

平成 29 年 5 月 15 日現在

機関番号：11301
研究種目：若手研究(B)
研究期間：2015～2016
課題番号：15K19767
研究課題名(和文) タウイメージングトレーサーの比較研究

研究課題名(英文) Comparative study of tau imaging tracers

研究代表者

原田 龍一 (Ryuichi, Harada)

東北大学・医学系研究科・助教

研究者番号：60735455

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では申請者らが開発したタウイメージングトレーサー18F-THK5351を含む化学構造の異なる複数のタウイメージングトレーサーの結合特性、薬物動態特性を検討した。その結果、18F-THK5351は生体内で硫酸抱合体に代謝され、それは脳に移行しないことを明らかにした。また、18F-THK5351の主なoff-target binding(タウ病変以外への結合)はモノアミンオキシダーゼB(MAO-B)であることを明らかにした。一方、18F-AV1451のoff-target bindingは報告されているMAO-A、メラニン以外に他に存在することを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：In this study, we characterized the binding and pharmacokinetic profiles of 18F-THK5351 we developed and other reported tracer 18F-AV1451. In 18F-THK5351, radiolabeled sulfoconjugate was observed in mice and human as dominant metabolite and it showed little brain uptake, indicating its radiolabeled metabolite does not affect PET images of 18F-THK5351 in human. In addition, we found off-target binding of 18F-THK5351 was monoamine oxidase-B (MAO-B). These results suggest that 18F-THK5351 PET signal reflects tau as well as MAO-B binding. On the other hand, other off-target binding substrates of 18F-AV1451 were present, although MAO-A and melanin have been already reported. This study highlights the need for the consideration of further validation to better understand PET images using tau PET radiotracers.

研究分野：分子イメージング

キーワード：放射性医薬品 造影剤 イメージング 神経変性疾患 神経機能画像

1. 研究開始当初の背景

アルツハイマー病 (AD) をはじめとする神経変性疾患の脳内に蓄積するタウ病変を標的とした PET イメージングトレーサーが複数開発され、現在探索的臨床研究によりその有用性が検証されている。我々も、独自にキノリン誘導体である ^{18}F -THK5351 を開発した (Harada R et al., J Nucl Med 2016)。しかし、各トレーサーが認識するタウ病変や結合選択性、生体内における薬物動態、また基底核を中心としたタウ病変以外への標的への結合 (off-target binding) など、これらの全容は明らかになっていない。これらの特徴・性能を明らかにすることは、今後のタウイメージングの利用ならびにその技術的基盤の確立において必須である。

2. 研究の目的

そこで、本研究では我々が開発した ^{18}F -THK5351 を含む複数のタウイメージングトレーサー (^{18}F -AV1451, ^{11}C -PBB3) の結合特性、薬物動態特性を検討し、特徴を明らかにするとともに off-target binding の全容解明を目的とした。

3. 研究の方法

(1) THK5351 の代謝物同定

正常マウス (Slc;ICR) に THK5351 (1mg/kg) を静脈から投与し、10 分後に血漿を回収し、有機溶媒で抽出後、質量分析により代謝物の同定を検討した。

(2) 放射性代謝解析

正常マウス (Slc;ICR) に ^{18}F -標識化合物を静脈から投与し、2 分、10 分、30 分後に血漿および脳を回収し、有機溶媒で抽出後、TLC により代謝物分析を行った。 ^{18}F -THK5351 においては探索的臨床研究においてヒト血漿における代謝物解析を上記の方法と同様に実施した。

(3) ヒト病理組織を用いた競合オートラジオグラフィーによる結合標的の探索

凍結脳切片に様々な阻害剤・リガンド存在下で ^3H -THK5351 (3 nM) を 30 分間室温で反応させ、バッファーで洗浄することでオートラジオグラフィー像を得た。

(4) ^{18}F -THK5351 PET 被験者のアルツハイマー病患者における画像病理相関評価

生前の ^{18}F -THK5351 PET 画像の集積値と同領域における剖検の病理組織 (切片およびホモジネート) のタウ病変の量との相関解析を実施した。

4. 研究成果

(1) THK5351 の代謝物同定

質量分析の結果、非標識体を用いた検討では THK5351 の代謝物は硫酸抱合体であることが明らかになった。これは先に報告された他

のタウプローブである ^{11}C -PBB3 も同様である (Hashimoto H et al., Nucl Med Biol 2015)。

(2) 放射性代謝解析

^{18}F -THK5351 のマウスにおける代謝物解析の結果、血漿中に極性の高い放射性代謝物が認められた。主要な放射性代謝物の Rf 値は、硫酸抱合酵素である SULT1E1 と反応させてきたスポットおよび化学的に合成した THK5351 の硫酸抱合体のスポットと同じ値を示したことから、主要な放射性代謝物は硫酸抱合体であることが示された (図 1)。この放射性代謝物は脳への移行性は極めて低く、タウ病変に対する結合も低いことから ^{18}F -THK5351 PET 画像に与える影響はほぼないと考えられた。ヒトにおける放射性代謝物解析の結果、マウス同様硫酸抱合体が認められた。一方、 ^{18}F -AV1451 はマウスにおける代謝物解析の結果、顕著な放射性代謝物は認めなかった。

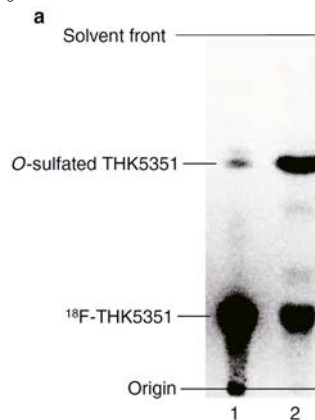


図 1 Radio-TLC Lane1: ^{18}F -THK5351 と SULT1E1 を反応させた試料、Lane2: ^{18}F -THK5351 投与 10 分後のマウス血漿

(3) ヒト病理組織を用いた競合オートラジオグラフィーによる結合標的の探索

競合オートラジオグラフィーによる ^{18}F -THK5351 の off-target binding の探索の結果、その標的はモノアミンオキシダーゼ B (MAO-B) であることが明らかとなった。実際、MAO-B 阻害剤を加えると、 ^3H -THK5351 の基底核に対する結合が完全にブロックされた (図 2)。しかし、AD 脳では結合が保持されたことから ^{18}F -THK5351 の AD 脳における結合はタウ病変と MAO-B の両者であると考えられた。一方、 ^{18}F -AV1451 は報告されている通り (Hostetler ED et al., J Nucl Med 2016)、MAO-A に対して高い結合性を示したが、ヒト基底核脳切片における ^{18}F -AV1451 の結合は MAO-A 阻害剤で完全にブロックされなかったことから、他の結合標的が存在すると考えられた (図 2)。

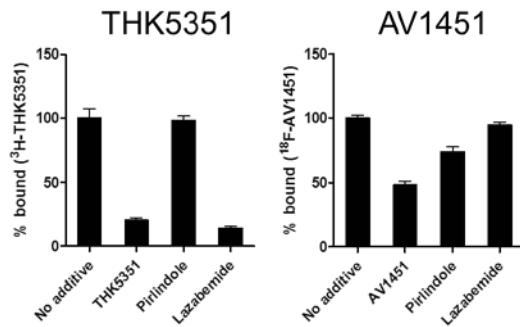


図2 THK5351、AV1451の競合結合実験
Pirindole: MAO-A inhibitor
Lazabemide: MAO-B inhibitor

(4) ¹⁸F-THK5351 PET 被験者のアルツハイマー病患者における画像病理相関評価
アルツハイマー病患者における ¹⁸F-THK5351 PET の画像病理相関研究の結果、大脳皮質における ¹⁸F-THK5351 の集積量はタウ病変の量と高い正の相関を示した(図3)。一方で、アミロイドの量とは相関しなかった。また、¹⁸F-THK5351 の集積量は MAO-B とも高い正の相関を示した。以上のことから、¹⁸F-THK5351 の PET シグナルはタウ病変と MAO-B の両者に起因するものだと考えられた。また、興味深いことに大脳皮質においてタウ病変の量は MAO-B の量と高い相関を示し、MAO-B は GFAP と高い相関を示したことから MAO-B の量はアストログリオシスを反映したものだと考えられた。

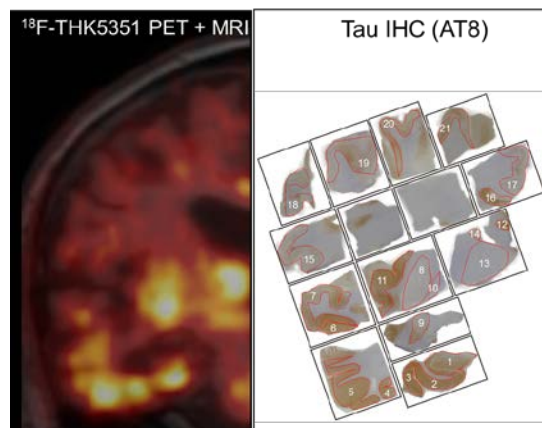


図3 アルツハイマー病患者における ¹⁸F-THK5351 PET 画像病理相関評価

以上のことから、本研究により ¹⁸F-THK5351 の代謝プロファイルが明らかとなり ¹⁸F-AV1451 とは大きく異なっていた。また、¹⁸F-THK5351 の off-target の全容が明らかとなり、¹⁸F-THK5351 PET はタウ病変だけでなくアストログリオシスも合わせて捉えている可能性を強く支持するものであった。タウ病変、アストログリオシスはアルツハイマー病患者脳内で大きく変化している分子であることが示唆されたが、これらの因果関係を明らかにするためには、より選択的な PET

プローブの開発が必要である。

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 13 件)

1. Kok Pin Ng, Tharick A. Pascoal, Sulantha Mathotaarachchi, Joseph Therriault, Min Su Kang, Monica Shin, Marie-Christine Guiot, Qi Guo, Ryuichi Harada, Robert A. Comley, Gassan Massarweh, Jean-Paul Soucy, Nobuyuki Okamura, Serge Gauthier, Pedro Rossa-Neto, “Monoamine oxidase B inhibitor, selegiline, reduces ¹⁸F-THK5351 uptake in the human brain”, *Alzheimer’s Research & Therapy*, 査読有 2017, 9:25
DOI: 10.1186/s13195-017-0253-y
2. Aiko Ishiki, Ryuichi Harada, Nobuyuki Okamura, Naoki Tomita, Christopher C. Rowe, Victor L. Villemagne, Kazuhiko Yanai, Yukitsuka Kudo, Hiroyuki Arai, Shozo Furumoto, Manabu Tashiro, Katsutoshi Furukawa, “Tau imaging with ¹⁸F-THK5351 in progressive supranuclear palsy”, *European Journal of Neurology*, Wiley, 査読有, 2017 Jan;25(1):130-136, DOI: 10.1111/ene.13164
3. Akio Kikuchi, Nobuyuki Okamura, Takafumi Hasegawa, Ryuichi Harada, Shoichi Watanuki, Yoshihito Funaki, Kotaro Hiraoka, Toru Baba, Naoto Sugeno, Ryuji Oshima, Shun Yoshida, Michinori Ezura, Michiko Kobayashi, Ohito Tano, Shunji Mugikura, Ren Iwata, Aiko Ishiki, Katsutoshi Furukawa, Hiroyuki Arai, Shozo Furumoto, Manabu Tashiro, Kazuhiko Yanai, Yukitsuka Kudo, Atsushi Takeda, Masashi Aoki, “In vivo visualization of tau deposits in corticobasal syndrome by ¹⁸F-THK5351 PET”, *Neurology, American Academy of Neurology*, 査読有, 2016 Nov 29;87(22):2309-2316, DOI: 10.1212/WNL.0000000000003375,
4. Ryuichi Harada, Shozo Furumoto, Tetsuro Tago, Katsutoshi Furukawa, Aiko Ishiki, Naoki Tomita, Ren Iwata, Manabu Tashiro, Hiroyuki Arai, Yukitsuka Kudo, Nobuyuki Okamura, “Characterization of the radiolabeled metabolite of tau PET tracer ¹⁸F-THK5351”, *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*, Springer, 査読有, 2016 Nov;43(12):2211-2218, DOI: 10.1007/s00259-016-3453-y
5. Samuel N. Lockhart, Suzanne L. Baker, Nobuyuki Okamura, Katsutoshi Furukawa, Aiko Ishiki, Shozo Furumoto, Manabu

- Tashiro, Kazuhiko Yanai, Hiroyuki Arai, Yukitsuka Kudo, Ryuichi Harada, Naoki Tomita, Kotaro Hiraoka, Shoichi Watanuki, William J. Jagust, “Dynamic PET Measures of Tau Accumulation in Cognitively Normal Older Adults and Alzheimer’s Disease Patients Measured Using [18F]THK-5351” PLoS One, 査読有, 11(6):e0158460.
DOI: 10.1371/journal.pone.0158460
6. Shozo Furumoto, Tetsuro Tago, Ryuichi Harada, Yukitsuka Kudo, Nobuyuki Okamura, “18F-Labeled 2-Arylquinoline Derivatives for Tau Imaging: chemical, radiochemical, biological and clinical features”, Current Alzheimer Research, Bentham, 査読有 14(2):178-185, 2017, DOI: 10.2174/1567205013666160620121811
 7. Matthias Brendel, Anna Jaworska, Federico Probst, Felix Overhoff, Viktoria Korzhova, Simon Lindner, Janette Carlsen, Peter Bartenstein, Ryuichi Harada, Yukitsuka Kudo, Christian Haass, Fred van Leuven, Nobuyuki Okamura, Jochen Herms, and Axel Rominger, “microPET Imaging of Tau pathology with [18F]THK-5117 in two Transgenic Mouse Models”, Journal of Nuclear Medicine, Society of Nuclear Medicine and Molecular Imaging, 査読有, 2016 May;57(5):792-798
DOI: 10.2967/jnumed.115.163493
 8. Nobuyuki Okamura, Ryuichi Harada, Katsutoshi Furukawa, Shozo Furumoto, Tetsuro Tago, Kazuhiko Yanai, Hiroyuki Arai, Yukitsuka Kudo, “Advances in the development of tau PET radiotracers and their clinical applications” Ageing Res Rev. 査読有, 2016 Sep;30:107-113. pii: S1568-1637(15)30045-3.
DOI: 10.1016/j.arr.2015.12.010.
 9. Ryuichi Harada, Nobuyuki Okamura, Shozo Furumoto, Tetsuro Tago, Kazuhiko Yanai, Hiroyuki Arai, Yukitsuka Kudo, “Characteristics of Tau and Its Ligands in PET Imaging”, Biomolecules. 査読有, 2016 Jan 6;6(1). pii: E7.
DOI: 10.3390/biom6010007. Review
 10. Ryuichi Harada, Shozo Furumoto, Takeo Yoshikawa, Yoichi Ishikawa, Katsutoshi Shibuya, Nobuyuki Okamura, Kiichi Ishiwata, Ren Iwata, Kazuhiko Yanai, “Synthesis and characterization of 18F-interleukin-8 using a cell-free translation system and ¹⁸F-fluoro-L-proline, Journal of Nuclear Medicine, Society of Nuclear Medicine and Molecular Imaging, , 査読有, 2016, Apr;57(4):634-639
DOI: 10.2967/jnumed.115.162602,
 11. Tetsuro Tago, Shozo Furumoto, Nobuyuki Okamura, Ryuichi Harada, Hajime Adachi, Yoichi Ishikawa, Kazuhiko Yanai, Ren Iwata, and Yukitsuka Kudo, “Structure-Activity Relationship of 2-Arylquinolines as PET Imaging Tracers for Tau Pathology in Alzheimer’s Disease”, Journal of Nuclear Medicine, Society of Nuclear Medicine and Molecular Imaging, 査読有, 2016 Apr;57(4):608-614,
DOI: 10.2967/jnumed.115.166652,
 12. Ryuichi Harada, Nobuyuki Okamura, Shozo Furumoto, Furukawa Katsutoshi, Aiko Ishiki, Tomita Naoki, Tetsuro Tago, Kotaro Hiraoka, Shoichi Watanuki, Mihi Shidahara, Masayasu Miyake, Yoichi Ishikawa, Rin Matsuda, Akie Inami, Takeo Yoshikawa, Yoshihito Funaki, Ren Iwata, Manabu Tashiro, Kazuhiko Yanai, Hiroyuki Arai, Yukitsuka Kudo, “18F-THK5351: A Novel PET Radiotracer for Imaging Neurofibrillary Pathology in Alzheimer’s Disease”, Journal of Nuclear Medicine, Society of Nuclear Medicine and Molecular Imaging, 査読有, 2016 Feb;57(2):208-214.
DOI: 10.2967/jnumed.115.164848,
 13. Aiko Ishiki, Nobuyuki Okamura, Katsutoshi Furukawa, Shozo Furumoto, Ryuichi Harada, Naoki Tomita, Kotaro Hiraoka, Shoichi Watanuki, Yoichi Ishikawa, Tetsuro Tago, Yoshihito Funaki, Ren Iwata, Manabu Tashiro, Kazuhiko Yanai, Yukitsuka Kudo, Hiroyuki Arai, “Longitudinal Assessment of Tau Pathology in Patients with Alzheimer’s Disease Using [18F]THK-5117 Positron Emission Tomography”, PLoS One., 査読有, 10(10):e0140311.
DOI: 10.1371/journal.pone.0140311
- [学会発表] (計 9 件)
1. 原田龍一、岡村信行、古本祥三、吉川雄朗、工藤幸司、谷内一彦 : Development of a lanthanide complex labeled β -sheet ligand for high-throughput screening using time-resolved fluorescence method, 第90回日本薬理学会 2017年3月16日、長崎新聞文化ホール (長崎県・長崎市)
 2. Ryuichi Harada, Aiko Ishiki, Shozo Furumoto, Katsutoshi Furukawa, Manabu Tashiro, Hiroyuki Arai, Kazuhiko Yanai, Yukitsuka Kudo, Nobuyuki Okamura: Characterizing the “off-target” binding of ¹⁸F-THK5351 in Alzheimer’s disease: correlation between ante-mortem and post-mortem findings., 11th Human Amyloid Imaging, Jan 12, 2017, Miami, USA
 3. Ryuichi Harada, Nobuyuki Okamura, Shozo

- Furumoto, Ren Iwata, Hiroyuki Arai, Kazuhiko Yanai, Yukitsuka Kudo: Identification of wavelength-dependent compounds for imaging Lewy pathology, AAIC2016, July 25, 2016, Toronto, Canada
4. 原田龍一: 東北大学におけるタウ PET プローブ基礎開発研究、第 6 回日本認知症予防学会、2016 年 9 月 24 日、東北大学 (宮城県・仙台市)
 5. Ryuichi Harada, Nobuyuki Okamura, Shozo Furumoto, Tetsuro Tago, Katsutoshi Furukawa, Aiko Ishiki, Ren Iwata, Manabu Tashiro, Hiroyuki Arai, Kazuhiko Yanai, Yukitsuka Kudo: Metabolite analysis of tau PET tracer [¹⁸F]THK5351, 10th Human Amyloid Imaging, Jan 14, 2016, Miami, USA
 6. 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 [¹⁸F]THK5351 の代謝解析, 第 55 回日本核医学会学術総会 2015 年 11 月 05 日、ハイアットリージェンシー東京 (東京都・新宿区)
 7. 原田龍一、岡村信行、古本祥三、古川勝敏、石木愛子、岩田錬、谷内一彦、荒井啓行、工藤幸司: タウ PET プローブ [¹⁸F]THK5351 の結合解析, 第 34 回日本認知症学会 2015 年 10 月 04 日、リンクステーション青森 (青森県・青森市)
 8. Ryuichi Harada, Nobuyuki Okamura, Shozo Furumoto, Tetsuro Tago, Ren Iwata, Kazuhiko Yanai, Hiroyuki Arai, Yukitsuka Kudo: Validation of the binding specificity of tau PET tracer [¹⁸F]THK5351 on postmortem human brain samples, AAIC2015, July 22, 2015, Washington D.C., USA
 9. Ryuichi Harada, Nobuyuki Okamura, Shozo Furumoto, Tetsuro Tago, Ren Iwata, Kazuhiko Yanai, Hiroyuki Arai, Yukitsuka Kudo: Characterization of [¹⁸F]THK5351 for imaging of tau pathology in Alzheimer's disease, 第 10 回日本分子イメージング学会、2015 年 5 月 18 日、タワーホール船堀 (東京都・江戸川区)

〔図書〕 (計 件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 1 件)

名称: MONOAMINE OXIDASE B BINDERS
 発明者: 古本祥三、岡村信行、工藤幸司、原田龍一
 権利者: 同上
 種類: 特許
 番号: P20150301
 出願年月日: 2015 年 12 月 18 日
 国内外の別: 外国

○取得状況 (計 0 件)

名称:
 発明者:
 権利者:
 種類:
 番号:
 取得年月日:
 国内外の別:

〔その他〕
 ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

原田 龍一 (Ryuichi Harada)
 東北大学・大学院医学系研究科・助教
 研究者番号: 60735455

(2) 研究分担者

()

研究者番号:

(3) 連携研究者

()

研究者番号:

(4) 研究協力者

()