

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 19 日現在

機関番号：12102

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2016

課題番号：15K15446

研究課題名(和文) BNCT製剤早期実用化を実現する新規分子イメージング技術

研究課題名(英文) Molecular Imaging Technique for Efficient Development of BNCT Agent

研究代表者

旗野 健太郎 (HATANO, Kentaro)

筑波大学・医学医療系・准教授

研究者番号：50228475

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,700,000円

研究成果の概要(和文)：次世代の放射線治療として期待される中性子捕捉療法( BNCT )の普及、高度化にあたり、がん細胞選択性を高めた新規ホウ素製剤の開発は必須である。本研究は新世代ホウ素製剤の scaffold として期待される carborane 類を  $^{18}\text{F}$  標識することで、分子イメージングによる動態の検討を実現し開発の加速を図ることを目的とした。2回照射法による  $^{18}\text{F}$  製造法の最適化を行った。2回目の照射に用いる  $\text{F}_2\text{-Ar}$  混合ガス濃度 1% で良好な回収率、臨床使用に十分な比放射能が得られることがわかった。o-carborane をクロロホルムに溶解し、冷却下  $^{18}\text{F}$  と反応させたところ 21% の放射化学的収率で  $^{18}\text{F}$  標識体が得られた。

研究成果の概要(英文)：Boron neutron capture therapy (BNCT) is accepted as the promising next generation radiotherapy. For widespread expansion of BNCT development of tumor specific boron-containing agents is required. The present research aimed to label representative boron scaffold, carboranes, with positron emitting radionuclide, fluorine-18 which enables biodistribution examination by molecular imaging technique. We tried F-18 labeling of carboranes using electrophilic fluorinating agents starting from F-18 labeled elemental fluorine. We optimized condition of  $^{18}\text{F}$ -F<sub>2</sub> production by double-irradiation method starting from 180-02. Optimal concentration of F<sub>2</sub>-Ar for the second irradiation was 1% as it showed good recovery of radioactivity and acceptable specific activity of radiopharmaceutical thus obtained. F-18 labeling of o-carborane was accomplished using this  $^{18}\text{F}$ -F<sub>2</sub> in 21% radiochemical yield.

研究分野：放射性医薬品化学

キーワード：中性子捕捉療法 BNCT ポジトロン断層法 PET 分子イメージング フッ素-18

## 1. 研究開始当初の背景

浸潤がんや多発がんなどの難治性がんや、再発がんなど未だ治療法が確立できていないがんに対して、次世代の放射線治療として期待されているのが中性子捕捉療法 (Boron Neutron Capture Therapy, BNCT) である。治療に中性子線を用いる BNCT は、現在研究用原子炉を用いて臨床研究を実施しており、これまでに悪性脳腫瘍や頭頸部がん、肝がんなどの難治がんや再発がんに対して高い治療効果があることが実証されている。一方、近年の加速器技術の進展により、小型の陽子線加速器を使って高強度の中性子を安定的に発生することが可能となり、“加速器 BNCT” が現実的となってきた。加速器 BNCT が実現されれば、病院内治療が可能となり、BNCT の先進医療化が可能となり、近い将来、難治がん、再発がん等に対する有効な治療法として確立、普及することが期待される。本学では、小型加速器による大電流陽子線ビームと、この大熱量ビームを受け止め、安定的、継続的に大強度中性子ビームを発生するベリリウムターゲットをキー・テクノロジーとした加速器 BNCT 開発が行われ、臨床適用に向け環境が整備されつつある。

BNCT は ホウ素製剤を投与し、がん細胞に集積させ、中性子を照射し、中性子とホウ素-10 の核反応によって生じる線と反跳リチウム核によってがん細胞を破壊する、という過程を取る。このため、BNCT はがん細胞選択的重粒子線治療ともいわれる。高いがん細胞選択性を担保するのはホウ素製剤のがん細胞選択的な集積である。十分な治療効果を達成し、また周辺正常組織への障害を低減する観点から、がん組織 1g あたり 20-30  $\mu\text{g}$  以上の  $^{10}\text{B}$  取り込みと、3-5 以上のがん組織対正常組織比が必要とされる。これまで BNCT で実用化されたホウ素製剤は BSH と BPA のみである。しかし今後の BNCT の高度化には新たなホウ素製剤の開発が不可欠である。これまでのホウ素製剤の開発は、化合物を開発し、担がん動物に投与後中性子照射して有効性、安全性、実用性を検討するというプロセスが取られてきた。特に原子炉を用いた実験でこれを行うには極めて長い時間と手間がかかり、これが新規ホウ素製剤の実用化を妨げてきた一因であると考えられた。また、加速器 BNCT が実用化した場合でも法制度や施設の安全、衛生などの観点から臨床研究と動物実験を並行して行うのは容易ではない。本研究では新世代 BNCT 製剤の scaffold として期待される carborane を求電子的なフッ素化剤で  $^{18}\text{F}$  標識する技術を開発する。これが実現すれば、分子イメージング技術によって薬剤動態をあらかじめ検討することが可能となり、薬剤開発を加速し、成功確率を向上することができると考える。

## 2. 研究の目的

中性子捕捉療法 (BNCT) ではホウ素製剤の選択的ながん組織への集積が最も重要な条件になる。これまで実用化されてきたホウ素製剤は BPA と BSH であるが、今後の BNCT の普及、高度化には加速器 BNCT の実用化とともに新生代ホウ素製剤の開発が不可欠である。BNCT 製剤の開発にあたってはがん細胞への特異的な集積をもたらすがん標的部位 (アンテナ) とホウ素部位が必要となる (Soloway AH, Chemical Reviews 98 (1998) 1515-62.). BNCT 製剤の高度化を目指して、抗体、ペプチド、酵素阻害剤、核酸誘導体など様々なアンテナ部位の導入が考えられるが、前述のように BNCT の成功にはがん組織 1g あたり 20-30  $\mu\text{g}$  以上の  $^{10}\text{B}$  取り込みが必要とされていることから、かなり高い分子内ホウ素量が要求される。carborane はホウ素 9~10 個と炭素がカゴ状に結合した物質であるので分子内ホウ素数を増やすのに有利である。またベンゼン環とほぼ同等の大きさを有していることから薬剤デザイン上も有望な部分構造であり、BNCT 製剤開発の scaffold として期待されている。

新規ホウ素製剤に求められる性質は、高いがん組織に対する集積と低い周辺正常組織分布である。薬剤分布の観点から Hawthorne らは BNCT 製剤開発において放射性核種で標識した carborane が重要であると述べている (Hawthorne MF, Chemical Reviews 99 (1999) 3421-34)。中でも求電子的なヨウ素化剤を用いた carborane の放射性ヨウ素標識は普遍的な方法であり、有効であると考えられる。我々が本研究で行おうとしているのはこの知見を  $^{18}\text{F}$  標識化学に応用し、近年長足の進歩を遂げた分子イメージング技術と組み合わせる BNCT 製剤の開発をより加速しようという試みである。BPA による BNCT 施行の際はその  $^{18}\text{F}$  標識アナログである  $^{18}\text{F}$ -FBPA を用いた PET 測定を行い適用を判断することが一般的である。そこで、我々は BNCT 製剤候補化合物をフッ素-18 標識し、その動態を検討することで、化合物の絞り込みが容易になるのではないかと考えた。ポジトロン標識することで、最近普及が著しい小動物用高分解能 PET による前臨床研究が容易になる。さらに、ヒトを対象とする探索的臨床研究 (Phase 0 試験) を行うことで、種差やがん種の差に煩わせることなく直接的に中性子照射試験の有効性を予測することができるようになる。本研究では、 $^{18}\text{O}$ - $\text{O}_2$  にプロトン照射することで得られる  $^{18}\text{F}$  を  $\text{F}_2$ -Ar 混合ガス存在下で再プロトン照射することで得られる求電子的な  $^{18}\text{F}_2$  ガスを用いて carborane 構造の  $^{18}\text{F}$  標識が可能か検討する。

### 3. 研究の方法

フッ素-18( $^{18}\text{F}$ )は 109.8 分の半減期を持ち、ほぼ 100%  $^+$ 壊変する代表的なポジトロン核種である。一般的に用いられる  $^{18}\text{F}$  製造核反応には、 $^{20}\text{Ne}(\text{d}, \text{ }^+)^{18}\text{F}$  核反応と  $^{18}\text{O}(\text{p}, \text{n})^{18}\text{F}$  核反応がある。前者は反応断面積が小さいが  $\text{F}_2\text{-Ne}$  混合ガスをターゲットとすることで、極めて反応性の高い  $^{18}\text{F}_2$  を製造することができる。後者は natural abundance が 0.2% である安定同位体を濃縮する必要はあるが、とくに  $^{18}\text{O}\text{-H}_2\text{O}$  をターゲットとする場合、容易に大量の  $^{18}\text{F}$  を製造することができる。後者の製造方法で得られる核種は  $^{18}\text{F}$  陰イオンの水溶液の形を取り反応性は劣る。しかし、ここ 20 年の標識反応、合成装置の進歩と安定同位体供給体制の整備によって後者の方法が支配的となりつつある。

$^{18}\text{F}$  陰イオンは求核置換反応に用いられる。放射性ヨウ素による carborane の標識は、ヨウ素陰イオンをクロラミン-T など酸化剤で活性化することによって求電子的な反応種を発生させる方法を用いているが、フッ素の場合この方法をとることが出来ない。また、近年、コンパクトで信頼性の高い陽子加速専用のサイクロトロンが開発され普及したが、こうした装置では  $^{20}\text{Ne}(\text{d}, \text{ }^+)^{18}\text{F}$  核反応を用いることは出来ない。このような経緯で求電子的なフッ素-18 標識反応は顧みられなくなりつつあったが、陽子加速専用サイクロトロンでも  $^{18}\text{F}_2$  を製造する方法が開発された(Nucl Med Biol 22 (1995) 111-6)。これは  $^{18}\text{O}\text{-O}_2$  をターゲットとしプロトン照射で  $^{18}\text{F}$  を製造する。製造された  $^{18}\text{F}$  はターゲット容器壁に付着する。ここに不活性ガスで希釈された  $\text{F}_2$  ガス(例えば  $\text{F}_2\text{-Ar}$ )を充填しプロトン照射する。反跳エネルギーを得た  $^{18}\text{F}$  核が  $\text{F}_2$  と同位体交換し  $^{18}\text{F}_2$  が生成する、という 2 段階の製造法をとる。この  $^{18}\text{F}_2$  製造法は、様々な条件の最適化が必要になってくると考えられる。回収効率を上げるために安易に  $\text{F}_2$  混合ガスの濃度を上げるとは比放射能の低下を招くと考えられ、本研究ではこのバランスのとれた製造法を見出すことを第一の目的とする。つくば画像検査センターに設置のサイクロトロンおよび同センターに筑波大学があらたに設置したターゲット容器、ターゲットサブライユニットを用いて実験を行う。製造された  $^{18}\text{F}_2$  ガスの反応性、比放射能はこの方法によって製造される代表的な放射性医薬品である  $^{18}\text{F}\text{-FBPA}$  を合成して確認する。

$^{18}\text{F}_2$  による標識合成そのものは、過去に様々な事例があり、申請者も多くの経験がある。しかし、carborane のフッ素化の例は無い。我々は各種の carborane のフッ素化を、放射性ヨウ素標識法を参考に(Hawthorne MF, Chemical Reviews 99 (1999) 3421-34)検討する。求電子的な放射

性ヨウ素標識ではクロラミン-T の様な緩和な酸化剤によって in situ で発生する  $^+$  が活性種となる。したがって、基質には酸化剤の影響を受ける部位があってはならない。本研究の場合は酸化剤は用いないが、 $^{18}\text{F}_2$  の酸化作用を受けないよう基質に対する配慮が必要である。ペプチド、タンパク質を基質とする場合、チロシン、フェニルアラニン、ヒスチジンの芳香族アミノ酸がヨウ素標識されやすい。これは  $^{18}\text{F}_2$  においても確認されている(Ogawa M, Nucl Med Biol 30 (2003) 1-9)。したがって、carborane のフッ素化を標準的な標識法として定式化する場合、こうした残基を含む基質を避けるか、間接的な標識法を選ぶ必要がある。後者は carborane を含む低分子標識中間体をあらかじめ標識し、次いでこれを生体分子に組み込む方法である。これを実現できれば 1 つの標識法から多様な生体分子を標識することが可能で、コンビナトリアル化学的手法を用いて最適化合物を見出すことができるかもしれない。合成操作は次世代分子イメージングつくば画像検査センター設置の多目的自動合成装置(大日本精機)を用いて行う。比放射能、基質濃度、反応条件に応じた、各種 carborane のフッ素化の生成物(導入されるフッ素の位置と個数)放射化学的収率、異性体比について詳細に検討する。さらに標識 carborane を生体分子に導入することを想定し、汎用性の高い標識合成法を開発する。

### 4. 研究成果

#### (1) $^{18}\text{F}$ -分子状フッ素の製造

本研究で試みたいいわゆる 2 回照射法による  $^{18}\text{F}$ -分子状フッ素( $^{18}\text{F}_2$ )製造法の模式図を図 1 に示す。また、これを実現する Target Supply Unit を図 2 に示す。この方法で  $^{18}\text{F}_2$  を製造する際、2 回目の照射に用いる  $\text{F}_2\text{-Ar}$  の濃度が重要である。フッ素濃度を上げれば回収の向上が期待されるが、比放射能の低下を招く。適当な回収率が期待される範囲で最も低いフッ素濃度が望ましい。

フッ素濃度と回収された放射能の関係を図 3 に示した。5%の  $\text{F}_2\text{-Ar}$  を Ar で希釈し、実験を行った。フッ素濃度 1%まで、回収放射能は濃度依存的な向上を認めた。

得られた  $^{18}\text{F}_2$  を用いて  $^{18}\text{F}\text{-FBPA}$  を製造した(図 4)。20mg の 4-boronophenylalanine のトリフルオロ酢酸溶液に、上記の  $^{18}\text{F}_2$  を AcONa カラムを通じることで製した  $^{18}\text{F}\text{-AcOF}$  を導入し、 $^{18}\text{F}\text{-FBPA}$  を合成した。成績体は高速液体クロマトグラフィー(HPLC)にて精製した。結果を表 1 にまとめる。この結果より 1%のフッ素濃度における担体量が約 68  $\mu\text{mol}$  であることがわかった。最大この半量が反応にあずかるため、担体量は反応に用いた 4-boronophenylalanine 量(46  $\mu\text{mol}$ )より小さく、担体量が反応収率に与える影響は小さいと考えられた。得られた比放射能は臨床使

用に耐えうる高さであり、1%のフッ素濃度が回収率、比放射能の両面から実際的であることがわかった。

図1 2回照射法による<sup>18</sup>F<sub>2</sub>の製造

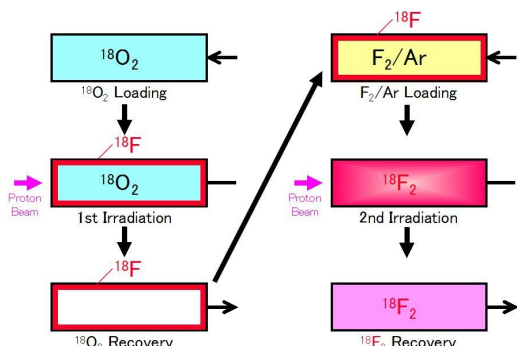


図2 Target Supply Unitの模式図

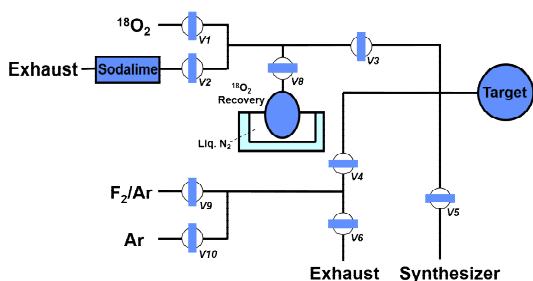


図3 フッ素濃度と生成放射能の関係

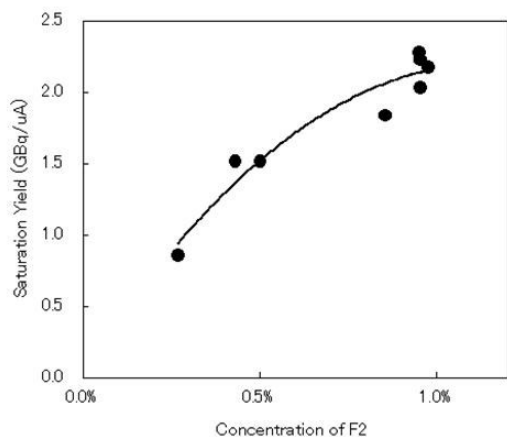


図4 <sup>18</sup>F-FBPAの合成

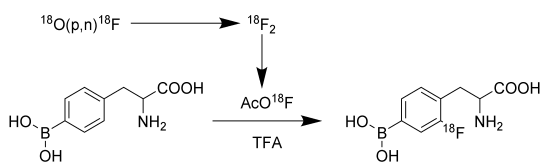


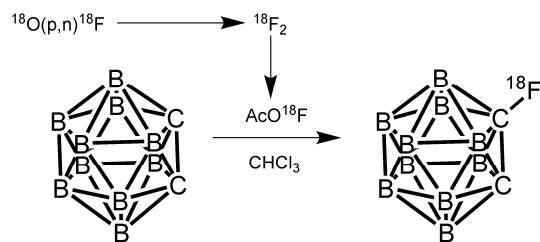
表1 <sup>18</sup>F-FBPAの合成結果

<sup>18</sup> F <sub>2</sub> Production	
Irradiation	20 μA, 30in
Saturation Yield	2.2GBq/ μA
Optimal Concentration of F <sub>2</sub>	1%
Total Carrier Amount	68 μmol
<sup>18</sup> F-FBPA Synthesis	
Product	390MBq
Radiochemical Yield	8% (Decay Corrected)
Radiochemical Purity	97%
Specific Activity	66GBq/mmol

(2) <sup>18</sup>F<sub>2</sub>による *o*-carborane の標識

こうして得られた <sup>18</sup>F<sub>2</sub> を用いて *o*-carborane の標識を試みた(図5)。*o*-carborane をクロロホルムに溶解し、冷却下 <sup>18</sup>F<sub>2</sub> と反応させたところ 21%の放射化学的収率で <sup>18</sup>F 標識体が得られた。今後基質として *m*-carborane、*p*-carborane やその他のボロンケージ化合物とその誘導体のフッ素-18 標識を用い、反応の一般化を図る。また、これらの標識 carborane 類を用いて生理活性物質を標識し、分子イメージング研究に供する方法を検討する。

図5 <sup>18</sup>F<sub>2</sub>による *o*-carborane の標識



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 0 件)

〔学会発表〕(計 5 件)

旗野健太郎、千田英輝、徳田安則、佐藤始広、中性子捕捉療法に向けた PET 診断薬 <sup>18</sup>F 標識 FBPA の合成、第 56 回日本核医学会学術総会、2016 年 11 月 3~5 日、名古屋国際会議場(愛知県名古屋市)

旗野健太郎、千田英輝、徳田安則、佐藤始広、<sup>18</sup>O<sub>2</sub> をターゲットとする 2 回照射法によ

る  $^{18}\text{F}_2$  の製造と  $^{18}\text{F}$ -FBPA 合成への適用、第 13 回中性子捕捉療法学会学術大会、2016 年 8 月 6~7 日、東京大学伊藤国際学術研究センター伊藤謝恩ホール(東京都文京区)

旗野健太郎、徳田安則、千田英輝、佐藤始広、中性子捕捉療法に向けた PET 診断薬  $^{18}\text{F}$ -FBPA の合成、つくば医工連携フォーラム、2016 年 1 月 22 日、産業技術総合研究所つくばセンター共用講堂(茨城県つくば市)

Kentaro Hatano, Yasuori Tokuda, Motohiro Sato, Synthesis System for PET Radiopharmaceutical dedicated to Boron Neutron Capture Therapy, Tsukuba Global Science Week, Sep 28-30, 2015, つくば国際会議場(茨城県つくば市)

旗野健太郎、徳田安則、佐藤始広、 $^{18}\text{O}(p,n)^{18}\text{F}$  核反応による求電子的  $^{18}\text{F}$  標識薬  $^{18}\text{F}_2$  の製造、第 38 回フッ素化学討論会、2015 年 9 月 17~18 日、日本橋公会堂(東京都中央区)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

旗野健太郎 (HATANO, Kentaro)

筑波大学・医学医療系・准教授

研究者番号：50228475