

図3 アルツハイマー病患者(AD)脳切片における $[^3\text{H}]\text{THK-5351}$ 、 $[^3\text{H}]\text{PiB}$ のオートラジオグラフィ像および Gallyas Braak 染色像、 $\text{A}\beta$ 免疫染色像

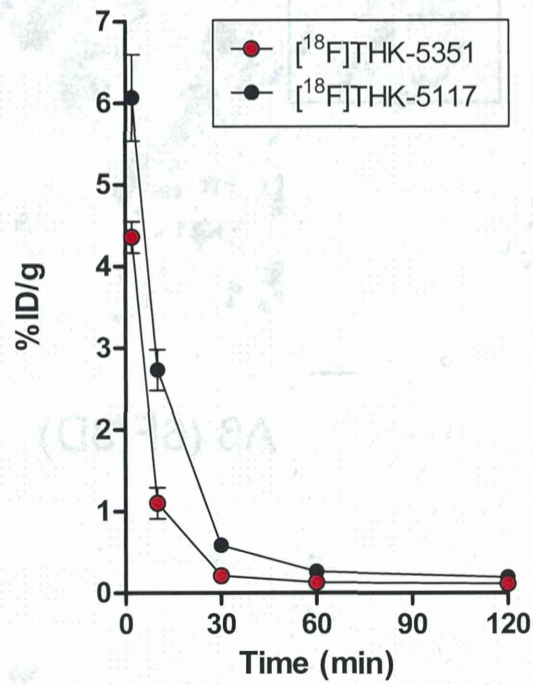
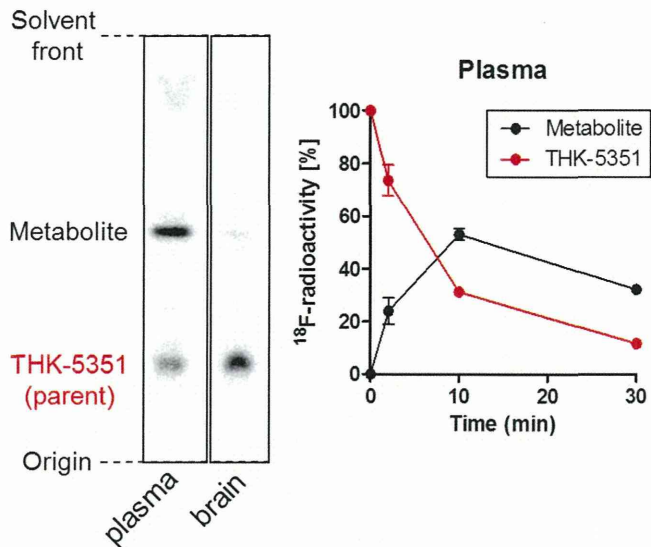


図4 正常マウスにおける $[^{18}\text{F}]\text{THK-5351}$ および $[^{18}\text{F}]\text{THK-5117}$ の脳移行性



RP-HPTLC in plasma and brain at 10 min following injection of [¹⁸F]THK-5351

CH₃CN:20 mM phosphate buffer, pH 6.5 = 1:1

Extraction efficiency

Plasma: 86.8%

Brain: 82.2%

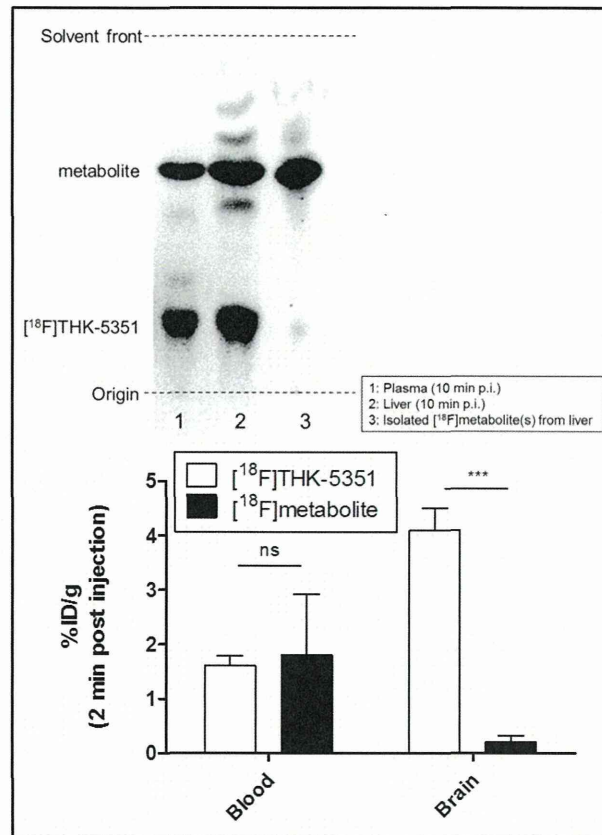


図5 正常マウスにおける¹⁸F]THK-5351の代謝解析および放射性代謝物の脳移行性

厚生労働科学研究費補助金
(医療機器開発推進研究)
平成 26 年度 分担研究報告書

アルツハイマー病診断用タウプローブの開発
および
探索的臨床研究

— ^{18}F THK-5351 の探索的臨床評価—

分担研究者	岡村信行	東北大学大学院医学系研究科 機能薬理学分野・准教授
分担研究者	古本祥三	東北大学サイクロトロン RI センター・教授
分担研究者	荒井啓行	東北大学加齢医学研究所 加齢老年医学分野・教授
分担研究者	谷内一彦	東北大学大学院医学系研究科 機能薬理学分野・教授
研究協力者	原田龍一	東北大学加齢医学研究所 ニュー ロ・イメージング寄付研究部門
研究代表者	工藤幸司	東北大学加齢医学研究所 ニュー ロ・イメージング寄付研究部門

研究要旨： 新たに開発したタウイメージング用プローブ ^{18}F THK-5351 の有用性を評価する目的で、健常高齢者 17 名、軽度認知障害 (MCI) 4 名、アルツハイマー病 (AD) 患者 13 名の計 34 名を対象として、 ^{18}F THK-5351 の臨床評価を実施した。 ^{18}F THK-5351 は ^{18}F THK-5117 でみられた皮質下白質や脳幹部における非特異的集積が少なく、小脳からのクリアランスがより速やかであった。AD 患者では下部側頭葉領域を中心に ^{18}F THK-5351 の有意な集積を認め、病理研究で示されているタウ病理像の分布と一致した。またアミロイド PET プローブ ^{11}C PiB の集積パターンとは大きく異なっていた。側頭葉および頭頂葉における ^{18}F THK-5351 集積量は、AD 患者の認知機能スコアと有意な相関を示した。以上の結果から、 ^{18}F THK-5351 は従来のプローブよりも高いコントラストでタウ病変を描出し、臨床的有用性が高いことが確認された。

A. 研究目的

脳内タウ蛋白の非侵襲的イメージングは、アルツハイマー病 (AD) やその他のタウオパチーの診断や早期治療介入を図る上で重要な画像診断技術である。我々は AD 患者のタウ病理像を生体画像化する目的で、これまでに 2 つの PET プローブ ($[^{18}\text{F}]\text{THK-5105}$ 、 $[^{18}\text{F}]\text{THK-5117}$) の開発と臨床評価を実施してきた。これらの PET プローブは AD 患者のタウ病理像好発部位への集積を示し、その臨床的有用性が確認されたが、白質組織に非特異的に集積することが欠点として指摘された。そこで白質組織への結合性を減弱させた最適化プローブ $[^{18}\text{F}]\text{THK-5351}$ を開発した。本年度は従来型プローブと比べた際の $[^{18}\text{F}]\text{THK-5351}$ の優位性を確認するため、AD 患者を対象とした First-in-man 研究を実施した。

B. 研究方法

AD 患者 13 名 (年齢 76.5 ± 9.1 歳、男性 9 名、女性 4 名、MMSE スコア 19.2 ± 4.2 点)、軽度認知障害 (MCI) 4 名 (年齢 80.5 ± 1.3 歳、男性 1 名、女性 3 名、MMSE スコア 26.5 ± 1.9 点)、健常人 17 名 (うち健常高齢者 9 名 (年齢 71.6 ± 6.6 歳、男性 5 名、女性 4 名、MMSE スコア 28.6 ± 1.5 点)) を対象とした。AD の臨床診断は NINCDS-ADRDA による probable AD の基準を、また MCI の診断は 1996 年に Petersen らが

定義した基準をそれぞれ使用した。本臨床研究は、ヘルシンキ宣言を遵守して倫理面で最大限の配慮を行い、東北大学病院倫理委員会の承認 (受付番号: 2014-2-159) を経て実施した。

PET 検査は東北大学サイクロトロン RI センターで実施した。PET スキャナーは Eminence STARGATE (島津製作所製) を使用し、185 MBq の $[^{18}\text{F}]\text{THK-5351}$ を静脈内投与直後より 90 分間のダイナミックスキャンを実施した。また同一被検者で PiB-PET スキャンを実施した。296 MBq の $[^{11}\text{C}]\text{PiB}$ 投与後、70 分間のダイナミックスキャンを実施した。

PET 画像の解析においては、まず SPM8 ソフトウェアを用いて解剖学的標準化を行った後、Hammers の maximum probability atlas によって関心領域 (VOI) を設定した。AD 患者においてタウ病変が存在しないとされている小脳を参照領域として、 $[^{18}\text{F}]\text{THK-5351}$ 投与後 50~60 分の平均 SUV 値の対小脳比 (SUV ratio) を算出した。上記 VOI 解析は PMOD (ver. 3.6) ソフトウェアを用いて実施した。

C. 研究結果

図 1 に $[^{18}\text{F}]\text{THK-5351}$ 投与後 50-60 分後の PET 画像、図 2 に健常高齢者と AD 患者における $[^{18}\text{F}]\text{THK-5351}$ 投与後の時間放射能曲線を示した。 $[^{18}\text{F}]\text{THK-5351}$ は AD

患者の海馬、側頭葉、頭頂葉において顕著に集積し、大脳皮質全体に広範に集積する^{[11C]PiB}の集積パターンとは異なっていた(図1)。AD患者では健常高齢者に比べて下部側頭葉でのトレーサー排出が遅延していた(図2 A-B)。AD患者の下部側頭葉における^{[18F]THK-5351} SUVR値は投与50分前後でピークに達し(図2 C)、その後一定化したことから、^{[18F]THK-5351} PETにおける最適な撮像時間帯は投与後50分以降と判断された。^{[18F]THK-5117} PETを併せて実施したAD患者において、^{[18F]THK-5351}と^{[18F]THK-5117}投与後のPET画像(図3)と時間放射能曲線(図4)を比較した。その結果、^{[18F]THK-5351}は^{[18F]THK-5117}よりも皮質下白質や小脳から速やかに排出され、皮質における特異的集積をより高いコントラストで描出した。健常高齢者、MCI、AD患者の三群間で脳各領域における^{[18F]THK-5351} SUVR値を比較した結果、AD患者では表1に示す多くの領域で有意な集積上昇を認めた。AD群と健常高齢者の二群間の差の効果量は中下側頭回で最も高く、上頭頂小葉、紡錘状回がこれに続いた。またMCI群においても上頭頂小葉、紡錘状回において有意な集積上昇を認めた。一方、皮質下白質では三群間で有意な集積の差を認めなかった。最後に^{[18F]THK-5351}集積量と認知症重症度の指標となるADAS-cogスコアとの関

係について調べた。その結果、海馬傍回、中下側頭回、上頭頂小葉における^{THK-5351} SUVR値はADAS-cogスコアと有意な正の相関を示した(図5)。なお本研究において、薬剤投与に伴う有害事象の発生はみられなかった。

D. 考察

AD患者における^{[18F]THK-5351}の集積はタウ病理像の好発部位である側頭葉領域を中心に観察されたことから、タウ蛋白病理像を選択的に認識している可能性が高いと考えられた。本トレーサーの結合選択性に関しては、画像所見と死後の病理所見との対応を調べることによって確認することが最終的には必要である。また皮質下白質、脳幹部における^{[18F]THK-5351}の集積は^{[18F]THK-5117}に比べて低く、*in vitro*での実験結果から期待された可逆性に優れた結合特性を*in vivo*でも確認することができた。大脳皮質における特異的集積量が比較的少ないMCIの症例では、^{[18F]THK-5117}の皮質下白質における非特異的集積が読影上の妨げになる可能性があった。^{[18F]THK-5351}は白質組織からの良好なクリアランスにより、病初期段階における軽微なタウ病理像の検出力向上が期待できる。またAD以外のタウオパチー疾患では、脳幹部においてもタウ病変が形成されることがあるため、このようなタウ

病変の検出も期待できる。

[¹⁸F]THK-5351 の集積量は MCI、AD 患者の ADAS-cog スコアと相関することから、認知症重症度を反映するバイオマーカーと考えられる。MCI 症例におけるトレーサー集積パターンは AD 患者とほぼ共通していたが、AD 患者に比べて絶対的な集積量が低い傾向がみられた。このことから、MCI の大脳皮質ではタウ病理像が形成途上にあると思われる。今後、MCI 症例数を増やし、アミロイド病理像の有無がタウ病理像の形成に及ぼす影響について明らかにする予定である。

E. 結論

[¹⁸F]THK-5351 は AD 患者のタウ病理像を高感度に検出する PET プローブとして臨床的有用性が高いことが確認された。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Harada R, Okamura N, Furumoto S, Furukawa K, Ishiki A, Tomita N, Hiraoka K, Watanuki S, Shidahara M, Miyake M, Ishikawa Y, Matsuda R, Tashiro M, Yanai K, Arai H, Kudo Y: [¹⁸F]THK-5117 PET for assessing neurofibrillary pathology in Alzheimer's disease. *Eur Nucl Med Mol Imaging*. DOI 10.1007/s00259-015-3035-4
- 2) Li Y, Tsui W, Rusinek H, Butler T, Mosconi L, Pirraglia E, Mozley D, Vallabhajosula S, Harada R, Furumoto S, Furukawa K, Arai H, Kudo Y, Okamura N: Cortical Lamina Binding of PET Amyloid and Tau Tracers in Alzheimer's disease. *J N M* (2015)56.270-273

- 3) Villemagne VL, Furumoto S, Fodero-Tavoletti MT, Mulligan RS, Hodges J, Harada R, Yates P, Piguet O, Pejoska S, Dore V, Yanai K, Masters CL, Kudo Y, Rowe CC, Okamura N: In vivo evaluation of a novel tau imaging tracer for Alzheimer's disease. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*(2014) DOI 10.1007/s00259-013-2681-7
- 4) Okamura N, Harada R, Furumoto S, Arai H, Yanai K, Kudo Y: Tau PET Imaging in Alzheimer's Disease. *Curr Neurol Neurosci Rep* (2014) DOI 10.1007/s11910-014-0500-6
- 5) Fodero-Tavoletti MT, Furumoto S, Taylor L, McLean CA, Mulligan RS, Birchall I, Harada R, Masters CL, Yanai K, Kudo Y, Rowe CC, Okamura N, Villemagne VL: Assessing THK523 selectivity for tau deposits in Alzheimer's disease and non Alzheimer's disease tauopathies. *Alzheimers Res Ther* (2014)26.11
- 6) Okamura N, Furumoto S, Fedoro-Tavoletti MT, Mulligan RS, Harada R, Yates P, Pejoska S, Kudo Y, Masters CL, Yanai K, Rowe CC, Villemagne VL: Non-invasive assessment of Alzheimer's disease neurofibrillary pathology using ¹⁸F-THK-5105 PET. *Brain* (2014) doi:10.1093/brain/awu064
- 7) Tago T, Furumoto S, Okamura N, Harada R, Ishikawa Y, Arai H, Yanai K, Iwata R, Kudo Y: Synthesis and preliminary evaluation of 2-arylhydroxyquinoline derivatives for tau imaging. *J Labelled Comp Radiopharm*(2014)57.18-24
- 8) Villemagne VL, Furumoto S, Fodero-Tavoletti MT, Mulligan RS, Hodges J, Harada R, Yates P, piguet O, Pejoska S, Dore V, Yanai K, Masters CL, Kudo Y, Rowe CC, Okamura N.: In vivo evaluation of a novel tau imaging tracer for alzheimer's disease. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 41.816-826.2014

2. 学会発表 海外学会発表

1. Okamura N, Harada R, Furumoto S, Furukawa K, Ishiki A, Iwata R, Tashiro M, Yanai K, Arai H, Kudo Y. Clinical PET study of a novel tau PET tracer [¹⁸F]THK-5351 in patients with Alzheimer's disease. ADPD 2015, March 20, 2015, Nice
2. Harada R, Okamura N, Furumoto S, Tago T, Iwata R, H, Arai H, Yanai K, Kudo Y. Preclinical evaluation of a novel tau PET tracer [¹⁸F]THK-5351. AD/PD 2015, March 18-22, 2015 Nice France
3. Okamura N. Recent experiences with THK compounds. ADPD Imaging Symposium 2015, March 17, 2015, Nice
4. Harada R, Okamura N, Furumoto S, Tago T, Furukawa K, Ishiki A, Iwata R, Tashiro M, Yanai K, Arai H, Kudo Y. First-in-human PET study of a novel tau tracer [¹⁸F]THK-5351. Human Amyloid Imaging 2015, Jan 16, 2015, Miami
5. Okamura N, Harada R, Furumoto S, Furukawa K, Ishiki A, Iwata R, Tashiro M, Yanai K, Arai H, Kudo Y. Validation of automated analysis of tracer binding on THK tau PET images. Human Amyloid Imaging 2015, Jan 16, 2015, Miami
6. Tago T, Furumoto S, Okamura N, Harada R, Adachi H, Ishikawa Y, Yanai K, Iwata R, Kudo Y. Chirality of [¹⁸F]THK-5105 affects its preclinical characteristics as a PET tau imaging probe. Human Amyloid Imaging 2015, Jan 16, 2015, Miami
7. Harada R, Okamura N, Furumoto S, Tago T, Iwata R, Arai H, Yanai K, Kudo Y. Development of tau selective PET tracers. NIH-Japan-JSPS Symposium., Oct 23, 2014, Bethesda
8. Okamura N. Tau and Amyloid Imaging. Outlook for the Future. EANM 2014, October 21, 2014, Gothenburg, Sweden
9. Okamura N, Furumoto S, Harada R, Tago T, Iwata R, Tashiro M, Furukawa K, Arai H, Yanai K, Kudo Y. Characterization of [¹⁸F]THK-5351, a novel PET tracer for imaging tau pathology in Alzheimer's disease. EANM 2014, October 21, 2014, Gothenburg, Sweden
10. Okamura N. Tau-Imaging. Results of First-in Human Studies. EANM 2014 Pre-Congress Symposium 6: TAU and Amyloid: From Neuropathology to Neuroimaging, October 18, 2014, Gothenburg, Sweden
11. Okamura N. Imaging neurofibrillary pathology in Alzheimer's disease using novel tau PET tracer. 14th ICGP & 19th JSNP Joint Congress, October 3, 2014, Tsukuba, Japan
12. Okamura N, Harada R, Furumoto S, Furukawa K, Ishiki A, Tomita N, Tashiro M, Iwata R, Yanai K, Arai H, Kudo Y. Comparison of 18F-THK5117 and 11C-PiB PET images in the patients with Alzheimer's disease. AAIC 2014, July 12-17, 2014, Copenhagen
13. Harada R, Okamura N, Furumoto S, Tago T, Yoshikawa T, Akatsu H, Arai H, Iwata R, Yanai K, Kudo Y. Binding characterization of tau PET tracer 18F-THK5117 in non-Alzheimer's neurodegenerative diseases. AAIC 2014, July 12-17, 2014, Copenhagen
14. Okamura N. Advances in Tau PET. SNMMI 2014 Annual Meeting, June 8, 2014, St. Louis
15. Okamura N, Furumoto S, Harada R, Furukawa K, Ishiki A, Iwata R, Tashiro M, Yanai K, Arai H, Kudo Y. In vivo selective imaging of tau pathology in Alzheimer's disease with 18F-THK5117. SNMMI 2014 Annual Meeting, June 9, 2014, St. Louis

国内学会発表

1. 岡村信行. 認知症のタウイメージング. 第8回関西脳核医学研究会 2015年3月14日 大阪
2. 岡村信行. シヌクレインイメージング. AD研究会画像診断サブコミッティ 2015 2015年2月7日 東京
3. 岡村信行. タウイメージングの現状と可能性. 第3回 関東脳神経外科認知症研究会 2014年11月8日 東京
4. 岡村信行. F-18 THK PET によるタウイメージングの臨床への応用. 第54回日本核医学会シンポジウム 日本発、次世代認知症イメージング 2014年11月6日 大阪

5. 岡村信行. アミロイドとタウのPETイメージング. 第29回 神経内科認知症研究会 2014年11月5日 名古屋
6. 岡村信行. 認知症のタウPETイメージング. PETサマーセミナー2014. 2014年8月30日 小樽
7. 岡村信行、古本祥三、原田龍一、多胡哲郎、石木愛子、古川勝敏、田代学、岩田錬、谷内一彦、荒井啓行、工藤幸司. タウイメージング用PETトレーサー ^{18}F THK-5117の臨床評価. 第9回日本分子イメージング学会総会・学術集会 2014年5月22日 大阪
8. 原田龍一、岡村信行、古本祥三、多胡哲郎、吉川雄朗、荒井啓行、谷内一彦、工藤幸司. タウイメージングトレーサー ^{18}F -THK5117の結合メカニズムの検討. 第9回日本分子イメージング学会総会・学術集会 2014年5月22日 大阪
9. 岡村信行. ^{18}F -THK5117を用いたタウイメージング. 脳PETワークショップ. 2014年4月10日 横浜

G. 知的財産権の出願・登録状況（予定も含む）

1. 特許取得
次ページ参照

特許出願状況

出願/公開番号	発明の名称	出願/公開日	出願人	発明者
国際出願番号： PCT/JP2011/074930 公開番号 WO/2012/057312	タウイメーキング プローブ	国際出願日 平成 23 年 10 月 28 日 国際公開日 2012(H24) 年 5 月 3 日	クリノ(株) 東北大学	工藤幸司 岡村信行 古本祥三

PCT/JP2011/074930、公開番号 WO/2012/057312 については、現在、以下の 14ヶ国（および地域）へ国内移行中。特許として成立したものはまだない。「2015 年夏以降、次々と成立するのではないか」との、学内知財担当者の意見である

日本、ロシア、オーストラリア、イスラエル、中国、韓国、ヨーロッパ、カナダ、ブラジル、インドネシア、メキシコ、シンガポール、インド、アメリカ。

表：脳各領域における健常高齢者、軽度認知障害、アルツハイマー病患者群の $[^{18}\text{F}]\text{THK-5351}$ SUVR 値、および健常高齢者群とアルツハイマー病群の差の効果量の比較

	健常高齢者 (Healthy control)	軽度認知障害 (MCI)	アルツハイマー病患者 (AD)	効果量 (Cohen's d)
下前頭回	1.28 ± 0.10	1.45 ± 0.12	1.50 ± 0.14 *	1.96
眼窩前頭皮質	1.53 ± 0.14	1.67 ± 0.20	1.90 ± 0.25 *	1.98
上頭頂小葉	1.34 ± 0.10	1.51 ± 0.10 *	1.68 ± 0.11 *#	3.64
後部帯状回	1.46 ± 0.10	1.65 ± 0.19	1.79 ± 0.16 *	2.41
外側後頭葉	1.33 ± 0.14	1.59 ± 0.30	1.74 ± 0.20 *	2.81
中下側頭回	1.51 ± 0.14	1.72 ± 0.13	2.07 ± 0.19 *#	3.88
紡錘状回	1.66 ± 0.15	1.98 ± 0.16 *	2.26 ± 0.23 *	3.54
海馬傍回	1.76 ± 0.14	1.98 ± 0.21	2.28 ± 0.26 *	2.64
皮質下白質	1.54 ± 0.12	1.53 ± 0.23	1.51 ± 0.20	0.13

* P<0.05 compared with healthy control group, # P<0.05 compared with MCI group

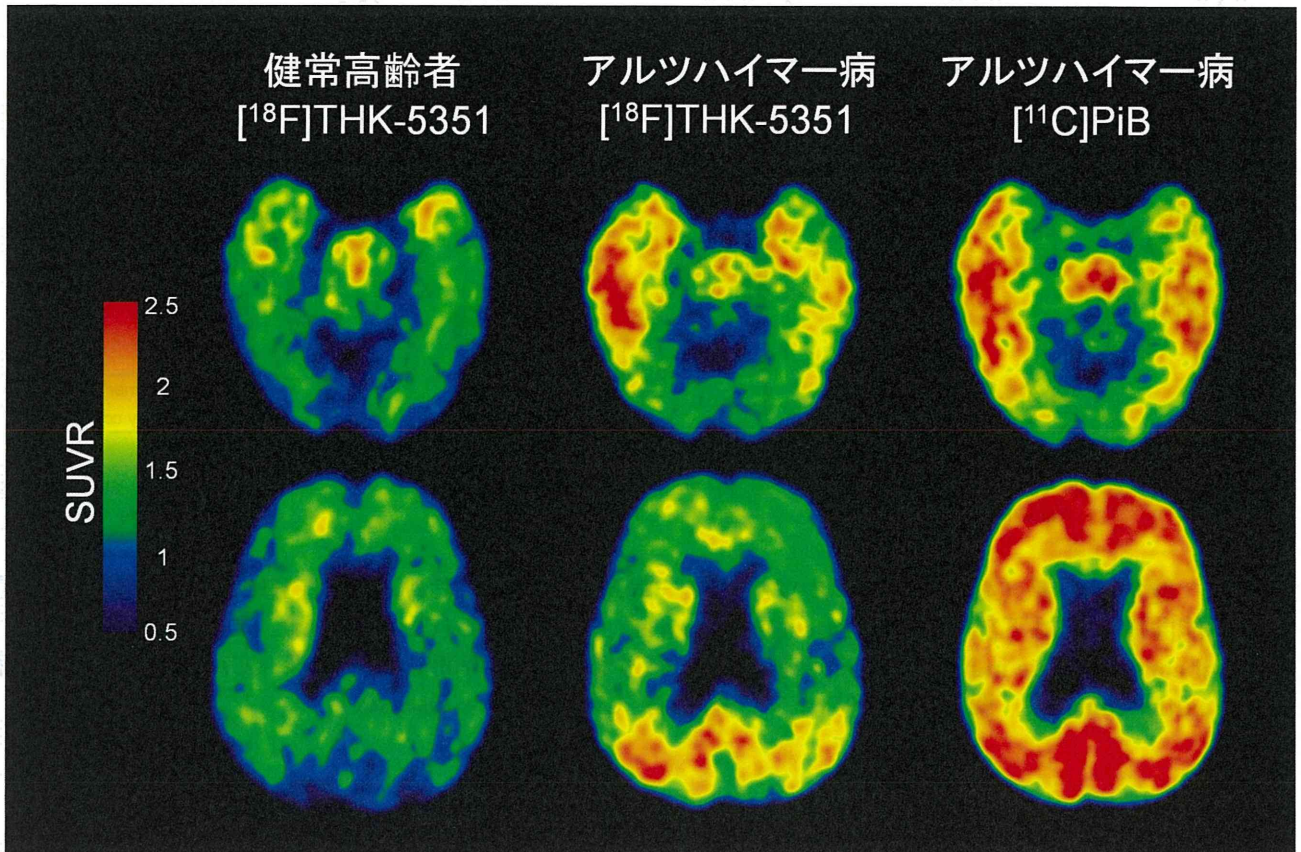


図1 健常高齢者、アルツハイマー病 (AD) 患者における $[^{18}\text{F}]\text{THK-5351}$ PET 画像 (投与後 50~60 分の SUV 加算画像) と同一 AD 患者の $[^{11}\text{C}]\text{PiB}$ PET 画像 (投与後 50~70 分の SUV 加算画像)

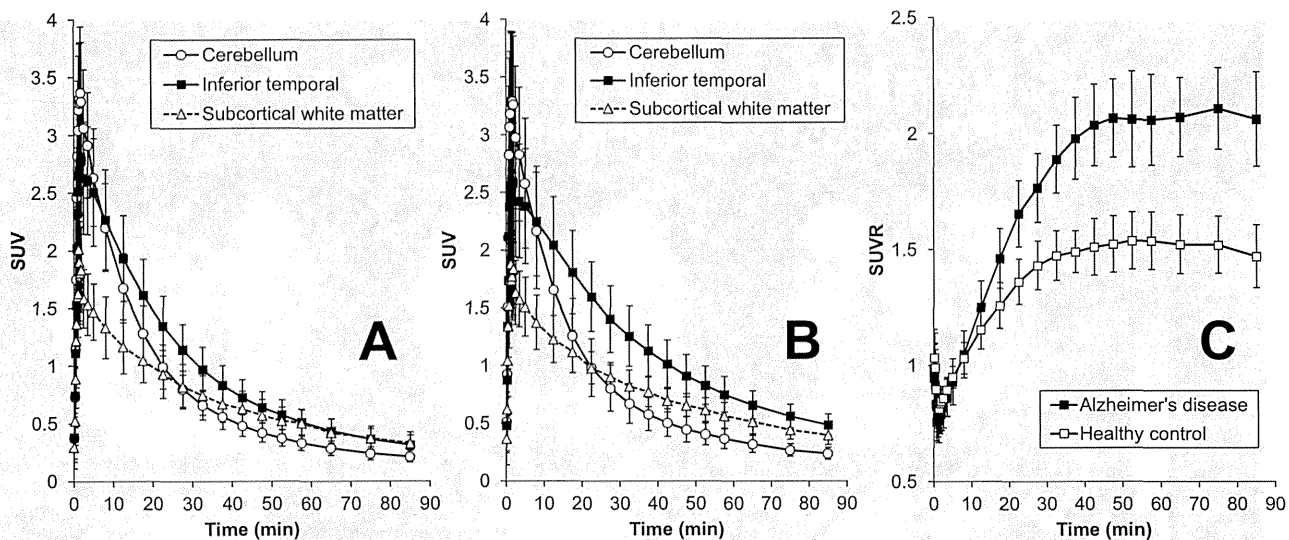


図2 健常高齢者 (A) およびアルツハイマー病患者 (B) における $[^{18}\text{F}]\text{THK-5351}$ 投与後の時間放射能曲線 (■は下部側頭葉 (Inferior temporal)、○は小脳 (Cerebellum)、△は皮質下白質 (Subcortical white matter)) と下部側頭葉における SUVR 時間放射能曲線 (C) (□は健常高齢者 (Healthy control)、■はアルツハイマー病患者 (Alzheimer's disease))

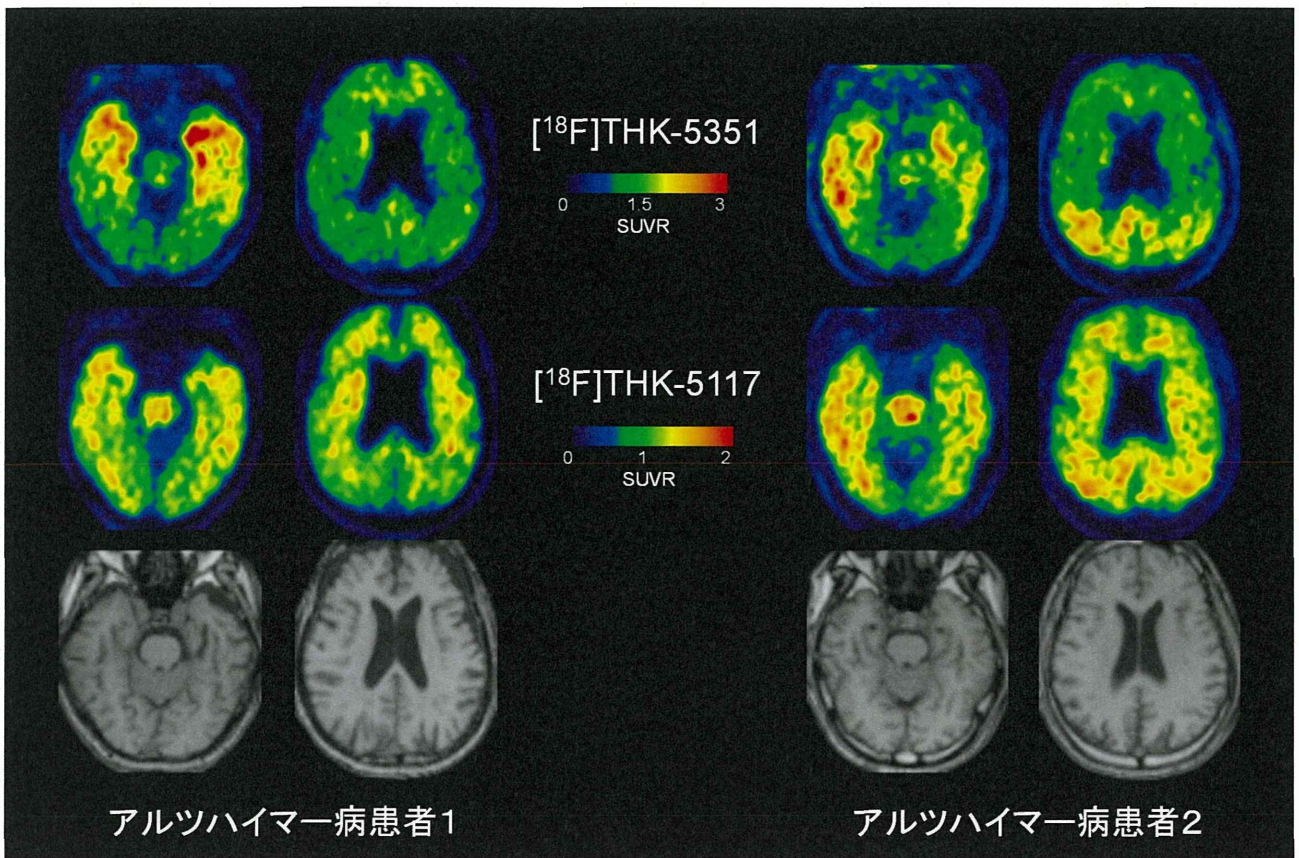


図3 2名のアルツハイマー病患者における $[^{18}\text{F}]\text{THK-5351}$ PET 画像（上段）と $[^{18}\text{F}]\text{THK-5117}$ PET 画像（中段）、MRI 画像（下段）の比較

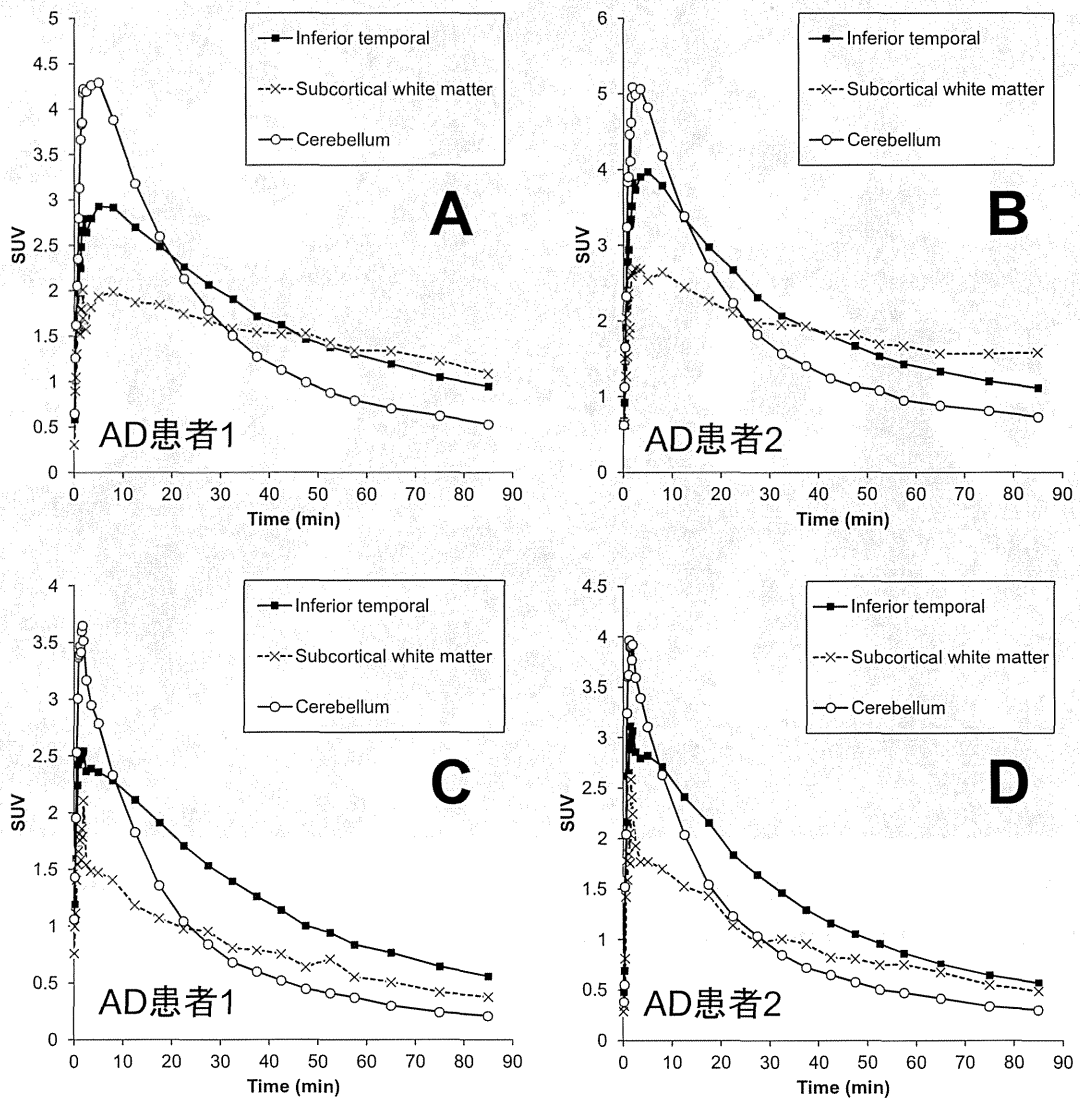


図4 2名のアルツハイマー病患者における $[^{18}\text{F}]\text{THK-5117}$ (A, B)、 $[^{18}\text{F}]\text{THK-5351}$ (C, D) 投与後の時間放射能曲線の比較 (■は下部側頭葉 (Inferior temporal)、○は小脳 (Cerebellum)、×は皮質下白質 (Subcortical white matter) における時間放射能曲線を表す)

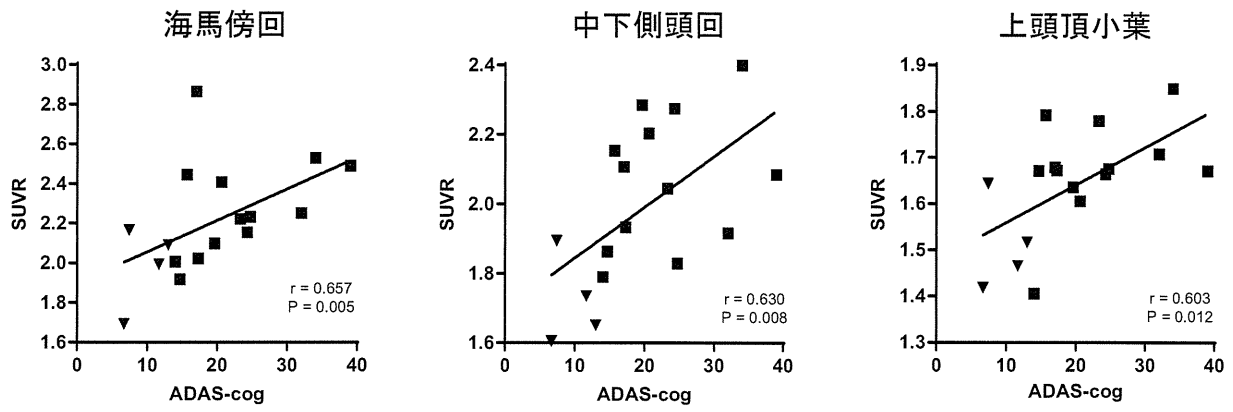


図5 海馬傍回、中下側頭回、上頭頂小葉における¹⁸F]THK-5351 SUVR 値と ADAS-cog スコアの相関 (▼は軽度認知障害、■はアルツハイマー病患者)

厚生労働科学研究費補助金
(医療機器開発推進研究)
平成 26 年度 分担研究報告書

アルツハイマー病診断用タウプローブの開発
および探索的臨床研究

—臨床用 $[^{18}\text{F}]\text{THK-5351}$ 注射剤の製造法の確立—

分担研究者	古本祥三	東北大学学際科学フロンティア研究所・准教授
分担研究者	岡村信行	東北大学大学院医学系研究科 機能薬理学分野・准教授
研究協力者	石川洋一	東北大学サイクロトロン・ラジオアイソトープセンター・助手
研究協力者	岩田錬	東北大学サイクロトロン・ラジオアイソトープセンター・教授
研究代表者	工藤幸司	東北大学病院 臨床試験推進センター・教授

研究要旨：タウイメージングプローブ $[^{18}\text{F}]\text{THK-5117}$ の新規誘導体である $[^{18}\text{F}]\text{THK-5351}$ の臨床応用を実現するために、標識合成装置を使用した臨床用 $[^{18}\text{F}]\text{THK-5351}$ 注射剤の製造法を検討した。活性化した ^{18}F アニオンの求核置換反応を利用して標識前駆体のフッ素化を行い、続いて酸性条件下で脱保護反応を実施した。その後固相抽出操作で粗精製を行い、高速液体クロマトグラフィーで目的とする $[^{18}\text{F}]\text{THK-5351}$ を分離し、分取フラクションから $[^{18}\text{F}]\text{THK-5351}$ を固相抽出した。最終的にエバポレーター法で製剤化を行い $[^{18}\text{F}]\text{THK-5351}$ 注射剤を製造した。 $[^{18}\text{F}]\text{THK-5351}$ 注射剤の放射化学的純度、比放射能、安全性、残留溶媒は、臨床で使用するための基準をクリアーし、臨床利用可能な $[^{18}\text{F}]\text{THK-5351}$ 注射剤の製造法を確立できた。

A. 研究目的

アルツハイマー病の重要な神経病理所見である異常リン酸化タウの蓄積は、認知機能障害の症状が出現する以前から脳内で徐々に進行し、その程度は神経変性と相関性が高い。そのタウ病理の進行を早期の段階で精度良く評価できれば、アルツハイマー病の超早期診断や根本治療法の開発や実践に大いに役立つと期待されている。このような観点から、近年、核医学的アプローチでタウ病変の形成をイメージングする研究が精力的に進められてきた。同様なイメージングとして、アルツハイマー病に特徴的に見られるアミロイドβタンパク質の脳内異常蓄積を PET により可視化する研究が最近 10 年で大幅な進歩を遂げ、最近、複数のフッ素 18 標識 PET プローブが欧米、日本で承認を受けるところまで発展してきた。この成功を受けて、タウイメージングにおいてもフッ素 18 標識 PET プローブの開発が進められている。

本研究グループでは、フッ素 18 標識タウプローブとして、 $[^{18}\text{F}]\text{THK-523}$ 、 $[^{18}\text{F}]\text{THK-5105}$ 、 $[^{18}\text{F}]\text{THK-5117}$ を開発し、探索的臨床 PET 研究を展開してきた。開発を重ねるにつれて、プローブのイメージング性能の向上は見られたものの、まだ白質への非特異的集積性について改善の余地があった。そこで我々はその改善を目的

として研究を進め、新規臨床候補誘導体として $[^{18}\text{F}]\text{THK-5351}$ を開発した。一般に、臨床 PET 用標識合成では、再現性良く安定的に高品質な薬剤を製造する必要がある、また、製造者の被曝防護の観点から、合成装置による薬剤製造が求められる。

前年度は、東北大学サイクロトロン・ラジオアイソトープセンターで開発された、マルチライン切り替えポート付電動シリンジを 2 台搭載した標識合成装置(図 1)を用いて $[^{18}\text{F}]\text{THK-5117}$ の標識合成条件を検証し、臨床合成への適用が可能であることを確認した。 $[^{18}\text{F}]\text{THK-5117}$ と $[^{18}\text{F}]\text{THK-5351}$ は標識合成手順が同じであるため、上記標識合成装置を応用することができる。そこで本研究では、 $[^{18}\text{F}]\text{THK-5351}$ の臨床応用を実現するために、同標識合成装置を使用した臨床用 $[^{18}\text{F}]\text{THK-5351}$ 注射剤の製造法を検討した。

B. 研究方法

$[^{18}\text{F}]\text{THK-5351}$ の標識合成に用いる ^{18}F アニオンの製造は、小型サイクロトロン HM-12 を使用した。以下、 $[^{18}\text{F}]\text{THK-5117}$ のフッ素化反応およびその後の脱保護反応の手順を適用した。すなわち、ターゲットから回収した ^{18}F アニオンはイオン交換樹脂上に補足し、クリプトフィックス 222 を溶解したアセトニトリル溶液で反応容

器に溶出した。アセトニトリルとの共沸により反応容器内の無水化を行い、標識前駆体の DMSO 溶液を加えて 110℃ 条件でフッ素化反応を行った。反応溶液を加熱して一定時間フッ素化反応を行った後、塩酸水溶液を添加して保護基の除去反応を行った。

反応後の処理手順も^[18F]THK-5117 の方法に準じた。すなわち、脱保護後、反応溶液を中和して、SepPak-tC18 を利用した固相抽出操作を行った。その固相に補足された放射性の脂溶性物質を溶出して適量の水で希釈し、セミ分取高速液体クロマトグラフィー (HPLC) によって目的とする^[18F]THK-5351 を単離した。セミ分取 HPLC では、オクタデシル逆相カラムを使用し、アセトニトリル-20mMNaH₂PO₄ 水溶液系を移動相とした。

分取フラクションは、アスコルビン酸注射液を添加した水で希釈し、固相法で^[18F]THK-5351 を抽出した。可溶化剤としてポリソルベート 80 を使用して生理食塩液を調製し、濾過滅菌を施した。

得られた注射液については、ラジオ分析 HPLC システムで放射化学的純度と担体濃度を測定し、比放射能も算出した。安全性としては、エンドトキシン試験、無菌試験等を行った。注射液中の残留溶媒濃度はガスクロマトグラフィーで測定した。

C. 研究結果

標識合成では、前駆体を 3mg 使用して安定的にフッ素化反応を行えることを確認した。さらに前駆体を 2mg まで減らしても最終生成物^[18F]THK-5351 の収率に大きな違いがないことが確認できた。

次いで、脱保護反応後、中和及び希釈して固相抽出用逆相カートリッジに反応溶液を導入し、その固相への放射能の補足効率はほぼ定量的であった。その後の溶出過程では、^[18F]THK-5117 にエタノール 100% で行うと溶出初期の不要部分の溶出で放射能のロスが生じた。そこでエタノール濃度を下げた水溶液でマイルドに洗浄、溶出を行うと、若干放射能的にロスするが目的とする捕捉放射能を定量的に回収することが可能となった。

分取 HPLC では、UV 吸収のクロマトグラムは再現性良くピーク溶出変化のパターンを示し、セミ分取 HPLC の安定性が確認された。目的とする^[18F]THK-5351 の放射性ピークは約 20 分から 22 分にかけて溶出した。^[18F]THK-5351 の UV 吸収ピークは放射性ピークと同じ形状のシングルピークであることが確認され、十分な分離が達成された(図 2)。

分取後、フラクションから^[18F]THK-5351 を固相抽出でほぼ定量的に回収することができた。その後、エタノール溶出液をエバポレーターに導入し、アス

コルビン酸とポリソルベート 80 を添加して溶媒を減圧留去した。その残渣を生理食塩液に溶解し、フィルター滅菌して注射剤とした。最終 ^{18}F THK-5351 注射液の放射能収量は平均約 3.5GBq あり、3-4 回の PET 検査を実施できる十分量が得られた。

得られた注射薬液の放射化学的純度はいずれも 98% 以上あり、製剤化時の放射性分解等の影響はクロマトグラム上観察されなかった(図 4)。そして分析 HPLC の結果に基づいて算出した比放射能は、平均で約 250GBq/ μmol であった。

注射液の pH は約 7、エタノールおよびアセトニトリルの残留溶媒はいずれも基準範囲内であった。また、発熱性物質試験及び無菌試験ではいずれも陰性であった。

D. 考察

^{18}F THK-5351 は、 ^{18}F THK-5117 と化学構造が類似している。その標識方法の基本は同一であることから、 ^{18}F THK-5117 の臨床標識合成装置および手順を利用して、 ^{18}F THK-5351 の臨床向け製造法を検討した。 ^{18}F THK-5351 は ^{18}F THK-5117 よりも脂溶性が低下しているため、反応終了後の後処理にある固相抽出操作では、溶出条件を専用に最適化する必要性があった。当初、100%エタノールによる溶出を、その液量を変化させることで最適化することを試

みた。しかし、液量をごく少量にする必要があったため、送液量の不安定性から溶出回収率の安定性が得られなかった。しかし溶出液のエタノール溶液濃度を低くすることで、液量容積を少なくすることなく溶出が行え、回収安定性が大きく向上した。また、溶出液の有機溶媒率を低くすることができ、分取 HPLC からむへのインジェクション溶液の溶媒-水比率を移動相組成にほぼ同じくすることができ、分取 HPLC の分離能および分離再現性の向上にもつながった。以上から、合成手順は同じでも、処理条件を変えることで、THK-5117 と同じ合成装置で目的とする ^{18}F THK-5351 を製造する方法を最適化できたと判断できる。

製造した ^{18}F THK-5351 注射液の品質は、放射化学的純度、pH、残留溶媒、発熱性物質試験、無菌試験等において予め定められた薬剤基準を満たす結果が得られたことから、 ^{18}F THK-5117 と同様に臨床用 PET 薬剤として使用できる。

E. 結論

以上、本研究において臨床研究に供することが可能な ^{18}F THK-5351 注射剤の自動合成装置製造法を構築し、放射能および品質の観点で必要十分な供給体制が確立できた。