

長寿医療研究開発費 2019年度 総括研究報告（総合報告及び年度報告）

認知症の新規診断・治療薬の薬物動態評価のための PET first-in-human 試験
(29-29)

主任研究者 木村 泰之 国立長寿医療研究センター 脳機能画像診断開発部（室長）

研究要旨

3年間全体について

認知症の新規診断・治療薬の開発過程において、ヒトの標的組織における薬物濃度や動態は、開発方針を決定するにあたって有益な情報となる。本研究では、陽電子断層撮像法（PET）を用いて、新規診断・治療薬を陽電子放出核種で標識合成し、first-in-human 試験を実施し、標的組織における薬物濃度や動態といった情報を得ることを目的とした。

候補薬剤は、添田らが 2015 年にアルツハイマー病における神経細胞脱落を抑制する薬剤として *in vitro* およびモデルマウスの実験を用いて明らかにしたイソプレナリンである。イソプレナリンはタウ凝集抑制効果をきたすが、そのために必要な脳内最低有効濃度を、ヒトにおいて副作用なく達成できるかどうかは明らかではない。イソプレナリンのヒトにおける血中動態の報告はあるものの、これまで脳内動態の報告はない。したがって、タウ凝集抑制薬としてのフェーズ 2 試験における用量設定の根拠として、血漿中濃度-脳内濃度関係を明らかにすることが必要である。

本研究ではまず、PET マイクロドーズ試験を実施する前に、PET 検査における定量測定体制を確立した。また、動物 PET を用いて、安定して動脈血代謝物分析ができる体制を確立した。その結果、健常ラットにおいて、平衡状態では脳内のイソプレナリン濃度は血漿中の約 2 倍であることが推定された。さらに、臨床 PET 検査においても、動脈血採血の上代謝物分析ができる体制をととのえるため、既存の PET 薬剤において動脈血採血を実施し定量測定を行った。

¹¹C 標識イソプレナリン注射液の合成は、一般的な ¹¹C 標識 PET 薬剤と同程度の規格を達成できたが、その程度の比放射能では、PET 薬剤としての人への投与量がイソプレナリン 0.5 μg 相当となり薬理作用をきたし、マイクロドーズ試験の要件を満たさない可能性が高いと考えられた。

そこで、イソプレナリン(DL 体)とほぼ同等のタウ凝集抑制効果を認め、β 受容体刺激活性が低い異性体である D 体への変更を検討し、その ¹¹C 標識合成に成功した。D-イソプレナリンの安全性評価として、GLP 基準下で拡張型単回毒性試験を実施し、D-イソプレナリン L-酒石酸塩の 4 μg/kg をラットに単回静脈内投与しても毒性はみられなかった一方、

明らかな脈拍の増加を認めた。したがって、 β 受容体刺激活性が低い D-イソプレナリンにおいても、現状の比放射能 37 GBq/ μ mol 程度の規格では、薬理作用を認める用量の 1/100 以下の用量であることを要件とするマイクロドーズ試験を実施することは困難と考えられた。

本研究では first-in-human 試験の実施には至らなかったが、今後、本研究所内外で開発される新規診断・治療薬について、今回確立した体制を用いて、標的組織における薬物濃度や動態といった有益な情報を得ることが可能であると考えられる。

2019年度について

昨年度の検討において、 ^{11}C 標識イソプレナリン注射液の PET 薬剤として達成できた比放射能では、人への投与量はイソプレナリン 0.5 μg 相当となり薬理作用をきたす可能性が高いと考えられた。そこで、イソプレナリン(DL 体)とほぼ同等のタウ凝集抑制効果を認め、 β 受容体刺激活性が低い異性体である D 体への変更を検討し、その ^{11}C 標識合成に成功した。D-イソプレナリンの安全性評価として、GLP 基準下で拡張型単回毒性試験を実施し、D-イソプレナリン L-酒石酸塩の 4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ をラットに単回静脈内投与しても毒性はみられなかった一方、明らかな脈拍の増加を認めた。 β 受容体刺激活性が低い D-イソプレナリンにおいても、現状の比放射能 37 GBq/ μ mol 程度の規格では、薬理作用を認める用量の 1/100 以下の用量であることを要件とするマイクロドーズ試験を実施することは困難と考えられた。

主任研究者

木村 泰之 国立長寿医療研究センター 脳機能画像診断開発部 (室長)

分担研究者

鈴木 正昭 国立長寿医療研究センター 脳機能画像診断開発部 (特任研究員)

小縣 綾 国立長寿医療研究センター 脳機能画像診断開発部 (流動研究員)

(2018、2019 年度のみ)

研究期間 2017年4月1日～2020年3月31日

A. 研究目的

本研究の目的は、認知症の新規診断・治療薬の開発過程において、新規診断・治療薬を陽電子放出核種で標識合成し、陽電子断層撮像法 (PET) を用いて first-in-human 試験を実施し、標的組織における薬物濃度や動態などの有益な情報を得ることである。

B. 研究方法

3年間全体について

本研究計画は4つのステップにわけて研究を進めた。

1. まず、PET 検査における定量測定体制を確立した。ここでは既存の PET 薬剤と動物 PET を用いて、安定して動脈血代謝物分析ができる体制を確立した。
2. 次に、PET 薬剤を信頼性の高い基準で合成できる体制を構築した。新規 PET 薬剤の安定した品質での合成を可能にした。
3. さらに、新規 PET 薬剤の前臨床安全性評価を行った。新規 PET 薬剤を臨床使用するために必要な安全性評価や毒性試験、被曝線量試験を実施した。
4. 最後に、ヒトにおける PET マイクロドーズ試験は、イソプレナリンの高い活性のため実施できなかったが、頻回動脈採血・代謝物分析を行う臨床 PET 検査を実施し、ヒトにおける PET マイクロドーズ試験を実施するための体制を確立した。

2019年度について

¹¹C-イソプレナリンの有効成分であるイソプレナリンは、医薬品として承認され臨床的に使用されている（インタビューフォーム）。一方、後述の検討の結果、注射剤として承認されている L 体ではなく、L 体とほぼ同等のタウ凝集抑制効果を認め、 β 受容体刺激活性が低い異性体 D 体である ¹¹C-D-イソプレナリンを PET 用放射性薬剤として使用する方針とし、D-イソプレナリンの毒性評価を実施した。D-イソプレナリンの拡張型単回投与毒性試験は、日本核医学会の指針「分子イメージング臨床研究に用いる PET 薬剤についての基準、II.非臨床安全性基準」（2011年11月一部修正）に従い実施した。

具体的には、D-イソプレナリンの PET 用放射性薬剤としての臨床投与容量の100倍となる4 μ g/kg を雌雄各15匹の CrI:CD(SD)ラットに単回静脈内投与し、投与翌日に10匹及び投与後14日に5匹を剖検して、毒性について検討した。対照群（雌雄各15匹）には溶媒を同様の方法で投与し比較した。検討項目は、一般状態、体重、摂餌量、血液学的検査、血液生化学的検査、剖検及び器官重量とした。また薬理効果評価として、D-イソプレナリンを4 μ g/kg 経静脈投与した時の、脈拍を経時的に評価した。

（倫理面への配慮）

本研究における動物実験は、「動物の愛護及び管理に関する法律」や指針、ガイドラインに基づく、当センター動物実験取扱規定を遵守し、実施した。

C. 研究結果

3年間全体について

1. PET 検査における定量測定体制の確立

PET 検査における定量測定体制として、小動物 PET を用いた定量的測定、血液・脳中放射能濃度の測定、放射性代謝物分析を安定して実施できる体制を確立した。最初に、投与放射エネルギーを測定するためのドーズキャリブレーター、血液や脳試料中の放射エネルギーを測定

するガンマカウンターのキャリブレーションを実施し、さらに脳内放射能濃度を測定する小動物用 PET-CT カメラとそれらのクロスキャリブレーションを行った。さらに、複数の既存 PET 薬剤を用いて、健常ラットにおける体内動態測定を行い、測定系の妥当性を確認した。次に PET マイクロドーズ試験の候補薬剤であった ^{11}C 標識イソプレナリンを健常ラットに投与し、小動物 PET-CT カメラを用いた脳内放射能濃度の経時的測定および、大腿動脈より頻回動脈採血を行い、血液・血漿中放射能濃度の推移の測定、さらに経時的な放射性代謝物分析を実施した。また、投与約 10 分後に脳を摘出し、脳内の放射性代謝物分析を行った。その結果、経静脈投与された ^{11}C 標識イソプレナリンは速やかに代謝され、投与 10 分後にはほぼ消失していることが明らかになった。また、脳内の放射能は HPLC 上単一ピークであり、 ^{11}C 標識イソプレナリンが代謝されずに残存していることが示唆された。脳内放射能濃度の経時的変化と血漿中のイソプレナリン濃度の経時的変化にモデル解析を行い、平衡状態において、脳内のイソプレナリン濃度は血漿中の約 2 倍であることが推定された。

2. PET 薬剤を信頼性の高い基準で合成できる体制の構築

PET マイクロドーズ試験の候補薬剤であるイソプレナリンは、臨床試験に供するための PET 薬剤の安定した合成法の確立に向けて、製造プロセスの改善・最適化を行ない、一般的な PET 薬剤に求められる基準を満たす製剤の合成に成功した。また、PET 薬剤を合成し、有効性・安全性を評価し、製剤化のための規格を設定し、短寿命放射性薬剤臨床利用委員会および倫理・利益相反委員会の承認を経て、臨床使用できるようにする一連のステップを円滑に実現する体制を構築するため、すでに複数の施設で臨床利用され、有用性が高いと考えられる神経炎症イメージングリガンド ^{11}C -DPA713 の臨床導入を行った。まず、長寿研における合成法の最適化と、脳内・血中動態評価を行い、既知の健常ラットにおける脳内・血中動態と一致する結果を得た。さらに、神経炎症モデルラットにおいて、急性期の脳内の局所炎症を ^{11}C -DPA713 PET で捉えられることを確認した。 ^{11}C -DPA713 注射液は、製造過程のバリデーション試験を完了し、短寿命放射性薬剤臨床利用委員会の審査を受け、臨床使用について承認された。

3. 新規 PET 薬剤の前臨床安全性評価

^{11}C 標識イソプレナリン注射液を用いた first-in-human 試験を実施するにあたり、前臨床安全性評価を行った。まず、 ^{11}C 標識イソプレナリン注射液を投与した時に受ける被曝線量を、米国核医学会 medical internal radiation dose (MIRD) 法に従い、単位放射能あたりの実効線量として推定した。具体的には、 ^{11}C 標識イソプレナリン注射液をマウスに 0.1 mL (4-6 MBq) を尾静脈投与した。経時的に主要臓器における放射能濃度を測定し、その体内分布をヒト体内分布へ換算後、被曝線量推定ソフトを用いて成人の被曝線量を推定した。その結果、実効線量はヒト成人男性で 5.9 $\mu\text{Sv}/\text{MBq}$ 、女性で 7.5 $\mu\text{Sv}/\text{MBq}$ であると推定された。したがって、 ^{11}C 標識イソプレナリン注射液は、被曝線量に関して一般的な ^{11}C

標識 PET 薬剤と同等の安全性を有していると考えられた。

次にイソプレナリン静脈投与によるヒトにおける薬理作用について検討した。イソプレナリン注射液について、過去の臨床報告では、0.5 μg の経静脈ボラス投与で、自覚症状を伴うわずかな脈拍の上昇（3 拍/分）を認めていた（Khalsa et al. 2009）。 ^{11}C 標識イソプレナリン注射液の PET 薬剤として現在の規格では、人への投与量はイソプレナリン 0.5 μg 相当となり薬理作用をきたす可能性が高いと考えられた。

イソプレナリンの薬理作用に対する対策として、イソプレナリン(DL 体)とほぼ同等のタウ凝集抑制効果を認め、 β 受容体刺激活性が低い異性体である D 体へ変更し、その ^{11}C 標識合成に成功した。D-イソプレナリンの β 受容体刺激活性は DL 体の 1/50 程度と報告されている（Dornhorst and Herxheimer. 1958）。

D-イソプレナリンの安全性評価として、GLP 基準下で拡張型単回毒性試験を実施した。具体的には、D-イソプレナリン L-酒石酸塩 4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ をラットに単回静脈内投与し、投与翌日および、投与後 14 日に血液検査および剖検して、毒性について検討した。4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ は、PET 薬剤として比放射能 37 GBq/ μmol を規格とした場合の最大投与有効成分量の 100 倍量である。結果、対照群を含む投薬群で淡赤色、緑もしくは赤褐色の尿が観察された以外、投薬に起因する異常はみられなかった。従って、D-イソプロテレノール L-酒石酸塩の 4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ をラットに単回静脈内投与しても毒性はみられなかった一方、明らかな脈拍の増加を認めた。したがって、 β 受容体刺激活性が低い D-イソプレナリンにおいても、現状の比放射能 37 GBq/ μmol 程度の規格では、薬理作用を認める用量の 1/100 以下の用量であることを要件とするマイクロドーズ試験を実施することは困難と考えられた。

4. ヒトにおける PET マイクロドーズ試験

上述の通り、イソプレナリンおよび D-イソプレナリンは β 受容体刺激活性が高く、一般的な PET リガンドの規格では、標識薬剤の投与試験がマイクロドーズ試験の要件を満たさないことが明らかになった。より β 受容体刺激活性の低い D-イソプレナリンの ^{11}C 標識薬剤を、非常に高い比放射能（例えば 370 GBq/ μmol 以上）で合成することができれば、マイクロドーズ試験を実施できる可能性があるが、その合成法の確立には相当な時間を要すると考えられた。

一方、ヒトにおける PET マイクロドーズ試験においては、頻回動脈採血・代謝物分析を行う臨床 PET 検査を実施することで、定量的な評価が可能になる。first-in-human 試験ではないが、前述の ^{11}C -DPA713 を用いてアルツハイマー病患者の神経炎症を画像化する臨床研究計画を精神科と共同で立案し、倫理・利益相反委員会で審査され、承認された。これまでにアルツハイマー病患者 7 例に対し、動脈採血・代謝物分析を行う臨床 PET 検査を実施し、PET イメージング、動脈採血、血液中放射能濃度測定、タンパク結合率測定に成功した。一方、放射性代謝物測定にはさらなる感度調整が必要と考えられた。ここで確立した手技・体制を、ヒトにおける PET マイクロドーズ試験や今後開発される新規 PET 薬剤

の first-in-human 試験において活用する予定である。

2019年度について

D-イソプレナリンの安全性評価として、GLP 基準下で拡張型単回毒性試験を実施した。具体的には、D-イソプレナリン L-酒石酸塩 4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ をラットに単回静脈内投与し、投与翌日および、投与後 14 日に血液検査および剖検して、毒性について検討した。4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ は、PET 薬剤として比放射能 37 GBq/ μmol を規格とした場合の最大投与有効成分量の 100 倍量である。結果、対照群を含む投薬群で淡赤色、緑もしくは赤褐色の尿が観察された以外、投薬に起因する異常はみられなかった。従って、D-イソプロテレノール L-酒石酸塩の 4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ をラットに単回静脈内投与しても毒性はみられなかった一方、明らかな脈拍の増加を認めた。したがって、 β 受容体刺激活性が低い D-イソプレナリンにおいても、現状の比放射能 37 GBq/ μmol 程度の規格では、薬理作用を認める用量の 1/100 以下の用量であることを要件とするマイクロドーズ試験を実施することは困難と考えられた。

一方、ヒトにおける PET マイクロドーズ試験においては、頻回動脈採血・代謝物分析を行う臨床 PET 検査を実施することで、定量的な評価が可能になる。first-in-human 試験ではないが、前述の ^{11}C -DPA713 を用いてアルツハイマー病患者の神経炎症を画像化する臨床研究計画を立案し、倫理・利益相反委員会で審査され、承認された。これまでにアルツハイマー病患者 7 例に対し、動脈採血・代謝物分析を行う臨床 PET 検査を実施した。PET イメージング、動脈採血、血液中放射能濃度測定、タンパク結合率測定は成功したが、放射性代謝物測定にはさらなる感度調整が必要と考えられた。ここで手技・体制を確立し、ヒトにおける PET マイクロドーズ試験や今後開発される新規 PET 薬剤の first-in-human 試験において活用する予定である。

D. 考察と結論

3年間全体について

本研究において、PET を用いて、新規診断・治療薬を陽電子放出核種で標識合成し、first-in-human 試験を実施し、標的組織における薬物濃度や動態といった情報を得る体制を確立することができた。さらに、認知症の新規治療薬の候補としてのイソプレナリンを陽電子放出核種で標識合成し、PET を用いて、ラット脳における薬物濃度や動態などの有益な情報を得た。しかし、イソプレナリンおよび D-イソプレナリンは高い β 受容体刺激活性を有し、達成できた比放射能では、標識薬剤の投与試験がマイクロドーズ試験の要件を満足することはできず、first-in-human 試験の実施には至らなかった。今後、本研究所内外で開発される新規診断・治療薬について、今回確立した体制を用いて、標的組織における薬物濃度や動態といった有益な情報を得ることが可能であると考えられる。

E. 健康危険情報

なし

F. 研究発表

1. 論文発表

2019 年度

- 1) Ikenuma H, Koyama H, Kajino N, Kimura Y, Ogata A, Abe J, Kawasumi Y, Kato T, Takashima A, Ito K, Suzuki M. Synthesis of (*R,S*)-isoproterenol, an inhibitor of tau aggregation, as an ¹¹C-labeled PET tracer *via* reductive alkylation of (*R,S*)-norepinephrine with [2-¹¹C]acetone. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2019;29, 16, 2107-2111.
- 2) Ogata A, Kimura Y, Ikenuma H, Yamada T, Abe J, Koyama H, Suzuki M, Ichise M, Kato T, Ito K. Brain pharmacokinetics and biodistribution of ¹¹C-labeled isoproterenol in rodents. *Nucl Med Biol.* 2020, 86-87:52-58

2. 学会発表

2019 年度

- 1) 池沼宏、古山浩子、木村泰之、阿部潤一郎、川角保広、小縣綾、山田貴史、加藤隆司、伊藤健吾、鈴木正昭 : Improved (*R,S*)-[¹¹C]isoproterenol formulation toward clinical study. 第 59 回日本核医学会学術総会 2019 年 11 月 2 日 松山市
- 2) Ikenuma H, Ogata A, Kimura Y, Koyama H, Abe J, Yamada T, Ichise M, Kato T, Suzuki M, Ito K. Formulation of ¹¹C-labeled (*R,S*)-isoproterenol and pharmacokinetic studies in rats. *Brain & Brain PET 2019*, July 4-7 2019, Yokohama, Japan

2018 年度

- 1) Ikenuma H, Koyama H, Kajino N, Kimura Y, Ogata A, Abe J, Kawasumi Y, Kato T, Suzuki M, Ito K: Synthesis of ¹¹C-Labeled (*R,S*)-Isoproterenol and Preclinical PET Study. *The World Molecular Imaging Congress 2018 (WMIC2018)*, September 13, 2018, Seattle, USA
- 2) Ogata A, Kimura Y, Yamada T, Bin Ji, Seki C, Ichise M, Abe J, Ikenuma H, Koyama H, Suzuki M, Kato T, Ito K: Development of PET imaging of Colony Stimulating Factor 1 Receptor Expressed on Microglia. *The XII International Symposium of Functional Neuroreceptor Mapping of the Living Brain (NRM2018)*, July 12, 2018, London, UK
- 3) Ogata A, Kimura Y, Yamada T, Bin Ji, Seki C, Ichise M, Abe J, Ikenuma H, Koyama H, Suzuki M, Kato T, Ito K: The evaluation of a novel PET ligand for colony stimulating factor 1 receptor in status epilepticus model rat brains.

EANM'18 - Annual Congress of the European Association of Nuclear Medicine, October 13-17, 2018, Düsseldorf, Germany

- 4) 古山浩子、泉関督人、鈴木正昭：プロスタグランジン一般合成法の要となる「3成分連結プロセス」のグリーン化と新たな神経保護活性 TIC 類合成中間体への応用．日本化学会第 99 春季年会、2019 年 3 月 16 日、神戸

2017 年度

- 1) Ikenuma H, Koyama H, Kimura Y, Abe J, Kawasumi K, Ogata A, Kato T, Ito K, Suzuki M: Improved Synthesis of ^{11}C -labeled (*R,S*)-isoproterenol via reductive alkylation of (*R,S*)-norepinephrine with $[2-^{11}\text{C}]$ acetone, *World Molecular Imaging Congress 2017*, Sep 13-16, Philadelphia, USA
- 2) Ikenuma H, Koyama H, Kimura Y, Abe J, Kawasumi K, Ogata A, Kato T, Ito K, Suzuki M. Synthesis of highly-qualified ^{11}C -labeled (*R,S*)-isoproterenol aimed at a clinical study, *The 12th Asia Oceania Congress of Nuclear Medicine and Biology*, October 5-7, 2017, Yokohama
- 3) Ogata A, Kimura Y, Ikenuma H, Koyama H, Seki C, Yamada T, Suzuki M, Kato T, Ito K. Brain penetration of isoproterenol as a drug of dementia measured in rats with a micro-PET, *The 12th Asia Oceania Congress of Nuclear Medicine and Biology*, October 5-7, 2017, Yokohama
- 4) 池沼 宏、古山浩子、木村泰之、阿部潤一郎、川角保広、小縣 綾、加藤隆司、伊藤健吾、鈴木正昭．臨床研究を目的とした ^{11}C 標識化(*R,S*)-イソプロテレノールの高効率合成法の開発、第 57 回日本核医学会学術総会、2017 年 10 月 5-7 日、横浜
- 5) 小縣 綾、木村泰之、池沼 宏、古山浩子、関千江、山田貴史、鈴木正昭、加藤隆司、伊藤健吾．認知症治療薬としてのイソプロテレノールの小動物 PET を用いたラット脳内移行性の検討、第 57 回日本核医学会学術総会、2017 年 10 月 5-7 日、横浜
- 6) 梶野直也、池沼 宏、古山浩子、木村泰之、阿部潤一郎、川角保広、小縣 綾、加藤隆司、伊藤健吾、鈴木正昭．還元的アルキル化反応による ^{11}C 標識(*R,S*)-イソプロテレノールの高効率合成、第 48 回中部化学関係学協会支部連合秋季大会、2017 年 11 月 11-12 日、岐阜大学

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他

なし