

- 5) Furumoto S, Okamura N, Kato M, Ishikawa Y, Maruyama M, Iwata R, Yanai K, Higuchi M, Suhara T, Kudo Y. "A Fluorine-18 Labeled 2-(2-(Thiazol-5-yl)vinyl)benzoxazole Derivative for In Vivo Imaging of Amyloid Deposits" World Molecular Imaging Congress 2008, 2008年9月10-13日 フランス ニース
- 6) Mori M, Okamura N, Furumoto S, Sugi K, Kudo Y, Arai H, Yanai K: Non-invasive detection of amyloid- $\beta$  deposits by near-infrared fluorescence imaging. XI WORKSHOP ON APOPTOSIS IN BIOLOGY AND MEDICINE. 2008年9月12日-14日 仙台
- 7) Okamura N, Yanai K. Molecular PET imaging of acetylcholine esterase (AChE), histamine H1 receptor and amyloid deposits in Alzheimer disease. The 13th International Conference on Biomedical Engineering (ICBME2008), 2008年12月3-6日, シンガポール
- 8) Okamura N, Kikuchi A, Takeda A, Furumoto S, Tashiro M, Furukawa K, Arai H, Iwata R, Yanai K, Kudo Y. Noninvasive Detection of  $\alpha$ -synuclein Deposits In Human Brain Using [ $^{11}\text{C}$ ]BF-227-PET. ICAD : International Conference on Alzheimer's Disease. 2009年7月11日-16日. ウイーン
- 9) Furukawa K, Okamura N, Tashiro M, Furumoto S, Iwata R, Yanai K, Kudo Y, Arai H. PET imaging for mild cognitive impairment with FDG and beta-amyloid tracer,  $^{11}\text{C}$ -BF-227. ICAD : International Conference on Alzheimer's Disease. 2009年7月11日-16日. ウイーン
- 10) Arai H, Fujiwara H, Tabuchi M, Yamaguchi T, Iwasaki K, Furukawa K, Sekiguchi K, Ikarashi Y, Kudo Y, Yaegashi N, Kase Y. A traditional medicinal herb *Paeonia suffruticosa* and its active constituent 1,2,3,4,6-penta-O-galloyl- $\beta$ -D-glucopyranose have potent anti-aggregation effects on Alzheimer's amyloid $\beta$  proteins in vitro and vivo. ICAD : International Conference on Alzheimer's Disease. 2009年7月11日-16日. ウイーン
- 11) Okamura N, Furumoto S, Tashiro M, Funaki Y, Kikuchi A, Shiga Y, Furukawa K, Arai H, Doh-ura K, Iwata R, Yanai K, Kudo Y. : [ $^{11}\text{C}$ ]BF-227 PET Study in Protein Conformational Diseases.. THE EUROPEAN ASSOCIATION OF NUCLEAR MEDICINE. 2009年10月9日-4日. スペイン バルセロナ
- 12) Sugi K, Okamura N, Furumoto S, Tashiro M, Furukawa K, Funaki Y, Arai H, Kudo Y, Iwata R, Yanai K. [ $^{18}\text{F}$ ]FACT PET is Useful for Noninvasive Detection of Amyloid Plaques in Alzheimer's Disease. THE EUROPEAN ASSOCIATION OF NUCLEAR MEDICINE. 2009年10月9日-4日. スペイン バルセロナ
- 13) Okamura N, Furumoto S, Tashiro M, Furukawa K, Arai H, Doh-ura K, Kudo Y, Yanai K. [ $^{11}\text{C}$ ]BF-227 PET study of patients with protein misfolding diseases. The 2009 International Symposium on Early Detection and Rehabilitation Technology of Dementia-DRD2009, 2009年12月11日, 岡山
- 14) Tashiro M, Okamura N, Furumoto S, Kumagai K, Furukawa K, Sugi K, Funaki Y, Kimura Y, Iwata R, Kudo Y, Arai H, Watabe H, Yanai K. Quantitative Analysis of Amyloid Deposition in Alzheimer's Disease Patients and Healthy Volunteers Using PET and [ $^{11}\text{C}$ ]BF-227. The 2009 International Symposium on Early Detection and Rehabilitation Technology of Dementia-DRD2009, 2009年12月11日, 岡山
- 15) Okamura N, Kudo Y. Development of novel imaging probe for senile plaques and neurofibrillary tangles. International Symposium for Molecular Imaging Educational Course of Tohoku University 2010, 2010年3月12日, 仙台
- 16) Okamura N, Furumoto S, Furukawa K, Arai H, Yanai K, Kudo Y. Binding and pharmacokinetic properties of novel  $^{18}\text{F}$ -labeled agents for in vivo imaging of tau pathology in Alzheimer's disease. International Conference on Alzheimer's Disease 2010.

2010年7月10日～15日. ハワイ

17) Fodero-Tavoletti MT, Okamura N, Mulligan R, Furumoto S, Connor AR, Kudo Y, Cao DX, Rigopoulos A, O'Keefe G, Gong S, Adlard PA, Masters CL, Cappai R, Yanai K, Villemagne VL. Characterisation of [<sup>18</sup>F]-THK523, a novel in vivo tau imaging ligand. International Conference on Alzheimer's Disease 2010. 2010年7月10日～15日. ハワイ

18) Furukawa K, Okamura N, Tashiro M, Waragai M, Yanai K, Kudo Y, Arai H. PET with beta-amyloid tracer, <sup>11</sup>C-BF-227 in MCI and Alzheimer's disease: Comparison to biofluid biomarkers. International Conference on Alzheimer's Disease 2010. 2010年7月10日～15日. ハワイ

19) Waragai M, Okamura N, Furukawa K, Shao H, Tashiro M, Furumoto S, Sugi K, Yanai K, Kudo Y, Arai H. Amyloid PET in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease with [<sup>11</sup>C]BF-227: comparison to voxel-based morphometric MRI. International Conference on Alzheimer's Disease 2010. 2010年7月10日～15日. ハワイ

20) Shao H, Okamura N, Furumoto S, Furukawa K, Waragai M, Arai H, Kudo Y, Yanai K. PET amyloid Imaging in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease using novel amyloid ligand [<sup>18</sup>F]FACT-the hydroxylated BF-227 derivative.

International Conference on Alzheimer's Disease 2010. 2010年7月10日～15日. ハワイ

Okamura N, Mori M, Furumoto S, Yanai K, Kudo Y. Noninvasive detection of amyloid deposits using near-infrared fluorescence probe X50 in mice. 2010 World Molecular Imaging Congress, 2010年9月8-11日, 京都

### G. 知的財産権の出願・登録状況(予定も含む)

#### 1. 特許取得

なし

但し出願あり(次ページ)

#### 2. 実用新案登録

なし

#### 3. その他

なし

特許出願状況

	出願 / 登録の別	出願番号	発明の名称	出願日	出願人	発明者
1	出願	PCT/JP2008/061032	(EN) PET PROBE HAVING ALKOXY GROUP SUBSTITUTED BY FLUORINE AND HYDROXY GROUP	平成 20 年 6 月 17 日	東北大学	工藤幸司 古本祥三 岡村信行
2	出願	特願 2010-243532	タウイメーキングブ ローブ	平成 22 年 10 月 29 日	クリノ 株式会 社/東北 大学	工藤幸司 岡村信行 古本祥三

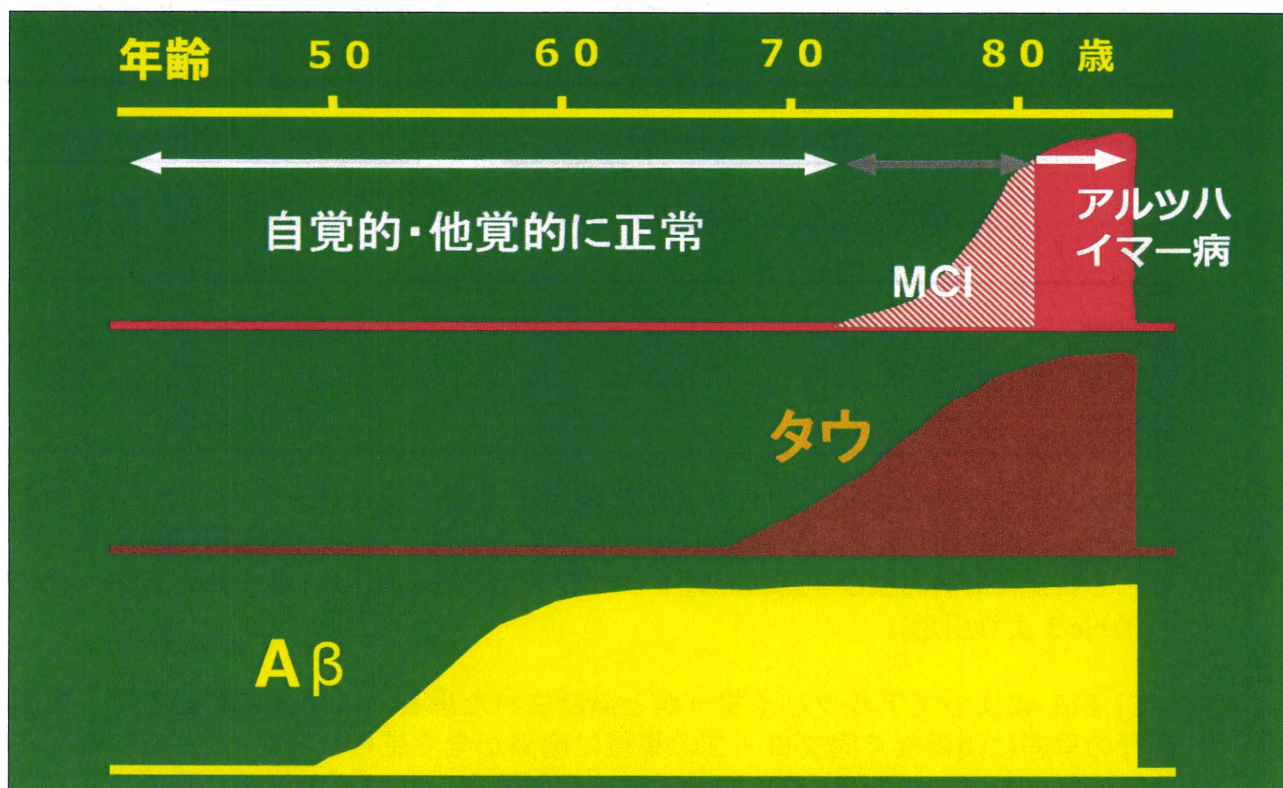


図 1.アルツハイマー病における臨床像と病理像の乖離

80歳でのアルツハイマー病発症では50歳からAβの蓄積が始まり60歳ではすでにプラトーに達している。一方、タウは70歳から年齢依存的に蓄積が進行する。

〈井原康夫、荒井啓行 著：アルツハイマー病、朝日新聞社、2007、東京より引用、一部改変〉

表 1. [<sup>11</sup>C] PIB を用いてアルツハイマー病と診断された際の同プローブの集積(ベースライン) と、2年後における同プローブの集積(2年後のフォローアップ) (アルツハイマー病においてAβが蓄積しない小脳における[<sup>11</sup>C] PIB 集積を1として算出)。

	AD (stable, n=10)		AD(progressive, n=5)	
	ベースライン	2年後のフォローアップ	ベースライン	2年後のフォローアップ
前頭葉	1.86 ± 0.74	1.90 ± 0.72	2.38 ± 0.35	2.32 ± 0.25
頭頂葉	1.81 ± 0.55	1.85 ± 0.55	2.21 ± 0.27	2.18 ± 0.26
側頭葉	1.51 ± 0.55	1.52 ± 0.37	1.82 ± 0.22	1.78 ± 0.19

アルツハイマー病において最もAβが蓄積する大脳皮質3部位における[<sup>11</sup>C] PIB 集積を示した。AD(Stable)およびAD(progressive)は2年間でMMSE(認知機能)テストスコアがそれぞれ3点未満および3点以上低下した群を示す(Engler H et al.:Brain. 2006 .129. 2856-66. のTable 3より引用)。

[<sup>11</sup>C] PIB によってアルツハイマー病と診断された患者の2年後においては、臨床症状の進行の早遅に関係なく同プローブの集積に増減が全く見られなかった。これはアルツハイマー病発症をさかのぼるMCI (Mild 軽度認知障害) のはるか以前にすでにAβの蓄積はプラトー状態に達しているためと考えられている。したがって[<sup>11</sup>C] PIB ではアルツハイマー病の進行度は診断不可能である。

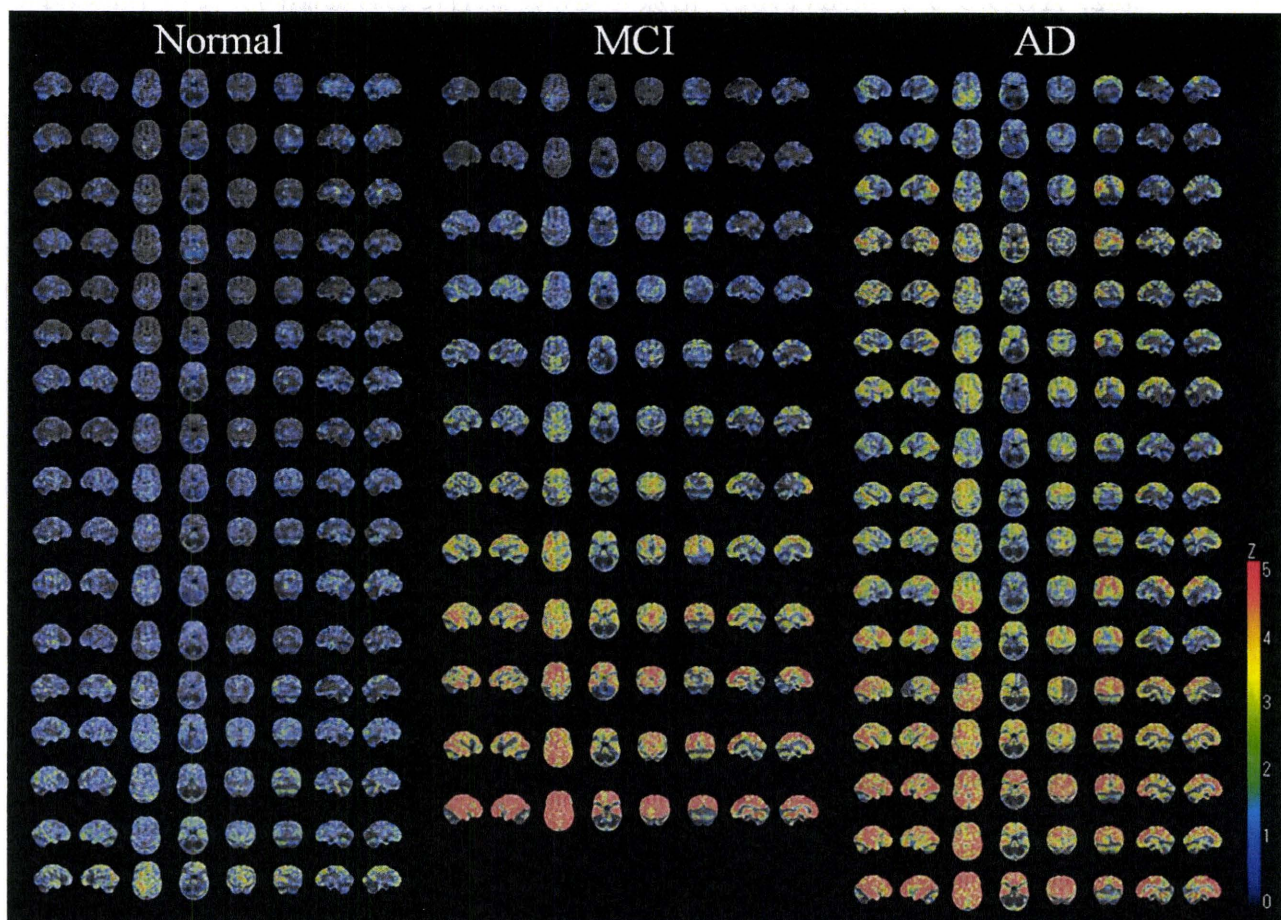


図 2. 研究代表者らによって開発されたアミロイド イメージングプローブ $[^{11}\text{C}]\text{BF-227}$  のヒトにおける PET 画像。 3D SSP(3 Dimensional Stereotactic Surface Projection) 解析  
 Normal: 正常健常者、MCI: 軽度認知障害患者、AD: アルツハイマー病患者

$[^{11}\text{C}]\text{BF-227}$  はアミロイド イメージング プローブであるが、図からも明らかなようにアミロイド  $\beta$  の蓄積量と臨床症状の進行度 (重症度) との間の相関性は高くない。2008 年 7 月の ADNI における  $[^{11}\text{C}]\text{PIB}$  においては、おそらく Normal の約半数において高集積 (画面上で赤い個体) が見られることになる。

表2. A $\beta$  ワクチン (AN1792) 治療を受けた患者における脳内アミロイドの除去と臨床症状

(すべて死亡された患者様のデータ) (Lancet : 372.216-223.2008.より引用)

	Baseline MMSE (points)	AN1792 dose ( $\mu$ g)	Mean antibody response (ELISA units)	Evidence of A $\beta$ plaque removal*	A $\beta$ load	Braak tau stage†	Survival time (months)	MMSE before death (points)
1‡	16	50	<1100	None	2.76%	V	4	16
2	15	225	<1100	None	2.52%	VI	41	0
3	21	50	1.119	Intermediate	0.75%	VI	20	0
4	16	225	1.4072	Intermediate	6.65%	VI	44	0
5	25	50	1.1707	Intermediate	2.19%	VI	57	0
6	21	225	1.491	Intermediate	1.18%	VI	63	0
7	23	50	1.4374	Very extensive	0.12%	VI	60	0
8	20	50	1.6470	Very extensive	0.35%	VI	64	0

Baseline MMSE (points): A $\beta$  ワクチン(AN1792) 処置前の認知機能(MMSE)のレベル

Evidence of A $\beta$  plaque removal : 脳内アミロイド除去の程度

Braak tau stage: アルツハイマー病におけるBraakのタウ蓄積レベル (図4参照)

MMSE before death (points): 死亡直前の認知機能(MMSE)のレベル

A $\beta$  ワクチン(AN1792) 処置前の認知機能レベルはMMSEスコア15~25であったが、20~64ヵ月後のそれらは総てMMSEスコア 0 (=極めて重症な認知症)であった(但し、No.1の症例は4ヵ月後に死亡しているため、MMSEスコアは変わらず)。これを A $\beta$  の側から見てみると、A $\beta$  除去の程度がNone、Intermediate、さらにVery extensiveに関係なく総ての症例において死亡直前のMMSEスコアは 0 であった。このことはAD発症後のA $\beta$  ワクチンは治療薬としての効果が乏しいことを示唆するとともに、A $\beta$  の蓄積度は必ずしもADの重症度を反映していないことを強く示唆している。

一方、Braakのタウ蓄積レベルを見てみると最も蓄積レベルの高い Stage VIであった。(図4参照)。

このことはADの重症度診断はA $\beta$ を追跡するよりも、タウを追跡する方がより妥当性が高いことをも強く示唆している。

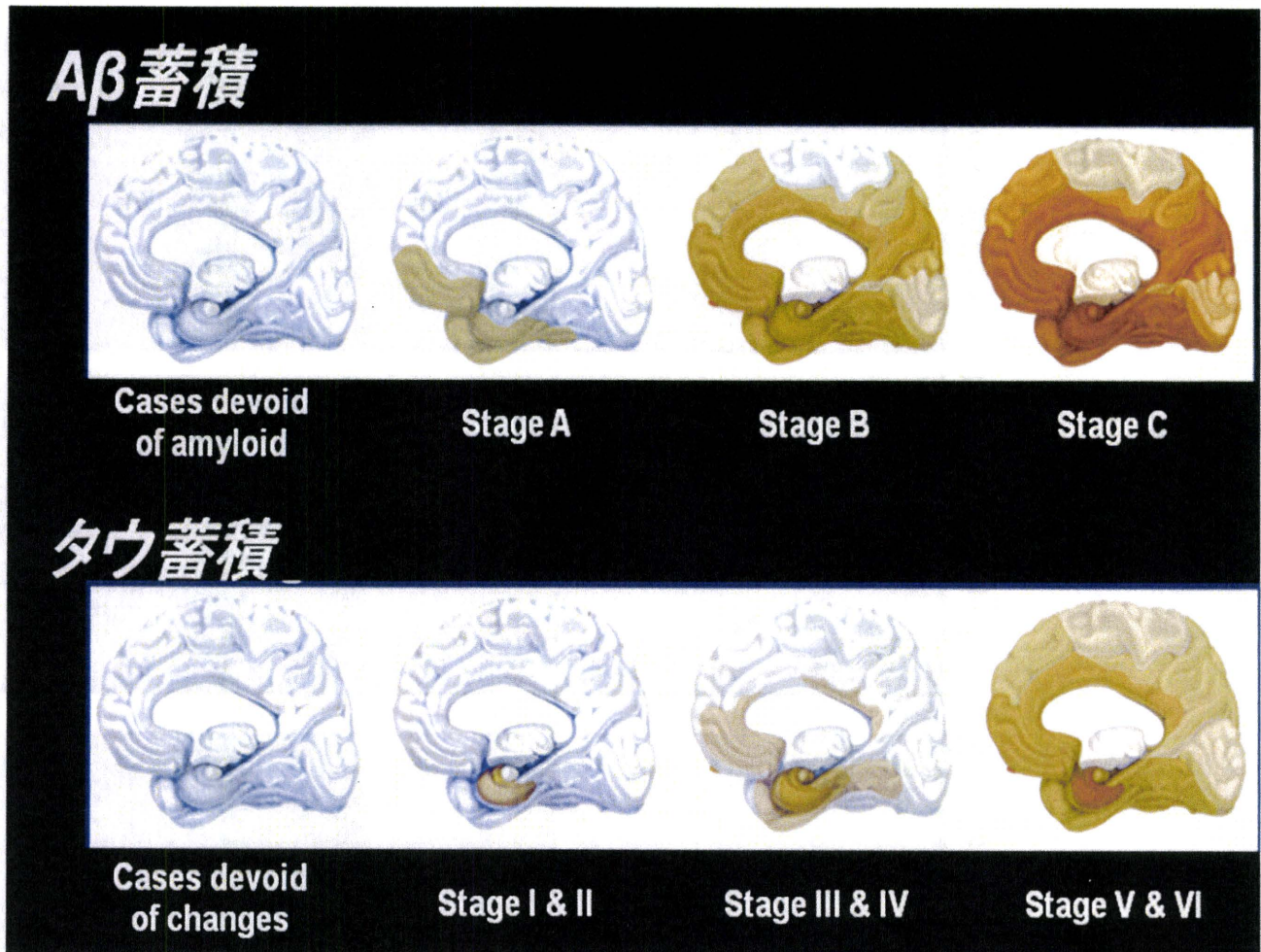


図3.アルツハイマー病におけるAβ蓄積とタウ蓄積のステージ (Braak & Braak: Neurobiol aging.18.351-357.1997より引用、一部改変)

表2の症例7および8の死亡後のBraakのStageをしてみると、Aβ蓄積はCases devoid of amyloid (またはStage A) と考えられたが、一方タウ蓄積はStage VIであった。すなわち両症例においてはAβ蓄積は軽度以下であるが、タウは最も蓄積レベルの高い Stage VIであったことを意味している。



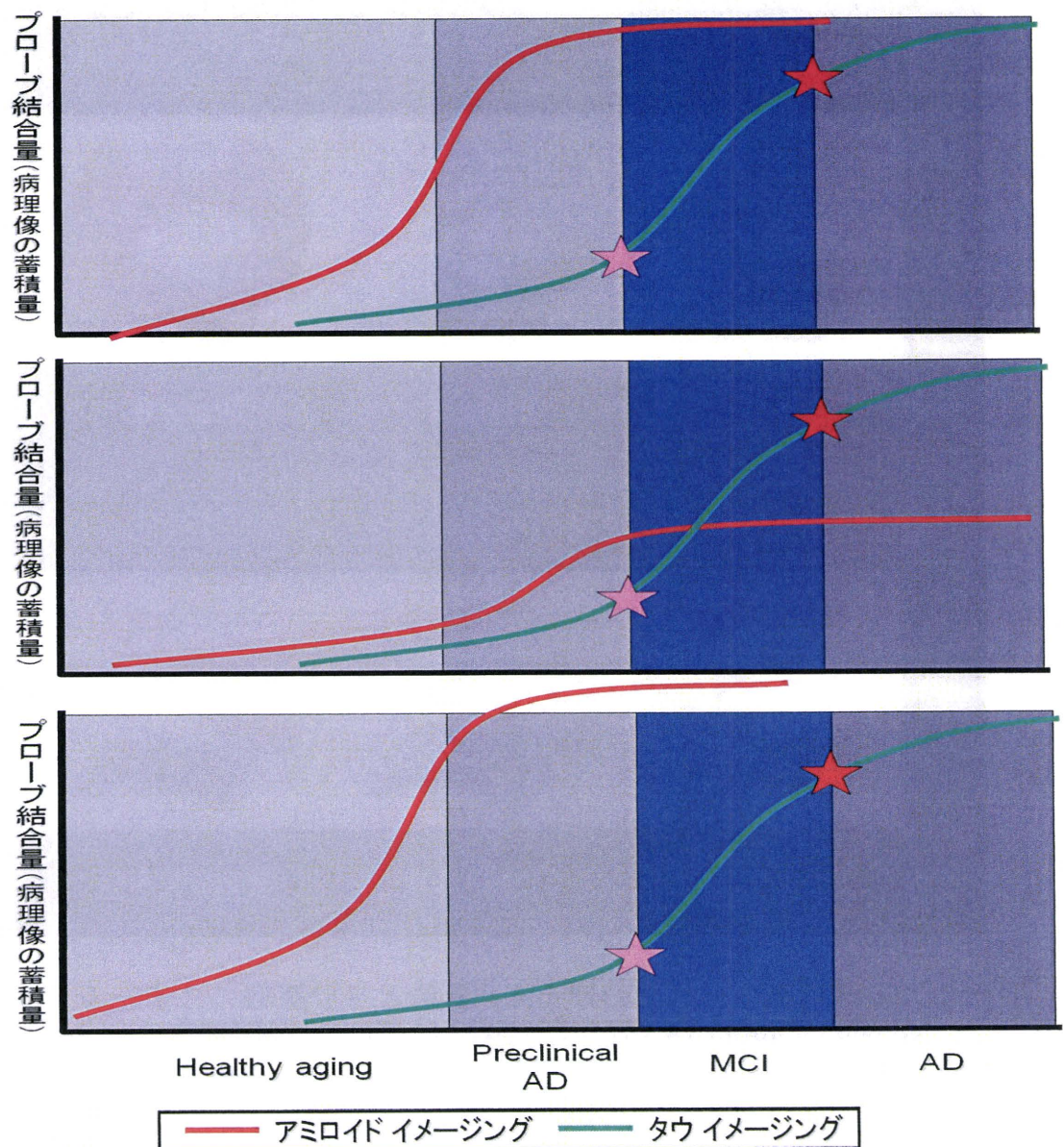
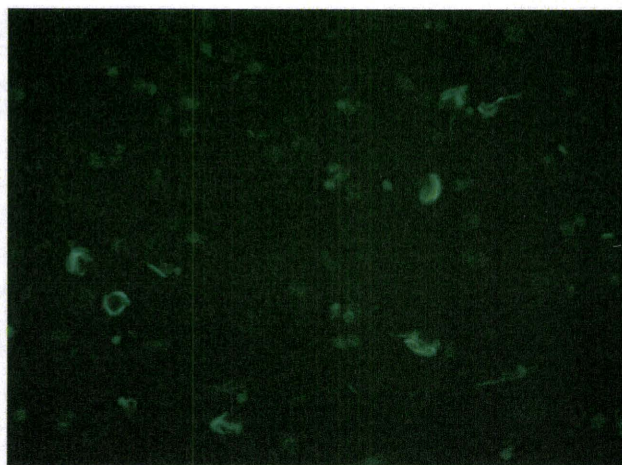


図4. ADにおけるアミロイド（ないしはA $\beta$ ）とタウの関係（研究代表者らの提唱）

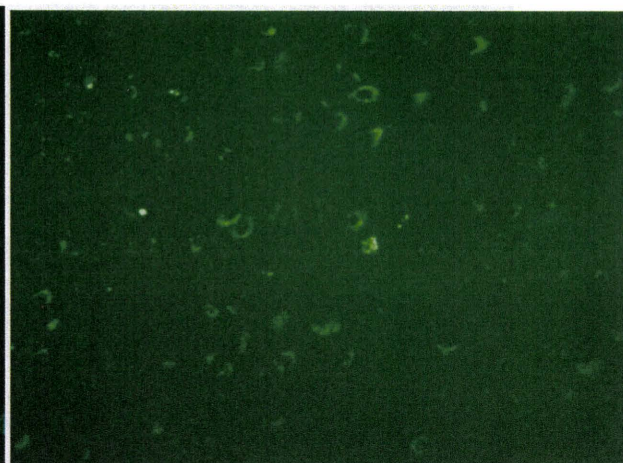
上、中および下段に示すように、アミロイド蓄積がそれほど多くない場合でも、タウ蓄積が閾値に達するとMCI、ADが発症し、またアミロイド蓄積が極めて多くても、タウ蓄積が閾値に達しない場合、MCI、ADは発症しない。

つまり、アミロイド蓄積の多寡は、MCI、AD発症には関係なく、タウ蓄積がこれを規定する。

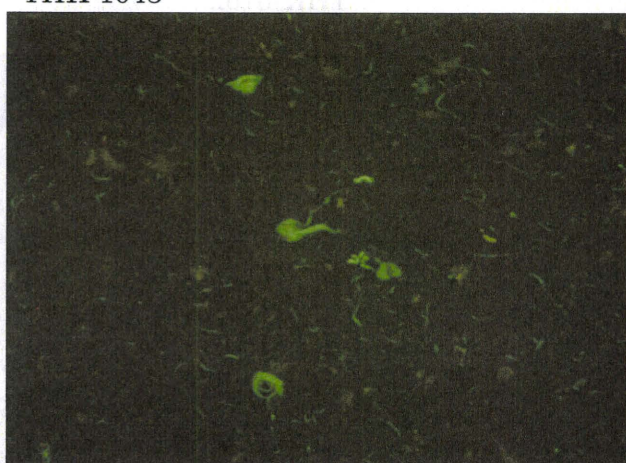
言い換えると「アミロイド（ないしはA $\beta$ ）には閾値がない、タウには閾値がある」。



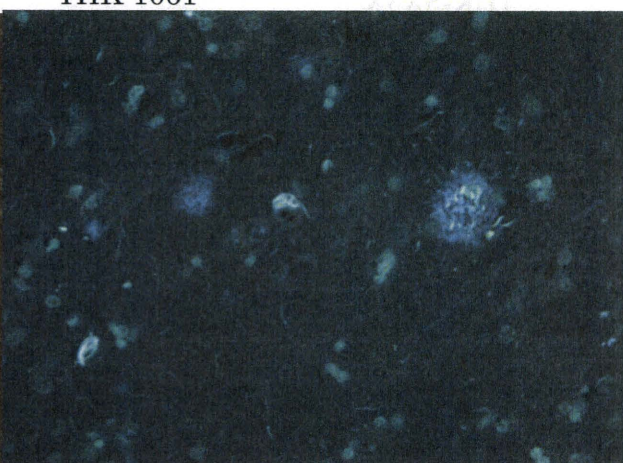
THK-1043



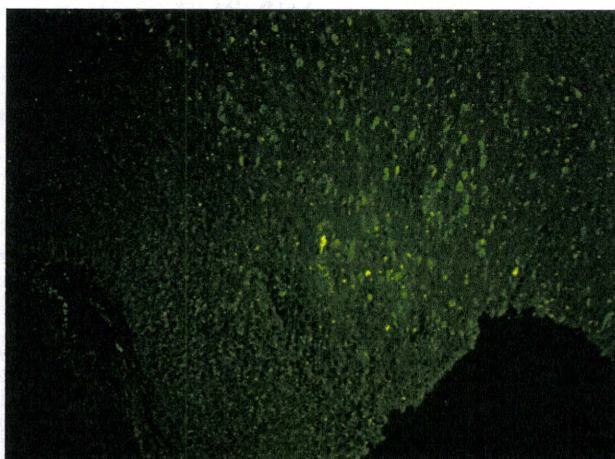
THK-1061



THK-1062



THK-1074

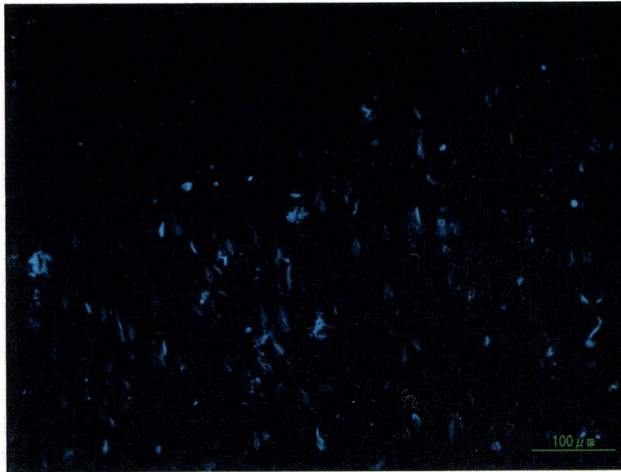


THK-2153

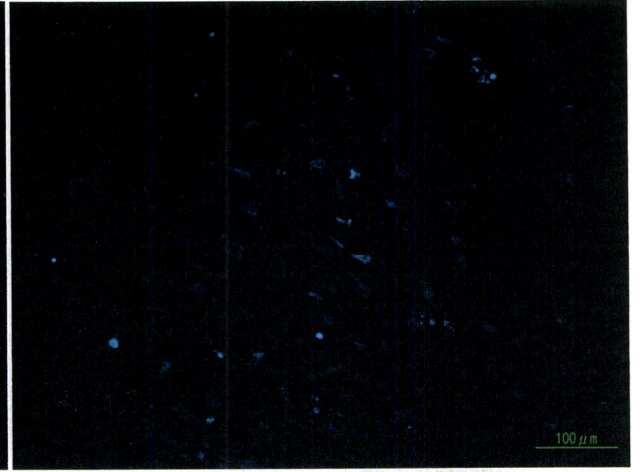


左の隣接切片の抗リン酸化タウ抗体染色像

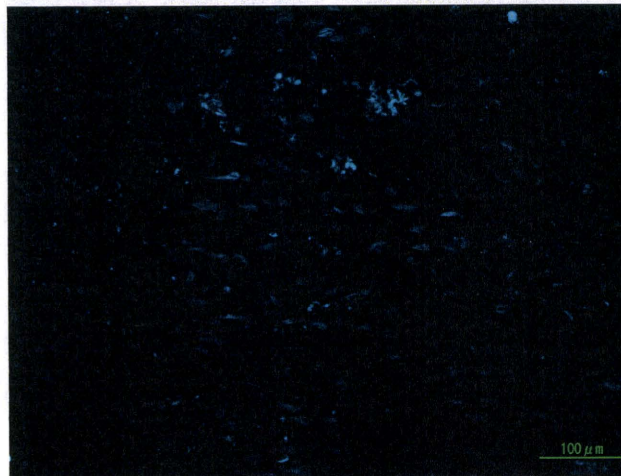
図5-1. アルツハイマー病患者様脳切片における代表的化合物の染色像  
上および 中段は200倍、下段は100倍拡大



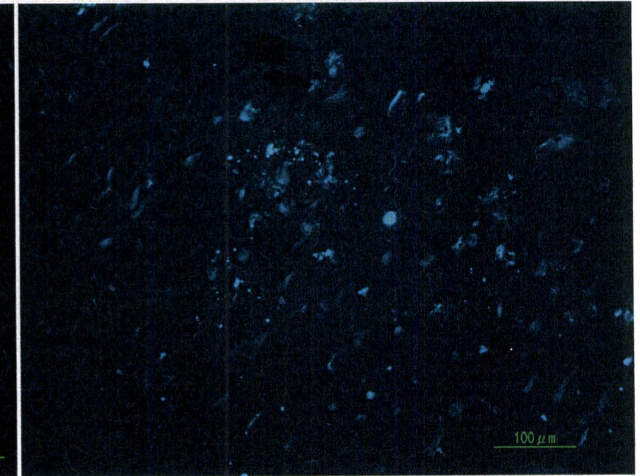
THK-5X3X



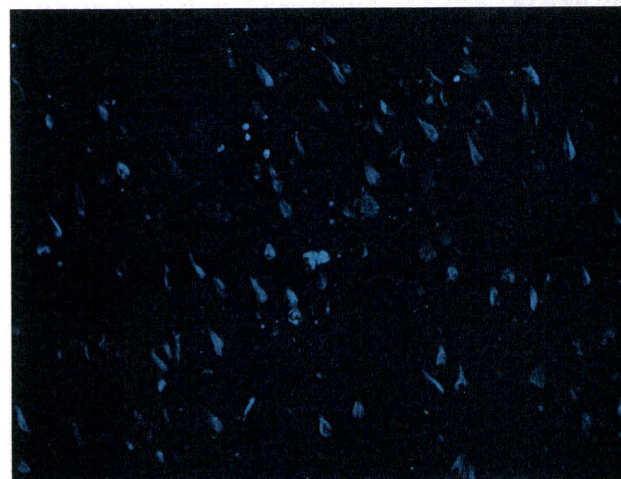
THK-6162



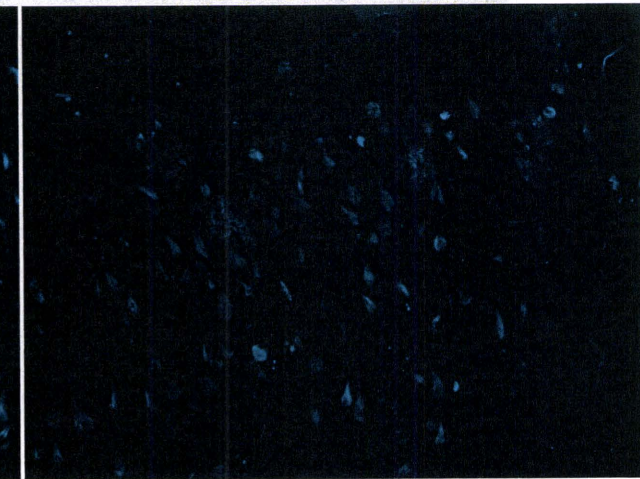
THK-6169



THK-6175

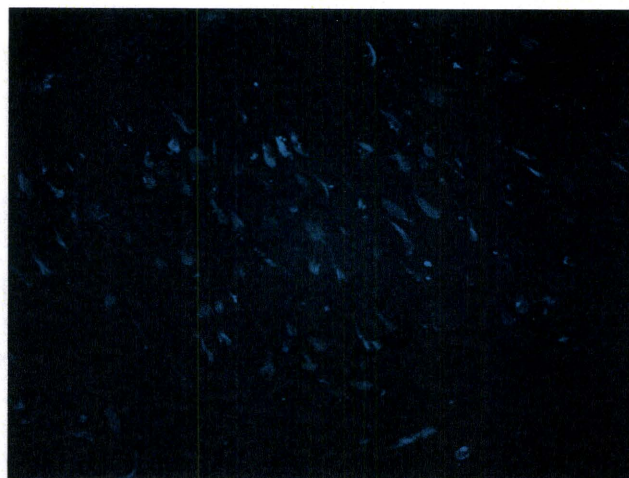


THK-6182

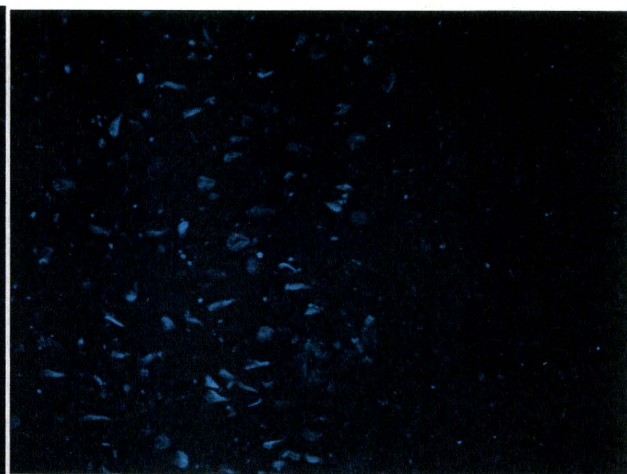


THK-6189

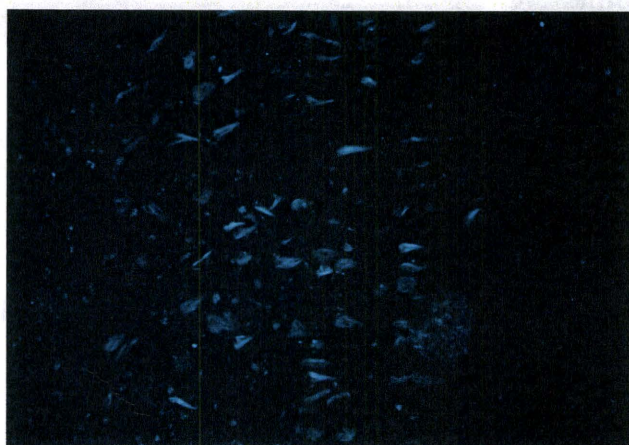
図 5-2 アルツハイマー病患者様脳切片における代表的化合物による染色像



THK-6236



THK-6267



THK-6264

図 5-3 アルツハイマー病患者様脳切片における代表的化合物による染色像

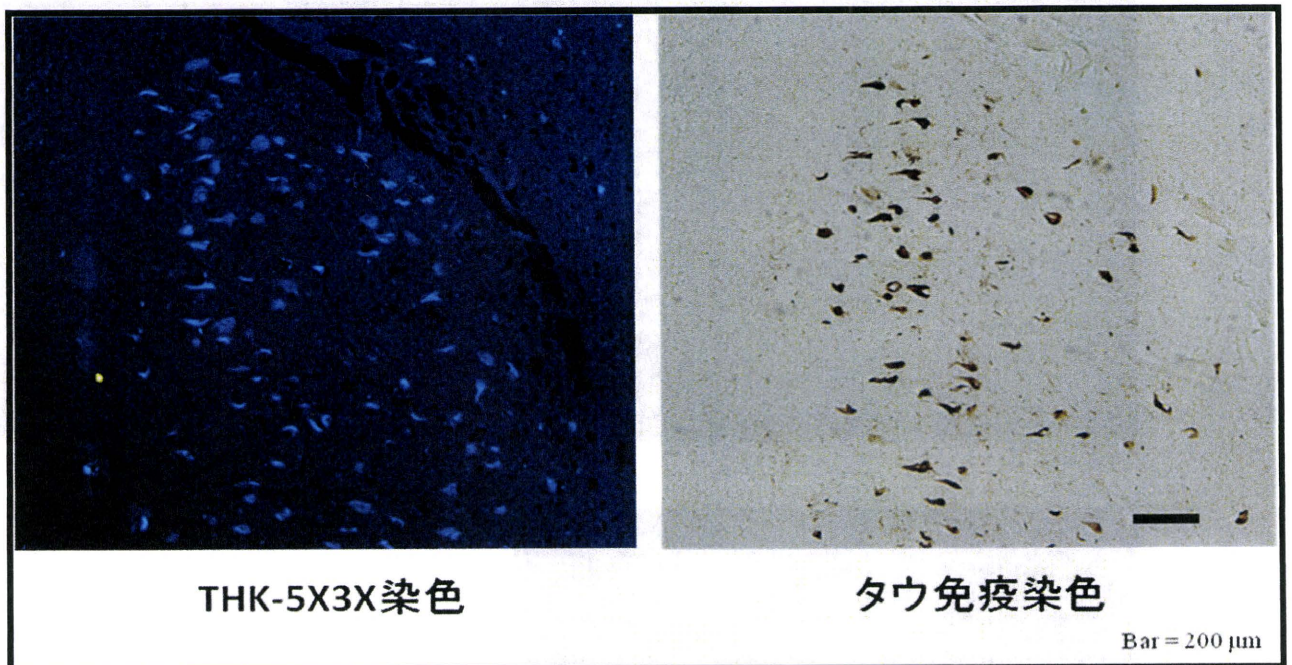


図5-4.アルツハイマー病患者脳切片におけるTHK-5X3Xのタウに対する特異性・選択性  
左：THK-5X3X染色、 右：左の隣接切片におけるタウ免疫（AT-8）染色

アルツハイマー病患者脳切片における THK-5X3X の染色像はタウ免疫染色陽性構築物とその形態像を含めてよく一致していた。

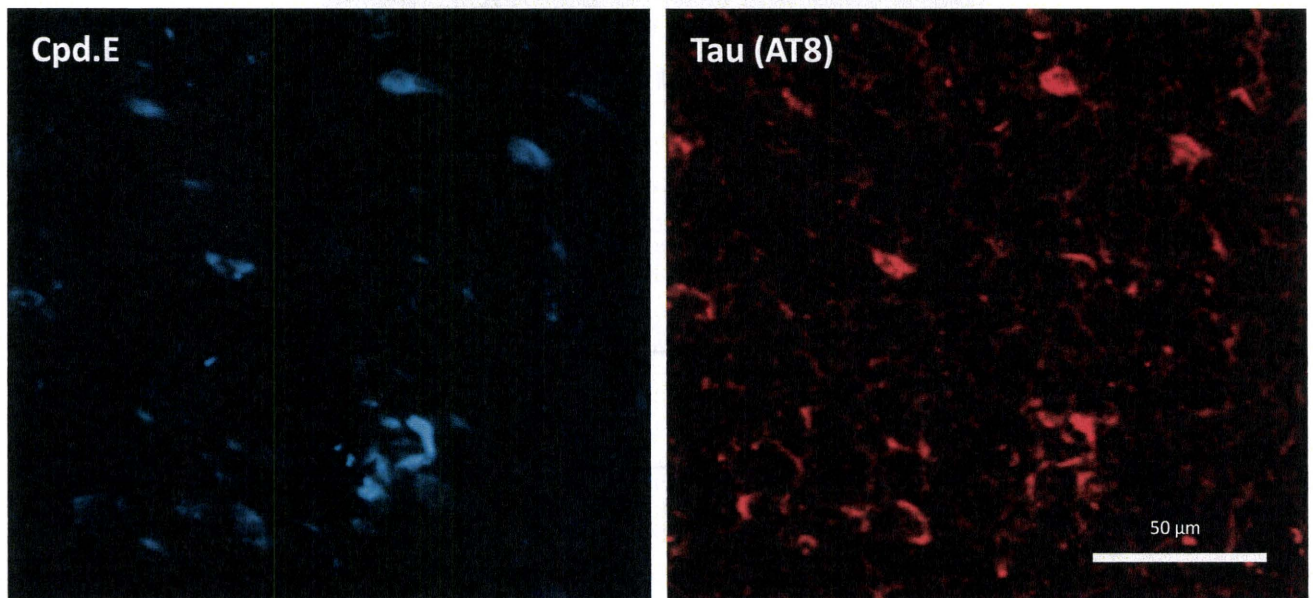
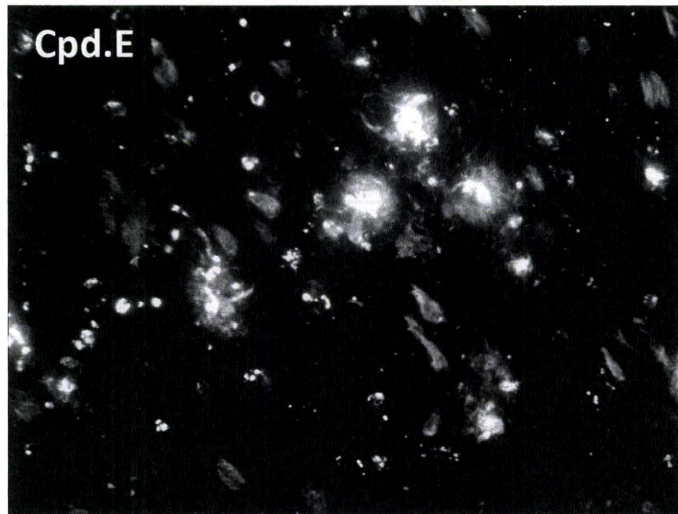


図 5-5. Cpd.E によるアルツハイマー病脳切片染色像（上段、下段左）と同一切片でのタウ免疫染色像（下段右）

表 1-1. 各化合物静脈内投与後の脳移行および血漿における含量

	% I D/g (mean ± S.D.)			
	脳		血漿 (または血液)	
	2 分後	30 分後	2 分後	30 分後
THK-1017	10.02 ± 0.48	0.35 ± 0.07	1.84 ± 0.10	0.07 ± 0.01
THK-1043	2.32 ± 0.36	0.15 ± 0.07	ND*	ND*
THK-1049	2.04 ± 0.58	0.005 ± 0.001	0.70 ± 0.15	0.001 ± 0.0004
[ <sup>11</sup> C]THK-1062	3.23 ± 0.27	0.15 ± 0.05	2.65 ± 0.46	0.20 ± 0.04
[ <sup>18</sup> F]THK-2352	2.72 ± 0.31	1.47 ± 0.07	1.11 ± 0.25	1.63 ± 0.04

使用動物；雄性マウス、 投与ルート；静脈内、N=4

ND\*：血漿成分由来ピークと THK-1043 由来ピークが重なり、分離できなかったため、測定を中断した。

表 1-2. 各化合物静脈内投与後の脳および血漿における含量

	%ID/g or mL (mean ± S.D.)			
	脳		血漿	
	2分後	30分後	2分後	30分後
THK-5X3X	4.51 ± 0.29	1.70 ± 0.33	2.21 ± 0.26	0.17 ± 0.04
THK-6162	3.98 ± 0.47	0.10 ± 0.01	4.03 ± 0.41	0.11 ± 0.02
THK-6182	5.26 ± 0.68	0.71 ± 0.21	1.47 ± 0.10	0.09 ± 0.04

使用動物；雄性マウス、 投与ルート；静脈内

表 1-3. 各化合物静脈内投与後の脳における含量  
(非標識体-HPLCによる測定)

	脳 %ID/g (mean ± S.D.)	
	2分後	30分後
Cpd.E	9.60 ± 1.41	3.15 ± 0.34
THK-6236	7.36 ± 0.47	1.39 ± 0.50
THK-6239	6.03 ± 0.68	0.52 ± 0.08
THK-6267	4.40 ± 0.34	0.56 ± 0.13

使用動物；雄性マウス、 投与ルート；静脈内



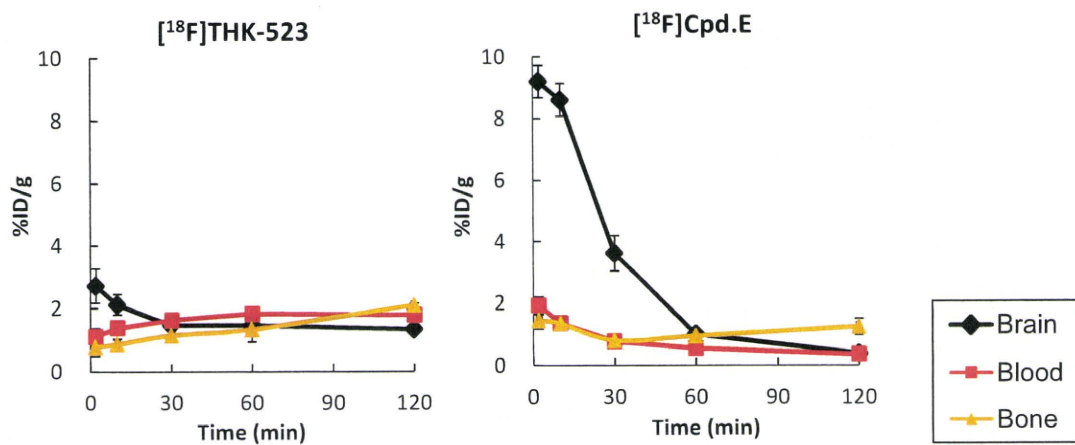


図 6 ICR マウスへの<sup>18</sup>F]THK-523、<sup>18</sup>F]Cpd.E 静注後の脳 (Brain)、血液 (Blood)、骨 (Bone) における放射能の時間変化

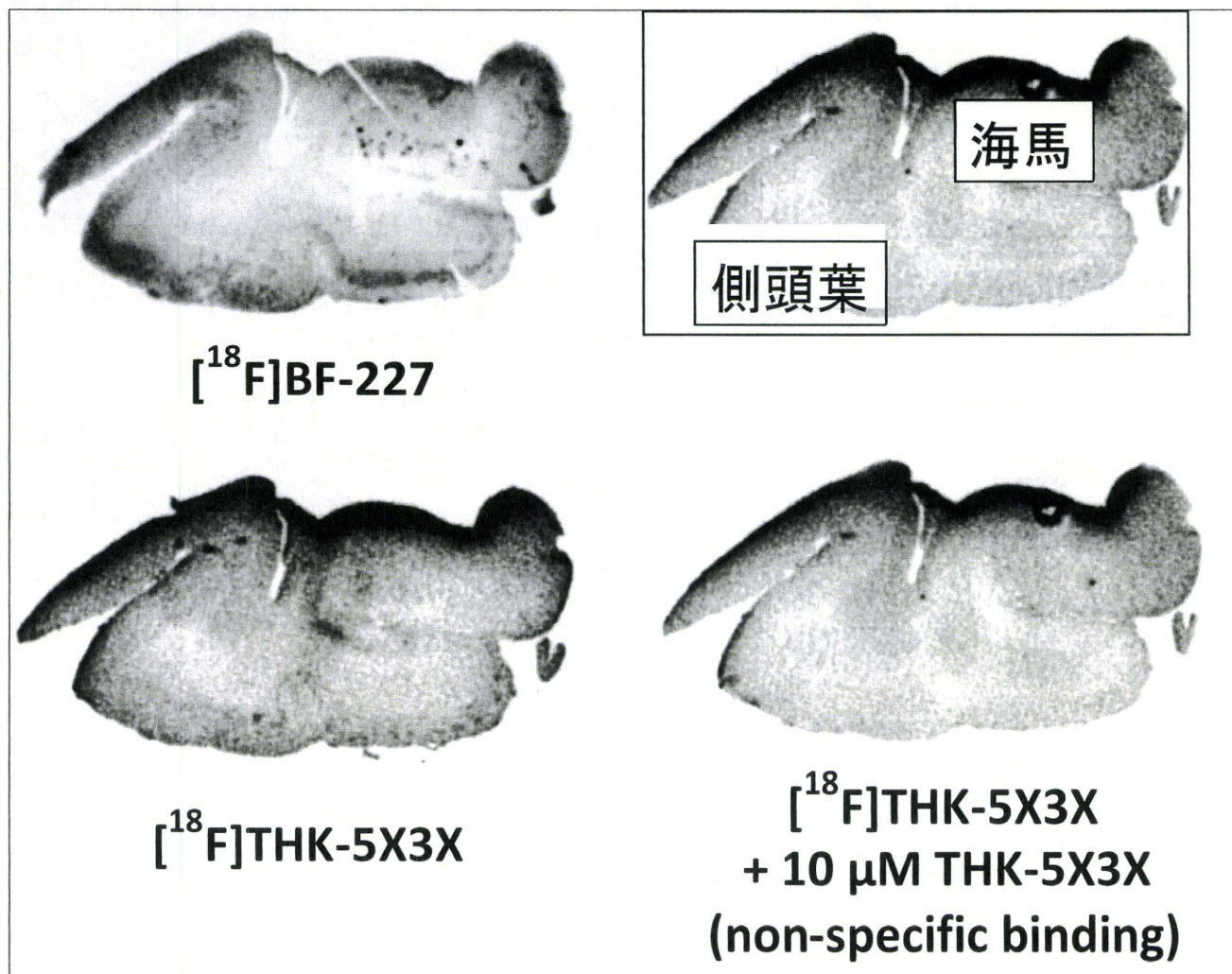


図9.  $[^{18}\text{F}]\text{THK-5X3X}$ 、 $[^{18}\text{F}]\text{BF-227}$ によるアルツハイマー病患者海馬—側頭葉脳切片のオートラジオグラフィ像

アルツハイマー病海馬-側頭葉脳切片における $[^{18}\text{F}]\text{THK-5X3X}$ の集積分布は $[^{18}\text{F}]\text{BF-227}$ のそれと明らかに異なっていた（上段左と下段左）。海馬領域における集積は $[^{18}\text{F}]\text{THK-5X3X}$ の方が顕著であった（下段左）。また $[^{18}\text{F}]\text{THK-5X3X}$ の集積は同化合物の非標識体を付加することによりブロックされた（下段右）。

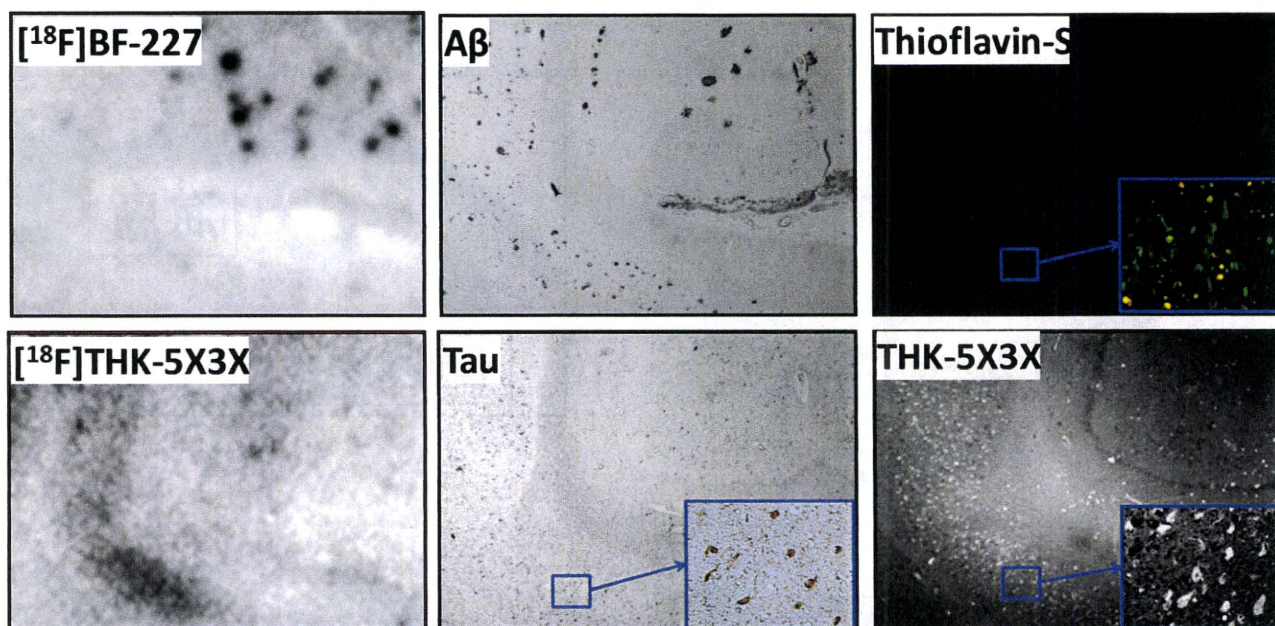


図10. アルツハイマー病患者脳切片における $[^{18}\text{F}]\text{THK-5X3X}$ のオートラジオグラフィ (A $\beta$ 特異的選択的プローブ $[^{18}\text{F}]\text{BF-227}$ との比較)

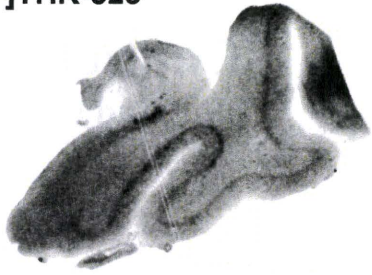
上段左： $[^{18}\text{F}]\text{BF-227}$ のオートラジオグラフィ、上段中：A $\beta$ 免疫染色、上段右：Thioflavin-S 染色

下段左： $[^{18}\text{F}]\text{THK-5X3X}$ のオートラジオグラフィ、上段中：タウ免疫染色、THK-5X3X染色

$[^{18}\text{F}]\text{THK-5X3X}$ の集積像はタウ選択的であり、また非標識 THK-5X3X によって染色される構築物はタウ特有の形態を示していた(上段右の Thioflavin-S 染色および下段中のタウ免疫染色との比較より)。

一方、 $[^{18}\text{F}]\text{BF-227}$ 集積像は A $\beta$  選択的であった。

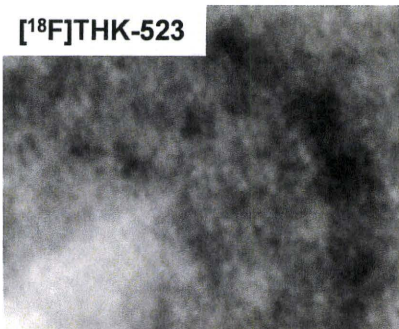
**[<sup>18</sup>F]THK-523**



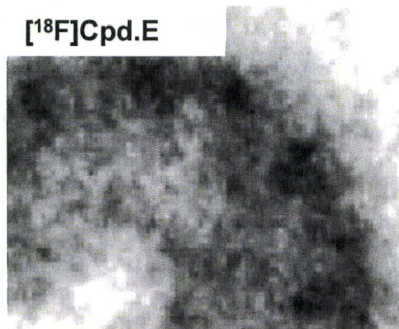
**[<sup>18</sup>F]Cpd.E**



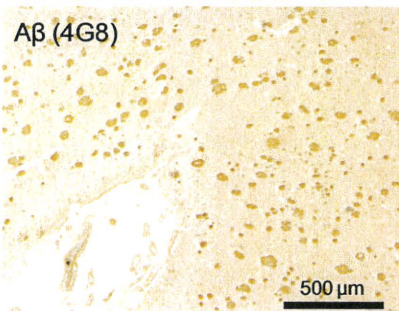
**[<sup>18</sup>F]THK-523**



**[<sup>18</sup>F]Cpd.E**



**A $\beta$  (4G8)**



**Tau (AT8)**

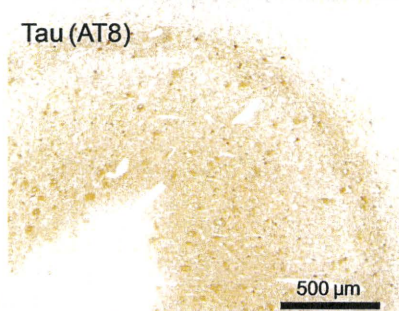


図7 [<sup>18</sup>F]THK-523、[<sup>18</sup>F]Cpd.E によるアルツハイマー病患者海馬一側頭葉脳切片のオートラジオグラフィー像（左、右上）と隣接切片におけるアミロイド $\beta$ 蛋白（A $\beta$ ）、タウ蛋白免疫染色像（右下）