

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 30 日現在

機関番号：17401

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23591781

研究課題名(和文) アミロイド変性症(AD, FAP)の分子イメージング診断法の開発

研究課題名(英文) Development of molecular imaging for a new amyloidosis (AD, FAP)

研究代表者

富吉 勝美(Tomiyoshi, Katsumi)

熊本大学・生命科学研究部・教授

研究者番号：60188802

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円、(間接経費) 1,170,000円

研究成果の概要(和文)：[¹¹C]PIBの標識合成および分離精製を行い、収率は平均 $62.7 \pm 29.4\%$ と95%以上の放射化学的純度を得られ、臨床応用に必要なJ-ADNI2の定める品質管理を実行する品質管理を終了した。またPET・SPECT用アミロイドイメージング用プローブである¹²⁵I-EISBの開発を行い、本法における放射化学的収率は80-90%であり、放射化学的純度は $98.4 \pm 3.6\%$ が得られた。正常マウスでは主に肝臓に集積し、アミロイド沈着マウスでは肝臓及び脾臓に集積を示した。¹²⁵I-EISBは生体内のアミロイドに集積を示すことが示唆された。¹²⁵I-EISBの臨床応用の可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：[¹¹C]PIB was synthesized and evaluated Quality control for Clinical use. By applying purification system, Radiochemical yield was 62.7% and radiochemical purity was 95% and more. On the other hand, EMSB (1-(2-methyl-ethoxy)-2,5-bis(phenylstyryl)benzene) is newly synthesized and (1-(¹²⁵I-ethoxy)-2,5-bis(phenylstyryl)benzene) [¹²⁵I]-EISB was obtained. The radiochemical yield and the radiochemical purity were 80-90% and 98.4% respectively. We injected [¹²⁵I]-EISB to Alzheimer model mouse and analyzed its bio-distribution (%dose/g) of [¹²⁵I]-EISB in the amyloid tissues. In the animal experiments showed that the bio-distribution (%dose/g) of [¹²⁵I]-EISB gave a similar to the uptake as well as fluorescent agents MSB and PIB which have done in our institute. [¹²⁵I]-EISB was a promising new radio-compound for the detection of the amyloid protein and make it possible to apply it to clinical use.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・放射線科学

キーワード：PET アルツハイマー病 SPECT 標識合成

1. 研究開始当初の背景

1) アミロイドーシスの組織診断には、Congo red 染色による確定診断、剖検にのみミロイド変性の存在が明るみにできないことから、アミロイドーシスの生体内での早期診断が希求され続けられている。発症から 10 年前にはすでに生体内にアミロイド沈着が起ると言われるアミロイドーシスの原因たんぱく質である前駆体が明らかにされており、これに親和性の高い化合物の研究と標識合成が行われている。

2) 今回申請する「分子イメージング診断によるアミロイド変性症の基礎的研究」で、アミロイドーシス診断の可能性がある 2 つのアミロイドーシスの原因たんぱく質に高い親和性を示す化合物の合成と標識を行う。一つは、アルツハイマー病の原因たんぱく質である前駆体アミロイド (A) に高い親和性があり、かつ血液脳関門 (BBB) が少ない脂溶性化合物である Pittsburg Compound B (11C-PIB) の標識合成とその臨床応用、他の一つは、本学の遺伝病理学講座と共同実験を行っている家族性アミロイドポリニューロパチ (FAP) のアミロイドーシスの原因物質である前駆体トランスサイレチン (TTR) に親和性の高い 2-FluoroBenzilEsterR (11C-FBER) の標識合成と臨床実験である。

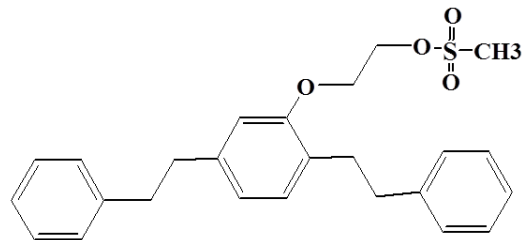
2. 研究の目的

アミロイド (A) に親和性の高い 11C-PIB と家族性アミロイドポリニューロパチ (FAP) の前駆体トランスサイレチン (TTR) に親和性の高い EMSB に ¹²⁵I を標識し、標識合成による放射化学的収率及び分取精製による放射化学的収率を検討した。また、分取精製後の ¹²⁵I-EISB を正常及びアミロイド沈着マウスに投与し体内分布を測定し、本学における家族性アミロイドポリニューロパチ (FAP) と局限性アミロイドーシスであるアルツハイマー病の生体内早期診断を可能にする RI 診断法の研究開発を目的とする。

する。

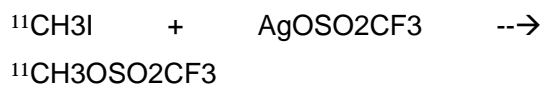
3. 研究の方法

本研究には 2 種類の標識化合物の合成を行った。一つはメチルトリフレート法を使用してアミロイド PET 検査薬である [¹¹C]Pittsburgh Compound-B (以下 [¹¹C]PIB) の標識合成を行う。次に九州大学と共同開発した ¹²⁵I-EISB の前駆体である EMSB, 無水アセトニトリル : 関東化学, Kryptofix2.2.2 : MERCK, Na¹²⁵I : PerkinElmer を使用した。分取精製には無水エタノール : ナカライ, Tween80 : Wako Pure Chemical Industries, Ltd, 生理食塩水を用いた。HPLC 分析には、溶離液として、アセトニトリル : ナカライを使用した。以下の図に EMSB の構造を示す。

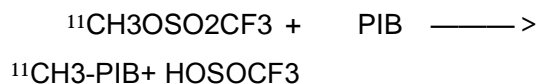


[¹¹C-PIB の合成・精製]

有機金属化合物を利用した ¹¹C-PIB の標識合成 Methyltrifluorosulfonyl (Methyltriflate) method を従来 ¹¹CH₃I である前駆体をメチルトリフレートに置き換える。



アセトン中に溶かした thyoflabinT を 80 度に加熱し、密封反応器で 10 分間反応させた後、未反応化合物と標識化合物の分離精製を行う。



最後に、合成した試料を高速液体クロマトグラフィ (以下 HPLC) を使用して分析し、分離精製を行う。

[¹⁸F- FBER の合成・精製] 核反応

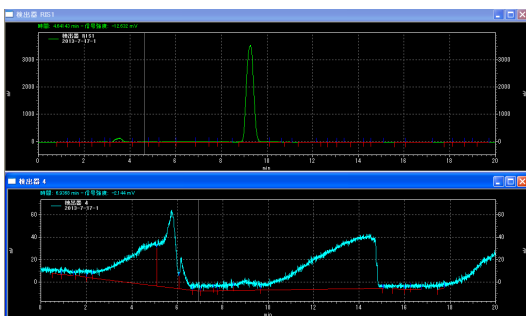
¹⁸O(p,n) ¹⁸F により ¹⁸F を製造、カラム

QMA に保持した後、Kriptfix222/CO₂ 溶離液 0.3ml で溶出し、反応器で加熱乾燥させる。アセトニトリル共沸乾燥させる。2) EMSB(1mg/2ml)+¹⁸F/kriptfix 反応合成
3) Accel QMA カラムにトラップ後、溶離剤エタノールで分離精製

体内分布測定にはマウスによる体内実験を行った。分取精製後の¹²⁵I-EISBを使用し、麻酔としてジエチルエーテル：関東化学を用いた。¹²⁵I-EISB は品質管理基準に従い、放射化学的純度 95%以上のものを使用した。マウスは正常マウス及びアミロイド沈着マウスの2種類を使用し、正常マウスはオスの Balb/ cL, アミロイド沈着マウスは熊本大学大学院生命科学研究部 病態情報解析学分野でアミロイド沈着を人為的に起させたオスのマウスを用いた。

4. 研究成果

標識合成した[¹¹C]PIB の HPLC 分析結果を下図に示す。



[¹¹C]PIB の標識合成および分離精製を行い、収率は平均 $62.7 \pm 29.4\%$ 、95%以上の放射化学的純度を得られた。¹¹C-PIB 標識合成は JADNI2 の一員として日赤熊本健康センターで無菌試験等の品質管理データを取得し、AD 患者の臨床研究を開始する手続きが取られ本研究計画は完了している。新しく合成した XEM,MSB, EMSB 等種々のアミロイド親和性化合物を九州大学と共同研究開発し、その中で合成した新薬剤 EFSB((1-Ethoxy-2-F)-2,5-bis (phenyl

styryl) benzene)がインビトロで Congo red 染色と同等以上のアミロイドシス親和剤であることを確認した。本法における放射化学的収率は $80.1 \pm 6.3\%$ であり、放射化学的純度は $98.4 \pm 3.6\%$ が得られた。これは臨床応用可能な放射性標識化合物の品質管理基準の項目の放射化学的純度の基準である 95%以上を満たす。体内分布測定において、正常マウスおよびアミロイド沈着マウスでは投与後の集積の違いがみられ、正常マウスでは主に肝臓に集積し、アミロイド沈着マウスでは肝臓及び脾臓に集積を示した。¹²⁵I-EISB は生体内のアミロイドに集積を示すことが示唆された。下図は ¹²⁵I-EISB による正常マウス脳(Sagittal)IP イメージングを示す。



今後、動物用 SPECT による撮像での視覚的評価が必要であるが、¹²⁵I-EISB の臨床応用の可能性が示唆された。

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1件)

Nakazono M., Obayashi, K., Sasamoto

K., Tomiyoshi, K., Suenaga, G., Ando, Y.

Novel styrylbenzene derivatives for detecting amyloid deposits, *Clinica Chimica Acta*. In Press(2014) (査読あり)
Ref. No.: CCA-D-14-00296R1

〔学会発表〕(計4件)

1) Sho Tsukimoto, Konen Obyashi, Katsumi Tomiyoshi,

Bio-Distribution experiments of mice using a New Amyloido Imaging Probe ¹²⁵I-EISB for Clinical Use. International SYnposium on Familial Amyloidotic Polynneuropathy.

Auditorio do Centro de Convencoes Antonio Seabra Moggi, Riode Janeiro Brazil

2013.10.10-10.13

2) アルツハイマー病の放射性薬剤について

¹¹C-PIBの標識合成と品質管理

富吉勝美 第50回放射線影響懇話会、佐賀大学、2013年、7月 27日

3) 新たに開発した試薬E F S Bを用いた各種アミロイドーシスの組織学的診断

小田孝太郎、大林光念、安東由喜雄、富吉勝美、九州放射線技術学会 長崎大学 2012年11月24日～25日

4) ¹¹C-PIBの標識合成と分取精製

高橋俊輔、盛島由貴、富吉勝美、

九州放射線技術学会 長崎大学 2012年11月24日～25日

〔その他〕

ホームページ

「アミロイド変性症(AD,FAP)の分子イメージング診断法の開発」

<http://www.molimaging.hs.kumamoto-u.ac.jp/>

6. 研究組織

(1)研究代表者

富吉 勝美 (TOMIYOSHI, Katsumi)

熊本大学・大学院生命科学研究部・教授
研究者番号：60188802

(2)研究分担者

()

研究者番号：

(3)連携研究者

安東 由喜雄 (ANDO, Yukio)

熊本大学・大学院生命科学研究部・教授
研究者番号： 20253742

池田 学 (IKEDA, Manabu)

熊本大学・大学院生命科学研究部・教授
研究者番号： 60284395

富口 静二 (TOMIGUCHI , Seiji)

熊本大学・大学院生命科学研究部・教授
研究者番号： 20172182