

## 分子イメージング技術と創薬：製薬企業の立場からの一考察

矢嶋一賀,\* 西村伸太郎

Consideration on Molecular Imaging Technology as a Tool  
for Drug Research and Development

Kazuyoshi YAJIMA\* and Shintaro NISHIMURA

Bioimaging, Applied Pharmacology Research Laboratories, Astellas Pharma Inc.,  
21 Miyukigaoka, Tsukuba, Ibaraki 305-8585, Japan

(Received September 19, 2008)

Molecular imaging technology such as positron emission tomography (PET) and magnetic resonance imaging (MRI) are known as powerful tools for clinical diagnosis in neurology, oncology and so on. As applications to new drug research and development, there are three methodologies which are PK (Pharmacokinetics study), PD (Pharmacodynamic study), and efficacy study. When we use these methodologies for the drug research, we must consider construction of technological environment (tracer, animal model, imaging analysis software, and clinical database) and regulatory environment for GMP (Good Manufacturing Practice) and GCP (Good Clinical Practice) level. Additionally, concept of microdosing and exploratory clinical study was proposed in western countries and the guidance on microdosing study was also announced by Health, Labor and Welfare Ministry on Jun. 3rd 2008. However they may be still in learning phase, we must meet with complexity, high cost, and indigestion. To promote molecular imaging technology into the drug research, integration of the scientists between academia and industry is important because it needs much type of the advanced technologies and skills.

**Key words**—positron emission tomography; pharmacokinetics study; pharmacodynamic study; efficacy study

## 1. はじめに

医薬品開発における分子イメージングの手法としては、基礎生命科学などの分野で幅広く用いられている蛍光イメージングが最も知られた手法である。その一方で、最近ではMRI、X線CT、PETなど医療モダリティを利用した手法が使われ始めてきた。蛍光は、遺伝子導入技術を応用することによる薬効薬理試験や、*ex vivo*との互換性に優れた面がある一方で、深部組織では蛍光が減衰し測定できないため大動物には不向きという短所も持っている。それぞれの手法で一長一短があり、目的に応じて適した手法の選択あるいは組み合わせが必要である。

われわれのグループは、分子イメージングツールとしてPETを用いた創薬研究を推進してきた。

PETは先進画像診断技術として医療現場で利用されており、「生きたまま」の状態での薬効評価や開発候補品の薬物動態解析が可能で、同じプロトコールで動物、ヒトの測定ができることからトランスレーショナル研究の有力なツールとして期待されている。医薬品開発におけるPETの利用の仕方としては、薬物動態測定、受容体占有率測定、薬効薬理試験が代表的な適用方法である。本稿では、われわれが行ってきた具体的な事例及びPET技術を創薬に応用する際の技術的課題と取り組みに関して述べる。

## 2. 分子イメージングツールとしてのPET

**2-1. PETの特徴** 分子イメージングの観点からPETをみた場合、以下の特徴がある。まず、多種多様な標識化合物(PETトレーサ)を用いることができる点が挙げられる。PETトレーサは化合物にポジトロン核種(Table 1)を用いて標識することにより得られるが、特に医薬品開発の候補となり得る有機化合物には通常炭素が含まれており、<sup>11</sup>Cを用いて多様な標識化合物を得ることができ

アステラス製薬(株)開発薬理研究所画像解析研究室(〒305-8585 茨城県つくば市御幸が丘21)

\*e-mail: yajima@mprcf.or.jp

本総説は、日本薬学会第128年会シンポジウムS36で発表したものを中心に記述したものである。

Table 1. Positron Emitters

Positron Emitter	Half-life [min]
$^{11}\text{C}$	20.4
$^{13}\text{N}$	9.96
$^{15}\text{O}$	2.03
$^{18}\text{F}$	110

る。また、ポジトロン核種は一对の高いエネルギーのガンマ線 (511 keV) を出すために透過力が強く、小動物はもちろん、大動物、ヒトなどの深部組織も非侵襲的に定量測定できることも大きな強みである。一方でポジトロン核種は、Table 1 に示した通り、半減期が極めて短いという特性も持っている。比放射能は物理的半減期に比例して高いため、PET トレーサは  $^{14}\text{C}$  (半減期: 5730 年) や  $^3\text{H}$  (同: 12.3 年) などの長半減期核種と比べて極めて高い比放射能が得られる。そのため、神経伝達機能や遺伝子発現などに係わる微量物質のイメージングができる。PET は MRI や X 線 CT とは異なり、生体内の形態的な描出は不得意であるが、適切な PET トレーサを選択することにより、生体内組織における薬剤濃度分布だけでなく、血流・グルコース代謝などターゲットとなる臓器組織における機能を画像化することを得意としている。さらに最近では、MRI あるいは CT 画像と PET 画像を重ね合わせることで双方の長所を生かした解析も行われている。

**2-2. PET 試験の種類** PET の特徴を踏まえ、創薬に生かしていく方法として、1) 開発候補品の PET 標識体を用いた PK (Pharmacokinetics) 試験、2) 薬剤のターゲット受容体における占有率を測定する PD (Pharmacodynamics) 試験、3) 種々の PET トレーサを用いた生体機能測定による薬効評価試験等が考えられる。

PET を用いた PK 試験は、一般的にポジトロン核種により標識した開発候補品と薬効用量付近の標識していない開発候補品の混合物を投与し、その薬物動態を画像・定量化する。臨床試験においては従来の医薬品開発における臨床第 I 相試験 (Phase I) に準ずるものである。最近では PET トレーサのみを投与するいわゆる“マイクロドーズ臨床試験”が注目されている。従来の Phase I よりも早い段階

で、ヒトにトレーサ量投与することにより、薬物動態のスクリーニングを行おうというもので、これにより医薬品開発効率 (時間, コスト) の向上が期待されている。欧州においては規制当局である EMEA (The European Agency for the Evaluation of Medical Products Evaluation of Medicines for Human Use) が 2003 年にマイクロドーズ臨床試験に関する政策方針書を発表し、<sup>1)</sup> 2006 年には米国において同 FDA (Food and Drug Administration) が EMEA のマイクロドーズ臨床試験を拡張した Exploratory-IND ガイダンスを発表している。<sup>2)</sup> 日本においても、2008 年 6 月に厚生労働省より“マイクロドーズ臨床試験の実施に関するガイダンス”が発表された。今後 PET を用いた PK 試験の可能性が期待される場所であるが、その適用に当たっては薬剤の線形性や開発の効率性など様々な側面からの慎重な検討が必要と思われる。

PET を用いた PD 試験では、薬剤がターゲットとする受容体に特異的なリガンドをトレーサとして用い、薬剤と受容体の結合を画像・定量化する。特徴としては、複数の薬剤を 1 つのリガンドで比較評価することが可能なこと、複数の測定タイムポイントにおける測定が可能なが挙げられる。ただし、PET トレーサに用いることができるリガンドが限られていることから、今後新規 PET トレーサの開発により PD 試験の適用範囲を広げることが課題である。

PET を用いた薬効評価試験は、薬効メカニズムに基づいて変化すると予想される生体機能 (血流・グルコース代謝など) を、適切な PET トレーサを用いて測定することにより、薬剤投与前後の変化を定量的に比較して薬効を評価するなどの方法が考えられる。具体例として、FDG (2- $^{18}\text{F}$  fluoro-2-deoxy-D-glucose) はグルコース代謝をみることができることから、臨床においてがんを描出できる極めて有用な薬剤として知られており、<sup>3,4)</sup> 日本では唯一臨床診断薬として保険適応されている PET トレーサである。FDG を用いることにより、抗がん剤や抗認知症薬の薬効評価に応用することが考えられる。

**2-3. 事例研究** われわれのグループがこれまでに PET を用いて行った試験の中から、以下に 2 つの事例について紹介する。

### 2-3-1. アデノシン A<sub>2A</sub> 拮抗剤の受容体占有率測定試験

本試験は、競合する薬剤を含む複数のアデノシン A<sub>2A</sub> 受容体拮抗剤について受容体占有率の比較を行い、開発候補品のスクリーニング及び競合する薬剤との差別化を図ることを目的としたものである。アデノシン A<sub>2A</sub> 受容体リガンドとしては Fig. 1 に示す SCH442416<sup>5)</sup> の図中\*の箇所を <sup>11</sup>C 標識して用いた。対象としたアデノシン A<sub>2A</sub> 受容体拮抗剤は、自社の開発候補品薬剤として ASP7446 と ASP5854<sup>6)</sup> の 2 薬剤を、また対照薬として KW6002<sup>7)</sup> を選択した。試験には雄性アカゲザル ( $n=6, 3-8 y$ ) を用いた。まず、薬剤を投与しない状態で [<sup>11</sup>C]SCH442416 を静脈内投与し、PET 測定を行った [Fig. 2(A)]. 次に各薬剤を投与し、その後の経時変化を PET で測定した [Fig. 2(B)].

Figure 2(A) に示したように、 [<sup>11</sup>C]SCH442416 はアデノシン A<sub>2A</sub> 受容体が多く発現する線条体 (左右対称で赤い領域) を描出していることが分かる。一方、薬剤を投与した Fig. 2(B) では、線条体における [<sup>11</sup>C]SCH442416 の集積が減少していることから、投与したアデノシン A<sub>2A</sub> 拮抗剤が受容体を占有していることが分かる。これらの画像から、ASP5854 が最も低用量で受容体を占有し、しかも持続性があることが一目でみて取ることができる。

PET ではこのような画像表現に留まらず、定量的な解析も行うことができる。Figure 3 は薬剤投与 1 時間後における各薬剤の受容体占有率をグラフ化したものである。サル の 体重 当 たり の 投 与 量 で 比 較 すると、ASP7446 及び ASP5854 は KW6002 と比較して 20 倍以上低い投与量で受容体を同程度占有す

ることが分かる。Figure 4 は各薬剤の受容体占有率の投与後経過時間による変化を比較したグラフである。横軸が各薬剤を投与後の経過時間を示しており、各薬剤が各時点においてどれだけ受容体を占有しているかを表している。この結果からも、ASP5854 が最も持続性のある薬剤であることが分かる。本試験の結果から、アデノシン A<sub>2A</sub> 受容体拮抗剤としてはこれら 3 薬剤のうち ASP5854 が最も優れていると期待できることが分かった。<sup>8)</sup>

### 2-3-2. 抗認知症薬の薬効評価及び脳内濃度測定

本試験では、まず抗認知症薬開発候補品 FK960<sup>9-12)</sup> の薬効を評価することを目的として、老齢の雄性アカゲザル ( $n=7, 21.6 \pm 0.5 y$ ) に FK960 を 1 週間連続投与の後、脳血流及び脳グルコース代謝の測定を行った。その結果、若齢サルに比べて低下していた老齢サルの脳血流及び脳グルコース代謝が、FK960 により用量依存的に改善することが示された。<sup>13)</sup> また、FK960 は *in vitro* の試験結果から、用量-反応曲線が釣鐘型を示し、 $10^{-7} M$  の濃度において最大の薬効を発揮することが知られていた。そこで、FK960 そのものを <sup>18</sup>F 標識し、<sup>14)</sup> トレーサとして用いてアカゲザルにおける脳内濃度を測定したところ、FK960 は 0.1 mg/kg 投与時において  $10^{-7} M$  の脳内濃度となることが示された。<sup>15)</sup> さらにそれらの結果を受け、2001 年にはヒトにおいて GCP に準拠した治験として PET 臨床試験を実施し、ヒトにおける FK960 脳内濃度を測定したところ、アカゲザルと比較して約 2-3 倍程度の脳内移行性を示すことが分かった。<sup>16)</sup>

### 3. 創薬に PET を利用する上での技術的課題

われわれは創薬の観点から PET を利用してきたが、このようなアプローチを実現するためにはいくつか克服していかなければならない技術的課題がある。

**3-1. PET トレーサ製造** PET トレーサの課題としてまず一般的には、1) ポジトロン核種は超短半減期であることから短時間で標識合成を行うことが必要であること、2) 放射線被曝防止のために自動合成装置を用いる必要があることであるが、さらに創薬に利用する場合は、3) タイムリーに開発ラインの要請に応じる研究マネジメントが必要であることが加わる。われわれはこれまでに数多くの新規化合物の PET 標識合成により蓄積された経験

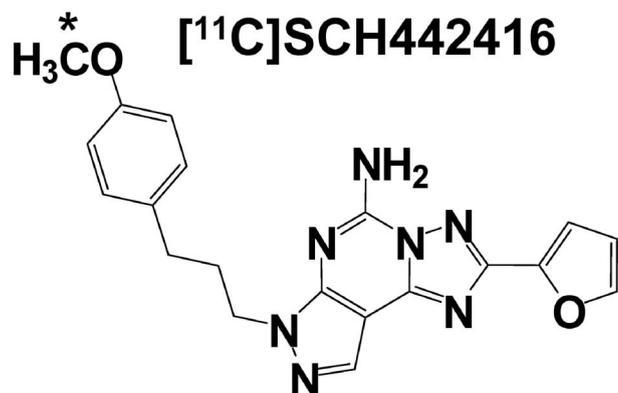


Fig. 1. Chemical Structure of [<sup>11</sup>C]SCH442416

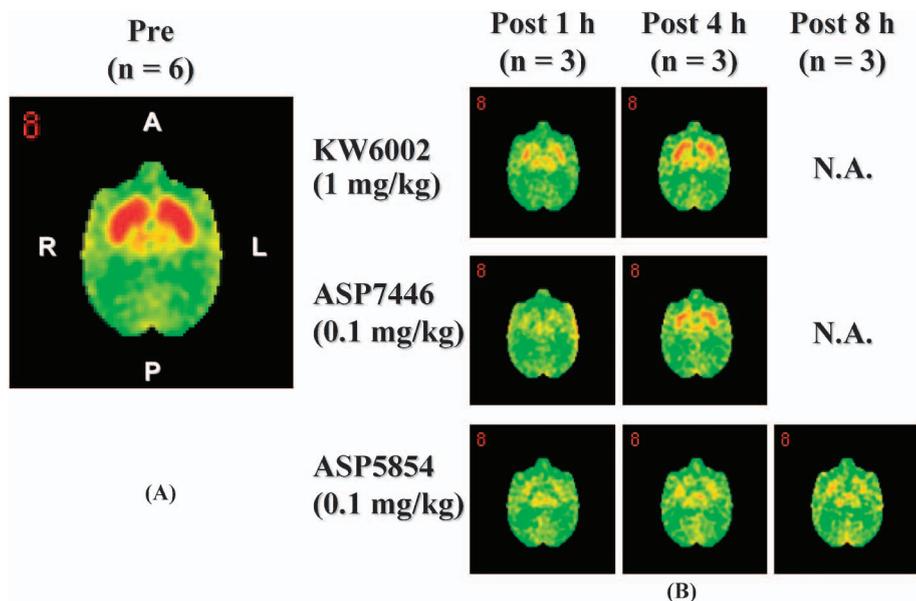


Fig. 2. PET Images of  $[^{11}\text{C}]\text{SCH442416}$  following Administration of Adenosine  $\text{A}_{2\text{A}}$  Antagonists in Conscious Monkeys

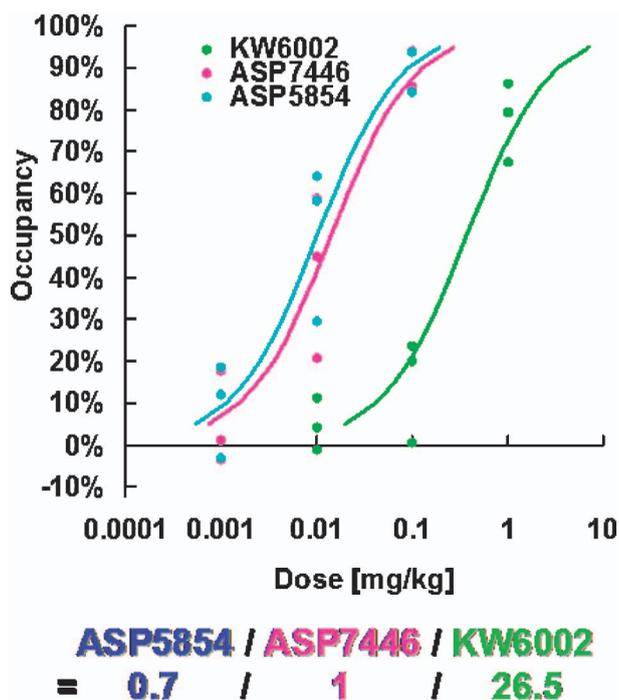


Fig. 3. Relationship between the Dose and Receptor Occupancy at 1 h after the Drug Administration

から、Fig. 5 に示すような天然物由来の複雑な構造を持った FK506 の PET 標識合成にも成功し、<sup>17)</sup> これを用いて非臨床 PET 試験を実施している。<sup>18,19)</sup> また独自に自動合成装置を開発する技術を有することから、Fig. 6 に示すようなタンパク質の標識合成をすべて自動制御で行うことが可能な自動合成装置

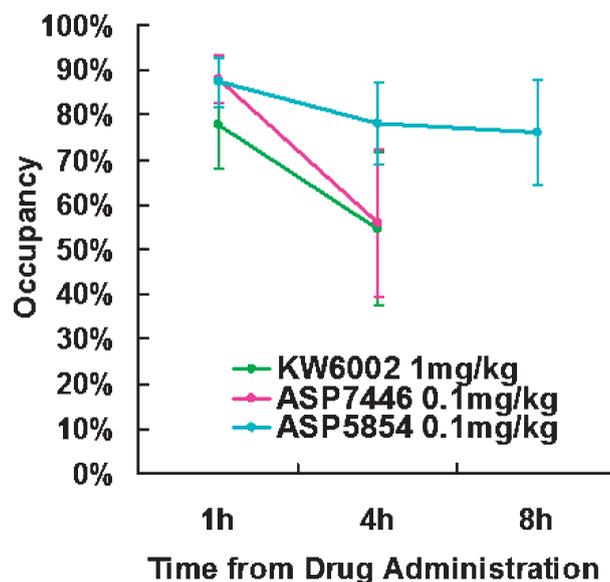


Fig. 4. Time Course of Receptor Occupancy from 1 to 8 h after Drug Administration

の開発も行っている。<sup>20)</sup>

本稿 2-2 項で述べたが、ここ数年特に世界的なメガ製薬企業は、マイクロドーズ臨床試験を新しい概念の創薬手法として注目している。この試験では対象とする候補化合物そのものを標識化しなければならないことから、今後益々標識合成能力が重要となる。それに加えて、臨床試験 (治験) を行うためには GMP 下で薬剤製造を行うことが必須となる。PET 薬剤の製造は、通常の治験薬製造とは以下の

点で大きく異なる。すなわち、1) 短半減期核種を用いていることから薬剤製造後直ちに被験者に投与する必要がある、2) そのため短時間で品質検定を行わなければならない、3) 最終製剤は固形製剤化する時間がないことから溶液として得られ、投与方法は経口投与の事例はあるもののほとんどの場合は静脈内注射となる、4) 以上の制約条件から PET 薬剤製造は臨床を行う場所と同一施設若しくは準じた場所となるがある。そこでわれわれは、製剤工程は無菌を保証された閉鎖系ユニット(アイソレータ)内で行い、合成工程を行う装置とアイソレータの間に滅菌フィルターを設置し、注射製剤の無菌を保証する製造システムを開発した。Figure 7 に示すよう

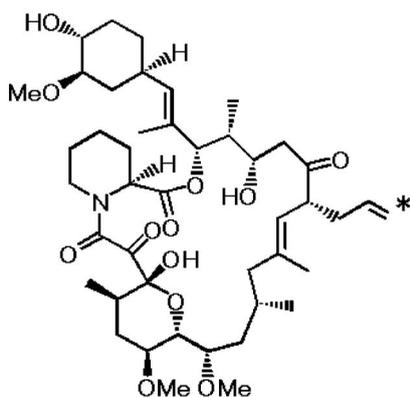


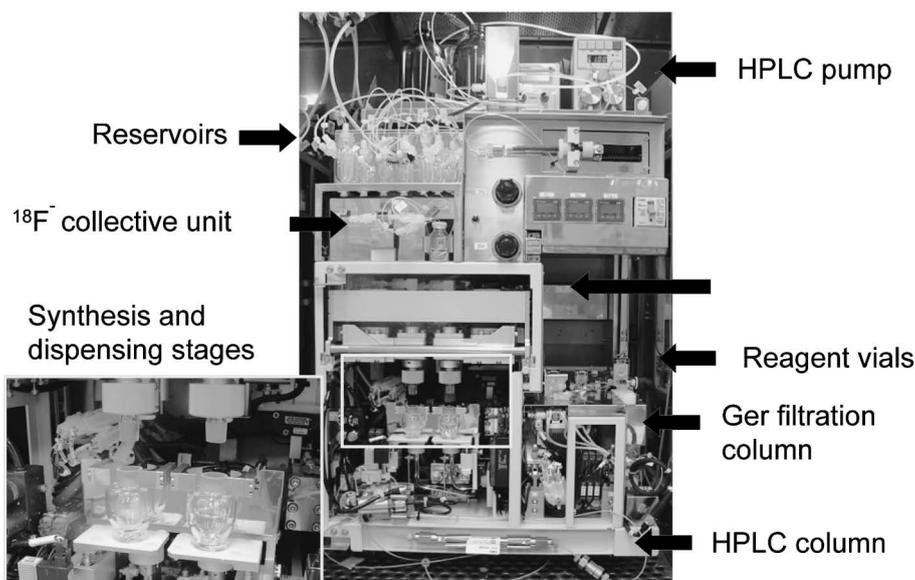
Fig. 5. Chemical Structure of  $[^{11}\text{C}]$ FK506

にアイソレータは、過酸化水素ガス発生装置を用いて内部を滅菌する構造となっている。<sup>21)</sup>

**3-2. 非臨床試験** 本稿 2-3 項で示した事例研究では、2つの技術的な課題をクリアすることによってなし得ている。1つはサルを覚醒状態で測定する技術であり、もう1つはサル脳の解剖学的標準化である。

脳の機能を評価する試験では、覚醒状態で PET 測定できることが重要である。われわれは大動物用 PET カメラとして、浜松ホトニクス製 SHR-7700<sup>22)</sup>を用いている。本機はガントリ部を 90 度回転させることにより、サルを覚醒状態で椅子に座らせて脳を PET 測定することができる。

また、サルを用いた PET 非臨床試験では、複数のサル個体から得られた脳画像を扱う必要があるが、異なるサル個体から得られた画像から再現性よく同じ部位を抽出するのは容易ではない。臨床においては、異なる個体から得られた形も大きさも異なる脳画像を線形・非線形変換し、標準テンプレートに合わせ込む(解剖学的標準化)技術が用いられており、ソフトウェアとして SPM (Statistical Parametric Mapping)<sup>23)</sup> と 3D-SSP (3 Dimensional Stereotactic Surface Projection)<sup>24)</sup> が知られている。われわれはワシントン大学の蓑島が臨床用に開発した 3D-SSP のサル版を共同開発し、<sup>25)</sup> 非臨床試験に用



W454 × D506 × H879 mm

Fig. 6. Automated Apparatus for  $[^{18}\text{F}]$ Annexin V

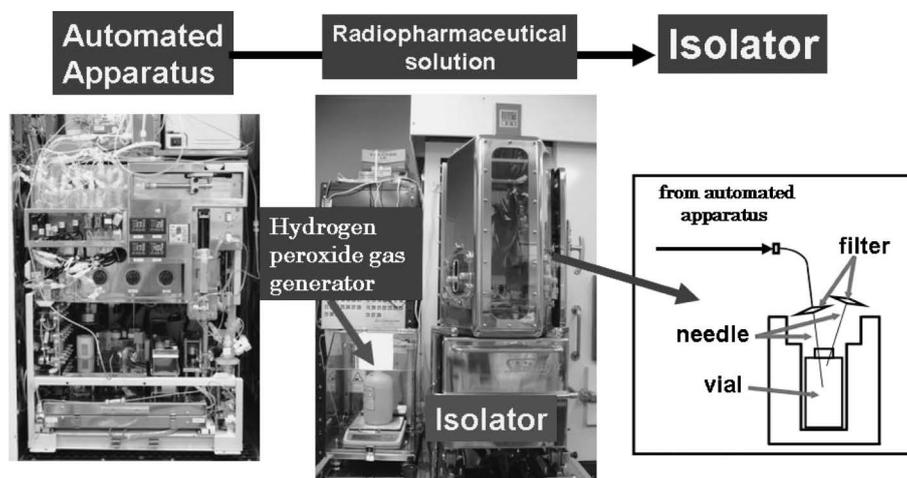


Fig. 7. PET Tracer Production System for Clinical Study

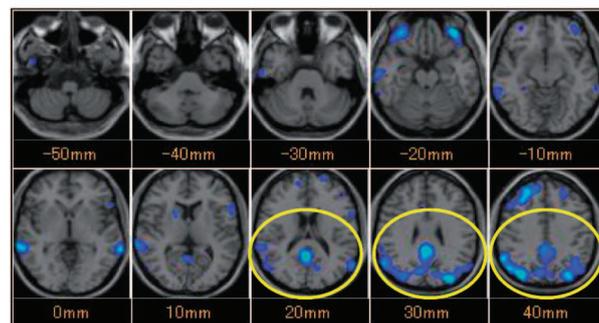
いている。これにより、複数のサル個体から得られた脳画像を平均し、群間比較が可能となっている。

#### 4. 標準脳データベース

前章で述べた SPM や 3D-SSP などの解剖学的標準化は、視察的に評価のし難い部位においても容易に定量的に差違をみることができることから、臨床において特にその有用性は高く評価されている。実際に、アルツハイマー病の極早期において後帯状回から楔前部に掛けての糖代謝が落ちていくという知見が得られたのは、<sup>26)</sup> 解剖学的標準化に基づく統計解析によるものである。このような研究において必須となるのが、患者と比較するための正常人脳データベースである。医薬品開発、特に中枢神経領域薬の薬効を、PET を用いて評価するためには、リファランスとして正常人脳データベースが同様に重要となるとわれわれは考えた。そこで、2002 年より財先端医学薬学研究センターにおいて、金沢大学神経内科と共同で日本人標準脳データベース開発研究を行っている。<sup>27-29)</sup>

本研究では、FDG-PET 検査に加えて各種 MRI 検査、血液検査、MMSE (Mini Mental State Examination) といわれる知的機能評価検査を行っている。さらに、2008 年 4 月からは脳アミロイドイメージング剤 PIB による PET 検査も加えている。すでに 900 名を超えるボランティア検査 (2008 年 3 月末) を実施しているが、これらのデータはすべてデータベース化しており、また一部の被験者については追跡研究も行っている。Figure 8 に追跡研究の一例を示す。この被験者は、最初の検査において知

(A)



(B)

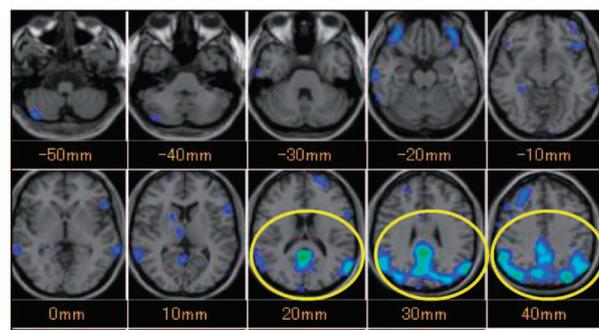


Fig. 8. Longitudinal Prospective Study

(A) F, 80's, MMSE: 28, (B) after the lapse of 19 months, MMSE: 23.

的機能評価検査が 30 点満点中 28 点と正常と判定されたが、SPM を用いて FDG-PET データを解析したところ、後帯状回から楔前部に当たる部分 (黄色丸印) で糖代謝が落ちていることが分かり、画像上は軽度認知症が疑われた。その後 19 ヶ月後に追跡調査でこの被験者の検査を再度行ったところ、MMSE は 23 点と MCI が疑われる値となり、また

糖代謝の低下もさらに進んだ状態となり、臨床上軽度認知症と診断された。このようにデータベースを作製していく過程で、症状がまだ発症していない極早期の認知症を見付けることもできるようになってきた。

### 5. おわりに

PET・MRIを医薬品研究開発に利用する動きは欧米のメガ製薬企業で活発となっており、特に最近ではマイクロドーズ、Exploratory-INDなど先進的な手法でPK・PD試験が行われるようになってきた。創薬におけるPET技術の優れた点は、非臨床から臨床までスルーして薬剤の受容体占有率等を観察できるため、科学的根拠に基づいた用法・用量の設定ができることである。また薬剤投与前後の変化を、適切なPETトレーサを用いて測定することにより、定量的に薬効を評価することもできる。さらに、Phase II以降の臨床試験において、最近ではresponderとnon-responderの見極めが必要と言われるようになってきたが、臨床データベースの開発によりPETデータをバックグラウンドとして被験者の選別が可能となると期待される。

### REFERENCES

- 1) EU: EMEA/CPMP: "Position Paper on Non-clinical Safety Studies to Support Clinical Trials with a Single Microdose," The European Medicines Agency (EMA), Evaluation of Medicines for Human Use, CPMP/SWP/2599/02/Rev 1, London, 2004.
- 2) US FDA: "Guidance for Industry, Investigators and Reviewers, Exploratory IND Studies," US Department of Health and Human Services, FDA, CDER, 2005.
- 3) Oriuchi N., Higuchi T., Ishikita T., Miyakubo M., Hanaoka H., Iida Y., Endo K., *Cancer Sci.*, **97**, 1291-1297 (2006).
- 4) Castell F., Cook G. J., *Br. J. Cancer*, **98**, 1597-1601 (2008).
- 5) Moresco R. M., Todde S., Belloli S., Simonelli P., Panzacchi A., Rigamonti M., Galli-Kienle M., Fazio F., *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging*, **32**, 405-413 (2005).
- 6) Mihara T., Mihara K., Yarimizu J., Mitani Y., Matsuda R., Yamamoto H., Aoki S., Akahane A., Iwashita A., Matsuoka N., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **323**, 708-719 (2007).
- 7) Jenner P., *J. Neurol.*, **247 Suppl 2**, I143-50 (2000).
- 8) Mihara T., Noda A., Arai H., Mihara K., Iwashita A., Murakami Y., Matsuya T., Miyoshi S., Nishimura S., Matsuoka N., *J. Nucl. Med.*, **49**, 1183-1188 (2008).
- 9) Yamazaki M., Matsuoka N., Maeda N., Ohkubo Y., Yamaguchi I., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **279**, 1157-1173 (1996).
- 10) Matsuoka N., Satoh M., *Brain Res.*, **794**, 248-254 (1998).
- 11) Doggrel S. A., *Expert Opin. Investig. Drugs*, **13**, 69-72 (2004).
- 12) Koyama Y., Egawa H., Osakada M., Baba A., Matsuda T., *Biochem. Pharmacol.*, **68**, 275-282 (2004).
- 13) Noda A., Takamatsu H., Matsuoka N., Koyama S., Tsukada H., Nishimura S., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **306**, 213-217 (2003).
- 14) Murakami Y., Nishimura S., Noda A., Harada N., Tsukada H., *J. Label. Compd. Radiopharm.*, **45**, 1219-1228 (2002).
- 15) Noda A., Takamatsu H., Murakami Y., Yajima K., Tatsumi M., Ichise R., Nishimura S., *J. Nucl. Med.*, **44**, 105-108 (2003).
- 16) Matsunari I., Murakami Y., Noda A., Yajima K., Takamatsu H., Matsudaira M., Nishimura S., Itoh M., Tonami N., Hisada K., *J. Nucl. Med.*, **44 Suppl 5**, S219 (2003).
- 17) Murakami Y., Kuroda A., Osoda K., Nishimura S., *Tetrahedron Lett.*, **44**, 641-644 (2003).
- 18) Murakami Y., Takamatsu H., Noda A., Osoda K., Ichise R., Tatsumi M., Tabata K., Sawamoto T., Nishimura S., *J. Nucl. Med.*, **45**, 1946-1949 (2004).
- 19) Murakami Y., Takamatsu H., Noda A., Osoda K., Nishimura S., *Nucl. Med. Biol.*, **34**, 703-707 (2007).
- 20) Matsuya T., Yajima K., Murakami Y., Miyoshi S., Noda A., Kasatani H., Nishimura S., *W. J. Nucl. Med.*, **5 Suppl 1**, S101 (2006).
- 21) Yajima K., Matsuya T., Murakami Y., Ueda H., Kasatani H., Nishimura S., *W. J. Nucl. Med.*, **5 Suppl 1**, S99 (2006).
- 22) Watanabe M., Okada H., Shimizu K., Omura T., Yoshikawa E., Kosugi T., Mori S., Yamashita T., *IEEE Trans., Nucl. Sci.*, **44**, 1277-1282 (1997).

- 23) Friston K. J., Holmes A. P., Worsley K. J., Poline J.-P., Frith C. D., Frackowiak S. J., *Hum. Brain Mapp.*, **2**, 189–210 (1995).
- 24) Minoshima S., Frey K. A., Koeppe R. A., Foster N. L., Kuhl D. E., *J. Nucl. Med.*, **36**, 1238–1248 (1995).
- 25) Cross D. J., Minoshima S., Nishimura S., Noda A., Tsukada H., Kuhl D. E., *J. Nucl. Med.*, **41**, 1879–1887 (2000).
- 26) Minoshima S., Foster N. L., Nishimura S., Kuhl D. E., *Jpn. J. Clin. Rad.*, **3**, 1113–1121 (1998).
- 27) Yanase D., Matsunari I., Yajima K., Chen W., Fujikawa A., Nishimura S., Matsuda H., Yamada M., *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging*, **32**, 1277–1282 (2005).
- 28) Samuraki M., Matsunari I., Chen W. P., Yajima K., Yanase D., Fujikawa A., Takeda N., Nishimura S., Matsuda H., Yamada M., *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging*, **34**, 1658–1669 (2007).
- 29) Matsunari I., Samuraki M., Chen W. P., Yanase D., Takeda N., Ono K., Yoshita M., Matsuda H., Yamada M., Kinuya S., *J. Nucl. Med.*, **48**, 1961–1970 (2007).