

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 26 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24390179

研究課題名(和文) 新たなPETトレーサーを用いたアミロイドーシスの病態解明と治療薬の開発

研究課題名(英文) PET imaging using a novel tracer to detect amyloidosis

研究代表者

古川 勝敏 (Furukawa, Katsutoshi)

東北大学・加齢医学研究所・准教授

研究者番号：30241631

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 11,800,000円

研究成果の概要(和文)：アルツハイマー病(AD)を初めとして多くの疾患の原因物質として「アミロイド」があり、不溶化したアミロイドを原因とする疾患は広く「アミロイドーシス」と呼ばれている。アミロイドを構成する分子は単一ではないが、我々が近年開発したPETトレーサー：BF-227は、AD等の脳疾患のみならず、トランスサイレチンを原因物質とする心筋アミロイドーシスをも画像化できることが示唆された。我々は、BF-227を用いたPETで「アミロイドーシス」を解析し、より早期かつ正確な診断法の確立、さらには治療薬の開発・評価を推進させた。本研究の成功裏にはアミロイドーシスの新たな診断法、治療法の開発に大きく寄与するものとする。

研究成果の概要(英文)：In order to visualize amyloid deposition in the myocardium, patients underwent a cardiac positron-emission tomography (PET) study with [11C]-BF-227. The PET images revealed significantly robust retention of [11C]-BF-227 in the patients' hearts compared with that of the normal control. In any of the amyloidogenic disorders, such as transthyretin-related systemic amyloidosis and Alzheimer's disease, it is surmised that the monomer of the amyloid protein itself is not very toxic, whereas misfolded oligomers could cause damage to human organs. It is therefore truly important to detect the accumulation of real amyloid fibrils for the early and accurate diagnosis of amyloidosis. It is therefore truly important to detect the accumulation of real amyloid fibrils for the early and accurate diagnosis of amyloidosis. To our knowledge, this is the first report showing the usefulness of beta-pleated sheet structure-specific PET in investigating visceral organ amyloidosis.

研究分野：老年医学

キーワード：アミロイド PET

1. 研究開始当初の背景

日本の高齢化は有史以来最高のレベルに近づきつつあり、それに伴う認知症(特にアルツハイマー病:AD)の患者数の増加は現在、医療、医学の範囲を超えた社会問題になりつつある。認知症に対する有効な治療法が早急に開発されなければ日本の高齢化社会は破綻し、医療および介護制度が危機に瀕するのは必至である。したがって認知症の病態解明と根本治療薬の開発に向けて我々神経科学者は不断的努力が必要で、治療薬の完成まで一刻の猶予も許されるものではない。ADの原因として最も支持されているのはアミロイドβ蛋白質(Aβ)の不溶化に伴うそれらの脳内沈着で生じる老人斑である。Aβはフリーラジカルの活性化、ミトコンドリアの機能不全、等、種々の生化学反応を介し神経細胞をもたすことが知られている。ここで取り上げたAβは、人体の様々な臓器を障害する「アミロイド」と総称される molecule の代表的なものである。「アミロイド」とは不溶化して細胞外に沈着する物質の総称であり、「アミロイド」を原因とする疾患は「アミロイドーシス」と呼ばれている。アミロイドーシスは前述のADに始まり脳、心臓、血管、肺、膵臓、腎臓、腸管、末梢神経、等、多岐にわたる臓器で報告されている。これらのアミロイドーシスをより早期かつ正確に診断することは、患者のbenefit に密接に結びつく重要課題である。

2. 研究の目的

各臓器におけるアミロイドーシスの診断は決して容易なものではない。臨床症状に加え種々の血中バイオマーカーや、放射線や超音波を用いた画像診断法は用いられてきたが、感度、特異度ともに高い優れた検査法は未だ存在しない。結論として生検、剖検による病理診断が唯一の信頼できる診断法なのが現状である。しかし、約7年前にアルツハイマー病の脳内に形成される老人斑(前述のとおりAβが主要成分である)を、PETを用いて画像化することに米国ピッツバーグ大学のKlunk等が成功した。彼らはPittsburg Compound B (PIB)という新たなPETトレーサーを開発し、このPIBは瞬く間に世界を駆け巡り、多くの施設でADの研究において多くの施設で用いられた。PIBによってもたらされた知見は多大なものがあるが、このPIBは残念ながら凝集したAβしか描出しないのが特徴である。一方我々が開発したPETトレーサー:BF-227はこれまでADのみならず、脳疾患としてはプリオンが沈着するクロイツフェルトヤコブ病(CJD)(Okamura et al. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2009)やα-シヌクレインが沈着する多系統萎縮症(MSA)(Kikuchi et al. *Brain* 2010)での画像化に成功している。これらに加えて、本年、全身アミロイドーシスの原因物質であるトランスサイレチン(TTR)の遺伝子変異を持つ患者においてBF-227を用いて心筋のPETを施行したところ、世界で初めて心筋アミロイドーシスのPET画像化に成功した(図1. Furukawa et al. *Circulation* 2011)。これまで心筋アミロイドーシスのPETについては種々のトレーサーが応用されてきたが、アミロイドが形成するβ

シート構造に特異的に結合する、すなわちアミロイドーシスに対し感度、特異性の高いものは存在しなかった。今回の我々の知見は心筋においてβシート構造を形成したアミロイドを世界に先駆けて画像化したもので、アミロイドーシスの研究発展、診断法の向上に多大な貢献をしたと考えられる。

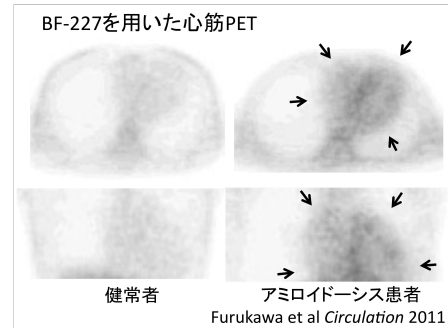


図1 トランスサイレチン変異症例の心臓 PET

3. 研究の方法

BF-227と各種アミロイドーシスの原因物質との結合性の検索

アミロイドーシスの原因物質としてトランスサイレチン、免疫グロブリン(IgG)-L鎖、IgG-H鎖、アミロイドβ蛋白質(Aβ)、血清アミロイド A(SAA)、ゲルソリン、シスタチン C、等が報告されているが、これらの物質に対するBF-227の前臨床的評価を行った。

試験管内で(Cell-freeの状態)BF-227の合成したトランスサイレチン等のアミロイド蛋白質との結合親和性を評価した。

継代培養細胞(PC12, SH-SY5Y)にトランスサイレチン等のアミロイド蛋白質の遺伝子導入を行いこれらの物質を過剰発現した細胞を作成した。これの培養細胞を用いて、BF-227がこれらの細胞にいかにかに結合するかを確認した。

アミロイド蛋白質を過剰発現したトランスジェニックマウスの病理標本を用い、各種臓器に沈着したアミロイドに対しBF-227がいかにかに結合するかを蛍光顕微鏡を用いて検索した。

BF-227をトランスジェニックマウスへ静注投与し、摘出脳標本を用いたex vivoオートラジオグラフィを行い、化合物のアミロイドへの結合を確認した。

正常マウスにおけるBF-227の脳血液関門透過性をHPLCにより評価する。トランスジェニックマウスや2種の物質を過剰発現するダブルトランスジェニックマウスへ化合物を静注投与し、化合物のアミロイド病変への結合選択性を検討した。

BF-227を用いたPETのアミロイドーシス患者への応用。

我々はBF-227を用いたPETの先行研究で、アルツハイマー病(AD)脳において本トレーサーが有意な高集積を示すことを報告した。また前述の全身型アミロイドーシス患者での心筋PETの結果によって、本トレーサーが各種アミロイド

ーシス疾患の病態解明および正確な診断において極めて有用なことが示唆された。本研究の主題は、アミロイドーシス患者におけるBF-227-PET 撮像であり、健常者での結果と比較し、各種アミロイドーシスにおいて種々の臓器にいかんアミロイドが沈着しているかを解析することである。

臨床 PET 研究は東北大学サイクロトロン RI センターと東北大学病院において実施した。前臨床評価は、東北大学大学院医学系研究科、東北大学先進理工学研究機構、東北大学サイクロトロン RI センターの現有設備を用いて実施した。その際に使用する患者の病理サンプルは共同研究先である福祉村病院から提供を受けた。

アミロイドーシス患者への薬物投与の臨床研究に関しては、東北大学医学部の臨床・治験研究に従事する治験コーディネーター、生物統計家の協力を得て被験者に不利益が生じ得ないように遂行した。薬物の投与前後でBF-227-PET を施行し、アミロイドの沈着について薬剤投与群と無投与群の結果と比較検討を行った。体内アミロイド蓄積の解析に加えて¹⁸F-fluorodeoxyglucose (FDG)-PET にて体内でのブドウ糖代謝を画像化し、定量解析を行った。さらにはMRI を用いた形態解析および、認知症患者においては神経心理検査(Mini-mental state examination, ADAS-cog 等)を施行し、薬剤投与群、非投与群間での認知機能の変化についても解析をおこなった。

アミロイドの蓄積を抑制することが示唆されている既存の医薬品を用いた縦断的介入研究をおこなった。投与群と非投与群間で治療前後でのアミロイド蓄積量の変化を比較検討した。薬物治療の6ヶ月、12ヶ月後にBF-227-PET を施行してアミロイドの沈着を客観評価した。

4. 研究成果

アミロイドーシス (Amyloidosis) は線維構造をもつ特異なアミロイド線維 (amyloid fibril) を主成分とするアミロイド蛋白が、全身諸臓器の細胞外に沈着することによって機能障害を引き起こす一連の疾患群であり、国内には数千名の患者がいると推測されている。アミロイド蛋白の生化学的研究は近年著しく進歩したが、その生成機序については未だ不明である。

全身性アミロイドーシスは 1.免疫細胞性アミロイドーシス 2.血清アミロイドAが沈着する反応性AA (Amyloid A)アミロイドーシス 3.家族性アミロイドーシス 4.透析アミロイドーシス 5.老人性アミロイドーシスに分類される。

全身性アミロイドーシスのうち、反応性AAアミロイドーシス(続発性アミロイドーシス)は、急性期蛋白である血清由来の amyloid A が沈着し関節リウマチに数%の頻度で続発する。近年、関節リウマチの治療は生物学的製剤と呼ばれる一群の薬剤により著しい進歩をしたが、各種臓器障害を伴う合併症は未だに疾患制御が難しく死亡率が高い。その中でも、続発性アミロイドーシスは関節リウマチの合併症による死因として最も死亡率の高い疾患である。

全身性アミロイドーシス診断のフローチャートにおいてみられる臨床症状は必ずしも疾患特異的なそれらが現れるとは限らないことが多いのが特徴である。アミロイドーシス診断は極めて複雑であるが、その最終(確定)診断は、種々の臨床検査を経てアミロイド蛋白が沈着していると思われる生体組織を採取して、同組織標本中にコンゴレッド染色陽性および各種抗アミロイド抗体染色陽性所見が得られることに基づいている。すなわち、アミロイドーシスの確定診断においてはアミロイドの沈着した臓器よりの生検が必ず必要である。この際問題になるのは、どの時期にどの臓器より生体組織を採取するかということであるが、アミロイド沈着の初期においては全く症状所見が現れず、早期診断を試みるためには盲目的に沈着確率の高い臓器より採取せざるを得ず、侵襲が高い診断法であるにも関わらず感度も低い。更に治療効果の判定も非常に困難で、疾患としての制御がうまくいっているのかの判断も難しく、治療方針の決定も経験則に基づいて対応するしか方法はなかった。

一方、アミロイドーシスの治療に関しては、現在でも非常に困難ではあるが、近年、遺伝性アミロイドーシスに対する肝移植、ALアミロイドーシスに対する自己末梢血幹細胞移植と化学療法併用、反応性AAアミロイドーシスに対する生物学的製剤(抗TNF-受容体抗体、抗IL-6受容体抗体等)を用いた治療など、病態に即した治療が有効である可能性が報告され、早期診断と治療効果判定ができる新たな信頼性のある検査の確立がなお一層求められている。

アミロイドーシスでは、前述したように特異な繊維状蛋白、すなわちアミロイド線維が全身諸臓器の細胞外に沈着している。そこで実施責任者らはこのアミロイド線維に特異的選択的に結合する低分子有機化合物(=プローブ)を開発し、これを標識して生体に投与して、PET(陽電子断層撮影)装置にて全身または当該部位を撮影することで、アミロイドーシスを画像診断することを目的に研究を重ねてきた。その結果、この目的を満足させられると思われるプローブ [¹¹C]BF-227 を得た。

症例 1:71 歳 女性:活動性の高い関節リウマチで、長期にわたりCRP 高値が持続し、脊椎圧迫骨折を繰り返した。腸管と腎生検からAAアミロイドーシスを診断。トシリズマブを投与して、症状は軽快傾向にあり、その後BF-227-PET を施行した。

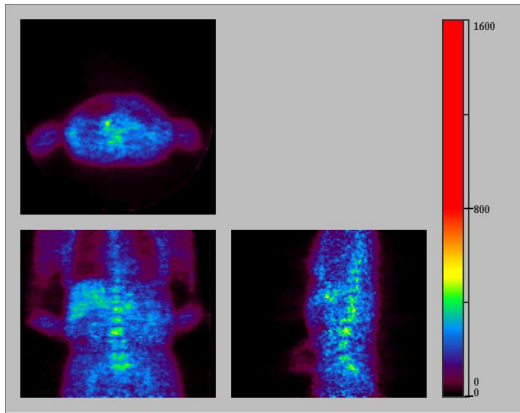


図2 症例2 慢性関節リウマチ

症例 2:62 歳 男性:多発性骨髄腫で腎不全となり、腎生検から AL アミロイド シスを診断され、透析導入された。その後 BF - 227 - PET を施行した。

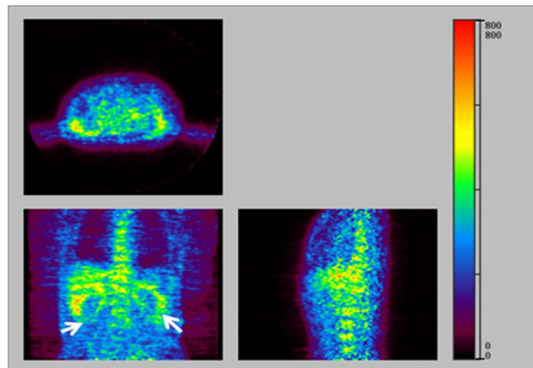


図3 症例2 多発性骨髄腫

【結果】症例1:腸管、腎への集積は明らかではなかったが、脊椎への集積を認めた。症例 2:両側腎への集積を認めた。

【結論】BF - 227 - PET は、全身性アミロイドーシスの新しい診断法や治療効果判定に重要となる可能性を示唆した。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 9 件)

- (1) [(18)F]THK-5117 PET for assessing neurofibrillary pathology in Alzheimer's disease. Harada R, Okamura N, Furumoto S, Furukawa K, Ishiki A, Tomita N, Hiraoka K, Watanuki S, Shidahara M, Miyake M, Ishikawa Y, Matsuda R, Inami A, Yoshikawa T, Tago T, Funaki Y, Iwata R, Tashiro M, Yanai K, Arai H, Kudo Y. Eur J Nucl Med Mol Imaging. 2015; 42:1052-61. (査読有)
- (2) Cortical laminar binding of PET amyloid and tau tracers in Alzheimer disease. 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, de Leon MJ. J Nucl Med. 2015; 56: 270-3. (査読有)

- (3) Diagnosis and treatment of dementia: overview Furukawa K, Ishiki A, Tomita N, Arai H. Rinsho Shinkeigaku. 2014; 54: 1171-3. (査読有)
- (4) Analysis of early phase [11C]BF-227 PET, and its application for anatomical standardization of late-phase images for 3D-SSP analysis. Kaneta T, Okamura N, Arai A, Takanami K, Furukawa K, Tashiro M, Furumoto S, Iwata R, Takahashi S, Arai H, Yanai K, Kudo Y. Jpn J Radiol. 2014; 32: 138-44. (査読有)
- (5) PET による全身性アミロイドーシス患者の神経アミロイド沈着の可視化 松田林、四月朔日聖一、平岡宏太郎、三宅正泰、岩田鎌、池田修一、古川勝敏、富田尚希、荒井啓行、岡村信行、古本祥三、谷内一彦、工藤幸司、田代学 核医学 2014; 51:30(査読有)
- (6) Brain accumulation of amyloid β protein visualized by positron emission tomography and BF-227 in Alzheimer's disease patients with or without diabetes mellitus. Tomita N, Furukawa K, Okamura N, Tashiro M, Une K, Furumoto S, Iwata R, Yanai K, Kudo Y, Arai H. Geriatr Gerontol Int. 2013; 13:215-21.(査読有)
- (7) A ^{18}F -labeled BF-227 derivative as a potential radioligand for imaging dense amyloid plaques by positron emission tomography. Furumoto S, Okamura N, Furukawa K, Tashiro M, Ishikawa Y, Sugi K, Tomita N, Waragai M, Harada R, Tago T, Iwata R, Yanai K, Arai H, Kudo Y. Mol Imaging Biol. 2013;15: 497-506. (査読有)
- (8) Evaluation of the biodistribution and radiation dosimetry of the ^{18}F -labelled amyloid imaging probe [18F]FACT in humans. Shidahara M, Tashiro M, Okamura N, Furumoto S, Furukawa K, Watanuki S, Hiraoka K, Miyake M, Iwata R, Tamura H, Arai H, Kudo Y, Yanai K. EJNMMI Res. 2013; 3: 32. (査読有)
- (9) [11C]BF-227 による全身性アミロイドーシス患者の心筋アミロイド沈着の画像化 田代学、池田修一、古川勝敏、岡村信行、富田尚希、四月朔日聖一、古本祥三、岩田鎌、谷内一彦、工藤幸司、荒井啓行、核医学 2012; 49:S271(査読有)

〔学会発表〕(計 5 件)

- (1) 石木愛子、富田尚希、原田龍一、古川勝敏、岡村信行、田代学、工藤幸司、荒井啓行アルツハイマー病患者における [18F]THK-5117PET 集積値と脳容積に関する

る検討 日本認知症学会学術集会 2014
年 11 月 30 日 パシフィコ横浜 (神奈川県・
横浜市)

- (2) Aiko Ishiki, Shozo Furumoto, Ryuichi Harada, Katsutoshi Furukawa, Nobuyuki Okamura, Manabu Tashiro, Kazuhiko Yanai, Yukitsuka Kudo, Hiroyuki Arai
Accumulation of the novel tau imaging tracer, 18F-THK-5117 is associated with brain atrophy in Alzheimer's disease. Alzheimer's Disease International Conference 2014 年 7 月 13 日 コペンハーゲン (デンマーク)
- (3) Nobuyuki Okamura, Ryuichi Harada, Shozo Furumoto, Katsutoshi Furukawa, Aiko Ishiki, Naoki Tomita, Manabu Tashiro, Ren Iwata, Kazuhiko Yanai, Hiroyuki Arai, Yukitsuka Kudo. Comparison of 18F-THK5117 and 11C-PiB PET images in the patients with Alzheimer's disease. Alzheimer's Disease International Conference 2014 年 7 月 13 日 コペンハーゲン(デンマーク)
- (4) 石木愛子、富田尚希、古川勝敏、岡村信行、田代学、工藤幸司、荒井啓行 タウイメーシングトレーサー[18F]THK-5117 集積値と脳容積に関する検討 日本老年医学会学術集会 2014 年 6 月 13 日 福岡国際会議場(福岡県・福岡市)
- (5) Mizue Suzuki, Naoki Tomita, Nobuyuki Okamura, Katsutoshi Furukawa, Yukitsuka Kudo, Hiroyuki Arai. The relationships between memory impairment and dense beta-amyloid deposition reflected by BF227 retention. Alzheimer's Disease International Conference 2012 年 7 月 20 日 バンクーバー (カナダ)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

古川 勝敏 (FURUKAWA, Katsutoshi)

東北大学・加齢医学研究所・准教授

研究者番号: 30241631

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし