

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 10 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25293259

研究課題名(和文) タウ画像化プローブの精密機能解析と高性能化研究

研究課題名(英文) Precise evaluation and optimization of the THK probe for tau imaging

研究代表者

古本 祥三 (FURUMOTO, SHOZO)

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

研究者番号：00375198

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、我々がこれまでに開発を進めてきたアルツハイマー病のタウ病理を画像化するためのPETプローブについて、精密機能解析を基盤としてさらなる性能向上を目指したプローブ構造最適化に取り組んだ。結果として、従来プローブのアリール構造をピリジン構造に変え、側鎖のフロロプロパノールの立体構造をS-エナンチオマー型にすることで、脳内動態性を大幅に向上させ、白質への非特異的集積を低減させることができた。臨床PET研究により、アルツハイマー病患者で、タウ病理の好発部位である海馬傍回や下側頭回に高いプローブ集積を認めた。以上より、目的とするタウプローブの構造最適化を実現できた。

研究成果の概要(英文)：Alzheimer's disease (AD) is the most common form of dementia in the elderly. Abnormal deposition of phosphorylated tau is one of the key pathological changes in the AD brain. The purpose of this study is to optimize the chemical structure of THK tau PET probes that have been developed by us for imaging tau pathology in the AD brain with PET. One modification of the probe structure was replacement of the benzene ring to pyridinyl one. Another change was conformational optimization of the fluoropropanol side chain. S-enantiomer of the pyridinyl derivative showed better brain pharmacokinetics in normal mice. The optimized derivative indicated lower non-specific binding to white matter of the AD brain tissue samples. Clinical PET study using the optimized probe demonstrated that higher radioactivity uptakes were observed in the parahippocampal gyrus and inferior temporal gyrus. These results suggest the potential utility of the optimized THK tau probe.

研究分野：放射性医薬品学

キーワード：タウ PET イメージング 18F

1. 研究開始当初の背景

アルツハイマー病(Alzheimer's disease; AD)は、老年性認知症において最も頻度の高い原因疾患であり、病理学的特徴として老人斑(アミロイド(A $\beta$ )の沈着)と神経原線維変化(タウの沈着)を伴う。両病理所見はAD診断基準の必須要件とされ、その形成過程はAD発症機序の中軸をなしているとされるが、その過程で臨床症状(認知機能低下)が顕在化するまでには数十年の長い期間を要する。しかし、ADは進行性の神経変性疾患であるため可能な限り早期にその病理変化を検出することが重要である。そこで、早期(発症前)の段階で精度よくADの病理変化を計測する手段として、非侵襲的画像化技術のPETに高い期待が寄せられている。

A $\beta$ のPET画像化に関しては最近10年で急速に研究が発展し、 $^{11}\text{C}$ -PiBや $^{18}\text{F}$ -Amyvid $^{\text{®}}$ など、数多くの臨床用A $\beta$ 画像化プローブが開発されてきた。これらのプローブは、ADの病態解明研究、AD早期診断法の開発、A $\beta$ 標的治療薬の評価研究を目的として、世界各国で積極的に臨床利用されている。我々も独自のPET用A $\beta$ 画像化プローブ“BF-227”を開発し、臨床応用を実現してA $\beta$ 、プリオンに関する脳内異常蓄積の画像化研究を展開してきた。

一方、ADのタウ病変に関しては、その脳内蓄積量の増加と神経細胞脱落及び認知機能低下が良く相関することから、A $\beta$ の場合と同様にその画像化手法の確立が強く求められている。ただしA $\beta$ の場合と比較して、タウに選択的結合性を示す画像化プローブを開発することは格段に難しく、その開発報告例は数少ない。その中で我々は2-arylquinoline(2-AQ)骨格を有する化合物がタウ凝集体に結合選択性が高いことを発見して、タウ画像化プローブとして $^{11}\text{C}$ -BF-158を世界で初めて報告し、またその $^{18}\text{F}$ 標識類似体の $^{18}\text{F}$ -THK-523を開発して、探索的臨床研究を実施した。この $^{18}\text{F}$ -THK-523はリード化合物(第1世代)であり、我々は2-AQ誘導体を多数合成、評価してタウ結合性や脳内動態性の改善を進めてきた。その結果、臨床候補として有力な第2世代の化合物(THK-5105、5117)を開発するに至った。しか

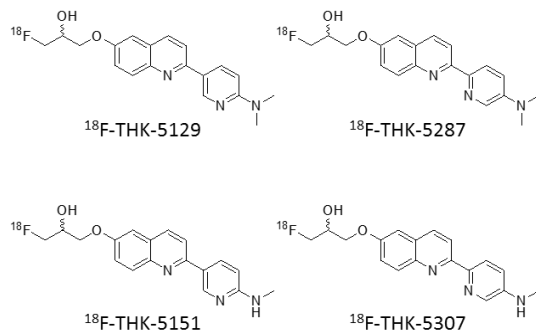


図1 THKピリジン誘導体

し、現時点ではPETプローブとして臨床試験に移行するための必要最小限の性能評価(正常マウス脳内動態、人工タウ結合性、AD脳組織切片の蛍光染色及びARG)にとどまっております。臨床でタウイメージングを実現するためにはタウプローブ研究のさらなる推進が必要である。

2. 研究の目的

そこで本研究では、これら2化合物(THK-5105、5117)のプローブ性能(結合特性・脳内動態特性)より高性能で最適化された第3世代プローブの開発を目的とした課題に取り組むこととした。本研究では、両化合物の部分構造を改変し、タウ結合性を損なうことなく、脳内動態性の向上および白質への非特異的結合性の低減を目指して化合物の構造最適化を進めることとした。

3. 研究の方法

2-AQ骨格のアリール基部分の構造を変化させた誘導体群(図1)を合成し、その構造最適化を試みた。脳内動態性については、正常ICRマウスに尾静脈内投与して、2、5、10、30、60、120分後の体内分布試験により評価した。また、結合性の精密機能解析では、新規誘導体の結合特性を明確にするために、脳病理標本を用いた飽和結合試験、競合結合試験、オートラジオグラフィーを実施した。

次いで、2-AQ骨格に結合しているフロロプロパノール側鎖の構造について、立体構造の最適化を行った。同側鎖構造は不斉中心を有するためエナンチオマーが存在するが、これまでのTHKプローブはそのラセミ体であった。一般的に異なるエナンチオマーは異なる薬理活性や動態を示すことが知られている。そこでTHKプローブの各エナンチオマーの画像化性能について、正常ICRマウスの体内動態、脳病理標本を用いた各種結合試験やARGを実施し、より優れたエナンチオマー(立体構造)の最適化を行った。

4. 研究成果

2-AQ骨格のアリール基部分をピリジン環に変えた誘導体4化合物を合成した(図1)。

表1 THKピリジン誘導体のタウ結合性

THK番号	オートラジオグラフィー結合所見(Tau/A $\beta$ )	K $_i$ (nM)	K $_d$ (nM)
5151	+++/-	29.1	7.07
5129	++/+	17.5	3.14
5307	+/-	83.5	5.60
5287	++/-	26.0	2.60

表2 体内動態 (\*2分/10分の比)

THK 番号	脳集積率 %ID/g				
	2 min	10 min	30 min	60 min	120 min
5151	4.57	1.28	0.50	0.46	0.41
5129	7.65	4.91	1.92	1.03	0.46
5307	6.01	2.13	0.46	0.23	0.22
5287	7.82	5.00	2.37	1.12	0.40

THK 番号	脳集積比*	血液集積率 %ID/g		骨集積率 %ID/g	
		at 120 min		at 120 min	
5151	3.6	0.42		2.15	
5129	1.6	0.49		1.57	
5307	2.8	0.31		0.98	
5287	1.6	0.31		0.78	

いずれの誘導体も、標識部位の構造に違いはないため、良好な放射化学的収率および純度で目的物を標識合成することができた。

各ピリジン誘導体について、AD 脳標本を用いたオートラジオグラフィー、競合結合試験、飽和結合試験を実施したところ、表1に示すような結果となった。競合試験の結果(Ki)で見ると、THK-5129 以外は 20 nM 以上となったが、飽和結合試験の結果からは、解離定数 Kd はいずれも 10 nM 以下となり、タウ病理標本に対する高い結合親和性が確認できた。競合試験では、標識リガンドとして <sup>18</sup>F-THK-5105 を利用したが、Ki 値は Kd 値よりも数倍~10 倍程度大きい値になったことから、<sup>18</sup>F-THK-5105 と <sup>18</sup>F-THK-ピリジン誘導体の結合部位については、その位置や構造は多少異なることが考えられる。オートラジオグラフィーによるタウ病変への結合所見では、THK-5151 が最も優れた結合親和性と選択性が確認された。特に、白質への非特異的結合は、THK-5117 と比べて少ないことが確認された。

続いて、正常マウスを用いて体内分布法により各誘導体の動態性を評価したところ、いずれも投与直後(2分後)に速やかに脳内に取り込まれ、その後脳外へと排泄されることが確認された。特に投与直後の消失性の指標である脳集積比を比較すると、モノメチル誘導体の THK-5151 や THK-5307 が良好な結果を示した。

上述の結果に基づきタウ結合性と脳内動態性を総合的に勘案して、ピリジン誘導体の中では THK-5151 が最も優れたプローブ特性を有すると判断した。そこで、THK-5151 の各エナンチオマーについて、構造最適化を図ることとした。(S)-THK-5151 および (R)-THK-5151 をそれぞれ立体構造選択的に

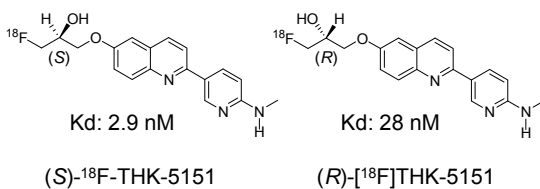


図2 THK-5151 の各エナンチオマーと Kd

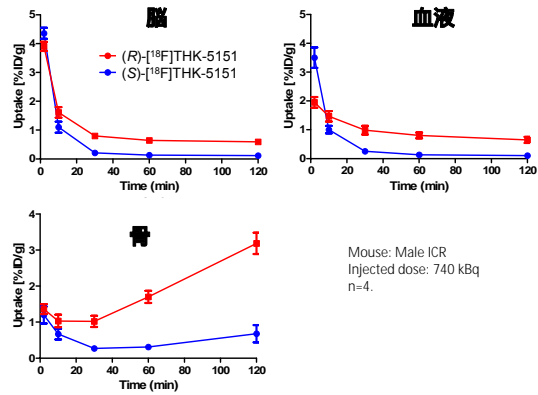


図3 エナンチオマーの体内動態

合成した(図2)。そして結合親和性を詳細に比較したところ、興味深いことに、(S)体は(R)体と比較して約十分の一程度の Kd 値を示し、より強い結合親和性を有することが明らかになった(図2)。この結合親和性の違いを詳細に検討するために、各エナンチオマーの結合速度と解離速度を調べたところ、(R)体の結合速度は(S)体よりも速いものの、解離速度はそれ以上に速いため、相対的に(S)体の方が解離しにくい、即ち結合親和性が高くなっているということが明らかになった。

次に、各エナンチオマーの体内動態性を体内分布法で評価したところ、図3に示すように、両エナンチオマー間で脳、血液、骨の放射能集積率の時間変化に大きな違いが見られた。脳と血液においては、(S)体の放射能消の失速度は(R)体と比べてかなり速く、投与60分後の定常値はかなり低い値となった。さらに、(R)体の骨への放射能集積性は、投与30分以降、徐々に値が大きくなる傾向を示し、(S)体はそのような傾向は見られなかった。この結果は(R)体は体内で(S)体よりも代謝により脱フッ素が置きやすい性質であることを示している。これらの体内動態性および代謝性の結果から判断すると、(S)体の

<sup>3</sup>H-(S)-THK-5151



<sup>3</sup>H-(S)-THK-5151

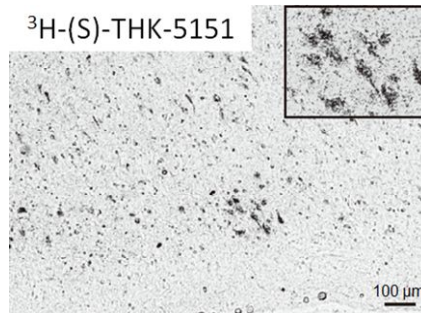


図4 マイクロオートラジオグラム

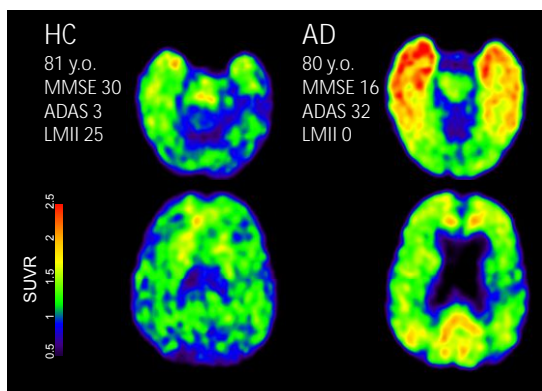


図5  $^{18}\text{F}$ -(S)-THK-5151 の臨床 PET 画像

方がよりプローブ性能が優れていることが示唆された。

以上の評価結果に基づき、(S)-THK-5151 を最適化プローブとして、より詳細なプローブ性能の評価を行った。 $^3\text{H}$ -(S)-THK-5151 を用いてマイクロオートラジオグラフィを実施したところ、タウ凝集体の病理所見である神経原線維変化やニューロピルスレッドなどが選択的に描出された。PET 画像コントラストの指標となる灰白質と白質のシグナル強度比は約 3 程度となり、 $^3\text{H}$ -THK-5117 と比較して約 1.5 倍大きな値となった。脳内動態性の速やかさとあわせて考えると、(S)-THK-5151 は THK-5117 よりも画像化性能に優れたタウプローブであることが示唆された。

前臨床のプローブ性能精密評価によって最適化された  $^{18}\text{F}$ -(S)-THK-5151 ( $^{18}\text{F}$ -THK-5351) について、標識合成方法並びに精製方法を最適化し、安全な注射剤の調整法を確立した。そして、放射性薬剤委員会、臨床研究倫理委員会などの審査手順を経て、 $^{18}\text{F}$ -(S)-THK-5151 の探索的臨床 PET 試験を実施した。その結果、AD 患者では、画像所見的に健常高齢者と比較して海馬傍回や下側頭回に有意に高い放射能の集積を認めた(図 5)。THK-5117 と比較しても白質への非特異的集積は低く、画像コントラストに優れた結果となった。プローブの脳内動態は、投与直後速やかに脳内に取り込まれ、その後すぐに脳内から消失する特徴が確認できた。PET 画像所見で認められた放射能の高集積領域は、病理学的にタウの蓄積が多く見られる領域と一致し、タウの病理像を反映するイメージングができていることを示唆している。

以上より、精密機能解析に基づく構造最適化により、従来のプローブよりも優れたイメージング性能を有するタウ画像化プローブを開発することができた。今後、このプローブを利用した臨床研究を積み重ねていくことにより、その臨床的有用性を検証していくことが重要である。

## 5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 7 件)

Tetsuro Tago, Shozo Furumoto, Nobuyuki Okamura, Ryuichi Harada, Hajime Adachi, Yoichi Ishikawa, Kazuhiko Yanai, Ren Iwata and Yukitsuka Kudo, Structure and Activity Relationship of 2-Arylquinolines as PET Imaging Tracers for Tau Pathology in Alzheimer Disease, The Journal of Nuclear Medicine, 査読有、2016 年、Vol.57、p.p.607-614

Tetsuro Tago, Shozo Furumoto, Nobuyuki Okamura, Ryuichi Harada, Hajime Adachi, Yoichi Ishikawa, Kazuhiko Yanai, Ren Iwata and Yukitsuka Kudo, Preclinical Evaluation of [ $^{18}\text{F}$ ]THK-5105 Enantiomers: Effects of Chirality on Its Effectiveness as a Tau Imaging Radiotracer, Molecular Imaging and Biology, 査読有、2016 年、Vol.18、p.p.258-266

Harada R, Okamura N, Furumoto S, Furukawa K, Ishiki A, Tomita N, Tago T, Hiraoka K, Watanuki S, Shidahara M, Miyake M, Ishikawa Y, Matsuda R, Inami A, Yoshikawa T, Funaki Y, Iwata R, Tashiro M, Yanai K, Arai H, Kudo Y,  $^{18}\text{F}$ -THK5351: A Novel PET Radiotracer for Imaging Neurofibrillary Pathology in Alzheimer Disease., The Journal of Nuclear Medicine, 査読有、2016 年、Vol.57、p.p.208-214

古本 祥三,  $^{18}\text{F}$  標識 PET プローブの現状と展望, INNERVISION, 査読無、2014 年、Vol.29、p.p.11-14

古本 祥三, 岡村 信行, 原田 龍一, 多胡 哲朗, 工藤 幸司, タウプローブ開発の最先端, JSMI Report, 査読有、2014 年、Vol.8、p.p.3-7

Okamura N, Furumoto S, Fodero-Tavoletti MT, Mulligan RS, Harada R, Yates P, Pejaska S, Kudo Y, Masters CL, Yanai K, Rowe CC, Villemagne VL, Non-invasive assessment of Alzheimer's disease neurofibrillary pathology using  $^{18}\text{F}$ -THK5105 PET., Brain, 査読有、2014 年、Vol.137、p.p.1762-1771

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, 査読有、2014 年、Vol.57、p.p.18-24

[学会発表](計 13 件)

多胡哲郎, 古本祥三, 岡村信行, 原田龍一, 安立創, 石川洋一, 谷内一彦, 工藤幸司, 岩田鍊, PET によるアルツハイマ

ー病タウイメージングのための 2-アリアルキノリン誘導体開発、第 55 回日本核医学会学術総会、2015 年 11 月 05 日～2015 年 11 月 07 日、東京

原田龍一、岡村信行、古本祥三、多胡哲郎、岩田錬、谷内一彦、工藤幸司、タウイメージングトレーサー<sup>[18F]</sup>THK-5351 の代謝解析、第 55 回日本核医学会学術総会、2015 年 11 月 05 日～2015 年 11 月 07 日、東京

古本 祥三、PET プロープの創製研究 ～分子設計から橋渡し研究まで～、平成 27 年度日本薬学会東北支部総会・学術講演会（招待講演）、2015 年 06 月 13 日、仙台

T. Tago, S. Furumoto, N. Okamura, R. Harada, H. Adachi, Y. Ishikawa, K. Yanai, R. Iwata, Y. Kudo., Preclinical characterization of <sup>[18F]</sup>THK-5117 enantiomers as a PET tau probe for tau pathology in Alzheimer's disease, 21st International Symposium on Radiopharmaceutical Sciences, 2015 年 05 月 26 日～2015 年 05 月 31 日、米国ミズーリ州コロンビア

多胡哲郎、古本祥三、岡村信行、原田龍一、石川洋一、谷内一彦、岩田錬、工藤幸司、2-アリアルキノリン PET タウイメージング剤の構造活性相関研究、日本分子イメージング学会第 10 回総会・学術集会、2015 年 05 月 20 日～2015 年 05 月 21 日、東京

Tago T, Furumoto S, Okamura N, Harada R, Adachi H, Ishikawa Y, Yanai K, Iwata R, Kudo Y, Chirality of <sup>[18F]</sup>THK-5105 Affects its Preclinical Characteristics as a PET Tau Imaging Probe, 9th Human Amyloid Imaging 2015, 2015 年 01 月 14 日～2015 年 01 月 16 日、米国マイアミ

多胡 哲郎、古本 祥三、岡村 信行、原田 龍一、安立 創、石川 洋一、谷内一彦、工藤 幸司、岩田 錬、PET 用タウイメージング剤<sup>[18F]</sup>THK-5105 のエナンチオマー体の詳細評価、第 54 回日本核医学会学術総会、2014 年 11 月 06 日～2014 年 11 月 08 日、大阪

Furumoto S., Okamura N., Kudo Y., Tau Probe Development: From A Molecular Design To A Clinical Research., 第 9 回日本分子イメージング学会総会・学術集会、2014 年 05 月 22 日～2014 年 05 月 23 日、大阪千里

多胡 哲郎、古本 祥三、岡村 信行、原田 龍一、安立 創、石川 洋一、谷内一彦、工藤 幸司、岩田 錬、PET 用タウイメージング剤<sup>[18F]</sup>THK-5105 エナンチオマー体の評価、第 9 回日本分子イメージング学会総会・学術集会、2014 年 05 月 22 日～2014 年 05 月 23 日、大阪千里

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 <sup>18</sup>F-THK5117, Society of Nuclear Medicine and Molecular Imaging 2014, 2014 年 06 月 07 日～2014 年 06 月 11 日、米国セントルイス

Ishiki A, Furumoto S, Harada R, Furukawa K, Okamura N, Tashiro M, Yanai K, Kudo Y, Arai H, Accumulation of the novel tau imaging tracer, <sup>18</sup>F-5117 is associated with brain atrophy in Alzheimer's disease., Alzheimer's Association International Conference 2014, 2014 年 07 月 12 日～2014 年 07 月 17 日、コペンハーゲン

多胡哲郎、古本祥三、岡村信行、原田龍一、石川洋一、谷内一彦、工藤幸司、岩田錬、PET 用タウイメージング剤<sup>[18F]</sup>THK5105 のエナンチオマー体の合成と評価、第 53 回日本核医学会学術総会、2013 年 11 月 08 日～2013 年 11 月 10 日、福岡

岡村信行、古本祥三、原田龍一、多胡哲郎、谷内一彦、レイチェルマリガン、クリストファーロウ、ピクタービルマーニ、アルツハイマー病患者における<sup>[18F]</sup>THK5105 の臨床評価、第 53 回日本核医学会学術総会、2013 年 11 月 08 日～2013 年 11 月 10 日、福岡

〔産業財産権〕  
出願状況（計 1 件）

名称：タウイメージングプローブ  
発明者：工藤 幸司、岡村 信行、古本 祥三  
権利者：東北大学  
種類：特許  
番号：特願 2013-233470  
出願年月日：平成 25 年 10 月 23 日  
国内外の別：国内

## 6. 研究組織

(1) 研究代表者  
古本 祥三 (FURUMOTO, Shozo)  
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  
研究者番号：00375198

(2) 連携研究者  
岡村 信行 (OKAMURA, Nobuyuki)  
東北大学・大学院医学系研究科・准教授  
研究者番号：40361076

(2) 連携研究者  
志田原 美保 (SHIDAHARA, Miho)

東北大学・大学院医学系研究科・講師  
研究者番号：20443070