

機関番号：10101

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2008～2010

課題番号：20790906

研究課題名（和文）

PD-ECGF を標的とした腫瘍イメージング：新規核酸誘導体による基礎的検討

研究課題名（英文） PD-ECGF-targeted tumor imaging with new radiolabeled uracil derivatives

研究代表者

西嶋 剣一（NISHIJIMA KEN-ICHI）

北海道大学・大学院医学研究科・特任講師

研究者番号：60364254

研究成果の概要（和文）：血管新生因子 PD-ECGF は、正常組織に比べ様々な固形腫瘍において高レベルで発現していることが知られている。本研究では、PD-ECGF の発現、すなわち血管新生をイメージングできる放射性薬剤の開発を目的とした。PD-ECGF に親和性をもつ C-11 標識および I-123/125 標識ウラシル誘導体（BOMU、IIMU）は、PD-ECGF の発現が確認された腫瘍において特異的な取り込みを認めた。本研究の成果は、RI 標識ウラシル誘導体による血管新生イメージングを可能にするものと示唆された。

研究成果の概要（英文）：The angiogenic factor PD-ECGF/TP is expressed at high levels in a variety of solid tumors compared with normal tissue. In this study, we aimed at the development of radiopharmaceuticals for imaging of angiogenesis. To develop a radioprobe for angiogenesis imaging, a radiolabeled uracil-based PD-ECGF/TP inhibitor, BOMU and IIMU were designed and radiosynthesized. These radiolabeled uracil derivatives showed high and specific accumulation of in PD-ECGF/TP-expressing tumors. These finding indicate that radiolabeled uracil deserves further evaluation as a novel single photon emission computed tomography (SPECT) probe for imaging of tumor angiogenesis.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2009年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2010年度	800,000	240,000	1,040,000
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・放射線科学

キーワード：放射性医薬品、血管新生

1. 研究開始当初の背景

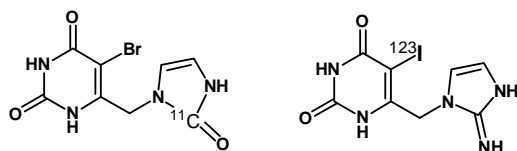
高齢化に伴い、増加の一途をたどる悪性腫瘍の早期発見と治療における画像診断の重要性はますます高まっている。核医学診断法は、放射性薬剤により生体内の機能的、生化学的情報を画像化する、すなわち、疾患に特異的な分子の分布などを非侵襲的に描出することのできる「分子イメージング技術」の一つである。核医学診断法は、用いられる放

射線の性質に基づき、ポジトロン放出核種による PET とシングルフォトン放出核種による SPECT の 2 つに分類される。¹⁸F-FDG を用いる FDG-PET 検査は、悪性腫瘍の鑑別診断、進捗度評価、治療法の選択、治療効果判定などにおいてきわめて有効性の高いことが報告されている。しかし、最近の研究により、FDG は、悪性腫瘍への高い集積性を示すが、一部良性疾患にも集積することが明らかとなり、

本検査による腫瘍鑑別診断の限界が指摘され始めている。一方 SPECT は、利用範囲、経済性の点において、PET よりもはるかに優れている。しかし、良質のシングルフォトン放出核種標識薬剤 (SPECT 薬剤) を用いた腫瘍イメージングの検査は少ないのが現状である。

多くの腫瘍細胞には、様々な酵素が対照正常組織に比べ高濃度に発現し、腫瘍形成や細胞分裂に関与していると考えられており、これら酵素を標的とした抗癌剤の有効性が期待され、活発に研究が行われている。チミジンをチミンと 2-デオキシリボース-1-リン酸に可逆的に変換する酵素であるチミジンホスホリラーゼ (TP) は、抗がん剤である 5-FU や 5-FU のプロドラッグであるドキシフルリジンやテガフルの活性化にも関係する。さらには、血管新生因子である血小板由来血管内皮細胞増殖因子 (PD-ECGF) と同一であることが発見され、その酵素活性は、腫瘍の血管新生、浸潤、転移と関連がある。また TP の酵素活性阻害薬が血管新生を阻止しアポトーシスを誘導して腫瘍の増殖、浸潤、転移を抑制することが期待されている。

研究代表者らは、腫瘍において観察される血管新生に着目し、新規腫瘍標的放射性薬剤の開発が可能であると考え検討を行った (若手研究 (B) : 課題番号 18790908)。その結果、いくつかの TP 阻害化合物の合成に成功し、さらにそれらの化合物の C-11 標識、I-125 標識合成を達成することができた。



^{11}C -標識ならびに ^{125}I - (^{123}I -) 標識 TP 阻害化合物

2. 研究の目的

本研究では、PD-ECGF/TP の発現すなわち腫瘍における血管新生を *in vivo* で選択的にイメージングできる放射性薬剤の開発を目的としている。これまでに設計・合成に成功した PD-ECGF/TP に親和性かつ高い比放射能を有する C-11 標識化合物 (BOMU) および I-125 標識化合物 (IIMU) について、その有用性と妥当性を検証することとした。

3. 研究の方法

(1) C-11 標識化合物 (BOMU) および (2) I-125 標識化合物 (IIMU) の有用性の評価
ヒト皮膚がん細胞 (A431)、またはヒト胃がん細胞 (AZ521) を用いてこれら腫瘍細胞への集積性 *in vitro* で検討した。

A431 細胞、または AZ521 細胞を移植したヌードマウスに尾静脈内投与し、放射能の組織分

布を評価した。また I-125 標識化合物 (IIMU) においては非標識 IIMU の同時投与による取り込み阻害実験を実施した。

(3) I-125 標識化合物 (IIMU) の安定性、有効性の評価

①標品の製造：試験に使用するため高純度な非標識 IIMU の大量製造を実施した。

②安定性の評価：

I-125 標識化合物 (IIMU) の安定性を検証するため、標品 (非放射性 IIMU) の生理食塩水中での安定性を HPLC により測定した。

I-125 標識化合物 (IIMU) の安ヒト血清 (試薬) での安定性を HPLC により測定した。

③有効性の評価：限界ろ過法によるタンパク結合率を測定した。

(4) I-123 による I-123 標識化合物 (IIMU) の標識合成検討

I-125 標識化による合成経路を参考に I-123 による標識合成を検討した。

4. 研究成果

(1) C-11 標識化合物 (BOMU) の有用性の評価
C-11 標識化合物 (BOMU) は、ウェスタンブロット法により PD-ECGF/TP の発現が確認された A431 細胞とインキュベートした結果、放射能集積量が経時的に増加し、腫瘍細胞への取り込みを認めた。A431 細胞移植マウスに C-11 標識化合物 (BOMU) 投与したところ腫瘍では投与 5 分後から放射能集積が観察され、その集積量は 60 分後においても維持された。これらの結果から、C-11 標識化合物 (BOMU) は、腫瘍への経時的な取り込みの増加を認めたものの、半減期が長い核種で標識した化合物が、より有用なイメージング薬剤になりうることを示唆された。

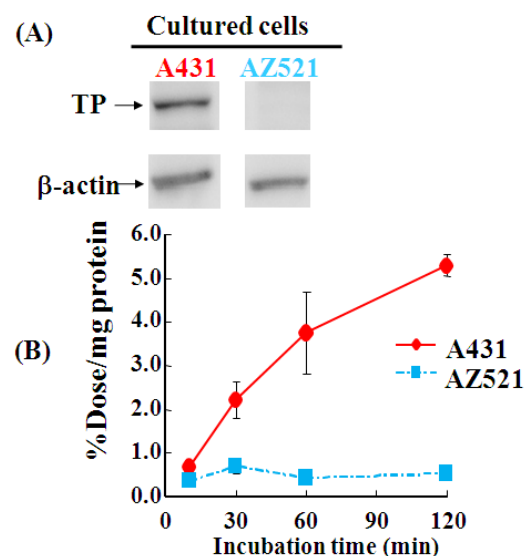


Fig. Western blot analysis of tumor cell

lysates (A) and uptake of [¹²⁵I]IIMU in cultured A431 and AZ521 tumor cells (B).

(2) I-125 標識化合物 (IIMU) の有用性の評価

I-125 標識化合物 (IIMU) は、PD-ECGF/TP の発現が確認された A431 細胞では、放射能集積量が経時的に増加し、腫瘍細胞への取り込みを認めた。一方、PD-ECGF/TP 発現の低い AZ521 細胞では、取り込みの増加は認められなかった。さらに非放射性ヨウ素化合物の添加によりその取り込みは阻害された。A431 細胞移植マウスに I-125 標識化合物 (IIMU) を投与したところ腫瘍への高い取り込みが認められ、標的とする TP との特異的結合に起因している可能性が示唆された。

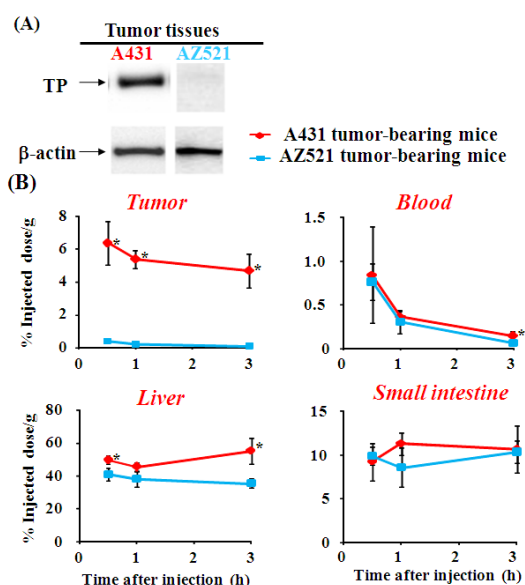


Fig. Biodistribution of [¹²⁵I]IIMU in A431 or AZ521 tumor-bearing nude mice.

(3) I-125 標識化合物 (IIMU) の安定性、有効性の評価

①標品の製造：試験に使用可能な高純度の標品 (非放射性 IIMU) を得た。
 ②安定性の評価：標品 (非放射性 IIMU) は、調製後、遮光、室温の保存条件において6時間の安定性が確認された。さらに冷蔵 (5℃) で2日間、引き続き、室温で6時間の保存条件においても安定であることが確認された。I-125 標識 IIMU は、ヒト血清において分解は見られず安定であることを確認した。
 ③有効性の評価：タンパク結合率は、限外ろ過法による測定の結果 38%であった。

(4) I-123 による I-123 標識化合物 (IIMU) の標識合成検討：低い放射能スケールでの標識実験において高放射化学的収率で I-123 標識 IIMU を得ることができた。動物実験なら

びに臨床研究のため放射能のスケールをあげ、合成条件の最適化を目指している。

以上、本研究では、PD-ECGF/TP の発現すなわち腫瘍における血管新生を in vivo で選択的にイメージングできる放射性薬剤の開発を目的とし、C-11 標識化合物 (BOMU) および I-125 標識化合物 (IIMU) のイメージング剤としての有用性と妥当性を検証した。本研究の成果は、新しい血管新生イメージングを可能にするものであり、特に I-123 標識化合物 (IIMU) に関しては、ヒトへの応用、臨床研究を目指し発展させていきたい。

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 5 件)

- ① Akizawa H, Zhao S, Takahashi M, Nishijima K, Kuge Y, Tamaki N, Seki K, Ohkura K, In vitro and in vivo evaluations of a radioiodinated thymidine phosphorylase inhibitor as a tumor diagnostic agent for angiogenic enzyme imaging, *Nucl Med Biol*, 査読有 37, 2010, 427-432.
- ② Seki K, Nishijima K, Sanoki K, Kuge Y, Takahashi M, Akizawa H, Tamaki N, Wiebe LI, Ohkura K, New [¹¹C]phosgene based synthesis of [¹¹C]pyrimidines for positron emission tomography. *Heterocycles*, 査読有, 77, 2009, 1307-1321.
- ③ 大倉一枝、高橋正幸、西嶋剣一、関興一、チミジンホスホリラーゼ標的イメージング剤の開発、: 放射線生物研究, 査読無, 44, 2009, 37-50.
- ④ Takahashi, K. Seki, K. Nishijima, S. Zhao, Y. Kuge, N. Tamaki, K. Ohkura, Synthesis of a radioiodinated thymidine phosphorylase inhibitor and its preliminary evaluation as a potential SPECT tracer for angiogenic enzyme expression. *J. Label. Compd. Radiopharm.*, 査読有, 51, 2008, 384-387.
- ⑤ Masayuki Takahashi, Koh-ichi Seki, Ken-ichi Nishijima, Yuji Kuge, Nagara Tamaki, and Kazue Ohkura, Synthesis of ¹¹C-Labeled Uracil Derivative for a PET Tracer Targeting Thymidine Phosphorylase, *Heterocycles*, 査読有, 76, 2008, 237-241.

〔学会発表〕（計 5 件）

- ① Li H, Zhao S, Jin Y, Nishijima K, Akizawa H, Ohkura K, Seki K, Tamaki N, Kuge Y: A novel radiolabeled probe for molecular imaging of thymidine phosphorylase: Suppressed accumulation into tumor cells by target gene knockdown. 2010 World Molecular Imaging Congress, September 8-11, 2010. Kyoto, Japan.
- ② 大倉一枝、秋澤宏行、高橋正幸、趙 松吉、大島伸宏、藤岳夕歌、西嶋劍一、久下裕司、関興一、玉木長良：放射性がん血管新生イメージングプローブの創製．日本化学会第 90 春季年会、2010 年 3 月 26-29 日（大阪）
- ③ 関興一、西嶋劍一、高橋正幸、趙 松吉、向田理恵、秋澤宏行、久下裕司、玉木長良、大倉一枝：[¹¹C]phosgene を用いる oxoimidazolidinyl- methyluracil の合成とがんイメージングプローブへの応用．日本化学会第 90 春季年会、2010 年 3 月 26-29 日（大阪）
- ④ 大倉一枝、高橋正幸、西嶋劍一、趙 松吉、秋澤宏行、久下裕司、玉木長良、関興一：チミジンホスホリラーゼ標的イメージング剤の合成とその有用性に関する基礎的評価．第 48 回日本核医学会学術総会、2008 年 10 月 24-26 日（千葉）
- ⑤ Seki K, Takahashi M, Zhao S, Nishijima K, Kuge Y, Tamaki N, Ohkura K: Synthesis of a Potential SPECT Tracer for Angiogenic Enzyme Expression Graduate School of Medicine. 2008 World Molecular Imaging Congress, September, 2008, Nice.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

西嶋 劍一 (NISHIJIMA KEN-ICHI)

北海道大学・大学院医学研究科・特任講師

研究者番号：60364254