

|      |       |
|------|-------|
| 課題番号 | LS060 |
|------|-------|

**先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム)  
実施状況報告書(平成 25 年度)**

本様式の内容は一般に公表されます

|                |                                      |
|----------------|--------------------------------------|
| 研究課題名          | アルツハイマー病の診断・治療に資する次世代分子イメージングプローブの開発 |
| 研究機関・<br>部局・職名 | 京都大学・大学院薬学研究科・准教授                    |
| 氏名             | 小野正博                                 |

1. 当該年度の研究目的

平成25年度は、新規プローブの設計・合成・評価実験を繰り返すことによって、候補化合物の最適化を行うとともに、平成24年度までの検討で良好な結果が得られた化合物に関して、病態モデルマウスを用いたインビボ撮像実験を行う。すなわち、Aβおよびタウのトランスジェニックマウスに、PET/SPECT 用プローブあるいは近赤外蛍光プローブを投与し、動物用 PET/SPECT 装置あるいは動物用蛍光イメージング装置を用いて、生体イメージングを行う。撮像後は、脳を摘出し、凍結切片を作製後、放射性プローブの場合は、オートラジオグラフィによる放射線検出、近赤外蛍光プローブの場合は、蛍光顕微鏡による蛍光観察を行い、Aβおよびタウへの結合性を評価する。生体イメージングに成功した化合物に関しては、Aβおよびタウの発現量が異なるモデルマウスを使用して、これらのマウスに投与後の PET/SPECT あるいは蛍光イメージングを行い、放射能強度および蛍光強度と Aβおよびタウの発現量との相関を検討する。さらに、基礎的な毒性試験を行い、臨床研究の可能性について評価する。また、脳内にアミロイド凝集体として沈着する他疾患の病因タンパク質である、αシヌクレインへの結合性を検討し、化合物の結合特異性の評価も行う。

2. 研究の実施状況

平成25年度は、平成24年度までと同様に、新規候補化合物を設計・合成し、それら化合物の Aβおよびタウタンパク質凝集体への結合親和性とマウス体内放射能動態に関する検討を継続した。また平成24年度までの検討において、Aβおよびタウイメージングプローブとして有望な性質を示したプローブに関しては、病態モデルマウスを用いて、そのイメージングプローブとしての有用性を検討した。プローブを各病態マウスに投与後、マウスを屠殺、脳を摘出し、凍結組織切片作製用マイクロームにより、凍結脳切片を作製し、その脳切片上のオートラジオグラフィによる放射能分布あるいは蛍光プローブの蛍光分布と、Aβおよびタウの抗体を用いた免疫染色、チオフラビン S などのアミロイド蛍光染色剤で処理後の蛍光分布との比較検討より、プローブの Aβおよびタウタンパク質凝集体への結合性について評価を行った。その結果、臨床応用に向けて有望な2種類のプローブに関しては、さらに拡張型単回静脈内投与毒性試験を行っ

た。また、昨年度までに拡張型単回静脈内投与毒性試験で安全性を確認したプローブに関しては、アルツハイマー病患者および健常ボランティアにおける臨床研究を開始した。一方、本研究で開発した種々の化合物に関して、レビー小体型認知症やパーキンソン病の脳内でアミロイド凝集体として認められる $\alpha$ シヌクレインへの結合性を検討したところ、 $\beta$ アミロイドやタウ凝集体とは異なる結合性を示し、それぞれのアミロイド凝集体に特異的な結合性を有するプローブ開発の可能性が示唆された。

### 3. 研究発表等

|       |  |
|-------|--|
| 雑誌論文  | (掲載済み一査読有り) 計 5 件  |
| 計 8 件 | <ol style="list-style-type: none"> <li>1) Matsumura K, <u>Ono M*</u>, Yoshimura M, Kimura H, Watanabe H, Okamoto Y, Ihara M, Takahashi R, Saji H. Synthesis and biological evaluation of novel styryl benzimidazole derivatives as probes for imaging of neurofibrillary tangles in Alzheimer's disease. <i>Bioorganic &amp; Medicinal Chemistry</i>, <b>21</b>(11), 3356–62 (2013).</li> <li>2) Yoshimura M, <u>Ono M*</u>, Matsumura K, Watanabe H, Kimura H, Cui M, Nakamoto Y, Togashi K, Okamoto Y, Ihara M, Takahashi R, Saji H. Structure–activity relationships and in vivo evaluation of quinoxaline derivatives for PET imaging of <math>\beta</math>-amyloid plaques. <i>ACS Medicinal Chemistry Letters</i>, <b>4</b>(7), 596–600 (2013).</li> <li>3) <u>Ono M*</u>, Cheng Y, Kimura H, Watanabe H, Matsumura K, Yoshimura M, Iikuni S, Okamoto Y, Ihara M, Takahashi R and Saji H. Development of novel <math>^{123}\text{I}</math>-labeled pyridyl benzofuran derivatives for SPECT imaging of <math>\beta</math>-amyloid plaques in Alzheimer's disease. <i>PLoS ONE</i>, <b>8</b>(9), e74104 (2013).</li> <li>4) Watanabe H, <u>Ono M*</u>, Kimura H, Yoshimura M, Iikuni S, Okamoto Y, Ihara M, Takahashi R, Saji H. Novel radioiodinated 1,3,4-oxadiazole derivatives with improved in vivo properties for SPECT imaging of <math>\beta</math>-amyloid plaques. <i>MedChemComm</i>, <b>5</b>(1), 82–5 (2014).</li> <li>5) Cui M, <u>Ono M*</u>, Watanabe H, Kimura H, Liu B, Saji H. Smart near-infrared fluorescence probes with donor–acceptor structure for in vivo detection of <math>\beta</math>-amyloid deposits. <i>Journal of the American Chemical Society</i>, <b>136</b> (9), 3388–94 (2014).</li> </ol> |
|       | (掲載済み一査読無し) 計 1 件  |
|       | 1) 渡邊裕之、小野正博、「タウイメージング」、PET journal, 23, 24–5 (2013).  |
|       | (未掲載) 計 2 件  |
|       | 1) Fuchigami T, Yamashita Y, Haratake M, <u>Ono M</u> , Yoshida S, Nakayama M. Synthesis and evaluation of ethyleneoxylated and allyloxylated chalcone derivatives for imaging of amyloid $\beta$ plaques by SPECT. <i>Bioorganic &amp; Medicinal Chemistry</i> , in press.  |
|       | 2) Iikuni S, <u>Ono M*</u> , Watanabe H, Matsumura K, Yoshimura M, Harada N, Kimura H, Nakayama M, Saji H. Enhancement of binding affinity for amyloid aggregates by multivalent interactions of $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -hydroxamamide complexes, <i>Molecular Pharmaceutics</i> , in press.   |
|       | *コレスポンディングオーサーを示す  |

様式19 別紙1

|                      |  |
|----------------------|--|
| <p>会議発表<br/>計18件</p> | <p>専門家向け 計17件</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1) Matsumura K, <u>Ono M</u>, Yoshimura M, Kimura H, Okamoto Y, Ihara M, Takahashi R, Saji H. 「Synthesis and characterization of novel styrylbenzimidazole and benzoimidazopyrimidine derivatives as probes for in vivo imaging of cerebral neurofibrillary tangles」、20th International Symposium on Radiopharmaceutical Sciences, ICC JEJU, Jeju, Korea, May 12-17, 2013.</li> <li>2) 渡邊裕之、<u>小野正博</u>、崔孟超、木村寛之、佐治英郎、「脳内βアミロイドタンパク質の生体イメージングを目的とした新規近赤外蛍光プローブの開発」、第8回日本分子イメージング学会、平成25年5月30-31日、横浜</li> <li>3) <u>小野正博</u>、「脳内βアミロイドを標的とした分子イメージングプローブの開発」、第29回日本 DDS 学会学術集、平成25年7月5日、京都</li> <li>4) <u>小野正博</u>、「アルツハイマー病の生体分子イメージング」、第31回九州分析化学若手の会夏季セミナー、平成25年7月26日、長崎</li> <li>5) <u>小野正博</u>、「アミロイドイメージングプローブ開発の現状と展望」、PET サマーセミナー2013、平成25年8月24日、金沢</li> <li>6) 飯國慎平、<u>小野正博</u>、渡邊裕之、木村寛之、中山守雄、佐治英郎、「新規 2 価 <sup>99m</sup>Tc-Ham 錯体のアミロイド結合性の増強効果」、第 11 回次世代を担う若手のためのフィジカル・ファーマフォーラム (PPF2013) 平成25年8月29-30日、箱根</li> <li>7) 渡邊裕之、<u>小野正博</u>、木村寛之、佐治英郎、「アクチベータブル蛍光プローブを用いたβアミロイドタンパク質の生体イメージング」、第63回日本薬学会近畿支部総会、平成25年10月12日、京都</li> <li>8) <u>小野正博</u>、「神経変性疾患の生体分子イメージング」、第13回京滋神経変性疾患研究会、平成25年11月7日、京都</li> <li>9) 渡邊裕之、<u>小野正博</u>、飯國慎平、木村寛之、佐治英郎、「ピリジルベンゾオキサゾールを母核とした SPECT 用βアミロイドイメージングプローブの開発」、第53回日本核医学会学術総会、平成25年11月8-10日、博多</li> <li>10) 松村憲志、<u>小野正博</u>、吉村優志、木村寛之、佐治英郎、「アルツハイマー病脳内のタウ標的核医学イメージングプローブの合成と評価」、第53回日本核医学会学術総会、平成25年11月8日、博多</li> <li>11) 飯國慎平、<u>小野正博</u>、渡邊裕之、木村寛之、中山守雄、佐治英郎、「アミロイド結合性の向上を目指した <sup>99m</sup>Tc-ヒドロキサムアミド錯体の合成とその基礎的評価」、第13回放射性医薬品・画像診断薬研究会、平成25年12月14日、京都</li> <li>12) <u>Masahiro Ono</u>, 「Development of PET/SPECT imaging agents for in vivo detection of β-amyloid plaques in Alzheimer's disease」, The fifteenth Conference of Peace through Mind/Brain Science, February 19, 2014, Hamamatsu.</li> <li>13) <u>Masahiro Ono</u>, 「Development of PET/SPECT Radiotracers for Molecular Imaging in Alzheimer's Disease」, Special Lecture, International Workshop on Molecular Functional Imaging for Brain and Gynecologic Oncology, March 3, 2014, Fukui.</li> <li>14) 松村憲志、<u>小野正博</u>、佐治英郎、「アルツハイマー病の神経原線維変化を標的とする放射性分子イメージングプローブの開発」、第134年会日本薬学会シンポジウム、平成26年3月27-30日、熊本</li> <li>15) 飯國慎平、<u>小野正博</u>、渡邊裕之、木村寛之、佐治英郎、「脳アミロイドアンギオパチーを標的とした生体分子イメージングプローブの開発」、第134回日本薬学会、平成26年3月27-30日、熊本</li> </ol> |
|----------------------|--|

様式19 別紙1

|                                     |  |
|-------------------------------------|--|
|                                     | <p>16) 吉村優志、<u>小野正博</u>、木村寛之、佐治英郎、「<u>膵島内アミリンを標的とした糖尿病分子イメージング診断用プローブの開発に関する基礎的検討</u>」、第134回日本薬学会、平成26年3月27-30日、熊本</p> <p>17) 土井雄貴、<u>小野正博</u>、渡邊裕之、松村憲志、吉村優志、木村寛之、佐治英郎、「<u>αシヌクレインの生体イメージングを目的としたカルコン類縁体の合成と評価</u>」、第134回日本薬学会、平成26年3月27-30日、熊本</p> <p>一般向け 計1件</p> <p>1) <u>小野正博</u>、「<u>アルツハイマー病の診断・治療に資するバイオイメージング</u>」、第22回日本バイオイメージング学会学術集会 公開講座、平成25年9月14日、東京</p> |
| <p>図書</p> <p>計0件</p>                |  |
| <p>産業財産権<br/>出願・取得状況</p> <p>計0件</p> | <p>(取得済み) 計0件</p> <p>(出願中) 計0件</p>   |
| <p>Webページ<br/>(URL)</p>             | <p>京都大学薬学研究科 病態機能分析学分野</p> <p><a href="http://www.pharm.kyoto-u.ac.jp/byotai/">http://www.pharm.kyoto-u.ac.jp/byotai/</a></p>  |
| <p>国民との科学・技術対話の実施状況</p>             | <p>標題: 京都大学オープンキャンパス 2013「最先端・次世代研究開発支援プログラム展示コーナー」</p> <p>実施日: 平成 25 年 8 月 7 日</p> <p>場所: 京都大学薬学部</p> <p>対象者: 高校生およびその保護者</p> <p>参加者数: 400 名</p> <p>内容: 京都大学大学院薬学研究科にて実施されたオープンキャンパスにて、「最先端・次世代研究開発支援プログラム」の研究内容について、ポスター展示するとともに、来場者に説明を行った。</p>   |
| <p>新聞・一般雑誌等掲載</p> <p>計0件</p>        |  |
| <p>その他</p>                          |  |

4. その他特記事項

渡邊裕之、小野正博ら:ピリジルベンゾオキサゾールを母核とした SPECT 用βアミロイドイメージングプローブの開発、第53回日本核医学会学術総会、日本脳神経核医学研究会奨励賞 JCNN 最優秀ポスター賞 2013を受賞、平成25年11月8-10日(博多)

## 実施状況報告書(平成25年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されません

## 1. 助成金の受領状況(累計)

(単位:円)

|      | ①交付決定額      | ②既受領額<br>(前年度迄の<br>累計) | ③当該年度受<br>領額 | ④(=①-②-<br>③)未受領額 | 既返還額(前<br>年度迄の累<br>計) |
|------|-------------|------------------------|--------------|-------------------|-----------------------|
| 直接経費 | 111,000,000 | 74,000,000             | 37,000,000   | 0                 | 0                     |
| 間接経費 | 33,300,000  | 22,200,000             | 11,100,000   | 0                 | 0                     |
| 合計   | 144,300,000 | 96,200,000             | 48,100,000   | 0                 | 0                     |

## 2. 当該年度の収支状況

(単位:円)

|      | ①前年度未執<br>行額 | ②当該年度受<br>領額 | ③当該年度受<br>取利息等額<br>(未収利息を除<br>く) | ④(=①+②+<br>③)当該年度<br>合計収入 | ⑤当該年度執<br>行額 | ⑥(=④-⑤)<br>当該年度未執<br>行額 | 当該年度返還<br>額 |
|------|--------------|--------------|----------------------------------|---------------------------|--------------|-------------------------|-------------|
| 直接経費 | 15,582,426   | 37,000,000   | 0                                | 52,582,426                | 52,582,426   | 0                       | 0           |
| 間接経費 | 11,100,000   | 11,100,000   | 0                                | 22,200,000                | 22,200,000   | 0                       | 0           |
| 合計   | 26,682,426   | 48,100,000   | 0                                | 74,782,426                | 74,782,426   | 0                       | 0           |

## 3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

|         | 金額         | 備考                 |
|---------|------------|--------------------|
| 物品費     | 29,732,082 | 実験機器、実験試薬 等        |
| 旅費      | 701,880    | 研究成果発表、研究情報収集 等    |
| 謝金・人件費等 | 8,517,962  | 非常勤教職員人件費 等        |
| その他     | 13,630,502 | 学会参加費、英文校正、マウス飼育 等 |
| 直接経費計   | 52,582,426 |                    |
| 間接経費計   | 22,200,000 |                    |
| 合計      | 74,782,426 |                    |

## 4. 当該年度の主な購入物品(1品又は1組若しくは1式の価格が50万円以上のもの)

| 物品名                               | 仕様・型・性能<br>等          | 数量 | 単価<br>(単位:円) | 金額<br>(単位:円) | 納入<br>年月日 | 設置研究機関<br>名 |
|-----------------------------------|-----------------------|----|--------------|--------------|-----------|-------------|
| 総合計算化学システム                        | MOE 3トークン             | 1  | 982,800      | 982,800      | 2013/4/16 | 京都大学        |
| 株式会社島津製作<br>所製 島津高速液<br>体クロマトグラフ  | Prominence LC<br>-2   | 1  | 3,507,000    | 3,507,000    | 2013/7/18 | 京都大学        |
| 株式会社ユニバー<br>サル技研製 HPL<br>C用放射能検出機 | US-3000T              | 1  | 1,638,000    | 1,638,000    | 2013/8/19 | 京都大学        |
| 米国BRANDEL社<br>製 セルハーベス<br>ター      | (24サンプルシステ<br>ム) M-24 | 1  | 1,713,285    | 1,713,285    | 2013/9/20 | 京都大学        |