

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 5月30日現在

機関番号：13401

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2011

課題番号：22791182

研究課題名（和文） アンドロゲン受容体イメージング薬剤の簡便合成法の確立ならびに薬物動態の
解明研究課題名（英文） Development of automatic synthesis of an androgen receptor imaging
tracer for positron emission tomography

研究代表者

森 哲也 (MORI TETSUYA)

福井大学・高エネルギー医学研究センター・助教

研究者番号：40397287

研究成果の概要(和文): フッ素-18 標識フルオロジヒドロテストステロン (16β - ^{18}F fluoro- 5α -dihydrotestosterone、FDHT) は、PET 用アンドロゲン受容体イメージング薬剤として前立腺ガン等の診断に有用性が期待されている。しかし、既報の合成法では難易度が高いため、海外においても高度な専門技能を有する施設でしか利用することができない。本研究では、臨床使用されている市販カセット型 PET 薬剤自動合成装置を用いて、この装置に適用可能な温和な条件下での FDHT 合成法の最適化を行なった。合成は、院内サイクロトロンで製造したフッ素 18 を用い、標識、還元、加水分解反応の順に実施した。標識前駆体の 16α -[[[Trifluoromethyl)sulfonyl]oxy]-3,3-(ethylenedioxy)anhydrostan-17-one を 4 mg、2 mg、1 mg と変動させ、それぞれ無水アセトニトリル 2 mL に溶解後、相関移動触媒下でフッ素 18 と 125°C 10 分間標識反応を行った。次いで、水素化ホウ素ナトリウム 1.5 mg/エタノール溶液を加え室温で 5 分間 17 位のケトン基を特異的に還元させた。加水分解反応では、0.1 mol/ml 溶液で 85°C 15 分間反応させて目的物を得た。次いで、HPLC による分離精製を行い、生理食塩水に溶媒置換後 0.22 μm メンブランフィルターで滅菌ろ過し注射薬剤として製することに成功した。標識前駆体量を変動させた検討では、4 mg で最も安定した収率が得られた。得られた薬剤について、マウスによる急性毒性試験を行ない異常は認められなかった。本研究により、特定の PET 施設でしか利用できなかった FDHT の製造がカセット型 PET 薬剤自動合成装置で可能となり、アンドロゲンレセプターに関係する病態の診断・解明に大いに貢献できると考えられる。

研究成果の概要(英文): Androgen receptor (AR) expression is an important factor to predict tumor responsiveness to hormonal therapy in prostate cancer. 16β - ^{18}F fluoro- 5α -dihydrotestosterone (^{18}F FDHT) is a candidate for AR imaging PET radiopharmaceutical, however, the reported method was difficult to adopt an automatic modules because of the complex reaction conditions. In this study, we developed an automatic synthesis method for ^{18}F FDHT using a plastic cassette-type automatic PET radiopharmaceutical synthesizer. We chose a TRACERlab MX_{FDG} (GE) as the module for ^{18}F FDHT synthesis because it has the flexibility programming and accepts modification to the cassette layout in aseptic condition. Optimum labeling

condition was investigated by changing several factors (amount of precursor and NaBH₄, temperature and time of labeling, reduction and hydrolysis etc.) and the optimized condition is as follows: 1, 2 or 4 mg of 16 α -[[trifluoromethyl)sulfonyl]oxy]-3,3-(ethylenedioxy)androstan-17-one in abs. acetonitrile was heated at 125°C for 10 min with dried [¹⁸F]fluoride. The resultant solution was evaporated, and then reduced with NaBH₄ in ethanol at room temperature. The hydrolysis with 0.1N HCl was carried out for 15 min. Then the preparative HPLC was performed using a Cosmosil 5C₁₈-AR-2, 20 mm I.D. x 250 mm, Nacalai Tesque, 50% acetonitrile/water, 8.0 ml/min, 210 nm) was performed. The desired radioactive fraction was collected to a round-bottom flask containing sodium ascorbate as a radical scavenger. The solvent was removed *in vacuo* and the residue was dissolved in 10 ml of saline, and then passed through a sterile 0.22 μ m filter to a pyrogen-free vial. The reduction using NaBH₄ was completed in 5 min. The hydrolysis was inadequacy at RT in 15 min but it was accomplished at 85°C. The radiochemical yield in the final product was 13.4 \pm 4.4% (n=7). The total synthesis time including the preparative HPLC and the preparation process for an injection was less than 100 min. The quality control including acute toxicity test using mouse was confirmed that the final product was high quality and adapted for clinical research.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2011年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

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：放射性診断薬・PET・薬剤開発・アンドロゲンレセプター

1. 研究開始当初の背景

前立腺ガンは、米国では発生率が高く、罹患率と死亡率は男性ガン患者でそれぞれ第一位、第二位の割合を占めている。一方、本邦では、罹患率、死亡率とも米国に比べ低いが、この差は食生活の違いにあるとされている。しかしながら、昨今の食生活の欧米化に伴い、近い将来男性ガン患者数が急増すると予想されている。前立腺ガン患者のほとんどは、初診時にはホルモン依存性を示すため、LH-RH analog や抗アンドロゲン製剤の投与等の内分泌療法が用いられる。しかし、患者間でその有効性、予後が大いに異なることから、ガンのホルモン依存性が治療効果のカギ

を握っていると考えられている。前立腺ガンのホルモン依存性は、ガン細胞の核表面に存在するアンドロゲン受容体 (AR) により決定されるため、その分布や密度が分かれば、治療方針の決定に大いに役立つと考えられる。F-18 標識フルオロジヒドロテストステロン (16 β -[¹⁸F]fluoro-5 α -dihydrotestosterone、以下 FDHT) は、男性ホルモンのひとつであるテストステロンの代謝物、デヒドロテストステロン (DHT) の誘導体で、16 位の位置がポジトロン核種 ¹⁸F で標識されたポジトロン断層撮影 (PET) 用 AR イメージング薬剤である。この薬剤は AR に親和性を有し、最近の臨床研究では、前立腺ガン患者に対して

FDHT がガン組織に集積し、抗アンドロゲン剤のフルタミドの前投与により、その集積が低下することが明らかにされている。しかし、FDHT の前立腺ガン細胞に対する集積量と AR 密度との関係は未だ明らかになっていない。その一因として、既報の FDHT の合成法は難易度が高く、自動合成化が難しいため、海外でもごく限られた施設でしか実施されていないことが挙げられる。

2. 研究の目的

本研究は、前立腺ガンに深く関与しているアンドロゲン受容体の生体内分子イメージングを目指し、PET 用薬剤 F-18 標識フルオロジヒドロテストステロン (16 β -[¹⁸F]fluoro-5 α -dihydrotestosterone 以下 FDHT) の簡便合成法の確立およびその動態評価を目的とする。合成装置には、臨床適応可能なカセット型 PET 薬剤自動合成装置を用い、化学的・工学的な専門知識なしにルーチン合成可能なシステムの構築を行う。さらに得られた FDHT を用いて FDHT とアンドロゲン受容体との関係を明らかにすることで、いまだ不明な点が多い前立腺ガンの病態解明を行う。

3. 研究の方法

FDHT の合成は、フッ素化、還元、加水分解の工程で行う。出発原料の 16 α -[[(Trifluoromethyl) sulfonyl]oxy]-3, 3-(ethylenedioxy)anhydrostan-17-one は市販品を用いる。この原料を相関移動触媒の Kryptofix2.2.2 存在下、サイクロトロンで製造した ¹⁸F イオンと標識反応させる。次いで、水素化ホウ素ナトリウム/エタノール溶液で室温で 17 位のケトン基を特異的に還元した後、酸加水分解反応を行って目的物を得る。その後、高速液体クロマトグラフ法 (HPLC) により精製をし、溶媒置換後、生理食塩水に溶解させ製する。合成収率は 10% 以上 (減衰補正後)、製造時間は ¹⁸F の半減期である 110 分以内を目指す。また、一般的に生体内のごく微量しかない受容体のイメージング薬剤には高い比放射能が要求されることから、最終物に含まれる非放射性 FDHT 量を、UV 法もしくはより高感度な LC-MS、LC-MSMS 法で定量する。得られた FDHT について、動物を用いた急性毒性試験等の臨床研究実施に向けた品質管理検定を実施する。

4. 研究成果

FDHT 合成の出発原料である 16 α -[[(Trifluoromethyl) sulfonyl]oxy]-3, 3-(ethylenedioxy)anhydrostan-17-one (1 mg, 2 mg, 4 mg) を無水アセトニトリルに溶解し、相関移動触媒の Kryptofix2.2.2 存在下、¹⁸F イオンと標識反応を 125°C10 分間で行った。

次いで、反応容器に水素化ホウ素ナトリウム 1.5 mg/エタノール溶液を加え室温で 5 分間 17 位のケトン基を特異的に還元させた。加水分解反応では、0.1 mol/mL の塩酸で 85°C15 分間反応させて目的物を得た。その後、高速液体クロマトグラフ (HPLC) 法による分離精製を行い、溶媒置換して生理食塩水に溶解させ注射剤として製した。得られた製剤について、臨床研究に適した品質管理検定試験 (放射化学的純度、半減期、pH、エンドトキシン、無菌試験等) を行い、さらにマウスを用いた急性毒性試験を実施し製剤の安全性を確認した。

FDHT 合成の結果、使用する前駆体量が少なくと収量が安定しない傾向が見られた。そのため、前駆体量は 4 mg が適当であると考えられた。分取用カラムを用いた HPLC 分離精製では、50%アセトニトリルで 16 α 体と 16 β 体を分離する条件を確立し (保持時間はそれぞれ 28.9 分、27.3 分)、高品質な薬剤として製することに成功した。品質管理検定試験では、予め定めた試験項目に適合することが確認されたことに加え、製剤の放射化学的安定性を検討した結果、生理食塩水のみで調製した場合でも [¹⁸F]FES のような顕著な放射線分解は認められず 6 時間後でも安定であることがわかった。マウスを用いた急性毒性試験では、体重換算で 100 倍量の製剤を投与した後 14 日間にわたり体重計測を実施して、コントロールとの間に有意差がないことが確認された。現在、福井大学において臨床研究実施に向けて手続きを進めている。

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)

[学会発表] (計 2 件)

- ① 森 哲也、清野 泰、藤林靖久、岡沢秀彦、アンドロゲンレセプターイメージングを目的とした F-18 標識 FDHT の簡便合成法の開発、日本分子イメージング学会第 7 回総会学術集会、2012. 5. 24、浜松
- ② T. Mori, C. S. Dence, H. Okazawa, M. J. Welch, Y. Fujibayashi, Y. Kiyono, Development of automatic synthesis of 16 β -[¹⁸F]fluoro-5 α -dihydrotestosterone using a plastic cassette-type FDG synthesizer, the Annual Congress of the European Association of Nuclear Medicine (EANM 2011), 2011. 10. 15, Birmingham (UK), European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging, 38 (Supplement), 2011. 10

6. 研究組織

(1) 研究代表者

森 哲也 (TETSUYA MORI)
福井大学・高エネルギー医学研究センター・助教
研究者番号：40397287

(2)研究分担者
なし

(3)連携研究者
なし

(4)研究協力者
清野 泰 (KIYONO YASUSHI)
福井大学・高エネルギー医学研究センター・教授
研究者番号：50305603

岡沢 秀彦 (OKAZAWA HIDEHIKO)
福井大学・高エネルギー医学研究センター・教授
研究者番号：50360813

藤林 康久 (FUJIBAYASHI YASUHISA)
放射線医学総合研究所・分子イメージング
研究センター・センター長
研究者番号：50165411

M. J. Welch
Washington University in St. Louis ・
Department of Biomedical Engineering ・
Professor

J. A. Katzenellenbogen
University of Illinois ・ Department of
Chemistry ・ Professor