to a small positive bias, but did not affect discriminatory performance between AD patients and controls [71]. However, partial volume correction is paramount in the analysis of patients with severe cerebral atrophy.

[¹¹C]PIB PET studies in human subjects have shown a robust difference between the retention pattern in AD patients and healthy controls, with AD cases showing a significantly higher retention of [¹¹C]PIB in the neocortical areas of the brain affected by A β deposition [72,73]. The [¹¹C]PIB retention in the neocortical areas is correlated with the A β plaque load (Figure 2) [74–76]. Most of frontotemporal dementia cases show no increase in PIB retention. By contrast, ~ 80% of DLB cases showed abnormal PIB DVR values in the neocortex [73]. [¹¹C]PIB DVR values in the neocortex are also higher in DLB patients than in cases of PD with dementia (PDD) [77]. The differential amyloid load of DLB and PDD suggests that these clinically similar conditions can be differentiated on the basis of amyloid deposition. The uptake of [¹¹C]PIB in the brain is also elevated in subjects diagnosed with cerebrovascular amyloid angiopathy and shows a similar distribution as in AD cases [78]. [¹¹C]PIB binding in the brain is correlated with the rate of cerebral atrophy in AD subjects [79], and with decreased cerebrospinal fluid (CSF) A β 1–42 in both demented and non-demented subjects [80]. Multimodality studies in early AD patients have shown that the A β deposition correlates with atrophy and metabolism reduction in posterior cortical regions [81]. Also, this deposition is inversely correlated with the activation of language centers, leading to a functional reorganization of the language system [82]. Intriguingly, ~ 30% of the healthy control subjects showed a cortical binding of [¹¹C]PIB, predominantly in the prefrontal cortex and the posterior cingulate/precuneus areas, with some of them displaying the same degree of retention as observed in AD subjects [73,83,84]. Approximately 20 – 30% of healthy, age-matched subjects showed elevated BP values, predominantly in the prefrontal and posterior cingulate cortices [73,83]. The demonstration

of [¹¹C]PIB binding in a proportion of elderly normal subjects supports the post-mortem observation that the A β aggregation occurs predominantly before the onset of dementia [48]. However, there is at present no evidence of how many PIB-positive normal individuals will develop dementia or how long the interval is between the detection of significant A β burdens and the onset of dementia. Longitudinal studies are needed to elucidate the relation between amyloid deposition and time course of AD.

Amnesic MCI is considered a prodromal state of AD, though not all individuals with MCI will develop AD; MCI converters and non-converters are difficult to distinguish prospectively from a clinical and neuropsychological perspective. Analysis of PIB-PET images in MCI subjects revealed a bimodal distribution of PIB retention in the neocortex. About two-thirds of MCI cases showed neocortical PIB retention similar in distribution (and sometimes in degree) to AD, whereas the other third of MCI cases showed no cortical retention, similar to healthy elderly individuals [73,85,86]. A recent study demonstrated higher PIB retention in MCI converters than in non-converters, suggesting the utility of amyloid imaging in the prediction of progression to dementia [86]. Comparison of FDG-PET and PIB-PET demonstrated better group discrimination in non-amnesic and amnesic MCI subjects by PIB-PET [71]. A direct comparison of MRI with PIB-PET was also performed in the control, MCI and AD populations [87]. The voxel-by-voxel comparisons of AD versus control patients revealed differences in the topographical distribution of amyloid deposition and in grey matter loss, suggesting that these two imaging strategies provide complementary information about AD pathology.

Longitudinal assessment of PIB retention is potentially useful for the assessment of treatment efficacy of anti-amyloid therapies. Two serial PIB-PET studies demonstrated that AD patients showing cognitive decline and deterioration of cerebral glucose metabolism were stable in neocortical PIB retention over 2 years and an overall change in neocortical PIB retention of AD patients was below the test–retest reproducibility (3 – 7%) for PIB-PET [88,89]. Jack *et al.* recently demonstrated the dissociation between PIB rate of change and annual change in brain atrophy as measured by MRI [90]. They demonstrated that PIB retention proceeds at a constant slow rate whereas the atrophy rate in MRI accelerates during the course of AD. In addition, clinical symptoms of AD were closely associated with the rate of atrophy as measured by MRI, but not to the rate of A β deposition as measured by PIB-PET. From these results, it can be speculated that amyloid deposition reaches a plateau before the presentation of dementia and its slow increase does follow a parallel course with the clinical progression of AD.

Although SPECT studies with ¹²³I-labeled 6-iodo-2-(49-dimethylamino-) phenyl-imidazo[1,2- α]pyridine (IMPY) and its derivatives have not yet fulfilled their potential as amyloid-imaging probes [91], other promising candidates for amyloid-imaging agents can be found among stilbene and

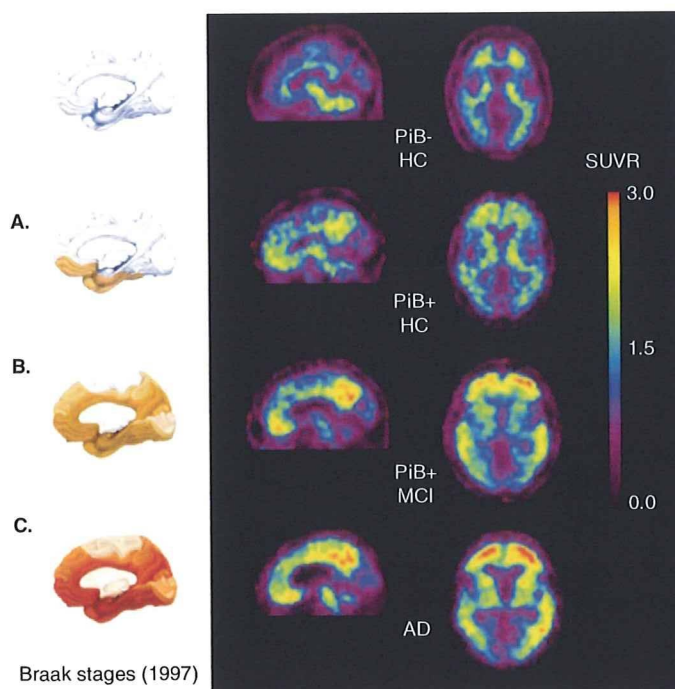


Figure 2. Representative sagittal and transaxial positron emission tomography images showing the different regional uptake of [^{11}C]PIB in two asymptomatic healthy age-matched controls (PiB-negative HC and PiB-positive HC), a participant with mild cognitive impairment (MCI) and a participant with Alzheimer's disease (AD) (right), along with schematics showing the stages of A β deposition in the human brain as proposed by Braak and Braak (1997) (left).

Braak, H., & Braak, E. (1997). Frequency of stages of Alzheimer-related lesions in different age categories. *Neurobiology of Aging*, 18(4), 351-357.
AD: Alzheimer's disease; SUVR: Standardized uptake value ratios.

styrylpyridine derivatives [92]. In an early clinical study, the ^{11}C -labeled stilbene derivative 4-*N*-methylamino-4'-hydroxystilbene (SB-13) demonstrated an abnormal tracer uptake in the AD brain [93]. Benzoxazole derivatives are also promising alternatives for amyloid-imaging probes [94]. A PET study using the ^{11}C -labeled benzoxazole derivative 2-(2-[2-dimethylaminothiazol-5-yl]ethenyl)-6-(2-[fluoro]ethoxy) benzoxazole (BF-227) demonstrated the retention of this tracer in cerebral cortices of AD patients, but not in those of healthy elderly subjects. AD patients were clearly distinguishable from healthy elderly individuals using neocortical uptake of [^{11}C]BF-227 [95]. A voxel-by-voxel analysis demonstrated a higher retention of [^{11}C]BF-227 in the posterior association cortex of AD patients. The pattern of this distribution corresponds well with the distribution of neuritic plaque depositions in post-mortem AD brains. These findings suggest that [^{11}C]BF-227 is a promising PET probe for *in vivo* detection of dense amyloid deposits in AD patients.

Owing to the limited half-life of ^{11}C (20.4 min), the use of ^{11}C -labeled agents is limited to facilities with an on-site cyclotron. ^{18}F has a much longer radioactive half-life (109.7 min) than ^{11}C , allowing A β imaging at PET centers without on-site cyclotrons. There are two major difficulties in developing

^{18}F -labeled PET agents: fluorination increases lipophilicity, resulting in slower clearance from myelin-rich brain structures such as white matter, and incorrect labeling with ^{18}F sometimes leads to defluorination and ^{18}F accumulation in bone. A recent PET study using the ^{18}F -labeled stilbene derivative *trans*-4-(*N*-methylamino)-4'-{2-[2-(^{18}F)fluoro-ethoxy]-ethoxy}-stilbene (BAY94-9172) showed widespread neocortical retention in AD patients [96]. The binding of [^{18}F]BAY94-9172 matched the histopathological distribution of amyloid plaques in AD and clearly discriminated between AD and healthy controls. This tracer provides images of similar appearance to [^{11}C]PIB PET without the inherent limitation of the 20 min half-life.

6. Expert opinion

AD and many other neurodegenerative disorders, including FTD, progressive supranuclear palsy, corticobasal degeneration, PD, DLB, multiple system atrophy and prion disease, belong to the family of protein misfolding diseases, characterized by protein self-aggregation and deposition (Table 2). The tissue deposits observed in the brains of these diseases usually contain an enriched β -sheet structure, suggesting a potential target for

Table 2. Protein misfolding diseases and their fibrillar deposits.

Protein	Fibrillar deposits	Diseases
Amyloid β	Senile plaque Cerebrovascular amyloid	Alzheimer's disease Down's syndrome Cerebral amyloid angiopathy
Tau	Neurofibrillary tangle Pick body Tufted astrocytes Astrocytic plaque	Alzheimer's disease Frontotemporal lobar degeneration Progressive supranuclear palsy Corticobasal degeneration
α -Synuclein	Lewy body Glial cytoplasmic inclusions	Parkinson's disease Dementia with Lewy bodies Multiple system atrophy
Prion	Prion plaque	Creutzfeldt-Jakob disease Variant Creutzfeldt-Jakob disease Gerstmann-Sträussler-Scheinker disease
TDP-43	Neuronal cytoplasmic inclusion Neuronal intranuclear inclusion Skein-like inclusion	Frontotemporal lobar degeneration Amyotrophic lateral sclerosis Guam parkinsonism-dementia complex

Table 3. Comparison of positron emission tomography and near-infrared fluorescence imaging.

	PET imaging	Near-infrared fluorescence imaging
Amount of probe required	Low (nanograms per body)	High (micrograms to milligrams per body)
Spatial resolution	High (several millimeters)	Low (depending on the depth of object)
Time resolution	Low (min)	High (sec)
Quantitativity	High (absolute quantitation)	Low (relative quantitation)
Measurable depth range	No limit (whole brain)	Limited (< 10 cm)
Invasiveness	Yes (radiation exposure)	No
Cost of imaging devices	High (several million US\$)	Low (tens or hundreds of thousands US\$)

non-invasive imaging by β -sheet binding agents. Thus, molecular PET imaging has the potential to be extended to this wide spectrum of protein misfolding diseases. Specifically, an *in vivo* imaging technique for aggregated tau proteins is most needed because NFTs as well as SPs are the major hallmarks in the pathology of AD. Neuropathological studies suggest that the loss of neuronal function and disease severity are more closely correlated to the density of NFTs than to the density of SPs. Furthermore, the deposition of NFTs also starts before the presentation of clinical symptoms in AD [48]. Even in the very early stages of AD, patients display a considerable number of NFTs in the entorhinal cortex and the hippocampus, sufficient for the neuropathological diagnosis of AD. Prevention of NFT formation

is thus an important target of anti-dementia drugs. The inhibition of abnormal tau hyperphosphorylation, its aggregation, and the direct stabilization of microtubules appear to be promising therapeutic strategies in AD [95]. Thus, the non-invasive evaluation of tau pathology would not only assist in the early diagnosis of AD and other tauopathies, but also facilitate the monitoring of the efficacy of such new treatments. Although FDDNP-PET is reported to detect both A β and tau pathologies in the AD brain [56-58], no surrogate markers are available for selectively evaluating the deposition of NFTs. Selective tau imaging agents for PET and SPECT are still in the development stage [97]. Prion proteins are another target of β -sheet binding agents. Actually, A β binding agents have shown a high binding affinity to prion amyloid deposits because these prion deposits share the common secondary β -sheet structure with brain A β deposits in the AD. Therefore, existing β -sheet binding agents would be useful for the *in vivo* detection of prion amyloid plaques in the brain. A clinical PET study using FDDNP and PIB in familial Creutzfeldt-Jacob disease (CJD) patients with a PrP gene mutation [98] showed a moderate retention of FDDNP and no retention of PIB in the brain, suggesting that FDDNP has a greater binding affinity for prion amyloid plaques than PIB. Similar lack of PIB retention was reported for two cases of autopsy-confirmed sporadic CJD [99]. For an early and accurate diagnosis of prion disease, agents that can sensitively detect prion amyloid deposits should be explored further.

Near-infrared fluorescence imaging is expected to have a major impact in molecular A β imaging, as an alternative to PET. A study using a near-infrared fluorescence oxazine dye, AO1987, has successfully demonstrated the *in vivo* detection of amyloid plaques in the mouse brain using near-infrared fluorescence imaging [100]. For imaging

amyloid in the brain, near-infrared fluorescence probes are required to have a long wavelength (> 600 nm), enough to penetrate the body tissue, and highly selective binding to A β . The major limitations of near-infrared fluorescence imaging are the low spatial resolution, the low quantitative ability and the limited measurable depth range (Table 3). However, the greatest benefit of near-infrared fluorescence imaging is the relatively lower cost of the imaging devices than in PET imaging. This technique is potentially useful for the screening of amyloid deposition in the population that has a risk of developing dementia.

Molecular imaging is a powerful tool for understanding the pathophysiology of AD. *In vivo* detection of amyloid plaques enables the detection of AD patients in their early stage. Clinical application of tau-specific ligands will contribute towards improved differential diagnosis of dementia and monitoring the severity of tau pathology in

the brain. These imaging techniques and forthcoming anti-dementia therapy will contribute to the eradication of AD in the future.

Declaration of interest

This study was partially supported by the Special Coordination Funds for Promoting Science and Technology, the Program for the Promotion of Fundamental Studies in Health Science by the National Institute of Biomedical Innovation, the Industrial Technology Research Grant Program from the New Energy and Industrial Technology Development Organization (NEDO) of Japan, the Health and Labor Sciences Research Grants for Translational Research from the Japanese Ministry of Health, Labor, and Welfare, a JST grant on research and education in molecular imaging, and NHMRC project grant 509166.

Bibliography

- Minoshima S, Giordani B, Berent S, et al. Metabolic reduction in the posterior cingulate cortex in very early AD. *Ann Neurol* 1997;42:85-94
- Matsuda H. Role of neuroimaging in Alzheimer's disease, with emphasis on brain perfusion SPECT. *J Nucl Med* 2007;48:1289-300
- Herholz K, Schopphoff H, Schmidt M, et al. Direct comparison of spatially normalized PET and SPECT scans in Alzheimer's disease. *J Nucl Med* 2002;43:21-6
- Reiman EM, Caselli RJ, Yun LS, et al. Preclinical evidence of Alzheimer's disease in persons homozygous for the epsilon 4 allele for apolipoprotein E. *N Engl J Med* 1996;334:752-8
- Silverman DH, Small GW, Chang CY, et al. Positron emission tomography in evaluation of dementia: regional brain metabolism and long-term outcome. *JAMA* 2001;286:2120-7
- McKeith IG, Galasko D, Kosaka K, et al. Consensus guidelines for the clinical and pathologic diagnosis of dementia with Lewy bodies (DLB): report of the consortium on DLB international workshop. *Neurology* 1996;47:1113-24
- McKeith I, Mintzer J, Aarsland D, et al. International psychogeriatric association expert meeting on DLB: Dementia with Lewy bodies. *Lancet Neurol* 2004;3:19-28
- Donnemiller E, Heilmann J, Wenning GK, et al. Brain perfusion scintigraphy with 99mTc-HMPAO or 99mTc-ECD and 123I-beta-CIT single-photon emission tomography in dementia of the Alzheimer-type and diffuse Lewy body disease. *Eur J Nucl Med* 1997;24:320-5
- Hanyu H, Shimizu S, Hirao K, et al. Differentiation of dementia with Lewy bodies from Alzheimer's disease using mini-mental state examination and brain perfusion SPECT. *J Neurol Sci* 2006;250:97-102
- Mosconi L, Tsui WH, Herholz K, et al. Multicenter standardized 18F-FDG PET diagnosis of mild cognitive impairment, Alzheimer's disease, and other dementias. *J Nucl Med* 2008;49:390-8
- Foster NL, Heidebrink JL, Clark CM, et al. FDG-PET improves accuracy in distinguishing frontotemporal dementia and Alzheimer's disease. *Brain* 2007;130:2616-35
- Heiss WD, Herholz K. Brain receptor imaging. *J Nucl Med* 2006;47:302-12
- Small GW, Bookheimer SY, Thompson PM, et al. Current and future uses of neuroimaging for cognitively impaired patients. *Lancet Neurol* 2008;7:161-72
- Bohnen NI, Frey KA. Imaging of cholinergic and monoaminergic neurochemical changes in neurodegenerative disorders. *Mol Imaging Biol* 2007;9:243-57
- Whitehouse PJ, Price DL, Clark AW, et al. Alzheimer disease: evidence for selective loss of cholinergic neurons in the nucleus basalis. *Ann Neurol* 1981;10:122-6
- Fishman EB, Siek GC, MacCallum RD, et al. Distribution of the molecular forms of acetylcholinesterase in human brain: alterations in dementia of the Alzheimer type. *Ann Neurol* 1986;19:246-52
- Perry EK, Tomlinson BE, Blessed G, et al. Correlation of cholinergic abnormalities with senile plaques and mental test scores in senile dementia. *BMJ* 1978;25:1457-9
- Bartus RT, Dean RL, Beer B, et al. The cholinergic hypothesis of geriatric memory dysfunction. *Science* 1982;30:408-14
- Giacobini E. Cholinesterases and cholinesterase inhibitors. London: Taylor & Francis Group, 2000
- Kilbourn MR, Snyder SE, Sherman PS, et al. In vivo studies of acetylcholinesterase activity using a labeled substrate, n-[C-11]methylpiperidin-4-yl propionate ([C-11]PMP). *Synapse* 1996;22:123-31
- Iyo M, Namba H, Fukushi K, et al. Measurement of acetylcholinesterase by positron emission tomography in the brains of healthy controls and patients with Alzheimer's disease. *Lancet* 1997;349:1805-9
- Kuhl DE, Koeppe RA, Minoshima S, et al. In vivo mapping of cerebral acetylcholinesterase activity in aging and Alzheimer's disease. *Neurology* 1999;52:691-9
- Shimada H, Hirano S, Shinotoh H, et al. Mapping of brain acetylcholinesterase alterations in Lewy body disease by PET. *Neurology* 2009; doi:10.1212/WNL.0b013e3181ab2b58
- Sugimoto H, Ogura H, Arai Y, et al. Research and development of donepezil hydrochloride, a new type of

Advances in molecular imaging for the diagnosis of dementia

- acetylcholinesterase inhibitor. *Jpn J Pharmacol* 2002;89:7-20
25. Okamura N, Funaki Y, Tashiro M, et al. In vivo visualization of donepezil binding in the brain of patients with Alzheimer's disease. *Br J Clin Pharmacol* 2008;65:472-9
 26. Shinotoh H, Aotsuka A, Fukushi K, et al. Effect of donepezil on brain acetylcholinesterase activity in patients with AD measured by PET. *Neurology* 2001;56:408-10
 27. Villemagne VL, Musachio JL, Scheffel U. Neuronal nicotinic receptors: pharmacology and therapeutic opportunities. New York: John Wiley & Sons, 1998
 28. Nordberg A, Hartvig P, Lilja A, et al. Nicotine receptors in the brain of patients with Alzheimer's disease. Studies with ¹¹C-nicotine and positron emission tomography. *Acta Radiol Suppl* 1991;376:165-6
 29. Horti AG, Villemagne VL. The quest for Eldorado: development of radioligands for in vivo imaging of nicotinic acetylcholine receptors in human brain. *Curr Pharm Des* 2006;12:3877-900
 30. Ellis JR, Villemagne VL, Nathan PJ, et al. Relationship between nicotinic receptors and cognitive function in early Alzheimer's disease: a 2-[¹⁸F]fluoro-A-85380 PET study. *Neurobiol Learn Mem* 2008;90:404-12
 31. Koch HJ, Haas S, Jurgens T. On the physiological relevance of muscarinic acetylcholine receptors in Alzheimer's disease. *Curr Med Chem* 2005;12:2915-21
 32. Wess J, Eglén RM, Gautam D. Muscarinic acetylcholine receptors: mutant mice provide new insights for drug development. *Nat Rev Drug Discov* 2007;6:721-33
 33. Eckelman WC. Imaging of muscarinic receptors in the central nervous system. *Curr Pharm Des* 2006;12:3901-13
 34. Donnemiller E, Heilmann J, Wenning GK, et al. Brain perfusion scintigraphy with ^{99m}Tc-HMPAO or ^{99m}Tc-ECD and ¹²³I-beta-CIT single-photon emission tomography in dementia of the Alzheimer type and diffuse Lewy body disease. *Eur J Nucl Med* 1997;24:320-5
 35. O'Brien JT, Colloby S, Fenwick J, et al. Dopamine transporter loss visualized with FP-CIT SPECT in the differential diagnosis of dementia with Lewy bodies. *Arch Neurol* 2004;61:919-25
 36. Hu XS, Okamura N, Arai H, et al. ¹⁸F-fluorodopa PET study of striatal dopamine uptake in the diagnosis of dementia with Lewy bodies. *Neurology* 2000;55:1575-7
 37. Tatsch K. Imaging of the dopaminergic system in differential diagnosis of dementia. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2008;35(Suppl 1):S51-7
 38. Watanabe H, Ieda T, Katayama T, et al. Cardiac ¹²³I-meta-iodobenzylguanidine (MIBG) uptake in dementia with Lewy bodies: comparison with Alzheimer's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2001;70:781-3
 39. Yoshita M, Taki J, Yokoyama K, et al. Value of ¹²³I-MIBG radioactivity in the differential diagnosis of DLB from AD. *Neurology* 2006;66:1850-4
 40. Venetis S, Lopresti BJ, Wiley CA. The peripheral benzodiazepine receptor (Translocator protein 18kDa) in microglia: from pathology to imaging. *Prog Neurobiol* 2006;80:308-22
 41. Cagnin A, Brooks DJ, Kennedy AM, et al. In-vivo measurement of activated microglia in dementia. *Lancet* 2001;358:461-7
 42. Edison P, Archer HA, Gerhard A, et al. Microglia, amyloid, and cognition in Alzheimer's disease: An [¹¹C](R) PK11195-PET and [¹¹C]PIB-PET study. *Neurobiol Dis* 2008;32:412-9
 43. Okello A, Edison P, Archer HA, et al. Microglial activation and amyloid deposition in mild cognitive impairment: a PET study. *Neurology* 2009;72:56-62
 44. Wiley CA, Lopresti BJ, Venetis S, et al. Carbon ¹¹-labeled Pittsburgh Compound B and carbon ¹¹-labeled (R)-PK11195 positron emission tomographic imaging in Alzheimer disease. *Arch Neurol* 2009;66:60-7
 45. Doorduyn J, de Vries EF, Dierckx RA, et al. PET imaging of the peripheral benzodiazepine receptor: monitoring disease progression and therapy response in neurodegenerative disorders. *Curr Pharm Des* 2008;14:3297-315
 46. Vickers JC, Dickson TC, Adlard PA, et al. The cause of neuronal degeneration in Alzheimer's disease. *Prog Neurobiol* 2000;60:139-65
 47. Hardy J, Selkoe DJ. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics. *Science* 2002;297:353-6
 48. Price JL, Morris JC. Tangles and plaques in nondemented aging and 'preclinical' Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 1999;45:358-68
 49. Masters CL, Beyreuther K. Alzheimer's centennial legacy: prospects for rational therapeutic intervention targeting the Abeta amyloid pathway. *Brain* 2006;129:2823-39
 50. Villemagne VL, Ng S, Cappai R, et al. La Lunga Attesa: towards a molecular approach to neuroimaging and therapeutics in Alzheimer's disease. *Neuroradiol J* 2006;19:51-75
 51. Klunk WE, Debnath ML, Pettegrew JW. Chrysamine-G binding to Alzheimer and control brain: autopsy study of a new amyloid probe. *Neurobiol Aging* 1995;16:541-8
 52. Skovronsky DM, Zhang B, Kung MR, et al. In vivo detection of amyloid plaques in a mouse model of Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000;97:7609-14
 53. Zhuang ZR, Kung MR, Hou C, et al. Radioiodinated styrylbenzenes and thioflavins as probes for amyloid aggregates. *J Med Chem* 2001;44:1905-14
 54. Link CD, Johnson CJ, Fonte V, et al. Visualization of fibrillar amyloid deposits in living, transgenic *Caenorhabditis elegans* animals using the sensitive amyloid dye, X-34. *Neurobiol Aging* 2001;22:217-26
 55. Klunk WE, Bacskaí BJ, Mathis CA, et al. Imaging Aβ plaques in living transgenic mice with multiphoton microscopy and methoxy-X04, a systemically administered Congo red derivative. *J Neuropath Exp Neurol* 2002;61:797-805
 56. Agdeppa ED, Kepe V, Liu J, et al. Binding characteristics of radiofluorinated 6-dialkylamino-2-naphthylethylidene derivatives as positron emission tomography imaging probes for beta-amyloid plaques in Alzheimer's disease. *J Neurosci* 2001;21:RC189
 57. Barrio JR, Kepe V, Satyamurthy N, et al. Amyloid and tau imaging, neuronal losses and function in mild cognitive impairment. *J Nutr Health Aging* 2008;12:61S-5S
 58. Small GW, Kepe V, Ercoli LM, et al. PET of brain amyloid and tau in mild cognitive impairment. *N Engl J Med* 2006;355:2652-63

59. Tolboom N, Yaqub M, van der Flier WM, et al. Detection of Alzheimer pathology in vivo using both 11C-PIB and 18F-FDDNP PET. *J Nucl Med* 2009;50:191-7
60. Shin J, Lee SY, Kim SH, et al. Multitracer PET imaging of amyloid plaques and neurofibrillary tangles in Alzheimer's disease. *Neuroimage* 2008;43:236-44
61. Klunk WE, Wang Y, Huang GF, et al. The binding of 2-(4'-methylaminophenyl) benzothiazole to postmortem brain homogenates is dominated by the amyloid component. *J Neurosci* 2003;23:2086-92
62. Mathis CA, Wang Y, Holt DP, et al. Synthesis and evaluation of 11C-labeled 6-substituted 2-arylbenzothiazoles as amyloid imaging agents. *J Med Chem* 2003;46:2740-54
63. Lockhart A, Lamb JR, Osredkar T, et al. PIB is a non-specific imaging marker of amyloid-beta (A β) peptide-related cerebral amyloidosis. *Brain* 2007;130:2607-15
64. Maeda J, Ji B, Irie T, et al. Longitudinal, quantitative assessment of amyloid, neuroinflammation, and anti-amyloid treatment in a living mouse model of Alzheimer's disease enabled by positron emission tomography. *J Neurosci* 2007;27:10957-68
65. Harigaya Y, Saido TC, Eckman CB, et al. Amyloid beta protein starting pyroglutamate at position 3 is a major component of the amyloid deposits in the Alzheimer's disease brain. *Biochem Biophys Res Commun* 2000;276:422-7
66. Fodero-Tavoletti MT, Smith DP, et al. In vitro characterization of Pittsburgh compound-B binding to Lewy bodies. *J Neurosci* 2007;27:10365-71
67. Price JC, Klunk WE, Lopresti BJ, et al. Kinetic modeling of amyloid binding in humans using PET imaging and Pittsburgh Compound-B. *J Cereb Blood Flow Metab* 2005;25:1528-47
68. Lopresti BJ, Klunk WE, Mathis CA, et al. Simplified quantification of Pittsburgh Compound B amyloid imaging PET studies: a comparative analysis. *J Nucl Med* 2005;46:1959-72
69. McNamee RL, Yee SH, Price JC, et al. Consideration of optimal time window for Pittsburgh compound B PET summed uptake measurements. *J Nucl Med* 2009;50:348-55
70. Fazio F, Perani D. Importance of partial-volume correction in brain PET studies. *J Nucl Med* 2000;41:1849-50
71. Lowe J, Kemp BJ, Jack CR Jr, et al. Comparison of 18F-FDG and PiB PET in cognitive impairment. *J Nucl Med* 2009;50:878-886
72. Klunk WE, Engler H, Nordberg A, et al. Imaging brain amyloid in Alzheimer's disease with Pittsburgh Compound-B. *Ann Neurol* 2004;55:306-19
73. Rowe CC, Ng S, Ackermann U, et al. Imaging beta-amyloid burden in aging and dementia. *Neurology* 2007;68:1718-25
74. Bacskai BJ, Frosch MP, Freeman SH, et al. Molecular imaging with Pittsburgh Compound B confirmed at autopsy: a case report. *Arch Neurol* 2007;64:431-4
75. Ikonomic MD, Klunk WE, Abrahamson EE, et al. Post-mortem correlates of in vivo PIB-PET amyloid imaging in a typical case of Alzheimer's disease. *Brain* 2008;131:1630-45
76. Leinonen V, Alafuzoff I, Aalto S, et al. Assessment of beta-amyloid in a frontal cortical brain biopsy specimen and by positron emission tomography with carbon 11-labeled Pittsburgh Compound B. *Arch Neurol* 2008;65:1304-9
77. Gomperts SN, Rentz DM, Moran E, et al. Imaging amyloid deposition in Lewy body diseases. *Neurology* 2008;71:903-10
78. Johnson KA, Gregas M, Becker JA, et al. Imaging of amyloid burden and distribution in cerebral amyloid angiopathy. *Ann Neurol* 2007;62:229-34
79. Archer HA, Edison P, Brooks DJ, et al. Amyloid load and cerebral atrophy in Alzheimer's disease: an 11C-PIB positron emission tomography study. *Ann Neurol* 2006;60:145-7
80. Fagan AM, Mintun MA, Mach RH, et al. Inverse relation between in vivo amyloid imaging load and cerebrospinal fluid Abeta(42) in humans. *Ann Neurol* 2006;59:512-9
81. Buckner RL, Snyder AZ, Shannon BJ, et al. Molecular, structural, and functional characterization of Alzheimer's disease: evidence for a relationship between default activity, amyloid, and memory. *J Neurosci* 2005;25:7709-17
82. Nelissen N, Vandenbulcke M, Fannes K, et al. Abeta amyloid deposition in the language system and how the brain responds. *Brain* 2007;130:2055-69
83. Mintun MA, Larossa GN, Sheline YI, et al. [11C]PIB in a nondemented population: potential antecedent marker of Alzheimer disease. *Neurology* 2006;67:446-52
84. Villemagne VL, Pike KE, Darby D, et al. Abeta deposits in older non-demented individuals with cognitive decline are indicative of preclinical Alzheimer's disease. *Neuropsychologia* 2008;46:1688-97
85. Frapp J, Bourgeat P, Acosta O, et al. Appearance modeling of 11C PiB PET images: characterizing amyloid deposition in Alzheimer's disease, mild cognitive impairment and healthy aging. *Neuroimage* 2008;43:430-9
86. Forsberg A, Engler H, Almkvist O, et al. PET imaging of amyloid deposition in patients with mild cognitive impairment. *Neurobiol Aging* 2008;29:1456-65
87. Jack CR Jr, Lowe VJ, Senjem ML, et al. 11C PiB and structural MRI provide complementary information in imaging of Alzheimer's disease and amnesic mild cognitive impairment. *Brain* 2008;131:665-80
88. Engler H, Forsberg A, Almkvist O, et al. Two-year follow-up of amyloid deposition in patients with Alzheimer's disease. *Brain* 2006;129:2856-66
89. Edison P, Archer HA, Hinz R, et al. Amyloid, hypometabolism, and cognition in Alzheimer disease: an [11C]PIB and [18F]FDG PET study. *Neurology* 2007;68:501-8
90. Jack CR Jr, Lowe VJ, Weigand SD, et al. Serial PIB and MRI in normal, mild cognitive impairment and Alzheimer's disease: implications for sequence of pathological events in Alzheimer's disease. *Brain* 2009;132:1355-65
91. Zhuang ZR, Kung MP, Wilson A, et al. Structure-activity relationship of imidazo[1,2-a]pyridines as ligands

- for detecting β -amyloid plaques in the brain. *J Med Chem* 2003;46:237-43
92. Ono M, Wilson A, Nobrega J, et al. ^{11}C -labeled stilbene derivatives as Abeta-aggregate-specific PET imaging agents for Alzheimer's disease. *Nucl Med Biol* 2003;30:565-71
93. Verhoeff NP, Wilson AA, Takeshita S, et al. In-vivo imaging of Alzheimer disease beta-amyloid with [^{11}C]SB-13 PET. *Am J Geriatr Psychiatry* 2004;12:584-95
94. Okamura N, Suemoto T, Shimadzu H, et al. Styrylbenzoxazole derivatives for in vivo imaging of amyloid plaques in the brain. *J Neurosci* 2004;24:2535-41
95. Kudo Y, Okamura N, Furumoto S, 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* 2007;48:553-61
96. Rowe CC, Ackerman U, Browne W, et al. Imaging of amyloid beta in Alzheimer's disease with 18F-BAY94-9172, a novel PET tracer: proof of mechanism. *Lancet Neurol* 2008;7:129-35
97. Okamura N, Suemoto T, Furumoto S, et al. Quinoline and benzimidazole derivatives: candidate probes for in vivo imaging of tau pathology in Alzheimer's disease. *J Neurosci* 2005;25:10857-62
98. Boxer AL, Rabinovici GD, Kepe V, et al. Amyloid imaging in distinguishing atypical prion disease from Alzheimer disease. *Neurology* 2007;69:283-90
99. Villemagne VL, McLean CA, Reardon K, et al. ^{11}C -PiB PET studies in typical sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2009; doi:10.1136/jnnp.2008.171496
100. Hintersteiner M, Enz A, Frey P, et al. In vivo detection of amyloid-beta deposits by near-infrared imaging using an oxazine-derivative probe. *Nat Biotechnol* 2005;23:577-83

Affiliation

Nobuyuki Okamura¹, Michelle T Fodero-Tavoletti⁴, Yukitsuka Kudo¹, Christopher C Rowe², Shozo Furumoto⁵, Hiroyuki Ara⁶, Colin L Masters³, Kazuhiko Yanai¹ & Victor L Villemagne^{1,2,3} MD,

[†]Author for correspondence

¹Tohoku University, Pharmacology, Sendai, Japan

²Center for PET,

Austin Health, Nuclear Medicine, Melbourne, Australia

Tel: 61 3 9496 3321; Fax: 61 3 9458 5023;

E-mail: villemagne@petnm.unimelb.edu.au

³The Mental Health Research Institute, Melbourne, Australia

⁴University of Melbourne,

Pathology, Melbourne, Australia

⁵Tohoku University, Cyclotron and Radioisotope Center, Sendai, Japan

⁶Tohoku University, Institute of Development, Ageing and Cancer, Sendai, Japan

総説

アルツハイマー病の病態とバイオマーカー開発

荒井 啓行¹⁾, 岡村 信行²⁾, 藁谷 正明¹⁾,
古川 勝敏³⁾, 谷内 一彦²⁾, 工藤 幸司⁴⁾

要約: アルツハイマー病 (AD) の根本治療薬の登場を目前にして, AD の診断と薬効評価パラダイムが, 従来の認知機能検査ベースからバイオマーカーベースへと大きくシフトしようとしている。また, 蓄積物質 (病理像) を画像化する新しい分子イメージング技術が日米両国で開発されている。このような考えに立って米国で 2005 年から発案・開始されたプロジェクトが, Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative (ADNI) である。ADNI は米国, 欧州, オーストラリアと本邦の世界 4 極で同一プロトコルを用いて実施される長期観察研究である。ADNI 研究の目的は, ① AD, 軽度認知機能障害, 正常高齢者において, MRI や PET などの画像データの長期的変化に関する一定の基準値を作るための方法論を確立すること; ② 画像サロゲートマーカーの妥当性を証明するために臨床指標, 心理検査, 血液・脳脊髄液バイオマーカーを並行して収集すること; ③ AD 根本治療薬の治療効果を評価するための最良の方法を確立すること, の 3 点である。2008 年 7 月 Japanese-ADNI で患者登録が開始された。蓄積物質をイメージングすることは究極のバイオマーカーとして, 将来は発症前診断を可能にするかも知れない。製薬企業による根本治療薬開発との連動が不可欠である。

はじめに

高齢者は一見健康に見えても種々の潜在的な臓器機能低下が潜んでいる。老年医療では, 臓器機能の決定的な破局を回避し, 病状の平穏な管理と生活の自立をサポートすることにまず目を向けなければならない。高齢者の自立を支える基盤となる生体機能は, 1) 食べること; 2) 判断すること; 3) 移動することの 3 点である。食べる機能の障害は嚥下性肺炎として, 移動することの失敗は転倒・骨折として, そして判断する能力の喪失が認知症としてどれも老年医療にとって最重要課題とされる。Alzheimer's Disease (以下 AD と略

称) は, 人生の収穫期とも言うべき晩年において人間らしく生きるための様々な生活機能を奪い取り, AD の発症は実社会との決別を意味し, 介護にあたる家族は自らの生活の質を犠牲にしながらその精神的・肉体的負担は計り知れない。外見は同じでありながら脳だけが変貌し人格が形骸化していく姿は恐しく, 惨めとしか言いようのないものである。また, AD は国民医療費を高騰させる大きな要因ともなっている。何とかして AD を制圧しなければならない思いは世界共通であろう。米国は AD 患者の急増とそれによる国家財政への圧迫を National Crisis とまで呼んで危機感を強めている (1)。本邦で現在 170 万人と見込まれる認知症高齢者は 2015 年には 250 万人になると予想され, 認知症はごくありふれた疾患としてかかりつけ医が診断から介護までを扱う時代が訪れようとしている。この 10 年の間に AD など認知症の病態の理解には著しい進歩が見られ, 脳内蓄積物質を基本的な出発点として疾患の本質が論じられるようになったことは特記すべきことである。その最も大きな流れが, 今日のアミロイド仮説である。アミロイド仮説では, 上流側にアミロイド, 下流側にタウと神経変性が位置するものである。つまり, アミロイド前駆体タンパク質から切り出されたアミロイド断片は凝集の過程で毒性を獲得しその結果タウタンパク質の異常リン酸化や神経細胞死などすべてのイベントを引き起こすものであり, アミロイド蓄積がコントロールされれば, AD そのものも制圧可能であろうと考えられている。70 歳から物忘れが目立つようになり 5 年ほどは日常生活が自立していたが, 75 歳時には問題行動が出現しアルツハイマー病との診断を受けた患者を想定すると, この患者では, アミロイドタンパク質の脳への蓄積 (老人斑の形成) が始まったのは 50 歳前後, タウタンパク質のリン酸化 (神経原線維変化の形成) とそれに伴う神経細胞死を生じ始めたのが 60 歳 - 65 歳と予想される。年齢には多少の前後はあるにしても, アルツハイマー病ではア

キーワード: アルツハイマー病, アミロイド, タウ, 分子イメージング, J-ADNI

¹⁾ 東北大学加齢医学研究所 脳科学研究部門 老年医学研究分野, ²⁾ 東北大学医学系研究科 機能薬理学分野,

³⁾ 東北大学病院老年科, ⁴⁾ 東北大学 未来医工学治療開発センター (〒980-8575 仙台市青葉区星陵町)

E-mail: harai@idac.tohoku.ac.jp 原稿受領日: 2009 年 9 月 17 日, 依頼原稿

Title: Pathobiology of Alzheimer's disease and biomarker development.

Author: Hiroyuki Arai, Nobuyuki Okamura, Masaaki Waragai, Katsutoshi Furukawa, Kazuhiko Yanai, Yukitsuka Kudo

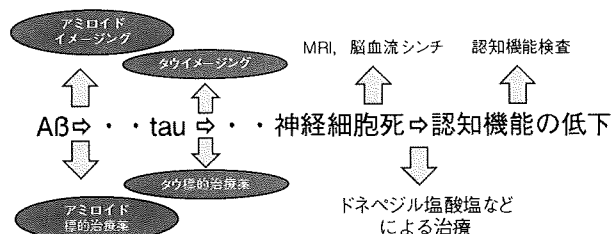


図1 アミロイド仮説に立った新規のアルツハイマー病診断・治療機軸

最も上流側にあるアミロイドをターゲットとした診断を可能にするバイオマーカーと注目されるのがアミロイドイメージングである。同様にタウイメージングが可能となれば、タウ標的治療も夢ではない。

ミロイドタンパク質の蓄積開始から臨床的に認知症初期症状が出現するまでにおよそ20年ものタイムラグがあり、その間自らの脳にどのような変化が起こっているか自覚されることはないが、この期間こそが発症前診断や予防対策を考える上で大変重要である。そこで、アミロイドやタウが蓄積した状態を簡便にしかも感度よく検出する方法論を開発することがどうしても必要になってくる。その1つがアミロイドイメージングと呼ばれる新しい分子イメージング技術である。

1. ADの診断・治療のパラダイムシフト(図1)

図1は上述のアミロイド仮説の上に診断・治療の枠組みを重ねてみたものである。今日に至るまでADの診断は「日常生活の自立性を失う程度にまで進んだ認知機能障害」を証明することが診断のすべてと言っても過言ではない。しかし、この認知機能障害の発症は予備能を上回るような広範な神経細胞死をベースにして生じていることや失われた神経細胞の再生は今日でも困難であることを考えると、認知機能評価にのみ依拠するような診断法は、20世紀の旧式パラダイムとしていつか葬り去られるべきものである。それに対して今日最も汎用されているのがMRIや脳血流シンチであり、これらは直接的あるいは間接的に神経細胞死のMassを反映すると考えられる。ドネベジル塩酸塩などの治療薬が処方されるのはこのタイミングであるが、当然のことながらエピソード記憶の障害も海馬や嗅内皮質神経細胞死に基づいている以上、回復は期待できない。そこで、神経細胞死のさらに上流にあるアミロイドやタウの蓄積に目を向けることは当然と言えよう。アミロイド蓄積を捕捉する方法論が開発されれば、アミロイドを標的とする分子治療が可能となることが期待でき、またタウ蓄積を捕捉する方法論が開発されれば、タウを標的とする分子治療が可能となろう。ADの診断・治療のパラダイムが大きく変わろうとしている。実際にこのパラダイムシフトをもたらす橋渡しの役割を担うのがバイオマーカーである。

2. バイオマーカーが必要とされる理由

バイオマーカーには多様な有用性が期待されている(2, 3)。

(1) 鑑別診断のサポート

レビー小体病や前頭側頭型認知症などアルツハイマー病に似て非なるものとの鑑別はしばしば問題となる。レビー小体病では、起立性低血圧(失神)や病初期からの幻視などアルツハイマー病にはあまりない特徴が見られ、前頭側頭型認知症では、行動の脱抑制や意味性記憶障害(言葉と物との対応関係を失うことで、これを家族は物忘れと訴えてくることもある)が目立つ。病理学上も前者は α -シヌクレインの沈着を主とし、後者はタウやユビキチンが蓄積する疾患で、アミロイド β の沈着を本質的な病理像とするアルツハイマー病とは区別されるべきである。

(2) 早期診断と近未来の発症前診断

アルツハイマー病が発症していても、物忘れだけで日常生活が自立している場合は、認知症という判断を留保せざるを得ない。しかし、アルツハイマー病では早期診断が重要であることが、最近ドネベジル塩酸塩の長期効果を検討した我々の研究からも明らかにされた(4)。この研究はドネベジル塩酸塩が市場化された2000年の前後を比較し、2年間にわたって認知機能が維持された患者では、ドネベジル塩酸塩を服用していることに加えて早期にドネベジル塩酸塩治療を開始したことが重要な要因であることが明らかにされた。早期診断と関連して、採取における侵襲性が低く安価なバイオマーカーが確立されれば、あるコミュニティや集団においてヘルスケアの一環として認知症の発症前診断のスクリーニングが可能になるかも知れない。国民は認知症を発症してからの自分ではなく、いかに認知症を予防し健康長寿を実現するかに本当の関心と願いがあるはずである。予防は各個人にとっての大きな課題であるのみならず、介護経費の削減など医療経済的効果も大きいとされている。

(3) 病気の重症度の評価

アルツハイマー病の重症度の評価や進み具合は神経心理検査とMRIによる脳萎縮の程度によって行なわれている。しかし、この神経心理検査は被検者のその日の体調や疲労度あるいは検者の経験の差によって結果のばらつきが生じやすいとされている。実際162名のADを用いたJackらの研究では、Mild to moderate ADにおいては、ADAS-Cogの経年変化は 4.25 ± 7.2 (Mean \pm SD) ポイントであった。それに対して、多くの同一集団を用いた海馬萎縮の経年変化は、 -234 ± 144 (Mean \pm SD) mmであった(5)。つまり、海馬萎縮の指標では、結果のバラツキを示すSDがMeanの0.6倍に留まるのに対して、ADAS-Cogを用いるとSDがMeanの1.7倍となってしまう。画像処理は機械が行なう画一的な作業であるため、画像バイオマーカーの方が集団としてのバラツキが小さいことを示す結

果であった。病変の推移をより客観的に鋭敏に反映するマーカーは僅かな effect size であっても検出可能となることが期待されている。炎症性疾患における C 反応性タンパク質 (CRP)、肝臓疾患におけるトランスアミナーゼ、筋疾患におけるクレアチニンキナーゼ、肺線維症における KL-6 等、実地臨床の現場において重症度の評価や治療効果の判定に汎用されている臨床検査指標と同じである。

(4) 治療効果の評価

治療効果を簡便に感度良く示すバイオマーカーの開発は今後のアルツハイマー病診療において不可欠であろう。γセクレターゼ阻害薬やアミロイドワクチン療法などアルツハイマー病根本治療薬の登場が近未来に迫っているからである。これらの治療薬の開発においては、「アミロイド除去効果」を客観的に判定するための方法論の確立が必要となる。例えば、ある新規治療によりアミロイド蓄積量が軽減された結果、そのバイオマーカー値が正常域に近づくということが期待されよう。さらに、治療の開始時期の決定および中止の是非、治療薬変更などを判断する上でもバイオマーカーは重要な情報をもたらす可能性がある。

3. 理想的なバイオマーカーとは

それでは優れたバイオマーカーとはどんなものであろうか？1998 年米国の Regan Institute & National Institute on Aging 合同レビューには理想的なバイオマーカーの条件を以下のように記載している(3)。
①アルツハイマー病の病理像の本質的な側面を反映していること；
②アルツハイマー病の検出感度>80%、他の認知症との鑑別の特異度>80%；
③信頼性、再現性、非侵襲性、簡便性、低価格性を有する；
④少なくとも2カ所以上の信頼できる研究グループによって研究が遂行されその結果がPeer-reviewed journalに報告されていることが挙げられている。しかし1つのバイオマーカーですべての目的を叶えられる可能性は高くはないと思われるので、いくつかのバイオマーカーの組み合わせ (Panel) を用意することが現実的かも知れない。

4. アミロイドイメージング用プローブの開発およびそれらの臨床応用

先に述べた理想的なバイオマーカーの持つべき条件を満たし現在最も有力な候補とみなされているのがアミロイドイメージングである。しかし、この技術が臨床で応用されるための最大のハードルは、βシート構造をとった凝集 Aβ に選択的に結合し、且つ血液-脳関門を容易に透過し、標的がなければ脳から速やかにクリアランスされる、さらに標識体は母化合物の特性を損なわない、などの優れた特性を有するプローブを見いだすことにある。著者らの経験では、プローブとして必要とされるいくつかの特性のうち一方の特性を上げると別の特性が下がるといったまさに微妙な匙加減を見ながらの創業であり、なかなか理想とするプロ

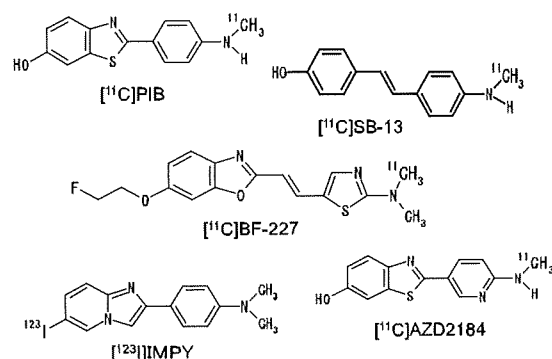


図2 世界で開発されたアミロイドイメージング用 [¹¹C] プローブ (IMPY のみ [¹²³I]) の化学構造式

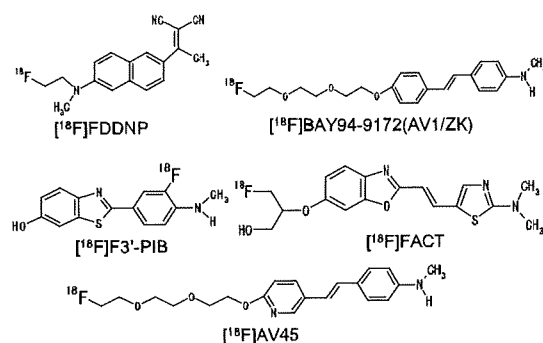


図3 世界で開発されたアミロイドイメージング用 [¹⁸F] プローブの化学構造式

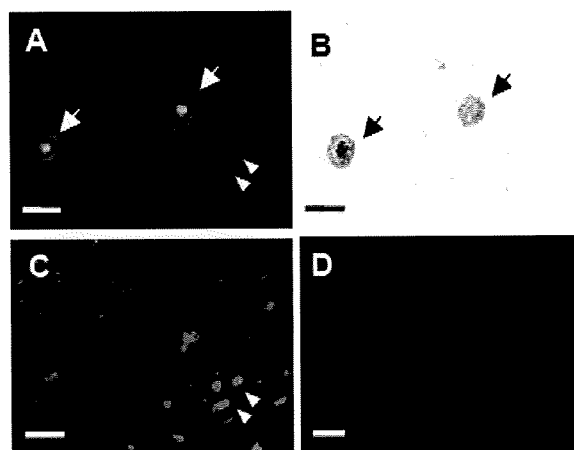


図4 東北大学で開発された BF-227 プローブを用いたアルツハイマー病剖検脳染色像
BF-227 は比較的成熟した老人斑 (neurotic plaques あるいは Cored plaques などと呼ばれる) へ強く結合する特性を有するが (A の矢頭と連続切片の B の矢の比較)、老人斑生成過程の初期段階とされ健康者にもしばしば見られるびまん性老人斑への結合は強くない。また、FDDNP に見られるような神経原線維変化とは結合しない (C)。D は正常脳切片の染色。

ープへ到達することは難しいのが現実である。

現時点で探索的臨床試験が実施されたことが確認されているアミロイドイメージング用プローブは、UCLA の [¹⁸F]FDDNP(6)、ピッツバーグ大学の [¹¹C]PIB(7) および [¹⁸F]PIB、ペンシルベニア大学の [¹¹C]

SB-13, Avid 社の ^{18}F AV-45, 本邦においては著者ら東北大チームの ^{11}C BF-227(8) と ^{18}F FACT がある。さらに, Bayer 社 (^{18}F BAY94-9172 (AVI/ZK)) と AstraZeneca 社 (^{11}C AZD2184) でもプローブ開発が進められている。SPECT 用のプローブとしては, ^{123}I IMPY がある (図 2, 3)。 ^{11}C PIB は現時点で最も臨床評価の進んでいるプローブであり, 国内においても 10 数施設でその評価が行われている。詳細は最近の Nordberg の総説を参照いただきたい(9)。 ^{11}C BF-227 は東北大学チームによって開発され, 2005 年 7 月から探索的臨床試験が開始された。図 4 のように, BF-227 は比較的成熟した老人斑 (neuritic plaques あるいは Cored plaques などと呼ばれる) へ強く結合する特性を有するが, 老人斑生成過程の初期段階とされ健常者にもしばしば見られるびまん性老人斑への結合は強くない。また, FDDNP に見られるような神経原線維変化とは結合しない。平成 21 年 7 月までにのべ 100 名の被験者を対象として撮像を行なったが, AD 患者での検討では, 投与直後は健常者と同様の集積分布を示したが, 30 分以降においては, 老人斑の好発部位である前頭葉, 側頭葉, 頭頂葉などの大脳皮質領域で放射活性の集積が観察され, 健常者とは異なる集積像を示し, 十分にアミロイドイメージング用プローブとしてのポテンシャルを有することが示された(8)。

図 5 に示すように, ^{11}C BF-227-PET と MRI による Voxel-based morphometry (VBM-MRI) の AD 早期診断法としての有用性を比較検討した(10)。健常者 12 例, MCI 13 例 (AD 進展例: 6 例, 非進展例: 7 例) および AD 15 例を対象に ^{11}C BF-227-PET と VBM-MRI を施行した。AD および MCI の AD 進展例では, BF-227 の有意な集積と海馬傍回萎縮を認めた。さらに MCI の AD 進展例と非進展例の鑑別には ^{11}C BF-227-PET が VBM-MRI よりも有用であった。MMSE スコアは VBM-MRI による大脳灰白質萎縮の程度に有意な相関を認めたが, BF-227 集積程度とは有意な相関は認めなかった。以上から ^{11}C BF-227-PET は MCI から AD への進展予測に有用である一方, VBM-MRI は AD の重症度追跡に有用であると思われる。また, FDG-PET によるブドウ糖代謝は BF-227 のそれと負の相関を示したことから, 細胞外に蓄積したアミロイドは, シナプスを取り囲みシナプス機能を障害することが考えられた(11)。平成 21 年 7 月にウィーンで行われた ICAD 2009 において, Washington 大学の Mintun らは, 健常者 240 名を対象に PIB-PET を施行し, 全脳の SUVR 値 1.5 をカットオフに設定すると, 40 歳代での陽性率は 0%, 50 歳代になると数名が陽性所見を示すようになることを示した。この PIB 陽性率は 60 歳代以降ではさらに高まる。PIB 陽性を示した

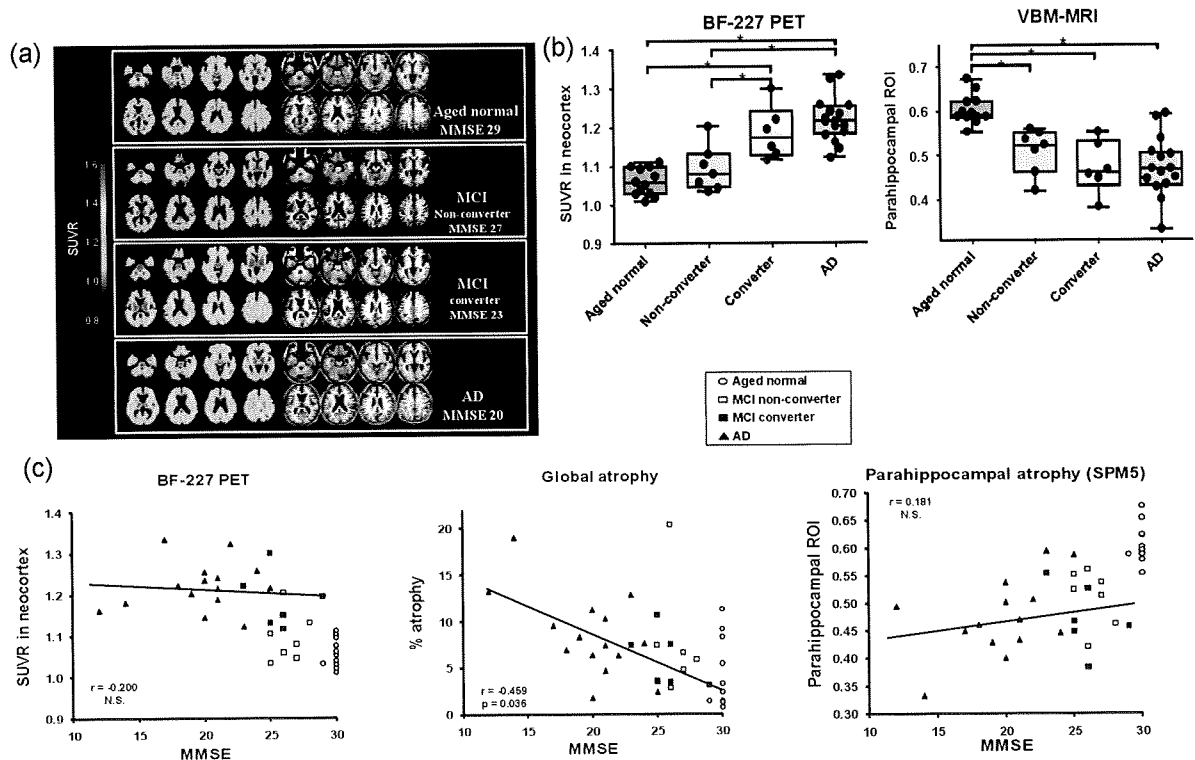


図5 BF-227 アミロイドイメージと脳萎縮の関連

(a): 正常高齢者, AD へ進行しなかった MCI, AD へと進行した MCI および AD での ^{11}C BF-227 集積像を示す。(文献 10 より転載)。(b): (a) における ^{11}C BF-227 全脳集積の対小脳比の値を SUVR (Substrate Uptake Volume Ratio) で示す (左)。右は同じ被験者の MRI による Voxel-based morphometry による海馬傍回の容積を示す。(c): Mini-Mental Examination によって評価した認知機能とアミロイド蓄積 (左), 全脳萎縮 (中央), 海馬傍回の容積 (右) の関連。正常では ^{11}C BF-227 集積は一樣に低いが, MCI から AD に至る過程では一定で蓄積の増加は見られなかった。

被験者は、認知機能は正常でありながら ApoE4 遺伝子保有率が高く、かつ海馬容積が小さかった。アミロイドイメージングによって AD 発症の超早期が捉えられる可能性が出てきた。アミロイドイメージングの最大の利用価値は発症予備群を明らかにできることかもしれない。 ^{11}C ラベル体は半減期が 20 分と短く、サイクロトロンでのラジオアイソトープ合成が可能な施設でしか用いられない半面、 ^{18}F ラベル体は半減期が 180 分と長く、そのため各サイトへのデリバリーシステムが可能である。将来は ^{18}F ラベル体を中心になって評価が進められると考えられる。

5. 今後の展望—Japanese Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative (J-ADNI) に臨んで—

現在 AD の根本的分子標的治療の開発が米国企業を中心に飛躍的に進んでいる。今日市場化されている symptomatic treatment の臨床試験は概ね 6 カ月程度で終了できるものであったが、今後開発が予定されている AD の進行を遅らせるための Disease-modifying drugs の臨床試験では、十分な薬効を確認するには少なくとも 1 年あるいはそれ以上の試験期間が必要になると予想される。疾患の病理像を反映し、その進行を遅らせるようなサロゲートバイオマーカーを開発しておくことは、長期に及ぶ臨床試験では大きな意義を持つことが期待される。このような考えに立って米国で 2005 年から発案・開始された観察式臨床試験が、Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative (ADNI) である(12,13)。ADNI は米国、欧州、オーストラリアと本邦の世界 4 極で同一プロトコルを用いて実施される非ランダム化長期観察研究である。日本の ADNI (J-ADNI) では、認知症医療に実績を持つ全国の 30 以上の施設の協力を得て、300 名の MCI を 3 年間、150 名の早期 AD を 2 年間、150 名の正常者を 3 年間追跡することが計画されている。研究の統括責任者は、東京大学の岩坪威教授である。研究の目的は、① AD、MCI、正常高齢者において、MRI や PET などの画像データの長期的変化に関する一定の基準値を作るための方法論を確立すること；②画像サロゲートマーカーの妥当性を証明するために臨床指標、心理検査、血液・脳脊髄液バイオマーカーを並行して収集すること；③ AD 根本治療薬 (Disease-modifying drug) の治療効果を評価するための最良の方法を確立すること、の 3 点である。そのための観察項目として、① MCI から AD への Rate of Conversion；②全脳、海馬などの MRI measures の Rate of volume change；③血液・脳脊髄液バイオマーカーの Rate of change；④ FDG-PET におけるブドウ糖代謝の Rate of change を優先的に解析することになる(14-16)。また、J-ADNI では希望者にはアミロイド PET をベースラインから撮像することになっている(17)。J-ADNI によって遅れに遅れた本邦の認知症医療のインフラの整備がやっと手に届くところに来たことの意義は極めて大きい。一方で、

ADNI は平成の黒船 (外圧) だという意見もある。しかし、米国が試験効率やコスト削減の面からの熟慮と議論を重ねた結果「認知機能ベースからバイオマーカーベースへ」と大きくパラダイムシフトを図った以上、これを無視することは今後日本の医療にとって決して得策とは思えない。なぜなら、根本的治療薬の多くは米国の製薬メーカーの手によって開発が進んでいる一方で、今後の新薬臨床試験は国際共同試験 (Global Clinical Trial) の形をとって効率化を図ろうとしているからである。J-ADNI ではまず、杉下らによって認知機能検査日本語版の改訂がなされた。これは World Wide ADNI やその後の新薬国際共同試験において認知機能検査の相対的難易度の統一を図るためである。2008 年 7 月、国立精神神経センターにおいて最初の患者登録がなされた。2009 年 8 月の時点で約 200 名の患者が登録されている。その 80% の被験者から FDG-PET に、44% からアミロイド PET に、また 40% から脳脊髄液採取に同意を得ている。今後さらに登録者数の増加とこれらバイオマーカー採取の同意率の向上を目指し、J-ADNI および World Wide ADNI に実効的成果をもたらしたいと考えている(18)。

文 献

- 1) A National Alzheimer's Strategic Plan. The Report of the Alzheimer's Study Group. 2009.
- 2) Frank RA, et al. Neurobiol Aging. 2003;24:521-536.
- 3) The Ronald and Nancy Reagan Institute of the Alzheimer's association and the National Institute on Aging working group. Neurobiol Aging. 1998;19:109-116.
- 4) Tomita N, et al. Geriatrics & Gerontology International. 2007;7:41-47.
- 5) Jack CR Jr, et al. Neurology. 2004;62:591-600.
- 6) Shoghi-Jadid K, et al. Am J Geriatr Psychiatry. 2002;10:24-35.
- 7) Klunk WE, et al. Ann Neurol. 2004;55:306-319.
- 8) Kudo Y, et al. J Nucl Med. 2007;48:553-561.
- 9) Nordberg A. Eur J Nucl Med Mol Imaging. 2009;35 Suppl 1:S46-S50.
- 10) Waragai M, et al. J Neurol Sci. 2009;June 22:Epub.
- 11) Furukawa K. J Neurol. 2010;in press.
- 12) Mueller SG, et al. Neuroimaging Clin N Am. 2007;15:869-877.
- 13) Shaw LM, et al. Nat Rev Drug Discov. 2007;6:295-303.
- 14) <http://www.adni-info.org/>
- 15) <http://www.alz.washington.edu/NONMEMBER/SPR05/walter.pdf>
- 16) <http://www.loni.ucla.edu/ADNI/>
- 17) <http://www.j-adni.org/>
- 18) <http://app3.infoc.nedo.go.jp/informations/koubo/press/EK/nedopr essplace.2009-01-21.8698110208/nedopr ess.2009-04-17.3480285888/>

著者プロフィール

荒井 啓行 (あらい ひろゆき)

東北大学加齢医学研究所 加齢老年医学研究分野、教授、医学博士。

◇1980 年東北大学医学部卒業。◇研究テーマ：老年医学、アルツハイマー病、脳血管障害、漢方生薬。◇趣味：スポーツ、ウォーキング、歴史散策。◇著書：アルツハイマー病にならない (朝日選書、井原康夫共著)。



アミロイドーシスの分子イメージング

Molecular imaging of amyloidosis



工藤 幸司

Yukitsuka Kudo

東北大学未来医工学治療開発センター前臨床応用部門

◎アミロイドーシス患者における病理像としてのアミロイドの蓄積量およびその空間的分布を *in vivo* で非侵襲的に画像として評価することが可能となれば、アミロイドーシスのあらたな客観的診断法となる可能性が高い。著者らによって開発された PET プローブ [^{11}C] BF-227 の、アミロイドーシス診断用プローブとして応用できる可能性を検証した。BF-227 は各種アミロイドーシス患者標本のアミロイドに特異的選択的に結合し、また [^{11}C] BF-227 はアミロイドーシスモデルマウスにおけるアミロイドに結合することが、オートラジオグラフィおよび小動物 PET を用いた試験で確かめられた。[^{11}C] BF-227 の健常人における探索的臨床研究の結果、[^{11}C] BF-227 にアミロイドーシス診断用 PET プローブとして高い有用性が示唆された。



画像診断, PET, [^{11}C] BF-227

アミロイドーシスは、 β シート構造をとった特異な線維状蛋白アミロイドが全身諸臓器の細胞外に沈着して機能障害を引き起こす疾患群である。その診断には、同病が示唆される臨床症状、すなわち全身倦怠感、体重減少、浮腫、心不全、低血圧、難治性下痢・便秘、呼吸不良症候群、肝脾腫、腎機構障害、巨舌、末梢神経障害、手根管症候群、甲状腺・唾液腺の腫大、皮下・口腔粘膜下出血などから、血液・生化学的検査、心電図検査などを経て、確定診断には生検で取り出した組織中のアミロイド沈着をコンゴレッドで染色し、同染色陽性所見が得られることによっている^{1,2)}。当然、生検部位はアミロイドが沈着している組織、胃、十二指腸、結腸、直腸などである^{1,2)}が、侵襲性が高く生検をためらう腎、または生検が不可能な心臓にもアミロイドが蓄積するアミロイドーシスが存在する。アミロイドーシス患者における病理像としてのアミロイドの蓄積量およびその空間的分布を *in vivo* で非侵襲的に評価することが可能となれば、アミロイドーシスのあらたな客観的診断法となる可能性が高い。



アミロイドイメージングとそのストラテジー

そこで近年注目を浴びつつあるのがアミロイドに特異的選択的に結合するアミロイドイメージング用 PET(陽電子断層撮影装置)プローブを用いて *in vivo* でアミロイドを非侵襲的に画像化する診断法である。1990 年代、Alzheimer 病の代表的脳内病理像であるアミロイド β 蛋白に親和性の高いプローブ(低分子有機化合物)を開発し、これを同病診断に用いようとする動きがあらたに起こってきた。現在ではアミロイドイメージングとしてよく知られている診断法である。アミロイドイメージングに用いられるプローブはアミロイド β 蛋白の β シート構造を認識しているが、アミロイドーシスにみられるアミロイドもコンゴレッド染色陽性、すなわち β シート構造をとっていることから、Alzheimer 病診断に用いられているアミロイドイメージングプローブはまた、アミロイドーシス診断に用いることができる可能性の高いことが強く示唆される。

アミロイドイメージングは、病理像を追跡し、その病理像から疾病(アミロイドーシス)を診断し

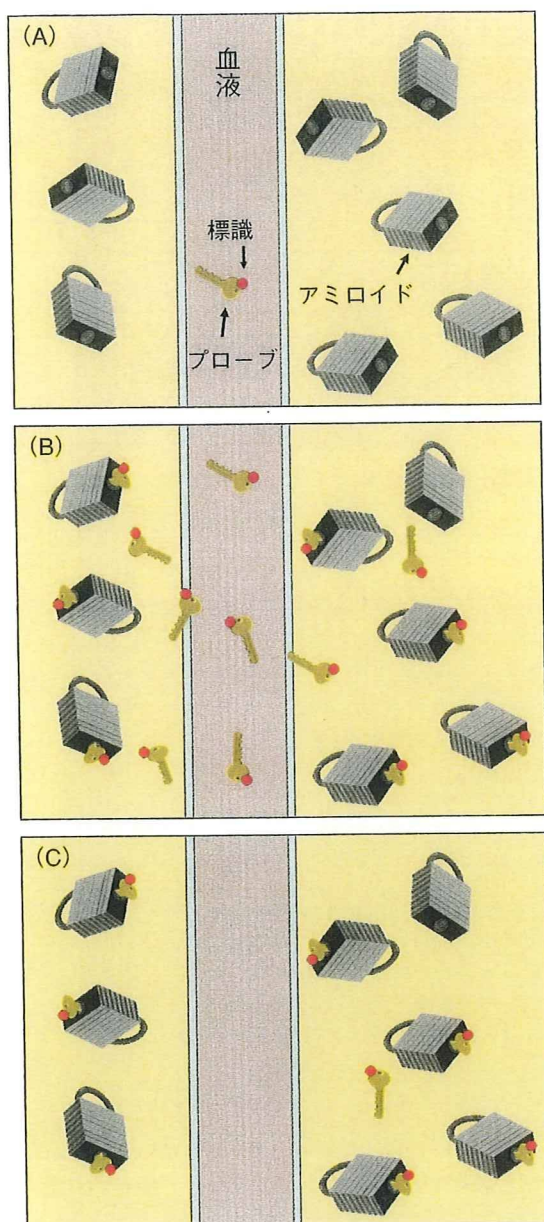


図1 アミロイドーシス患者におけるアミロイドイメージングの戦略概念図
A: 標識プローブを静脈内投与する。
B: 標識プローブはアミロイドに結合する。
C: 一定時間後には非結合プローブは洗い流され、アミロイドに結合したプローブのみが残る。

ようとする技術である。それではこの診断法はいかなる戦略に基づくか、その詳細について解説すると、概念は以下のとおりである(図1)。

- ① アミロイドーシスの病理学的主徴アミロイドのほとんどは β シート構造をとっている。
- ② 同シート構造をとったアミロイドに特異的選択的に結合する低分子有機化合物を見出す。
- ③ この化合物を、PETで扱うことが可能な核

種で標識する。

- ④ これをプローブとして、生体に静脈内投与する。
- ⑤ プローブは β シート構造をとったアミロイドに結合する。一定時間後には非結合プローブは洗い流され、 β シート構造をとったアミロイドに結合したプローブのみが組織内に残る。
- ⑥ これをPETを用いイメージング画像として取り込み、プローブの集積量(= β シート構造をとったアミロイド蓄積量)の定量およびその空間的分布からアミロイドーシスを診断する。

アミロイドイメージングPETプローブとしての $[^{11}\text{C}]$ BF-227

著者らは1990年代の後半からAlzheimer病診断用PETプローブの開発に取り組み、これまでに $[^{11}\text{C}]$ BF-227³⁾、 $[^{18}\text{F}]$ FACTを用いた探索的臨床研究を実施してきた(図2)。これら以外のプローブとしては、ピッツバーグ大・Klunkらの $[^{11}\text{C}]$ PIB⁴⁾および $[^{18}\text{F}]$ F3'-PIB、ペンシルベニア大・Kung夫妻らの $[^{11}\text{C}]$ SB-13⁵⁾、 $[^{18}\text{F}]$ BAY94-9172⁶⁾、 $[^{18}\text{F}]$ AV-45などがある(図2)。図2に示したプローブ群はいずれもアミロイド β 蛋白の β シート構造を認識することは明らかであるが、アミロイドーシスのアミロイドに対する結合性は著者らのBF-227以外は検討されていないのが現状のようである。

著者らは、山口大学の星井嘉信・石原得博両先生より各種アミロイドーシス患者標本を提供いただき、非標識BF-227のアミロイドーシス標本における染色性を検討した。そのデータを紹介しますと、図3~6に示したようにBF-227は一般に感度が高いことが知られている蛍光物質であるが、各種アミロイドーシス患者標本のアミロイドに結合し、コンゴレッド染色で弱い橙赤色しか示さない標本においても明瞭な染色像を示した。

つぎに脾にアミロイドが蓄積するアミロイドーシスモデルマウスにおける $[^{11}\text{C}]$ BF-227の*in vitro*オートラジオグラフィを検討したところ、脾における放射能集積像と同一切片におけるコンゴ

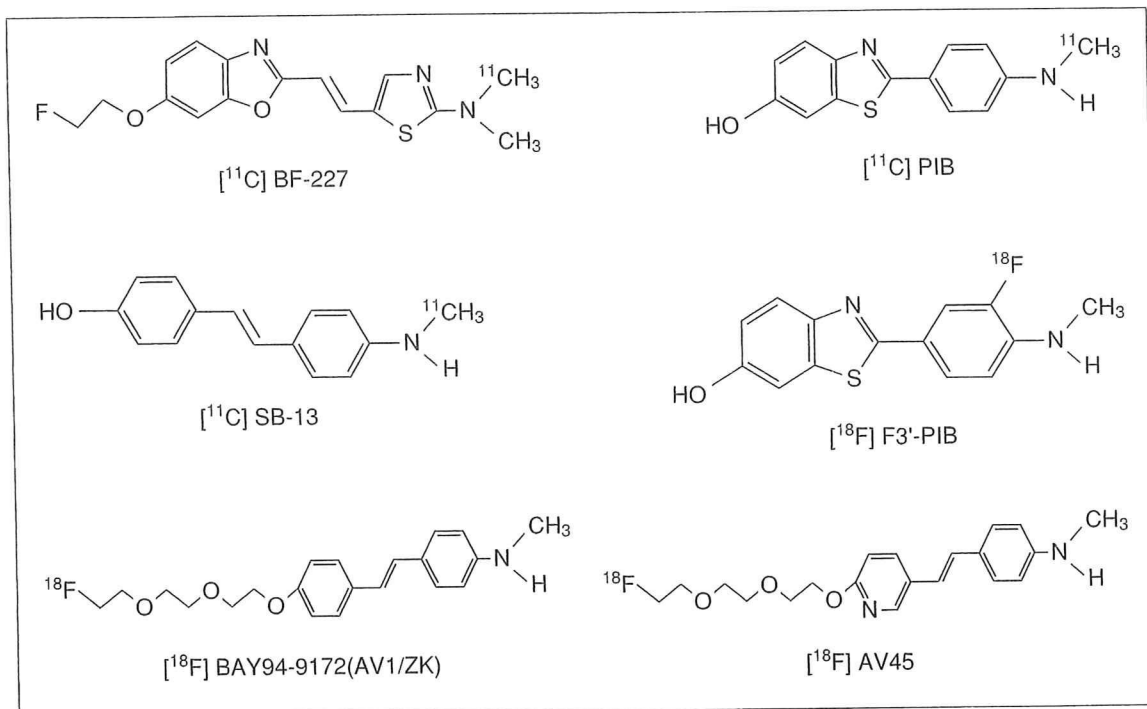


図 2 アミロイドイメージング用PETプローブの化学構造



図 3 Ak アミロイドーシス患者標本(心臓)におけるBF-227染色と隣接切片におけるコンゴレッド染色の比較
A: コンゴレッド染色, B: BF-227 染色, C: A の偏光顕微鏡下での観察像。

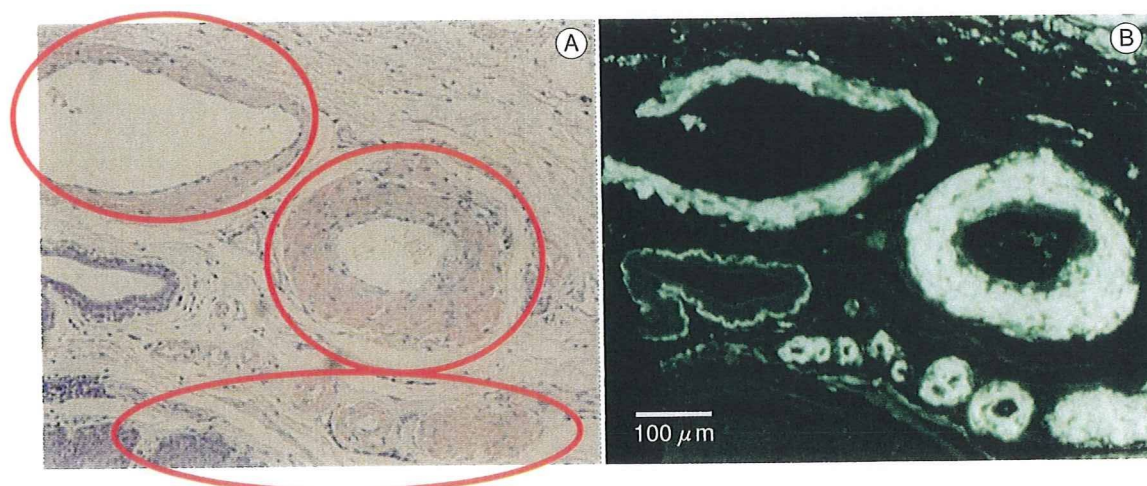


図 4 AL アミロイドーシス患者標本(食道)におけるBF-227染色(B)と、隣接切片におけるコンゴレッド染色(A)の比較

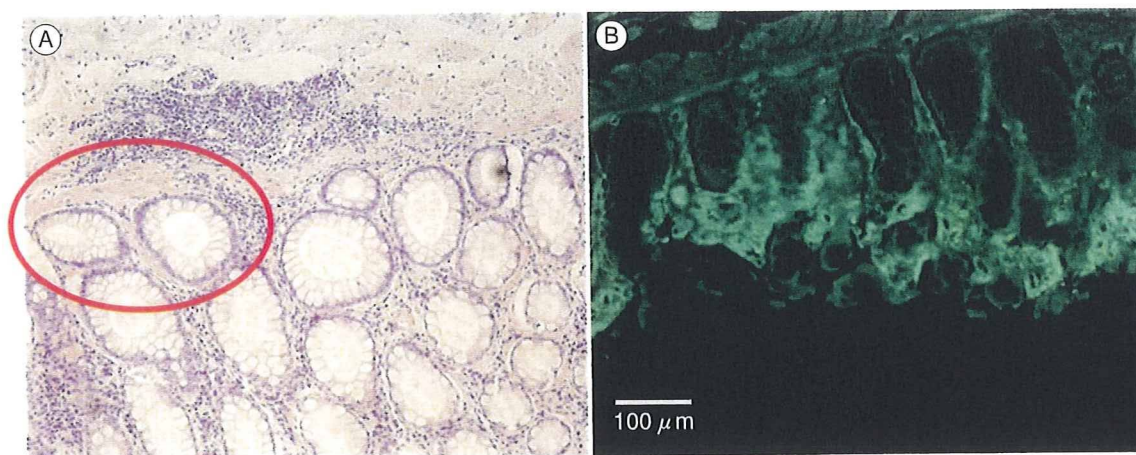


図 5 AAアミロイドーシス患者標本(直腸)におけるBF-227染色(B)と、隣接切片におけるコンゴレッド染色(A)の比較

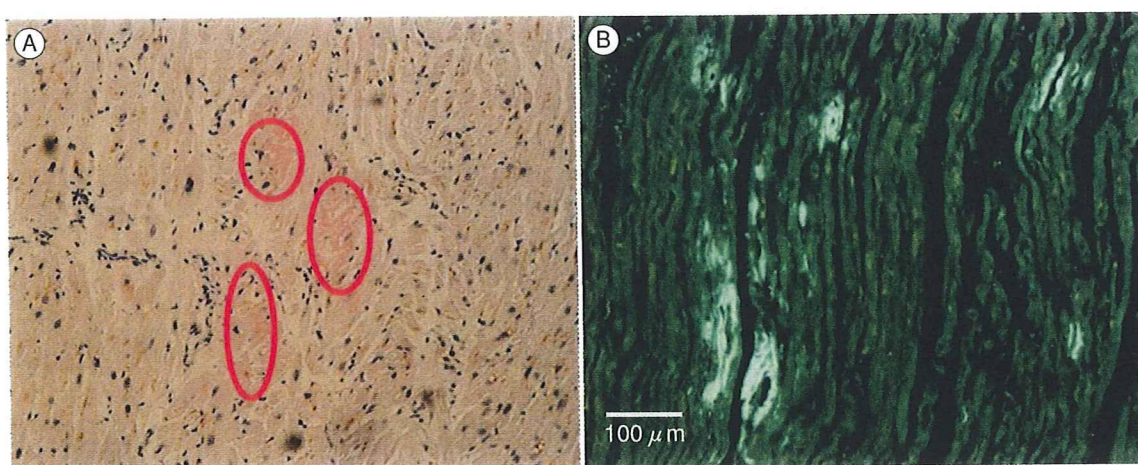


図 6 ATTRアミロイドーシス患者標本(心臓)におけるBF-227染色(B)と、隣接切片におけるコンゴレッド染色(A)の比較

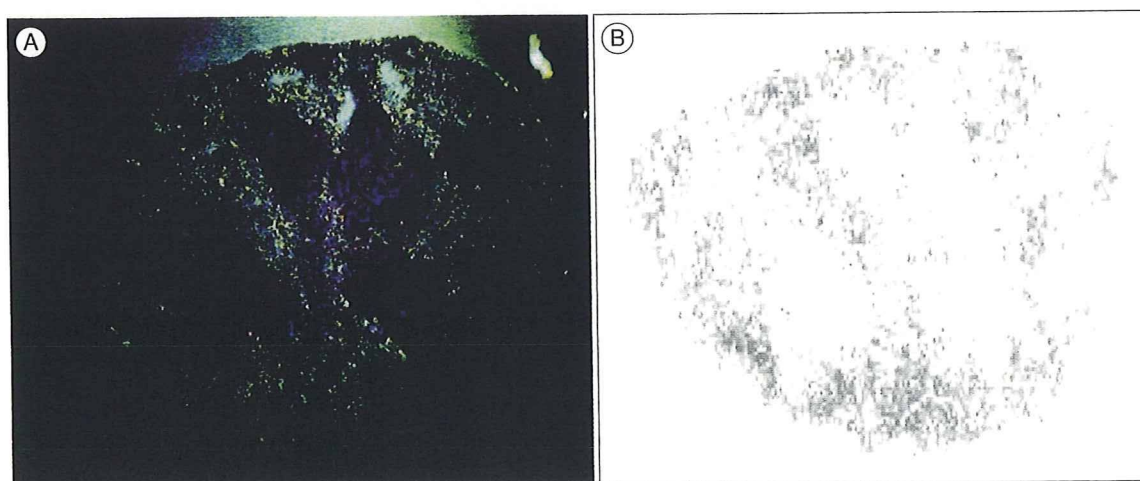


図 7 アミロイドーシスモデルマウス脾における $[^{11}\text{C}]$ BF-227の*in vitro*オートラジオグラフィ(B), および同一切片におけるコンゴレッド染色・偏光顕微鏡下での観察像(A)

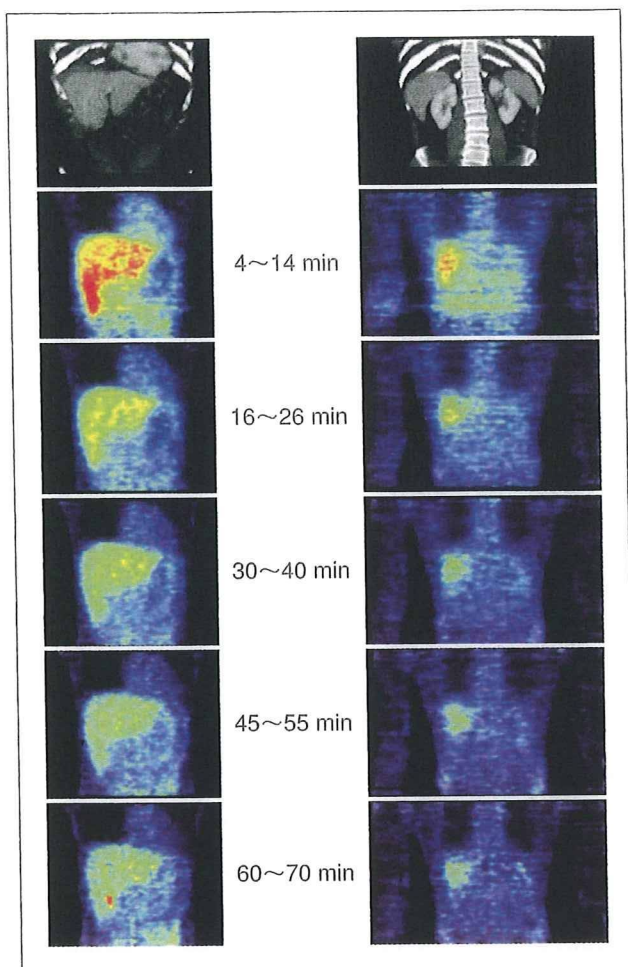


図 8 健康人における $[^{11}\text{C}]$ BF-227・PET画像

レッド染色像に十分な対応がみられた(図7)。一方、コントロールマウスでは $[^{11}\text{C}]$ BF-227 の集積像は認められなかった。

さらなる検証として、 $[^{11}\text{C}]$ BF-227 をアミロイドーシスモデルマウスに静脈内投与して小動物用 PET を用いて *in vivo* 画像を撮影したところ、脾において $[^{11}\text{C}]$ BF-227 の明らかな集積像がみられたが、コントロールマウスでは同集積像は認められなかった(データは示さず)。

これら以外にもいくつかの検証を積み重ね、 $[^{11}\text{C}]$ BF-227 にアミロイドーシス診断用 PET プローブとして高い有用性が示唆されたことから、探索的臨床研究を目的として東北大学倫理委員会および同利益相反委員会へ必要書類を提出し、同臨床研究を実施することが承認された。

アミロイドーシス診断用 PET プローブの備えるべき特性としては、アミロイドに特異的選択的に結合することはもちろんであるが、プローブの

おもな代謝臓器がアミロイドの好蓄積臓器と重複しないこともそのひとつにあげられる。とくにアミロイドの好蓄積臓器である腎が代謝臓器である場合には、 $[^{18}\text{F}]$ FDG を用いた癌検診における尿路系と同様、腎におけるアミロイドの蓄積を定量化できない可能性がある。

2009 年 1 月末までに 2 名の健康人の PET 画像を撮影したが、ヒトアミロイドーシス患者において知られているアミロイドの好蓄積臓器または部位に特記すべき $[^{11}\text{C}]$ BF-227 の集積は認められなかった(図8)。ただし、投与直後から主代謝臓器と考えられる肝に集積像がみられたが、これは時間依存的に集積が低下することから、肝にアミロイドが集積する患者では後半の画像を用いることで対応できると考えられる。

2009 年 1 月末現在、将来像として、アミロイドーシスを生検することなしに、アミロイドとこれに親和性の高い PET プローブとの結合像の空間的分布と定量から、アミロイドーシスを診断できる時代の扉が開こうとしている。今後いよいよ、アミロイドーシス患者において $[^{11}\text{C}]$ BF-227 による探索的臨床研究を実施する予定であるが、結果は追って報告したい。

$[^{11}\text{C}]$ 標識体の半減期は約 20 分であるが、 $[^{18}\text{F}]$ 標識体のそれは約 110 分と約 5.5 倍長く、臨床現場での使いやすさでは後者のほうが優れている。 $[^{11}\text{C}]$ BF-227 に有用性が見出されたならば、 $[^{18}\text{F}]$ 標識アミロイドイメージングプローブが登場してくるのは必然であろう。また、より安全で、より低コストが可能となる光技術を用いたアミロイドイメージング技術も見受けられるようになってきた⁷⁾。今後ますます感度・特異度に優れ、かつ安全で、低コストなアミロイドーシス診断法が登場してくるのもまた必然であろう。

謝辞：稿を終えるにあたりアミロイドーシス標本を提供していただきました山口大学情報解析医学専攻病理形態学分野・星井嘉信先生、石原得博先生(現・同大学名誉教授)に深謝いたします。ここで記しました内容の多くは、東北大学大学院医学系研究科機能薬理学分野修士課程修了者・藤川陽介(現・エーザイ株式会社)の業績です。また、PET 画像撮影に取り組んでいただ

きました関係諸氏に感謝いたします。

文献

- 1) 関島良樹：アミロイドーシスの基礎と臨床(石原得博監). 金原出版, 2005, pp.28-33.
- 2) 星井嘉信, 石原得博：アミロイドーシスの基礎と臨床(石原得博監). 金原出版, 2005, pp.34-38.
- 3) Kudo, Y. et al. : *J. Nucl. Med.*, **48** : 553-561, 2007.
- 4) Klunk, W. E. et al. : *Ann. Neurol.*, **55** : 306-319, 2004.
- 5) Verhoeff, N. P. L. G. et al. : *Am. J. Geriatr. Psychiatry*, **12** : 584-595, 2004.
- 6) Rowe, C. C. et al. : *Lancet Neurol.*, **7** : 129-135, 2008.
- 7) Hintersteiner, M. et al. : *Nat. Biotech.*, **23** : 577-583, 2005.

*

*

*

