

平成 21 年 6 月 9 日現在

研究種目：若手研究(B)
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19790846
 研究課題名(和文) 神経原線維変化を標的としたアルツハイマー病診断薬及び治療薬の開発
 研究課題名(英文) Development of diagnostic and therapeutic agents targeting neurofibrillary tangles in Alzheimer's disease.
 研究代表者
 丸山 将浩 (MARUYAMA MASAHIRO)
 独立行政法人 放射線医学総合研究所・分子イメージング研究センター・主任研究員
 研究者番号：80396481

研究成果の概要：

タウオパチーモデルマウスの神経原線維変化に特異的に結合する蛍光プローブをスクリーニングした。選定した蛍光プローブと蛍光イメージング装置を用いてマウスの神経原線維変化を生体レベルで観察することに成功した。そして病変量の変動をモニターするためにポジトロン断層撮影 (positron emission tomography; PET) 用プローブを開発し、microPET scan を行った。神経原線維変化を標的とした画像バイオマーカーとして利用できることが明らかとなった。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	2,400,000	0	2,400,000
2008 年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	270,000	3,570,000

研究分野：精神神経科学

科研費の分科・細目：老年精神医学

キーワード：神経原線維変化、micro PET scan、蛍光イメージング

1. 研究開始当初の背景

アルツハイマー病 (AD) の病理は老人斑 (SP) と神経原線維変化 (NFT) からなるアミロイドの蓄積で特徴付けられており、無症候段階よりこれらの病変が生じることが知られている。特にタウ蛋白線維である NFT は SP 以上に神経変性と強い相関を有することが示されているが、NFT を生体で可視化する技術は

確立していない。早期より少ない侵襲で AD を診断し神経変性病理を定量的に評価するためには、NFT を標的としたイメージングバイオマーカーを開発する必要がある。

2. 研究の目的

NFT に選択的に結合するトレーサーを開発し、タウ蛋白病変モデルマウスの生体イメージ

ングにより NFT を検出する。これによって AD 早期診断や治療モニターに応用可能な画像バイオマーカーを確立する。

3. 研究の方法

(1) 神経原線維変化形成モデル動物を用いた蛍光画像診断システムの開発

① *In vitro*染色による評価：組織透過性が高い近赤外領域の蛍光を有する化合物を選択し、タウ蛋白トランスジェニックマウス(タウマウス)の脳切片を用いた直接染色試験を行い、NFTへの特異的な結合の有無を共焦点蛍光顕微鏡によって確認する。

② *Ex vivo*蛍光イメージングによる評価：正常マウスに候補化合物を静注して一定時間後に血液や脳を採取し、HPLCや質量分析計によって脳移行性を確認する。次にタウマウスに候補化合物を投与し、一定時間後に脳を摘出して切片を作製し、共焦点顕微鏡で脳内NFT病変への結合を評価する。

③ *In vivo*イメージングによる評価：生体蛍光イメージング装置(当研究所に設置済み)を用いて、候補化合物を投与したマウス頭部の蛍光画像を得る。画像データを正常マウスとタウマウスで比較し、本システムのNFT検出能力を評価する。

(2) 神経原線維変化の定量を目的としたモデル動物のmicroPETイメージング

① NFTに特異的結合能を有する蛍光イメージング用プローブを構造修飾することによって、脳への移行排出に優れたPETイメージング用プローブを作製する。

② 放射性核種¹¹Cで標識されたトレーサーをタウマウスに静注してmicroPETスキャンを行う。NFTが存在する脳部位に関心領域を設定して、正常マウスとの動態の違いを確認する。

③ 本プローブのNFTへの結合を*in vitro*、*ex vivo* オートラジオグラフィーでも確認する。月齢の違うマウスを複数匹microPETスキャンするか、もしくは同一個体をNFT形成の始まる時期から複数回経時的にスキャンすることによって、NFT病変量とシグナル強度の相関性を確認し、画像計測の定量性を検討する。

4. 研究成果

(1) 神経原線維変化形成モデル動物を用いた蛍光画像診断システムの開発

*In vitro*染色によりNFTに結合特異性の高い近赤外蛍光プローブを見出した。選定したプローブは一定量脳へ移行し、NFTに選択的に結合することを*ex vivo*蛍光顕微鏡観察で確認した。同プローブの静注量を1mg/kgと設定し*in vivo*蛍光イメージング装置で観察したところ、投与直後からタウマウスと正常マウス間に明らかな蛍光寿命とシグナル強度の違いを認め(図1)、本システムがNFT蓄積を簡便に検出するイメージング技術であることが明らかになった。

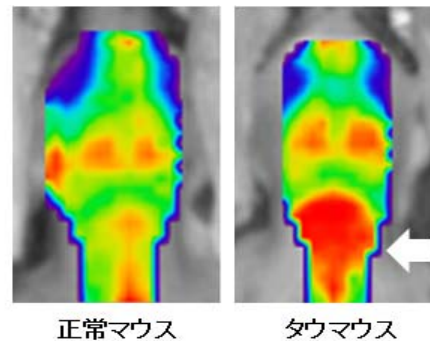


図 1. 近赤外蛍光プローブによる生体蛍光イメージング。マウス背側上面から観察したところ、タウマウスの NFT 病変好発形成部位である脳幹部(矢印)で強い蛍光シグナルが認められた。

(2) 神経原線維変化の定量を目的としたモデル動物のmicroPETイメージング

脳深部に存在するNFTの検出能を高めることと、ヒト脳イメージングへ応用することを念頭に置き、NFTのPETプローブを開発した。脳移行性と脳からのクリアランスを高めるために、脂溶性が最適となるよう構造修飾して新規プローブを設計した。新規プローブがNFT結合能を保持していることを*in vitro*蛍光顕微鏡観察で確認した上で、放射性標識された化合物をタウマウスに静注してmicroPETスキャンを行ったところ、NFTの局在に一致してプローブの集積を認めた(図2)。*Ex vivo* オートラジオグラフィーでも同様な結果が得られ、新規プローブが生体でNFTに結合することが確認された。今後はNFTの定量ツールとしての妥当性を評価し、有用性が確認されれば臨床PETイメージングに応用する予定である。さらに本

技術はNFTを標的とする新規治療薬の効果を、*in vivo*で経時的に評価する非臨床および臨床試験を実現可能にすると見込まれる。これらの成果は論文化して現在投稿中である。

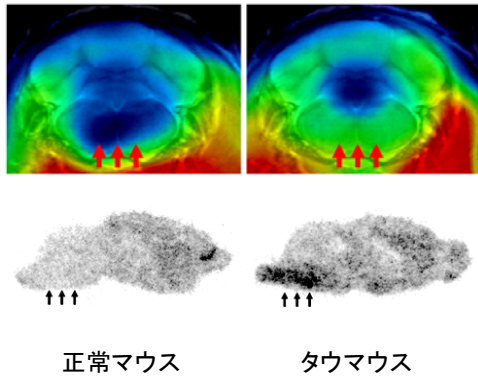


図2. (上段)新規プローブによる microPET イメージング. タウマウスでは NFT が多量に蓄積する脳幹部 (冠状断、矢印) において、正常マウスに比してプローブ集積の増加が認められる. (下段) Ex vivo オートラジオグラフィ画像. タウマウスの脳幹部 (矢状断、矢印) に静注したプローブの集積が認められる.

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 5 件)

- ①_r Okamura N, Funaki Y, Tashiro M, Kato M, Ishikawa Y, Maruyama M, Ishikawa H, Meguro K, Iwata R, Yanai K. In vivo visualization of donepezil binding in the brain of patients with Alzheimer's disease. *Br J Clin Pharmacol*. 2008 Apr;65(4):472-9. (査読有)
- ②_r Tashiro M, Sakurada Y, Mochizuki H, Horikawa E, Maruyama M, Okamura N, Watanuki S, Arai H, Itoh M, Yanai K. Effects of a sedative antihistamine, D-chlorpheniramine, on regional cerebral perfusion and performance during simulated car driving. *Hum Psychopharmacol*. 2008 Mar;23(2):139-50. (査読有)
- ③_r Matsui T, Maruyama M, Matsushita S, Arai H, Higuchi S, Maruyama K. A transient increase in cerebrospinal fluid tau level after epileptic

seizure in an elderly patient. *J Am Geriatr Soc*. 2007 Dec;55(12):2096-7. (査読有)

- ④_r Maeda J, Ji B, Irie T, Tomiyama T, Maruyama M, Okauchi T, Staufenbiel M, Iwata N, Ono M, Saido TC, Suzuki K, Mori H, Higuchi M, Suhara T. Longitudinal, quantitative assessment of amyloid, neuroinflammation, and anti-amyloid treatment in a living mouse model of Alzheimer's disease enabled by positron emission tomography. *J Neurosci*. 2007 Oct 10;27(41):10957-68. (査読有)
- ⑤_r Kudo Y, Okamura N, Furumoto S, Tashiro M, Furukawa K, Maruyama M, Itoh M, Iwata R, Yanai K, Arai H. 2-(2-[2-Dimethylaminothiazol-5-yl]ethenyl)-6-(2-[fluoro]ethoxy)benzoxazole: a novel PET agent for in vivo detection of dense amyloid plaques in Alzheimer's disease patients. *J Nucl Med*. 2007 Apr;48(4):553-61. (査読有)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

丸山 将浩 (MARUYAMA MASAHIRO)

独立行政法人放射線医学総合研究所・分子イメージング研究センター・主任研究員
研究者番号：80396481