

令和 5 年 6 月 19 日現在

機関番号：82502

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2019～2022

課題番号：19H03610

研究課題名（和文）新規PET用トレーサーを用いた光線力学的療法の安全性及び治療効果評価手法の構築

研究課題名（英文）Development of positron emission tomography tracers evaluating the safety and oncotherapy effect for photodynamic therapy

研究代表者

河村 和紀（Kawamura, Kazunori）

国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構・量子医科学研究所 先進核医学基盤研究部・グループリーダー

研究者番号：50401766

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,200,000円

研究成果の概要（和文）：新規光感受性物質（PS）を用いた光線力学的療法の臨床応用を促進するために、PSとして安全性及び有用性が高いと期待されているBODIPY誘導体をフッ素18で標識したフッ素18標識ADPMO6を開発し、マウスでの体内動態から安全性推定のための評価手法を構築した。また、腫瘍モデルマウスを用いたポジトロン断層撮影法（PET）により、腫瘍治療効果推定のための評価手法を検討した。フッ素18標識ADPMO6のトレーサー動態からPDT治療における副作用を予測できる可能性を示した。さらに、一重項酸素を検出できる化合物をPET用トレーサーとして開発し、腫瘍治療効果を評価できる可能性を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

より安全に光線力学的療法（PDT）中に全身を診断できる手法としては、極微量で安全であり、さらに定量的に画像診断が可能である放射性トレーサーを用いたポジトロン断層撮影法（PET）がより有用であると考えられ、光感受性物質もしくはPDTにより生じた一重項酸素を検出できる新たなPET用トレーサーを用いたPETがPDTの新たな評価手法となるため、本研究により安全性の高い効率的なPDTによる腫瘍治療の臨床利用の促進に繋がり、PDTにおけるPETの有用性を高めた。

研究成果の概要（英文）：To promote the photodynamic therapy (PDT) in clinical applications, we developed the fluorine-18 labeled BODIPY derivatives, named fluorine-18 labeled ADPMO6 ([F-18]ADPMO6), as a photosensitizer (PS) for PDT. ADPMO6 exhibited excellent photochemical and photophysical properties. Radiolabeled PSs can efficiently address PS biodistribution, providing helpful information for photodynamic therapy planning. To evaluate the biodistribution of ADPMO6 and predict its pharmacokinetics on photodynamic therapy, we synthesized [F-18]ADPMO6 and evaluated in vivo properties. We enabled the automatic synthesis of [F-18]ADPMO6. In addition, we evaluated the in vivo properties of [F-18]ADPMO6 using biodistribution studies in mice and PET in tumor-bearing mice. The [F-18]PS may be useful for determining the pharmacokinetics and metabolites of PS. Furthermore, we developed the PET tracer for detecting a singlet oxygen. The PET tracer may be useful for evaluating an oncotherapy effect.

研究分野：放射性薬品科学

キーワード：PETトレーサー フッ素18 光感受性物質 光線力学的療法

1. 研究開始当初の背景

光線力学的治療 (Photodynamic therapy, PDT) は、腫瘍や病変組織に蓄積する光感受性物質 (Photosensitizer, PS) を生体内に投与し、PS の励起波長を含むレーザー光を内視鏡などで外部から照射し、光反応によって産生される一重項酸素を中心とした活性酸素種により殺細胞効果を得ることによって病変組織を変性・壊死させる治療法であり (図 1)、正常組織への障害が少ない低侵襲な治療法である。

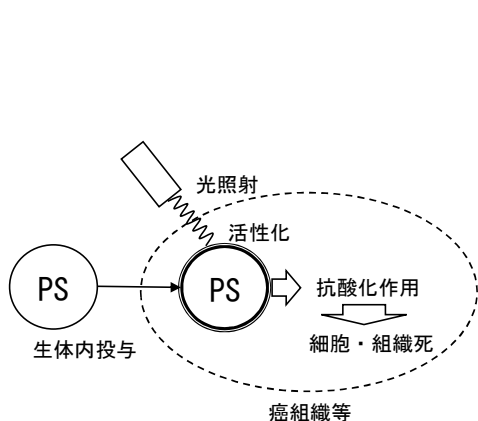


図1a. PDTの治療効果の概略

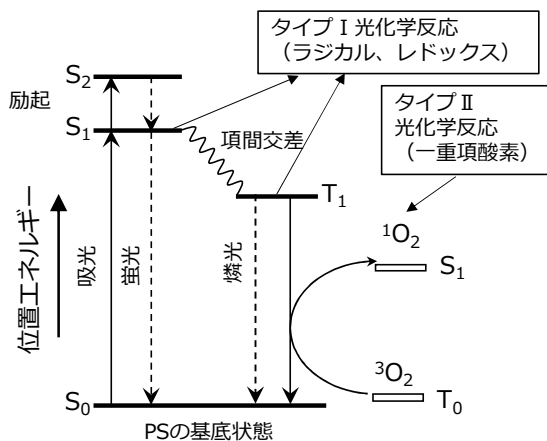


図1b. PSによる光化学反応 (Jablonski diagram)

PDT は 1970 年代から皮膚がんの治療で臨床利用されており、ポルフィリン類 PS であるフォトフリンを用いた PDT が 1996 年に早期肺癌、早期胃癌、早期食道癌、早期子宮頸癌において保険適応されており、良好な成績を収めているが、遮光期間が 1 か月と長期となり、患者負担が大きいことから新たな PDT 法の開発が望まれていた。近年、PS の副作用として問題だった光線過敏症を低減したレザフィリンが早期肺癌等の治療として保険適用され、治療後の遮光期間が 1 週間程度となり、レーザー装置がコンパクトで低価格なダイオードレーザーに改善されたこともあり、近年急速に普及し始めている。さらに、近年、悪性脳腫瘍、食道癌、早期子宮頸癌等に対する PDT による治験が多く行われ、PDT は、今後、さらに適応拡大が進むことが期待される治療法となり、新たながん治療戦略の柱になるものと期待されている。一方で、フォトフリンやレザフィリン等のポルフィリン類は、正常細胞から薬剤が排出する間、光過敏を避けるため患者が数日間暗闇の中で過ごす必要があり、正常組織からの排出が早く、光過敏が少なく、殺細胞効果の高い PS の研究が続けられている。昨今、欧米でがん治療薬として一部臨床評価もしくは利用されている PS としては、Porphyrin 類 (Lutrin®, Lutex®, Tookad®, Hexvix®, Metvix®, Levulan®)、Phthalocyanine 類、Chlorin 類 (Foscan®)、Purpurin 類 (Purlytin®)、Phenothiazine 類 (methylene blue, toluidine blue)、Xanthene 類 (Rose Bengal) 等があり [refs. 1, 2]、さらに、近年、生物学的に利用価値の高い蛍光色素である BODIPY (4, 4, -difluoro-4-bora-3a, 4a-diaza-s-indacene) 誘導体の PS としての有用性が報告されている [refs. 1-3]。BODIPY 誘導体は、可視光領域での高い吸光及び蛍光、光化学的安定性、化学的安定性、有機溶媒への容易な溶解性等の特徴を持っている。また、BODIPY 誘導体化合物は、生理的 pH で安定であり、毒性が低いこと等からバイオイメージング用蛍光試薬として広く利用されている [ref. 3]。さらに、BODIPY 誘導体はフッ素原子が含まれているため、ポジトロン断層撮影法 (PET) 用核種である ^{18}F で標識が可能であることから、PET 用トレーサーとして多くの化合物が開発されており、臨床応用が期待されている [refs. 4, 5]。近年、BODIPY 誘導体はがん治療等の PDT に用いる新規 PS としても開発が進められており、毒性の低い BODIPY 誘導体 PS や BODIPY 二量体や三量体の PS が開発されている [refs. 3, 6, 7]。

PDT による治療効果の診断法として一般的に MRI や CT が利用されているが、近年、PET による PDT 治療効果の検討が報告され、 $[^{18}F]FDG$, $[^{18}F]FDOPA$, $[^{18}F]FLT$, $[^{18}F]FMISO$, $[^{14}C]Choline$ 等を用いて治療効果を評価しており [refs. 8, 9, 10]、PDT によるがんの治療効果を診断する手法として PET が有用であると期待されている [ref. 12]。また、開発された新規 PS の早期の臨床利用のためには、PS 自体を標識して PDT 前後の PS の動態評価を行うことが効率的であると考えられるため、PS 自体もしくは類似体を標識化した PET 用トレーサーの開発が行われているが [ref. 13]、BODIPY 誘導体 PS やその他ポルフィリン類以外の PS については PS 自体を標識化した PET 用トレーサーの開発が行われていない。また、新規 PS の安全性を評価するためには、PDT 前の PS の動態を推定する必要があり、さらに、光による影響を低減するために照射後の PS の動態も推定する必要があり、極微量で定量的にインビボイメージングが可能であり安全性が高い PET 用 PS トレーサーを用いた評価手法が有用であると考えられる。一方、近年、PDT 中に光反応で

生成する一重項酸素を直接把握するための診断手法が検討されており [ref. 8, 11]、PDT の治療効果をモニタリングするために一重項酸素を検出できる新たな蛍光化合物が開発されており、蛍光イメージング剤としてのインビボでの評価が進められている [ref. 14]。そこで、より安全に PDT 中に全身をインビボで診断できる手法としては、極微量で定量的にインビボイメージングが可能である PET 用トレーサーを用いた PET 測定がより有用であると考えられ、一重項酸素を検出できる新たな PET 用トレーサーを用いた PET 測定が PDT の新たな評価手法として期待されている。

2. 研究の目的

本研究では、新規 PS を用いた PDT の臨床応用を促進するために、PS として安全性及び有用性が高いと期待されている BODIPY 誘導体を ^{18}F で標識した新規 ^{18}F 標識 BODIPY 誘導体 PS として開発する。次に、PDT 前の ^{18}F 標識 BODIPY 誘導体 PS の動態から安全性及び腫瘍治療効果推定のための評価手法を構築し、新規 BODIPY 誘導体 PS を用いた PDT の臨床応用への促進に繋げる。さらに、PDT 中の PET 診断の有用性をより一層高めるために、一重項酸素を検出できる蛍光化合物を PET 用トレーサーとして開発し、腫瘍治療効果を評価できる診断手法を構築する。本研究により安全性の高い効率的な腫瘍治療が行える PDT の臨床利用の促進に繋がり、PDT における PET の有用性を高める。

3. 研究の方法

①. ^{18}F 標識 BODIPY 誘導体の開発

PS としての有用性が高いことが報告されている BODIPY 誘導体を探索し、 ^{18}F による同位体交換反応等により ^{18}F 標識化を行い、新規 ^{18}F 標識 BODIPY 誘導体を合成する。合成した新規 ^{18}F 標識 BODIPY 誘導体のげっ歯類におけるインビボ実験を行い、全身動態、腫瘍特異的集積等を定量化し、PET 用イメージング剤としての有用性を評価する。さらに、腫瘍モデル小動物を用いた新規 BODIPY 誘導体 PS による PET イメージングによるの評価を行い、新規 ^{18}F 標識 BODIPY 誘導体 PS の体内動態を評価し、安全性を評価できる指標を確立する。

②. PET 用一重項酸素検出トレーサーの開発

^{11}C 標識もしくは ^{18}F 標識可能で化合物の構造が標識化により大きく変化しない一重項酸素検出可能な化合物を探索し、標識前駆体を合成可能か検討し、目的化合物及び標識前駆体を合成する。次に ^{11}C 標識もしくは ^{18}F 標識化を行い、新規 PET 用一重項酸素検出トレーサーを合成する。合成した新規 PET 用一重項酸素検出トレーサーの小動物におけるインビボ実験を行い、全身動態を定量化し、PET 用トレーサーとしての有用性を評価する。

4. 研究成果

①. ^{18}F 標識 BODIPY 誘導体の開発

PDT の PS であり、PET 用放射性核種である ^{18}F を標識できる BODIPY 誘導体の中から PDT 治療薬として有用性の高いと考えられる化合物である aza-BODIPY 誘導体化合物である ADPM06 (図 1) において ^{18}F 標識法を検討した。 ^{18}F ADPM06 は、同位体交換反応を用いて以下のように合成を行った。 ^{18}F は SepPak QMA から

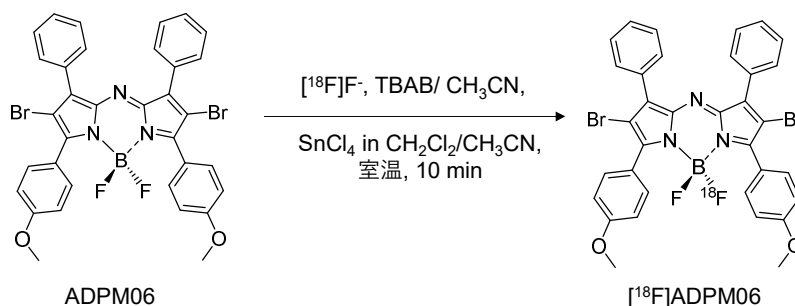


図1. ^{18}F ADPM06標識合成

からテトラブチルアンモニウムを用いて溶出し、乾燥後、塩化スズ (IV) 入り ADPM06 アセトニトリル溶液中で室温 10 分間反応させ、 ^{18}F を標識した (図 1)。 ^{18}F ADPM06 は ^{18}F 標識自動合成装置を用い、合成時間 60 分程度、10%程度の放射化学的収率で合成でき、注射液とした。次に、体内動態を評価するためのインビボ動物実験を行い、合成した ^{18}F ADPM06 を注射液としてマウスに投与し、 ^{18}F ADPM06 の体内動態を評価した。結果として ^{18}F ADPM06 投与後の放射能はマウス全身に広く分布していることが分かり (図 2)、PDT 治療量の ADPM06 (2 mg/kg) をトレーサーと同時投与した場合の体内放射能分布は大きな変化が見られなかった (図 3)。さらに、腫瘍モデルマウスを用いたインビボでの体内分布実験を行い、腫瘍にも放射能が集積していることが分かった (図 4)。結論として、 ^{18}F ADPM06 の放射能体内動態から ADPM06 の体内動態を推定できると考えられ、ADPM06 の PDT 治療における副作用を予期できる可能性を示した。

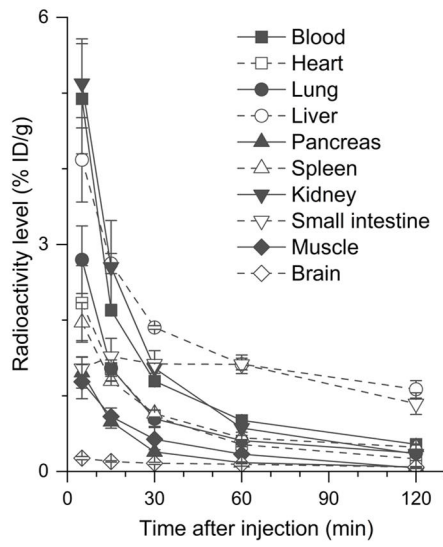


図2. マウスにおける $[^{18}\text{F}]$ ADPM06投与後の放射能体内動態

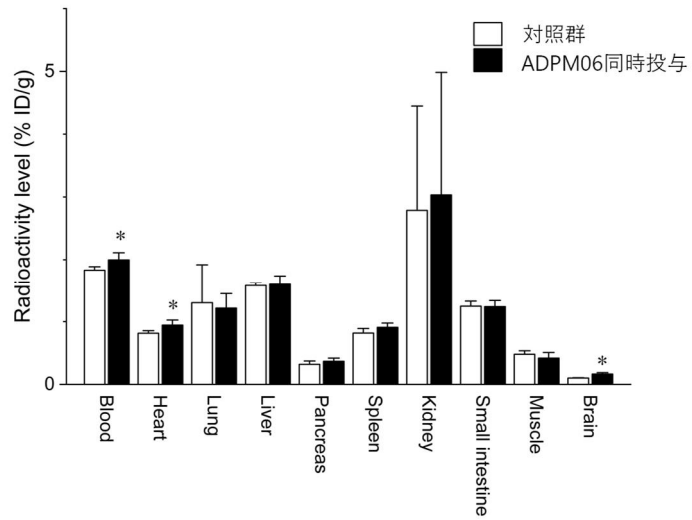


図3. マウスにおけるPDT治療量ADPM06(2 mg/kg)同時投与における $[^{18}\text{F}]$ ADPM06投与30分後の放射能体内分布

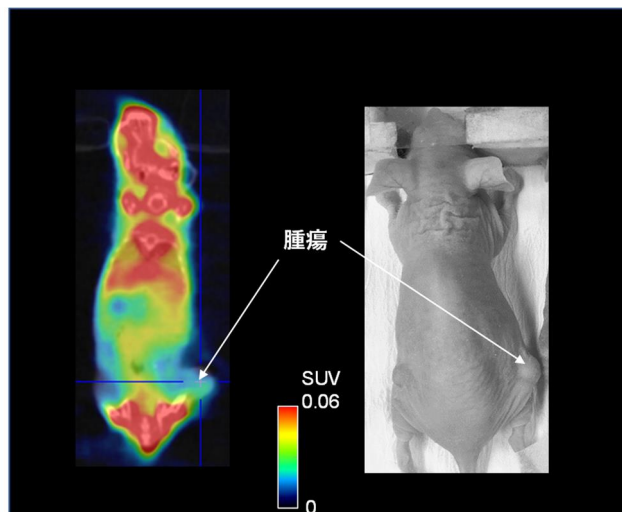


図4. 腫瘍マウスにおける $[^{18}\text{F}]$ ADPM06投与後60分間の全身PET画像

②. PET用一重項酸素検出トレーサーの開発

^{18}F 標識可能であり化合物の構造が標識化により大きく変化しない一重項酸素検出可能な化合物を探索した。次に、新たな活性酸素検出用トレーサーの ^{18}F 標識を可能とするために、簡易的な1ポット ^{18}F 標識フルオロエチル化合成法を確立した(図5) [Ref. 15]。最終的に、一重項酸素を含む活性酸素種 (ROS) イメージング剤として有用なアスコルビン酸誘導体に着目し(図6) [Refs. 16, 17]、 ^{11}C 標識及び ^{18}F 標識合成の可能性を検討し、標識前駆体合成に着手した。PET用ROSイメージング剤としての有用性を評価することにより、光線力学療法の評価手法となりえると考えられた。

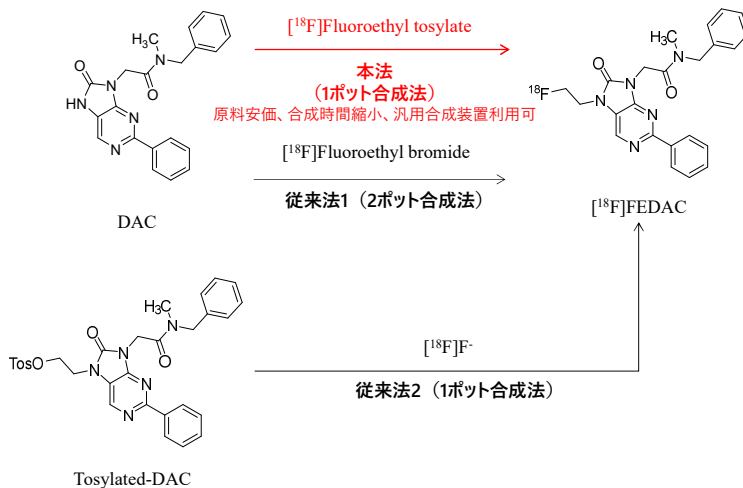


図5. 1ポット ^{18}F 標識フルオロエチル化合成法

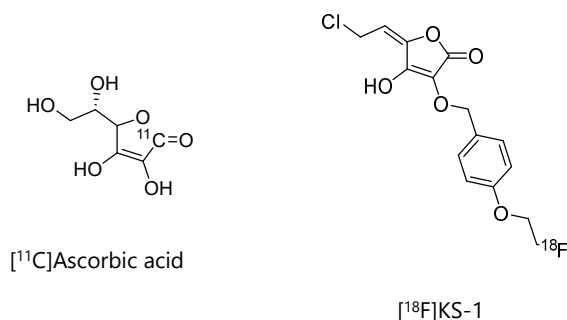


図6. PET用ROSイメージング剤候補

(References)

- (1) Abrahamse H, Hamblin MR. *Biochem J.* 2016;473:347-64.
- (2) Zhang J, Jiang C, Figueiró Longo JP et al. *Acta Pharm Sin B.* 2018;8:137-46.
- (3) Durantini AM, Heredia DA, Durantini JE, et al. *Eur J Med Chem.* 2018;144:651-661.
- (4) Hendricks JA, Keliher EJ, Wan D, et al. *Angew Chem Int Ed Engl.* 2012;51:4603-6.
- (5) Liu S, Lin TP, Li D, et al. *Theranostics.* 2013;3:181-9.
- (6) Epelde-Elezcano N, Palao E, Manzano H, et al. *Chemistry.* 2017;23:4837-48.
- (7) Ozdemir T, Bila JL, Sozmen F, et al. *Org Lett.* 2016;18:4821-3.
- (8) Boubacar P, Sarrhini O, Lecomte R, et al. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2015;12:428-35.
- (9) Kharroubi Lakouas D, Huglo D, et al. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2017;18:236-43.
- (10) Tong X, Srivatsan A, Jacobson O, et al. *Sci Rep.* 2016;6:31551.
- (11) Celli JP, Spring BQ, Rizvi I, et al. *Chem Rev.* 2010;110:2795-838.
- (12) Bérard VJ, Rousseau JA, Cadorette J, et al. *J Nucl Med.* 2006;47:1119-26.
- (13) Sandland J, Malatesti N, Boyle R. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2018;23:281-94.
- (14) You Y. *Org Biomol Chem.* 2018;16:4044-60.
- (15) Kawamura K, Kumata K, Mori W, et al. *Appl Radiat Isot.* 2021;169:109571.
- (16) Carroll VN, Truillet C, Shen B, et al. *Chem Commun.* 2016;52:4888.
- (17) Solingapuram Sai KK, Bashetti N, Chen X, et al. *EJNMMI Res.* 2019;943.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 3件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 1件）

| | |
|---|------------------|
| 1. 著者名 Ohkubo Takayuki, Kurihara Yusuke, Ogawa Masanao, Nengaki Nobuki, Fujinaga Masayuki, Mori Wakana, Kumata Katsushi, Hanyu Masayuki, Furutsuka Kenji, Hashimoto Hiroki, Kawamura Kazunori, Zhang Ming-Rong | 4. 巻 6 |
| 2. 論文標題 Automated radiosynthesis of two 18F-labeled tracers containing 3-fluoro-2-hydroxypropyl moiety, [18F]FMISO and [18F]PM-PBB3, via [18F]epifluorohydrin | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 EJNMMI Radiopharmacy and Chemistry | 6. 最初と最後の頁 23 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s41181-021-00138-9 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である) | 国際共著 - |

| | |
|--|-------------------------|
| 1. 著者名 Kawamura Kazunori, Hashimoto Hiroki, Ohkubo Takayuki, Hanyu Masayuki, Ogawa Masanao, Nengaki Nobuki, Arashi Daisuke, Kurihara Yusuke, Fujishiro Tomoya, Togashi Takahiro, Sakai Toshiyuki, Muto Masatoshi, Takei Makoto, Ishii Hideki, Saijo Takeaki, Matsumura Takehiko, Obokata Naoyuki, Zhang Ming Rong | 4. 巻 65 |
| 2. 論文標題 Automated radiosynthesis of [11C]MTP38-a phosphodiesterase 7 imaging tracer-using [11C]hydrogen cyanide for clinical applications | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals | 6. 最初と最後の頁 140 ~ 146 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jlcr.3965 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|---|-------------------------------|
| 1. 著者名 Kawamura Kazunori, Kumata Katsushi, Mori Wakana, Fujinaga Masayuki, Kurihara Yusuke, Ogawa Masanao, Ohkubo Takayuki, Furutsuka Kenji, Hashimoto Hiroki, Nengaki Nobuki, Zhang Ming-Rong | 4. 巻 169 |
| 2. 論文標題 Radiosynthesis of 18F-fluoroethylated tracers via a simplified one-pot 18F-fluoroethylation method using [18F]fluoroethyl tosylate | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Applied Radiation and Isotopes | 6. 最初と最後の頁 109571 ~ 109571 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.apradiso.2020.109571 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|---|------------------------|
| 1. 著者名 Kawamura Kazunori, Yamasaki Tomoteru, Hiraishi Atsuto, Yiding Zhang, Xie Lin, Fujinaga Masayuki, Mori Wakana, Yusuke Kurihara, Ogawa Masanao, Tsukagoe Kaito, Nengaki Nobuki, Zhang Ming-Rong | 4. 巻 108-109 |
| 2. 論文標題 Automated radiosynthesis of the 18F-labeled BF2-chelated tetraaryl-azadiopyromethenes photosensitizer using isotopic exchange | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 Nuclear Medicine and Biology | 6. 最初と最後の頁 S81 ~ 82 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/S0969-8051(22)00195-0 | 査読の有無 無 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

| |
|---|
| 1. 発表者名 河村 和紀, 栗原 雄祐, 小川 政直, 塚越 海渡, 大久保 崇之, 橋本 裕輝, 念垣 信樹, 張 明栄 |
| 2. 発表標題 簡易的1ポット[18F]フルオロアルキル化標識法を用いた[18F]フルオロメチルコリンの合成検討 |
| 3. 学会等名 第61回日本核医学会学術総会 |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 河村和紀、橋本裕輝、大久保崇之、古塚賢士、藤代智也、富樫隆啓、武藤正敏、森若菜、小川政直、念垣信樹、張明栄 |
| 2. 発表標題 [11C]SL25.1188の臨床提供に向けた安定的製造法及び品質検査法の確立 |
| 3. 学会等名 第60回日本核医学会学術総会 |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 河村和紀、熊田勝志、森若菜、藤永雅之、栗原雄祐、小川政直、大久保崇之、念垣信樹、張明栄 |
| 2. 発表標題 1つの反応容器を用いた[18F]フルオロエチル化合成法の確立 [18F]FEDAC及び[18F]FET合成について |
| 3. 学会等名 第59回日本核医学会学術総会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Kawamura K, Kumata K, Mori W, Fujinaga M, Kurihara Y, Ogawa M, Nengaki N, Zhang MR. |
| 2. 発表標題 Radiosynthesis of [18F]FEDAC with the hydrous 18F-fluorination using Kryptofix 222 and potassium carbonate |
| 3. 学会等名 International Symposium on Radiopharmaceutical Sciences 2019 (国際学会) |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 河村 和紀 , 山崎 友照 , 平石 惇人 , 藤永 雅之 , 栗原 雄祐 , 小川 政直 , 塚越 海渡 , 念垣 信樹 , 謝 琳 , 張 明榮 |
| 2. 発表標題 光感受性物質であるADPM06の18F標識合成及びインピボ評価 |
| 3. 学会等名 第62回日本核医学会学術総会 |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Kawamura Kazunori , Mori Wakana , Fujinaga Masayuki , Yusuke Kurihara , Ogawa Masanao , Tsukagoe Kaito , Takayuki Ohkubo , Hashimoto Hiroki , Nengaki Nobuki , Zhang Ming-Rong |
| 2. 発表標題 Automated radiosynthesis of 18F-fluoromethylated tracers using the simplified one-pot 18F-fluoromethylation via [18F]fluoromethyl tosylate. |
| 3. 学会等名 13th Congress of the World Federation of Nuclear Medicine and Biology (国際学会) |
| 4. 発表年 2022年 |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

| | 氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号) | 所属研究機関・部局・職 (機関番号) | 備考 |
|-------|--|---|----|
| 研究分担者 | 山崎 友照 (Yamasaki Tomoteru) (80627563) | 国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構・量子医科学研究所 先進核医学基盤研究部・主任研究員 (82502) | |
| 研究分担者 | 藤永 雅之 (Fujinaga Masayuki) (70623726) | 国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構・量子医科学研究所 先進核医学基盤研究部・主任研究員 (82502) | |
| 研究分担者 | 謝 琳 (Xie Lin) (30623558) | 国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構・量子医科学研究所 先進核医学基盤研究部・主任研究員 (82502) | |

6. 研究組織（つづき）

| | 氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号) | 所属研究機関・部局・職 (機関番号) | 備考 |
|-------|---|--|----|
| 研究分担者 | 張 明栄 (Zhang Ming-Rong) (80443076) | 国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構・量子医科学研究所 先進核医学基盤研究部・部長 (82502) | |

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

| 共同研究相手国 | 相手方研究機関 |
|---------|---------|
| | |