

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年6月5日現在

機関番号：82110

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2012

課題番号：23791464

研究課題名（和文） Br-77 標識 MBBG を用いたオージェ電子による RI 内用療法の基礎的研究

研究課題名（英文） Basic investigation on radionuclide therapy with auger electron by using Br-77 labeled MBBG

研究代表者

渡辺 茂樹 (WATANABE SHIGEKI)

独立行政法人日本原子力研究機構・量子ビーム応用研究部門・研究員

研究者番号：10450305

研究成果の概要（和文）：

悪性褐色細胞腫の治療には β 線を放出する I-131 を標識したメタヨードベンジルグアニジン (I-131 標識 MIBG) による内用放射線療法が行われている。しかし、その治療効果は限定的であることから、根治可能な治療法が切望されている。そこで、本研究では β 線に比べ高い細胞障害作用を持つオージェ電子に着目し、オージェ電子放出核種である Br-77 を標識したメタブロモベンジルグアニジン (Br-77 標識 MBBG) を合成して、悪性褐色細胞腫に対する治療効果を明らかにすることを目的として研究を行った。はじめに、本研究を進めるにあたり大量の Br-77 標識 MBBG が必要となるが、従来の標識方法であるヨウ素-臭素ハロゲン交換反応では標識率が低いことから、高収率で Br-77 を導入できる合成法としてホウ素-臭素交換反応について検討を行った。

その結果、標識前駆体である 3-Pinacolateboryl-benzyl(N,N',N''-triBoc)guanidine を合成した。しかしながら Br-77 との標識実験では反応の進行が認められなかった。そこで従来法であるヨウ素-臭素ハロゲン交換反応を用いて Br-77 標識 MBBG を合成し、得られた Br-77 標識 MBBG を用いて褐色細胞腫細胞 (PC-12) への取り込みについて検討を行った。その結果、MBBG 投与 3 時間後で 30 %dose/g の MBBG が褐色細胞腫細胞に取り込まれることが明らかとなった。しかし、細胞内局在の詳細を明らかにすることはできなかった。本研究については、引き続き検討を進める予定である。

研究成果の概要（英文）：

β -emitting radiopharmaceutical, I-131 labeled *m*-iodobenzylguanidine (I-131 MIBG) has been used for radionuclide therapy of malignant pheochromocytoma. Therapeutic effect of this approach is however less than expected. As auger electron possesses higher toxicity against tumor cells than β -emitting radionuclide therapy, we challenged to reveal efficacy of auger electron by using auger emitting radionuclide Br-77 labeled *m*-bromobenzylguanidine. First of all, we tried to prepare Br-77 labeled MBBG via boron-bromine exchange reaction which is expected to obtain enough amount of radioactivity to radionuclide therapy. Although desired boronate compound, 3-Pinacolateboryl-benzyl(N,N',N''-triBoc)guanidine, was synthesized, following radiobromination was not proceeded at all. We then successfully synthesized Br-77 labeled MBBG by iodine-bromine exchange reaction which is conventional route of MBBG synthesis. We conducted cellular uptake studies, and the results showed that MBBG was taken up into PC-12 cells at 3 hours after incubation. However, we don't revealed localization of Br-77 MBBG in PC-12 cells.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,200,000	960,000	4,160,000

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：核医学(PETを含む), Br-77, オージェ電子, 内用放射線治療, 褐色細胞腫

1. 研究開始当初の背景

悪性褐色細胞腫の治療にはβ線を放出する¹³¹Iを標識したメタヨードベンジルグアニジン(MIBG)による内用放射線療法が行われている。しかし、その治療効果は限定的であることから、根治可能な治療法が切望されている。

2. 研究の目的

本研究では、β線に比べ高い細胞障害作用を有するオージェ電子に着目し、オージェ電子放出核種であるBr-77を標識したメタブロモベンジルグアニジン(Br-77標識MBBG)を合成する。特に本研究を進めるにあたり大量のBr-77標識MBBGが必要となることから、高収率でのBr-77導入が期待できるホウ素-臭素交換反応を経由するBr-77標識MBBGの合成を検討した。そして、得られたBr-77標識MBBG悪性褐色細胞腫への取込および治療効果についてIn vitroおよびin vivoレベルで明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

(1) Br-77の製造は日本原子力研究開発機構高崎量子応用研究所にあるAVFサイクロトロンを用いて行った。Br-77の生成には^{nat}Se(p,xn)⁷⁷Br反応を用い、照射試料としてCu₂Se(濃縮度:99.7%)を用いた。試料に入射エネルギー20 MeV(電流値:5 μA)の陽子ビームを照射した。一定時間冷却後に、試料を約1100℃まで加熱してBrを気化させ、Arガスにより回収する乾式蒸留法により目的の核種を分離・精製した。

(2) Br-77標識MBBGの合成は、はじめに3-ブロモベンジルアミンを出発原料として、

N,N',N''-トリ(tert-ブトキシカルボニル)グアニジンとTHF中室温で反応させることで、3-ブロモベンジル(N,N',N''-トリ(tert-ブトキシカルボニル)グアニジン)を合成した。その後、ビスピナコレートジボロンとボロン酸誘導体である3-ピナコレートボリルベンジルN,N',N''-トリ(tert-ブトキシカルボニル)グアニジンを合成した。得られたボロン酸誘導体と製造したBr-77を用いて、N-クロロスクシンイミド存在下室温でのボロン-臭素交換反応によるBr-77標識MBBGの合成について検討した。(図1)

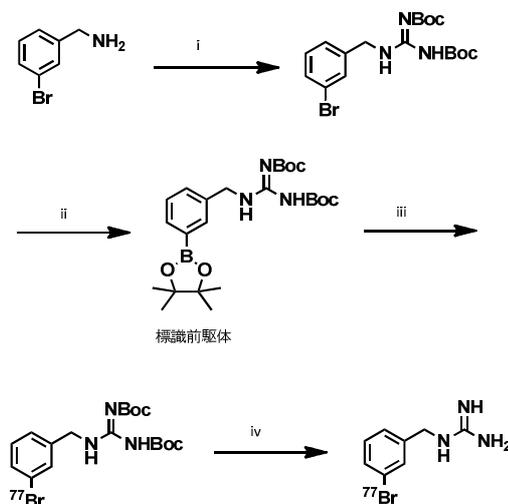


図1 ホウ素-臭素交換反応を経由したBr-77標識MBBGの合成経路

(i) N,N',N''-トリ(tert-ブトキシカルボニル)グアニジン/THF, (ii) ビスピナコレートジボロン, Pd(dppf)Cl₂-CH₂Cl₂, 酢酸ナトリウム, DMSO, (iii) Br-77, N-クロロスクシンイミド, 1%酢酸含有メタノール水溶液, (iv) トリフルオロ酢酸

(3) In vitroでの実験として細胞取込実験を実施した。方法は合成したBr-77標識MBBGを褐色細胞腫細胞PC-12へと投与し、37℃で一

定時間インキュベートし、培養液と細胞を分離してそれぞれに含まれる放射エネルギーを測定した。得られたそれぞれの放射能の割合から、細胞内の取込率を算出した。

4. 研究成果

はじめにホウ素—臭素交換反応を経由した ^{77}Br -MBBG の合成について検討した。合成は、3-ブロモベンジルアミンを出発原料として、3-ブロモベンジル(N,N',N''-トリ(tert-ブトキシカルボニル)グアニジン)を収率 17% で合成した後、ボロン酸誘導体 3-ピナコレートボリルベンジル N,N',N''-トリ(tert-ブトキシカルボニル)グアニジンを収率 5% で合成した。得られたボロン酸誘導体と製造した Br-77 (10 kBq) を用いて、N-クロロスクシンイミド存在下による Br-77 標識について検討を行った。その結果、反応が全く進行していないことが明らかとなった。

そこで従来法であるヨウ素—臭素ハロゲン交換反応を用いて Br-77 標識 MBBG を合成を行うこととした。(図 2)

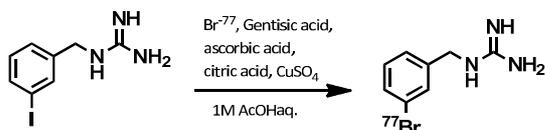


図 2 ヨウ素—臭素ハロゲン交換反応による Br-77 標識 MBBG の合成

方法は、非放射性 MIBG を標識前駆体としてゲンチシン酸、アスコルビン酸、クエン酸および硫酸銅存在下 1M 酢酸水溶液中で反応させることにより合成した。その結果、収率 23% で目的とする Br-77 標識 MBBG を合成した。

得られた Br-77 標識 MBBG を用いて褐色細胞腫細胞(PC-12)への取り込みについて検討した。その結果、MBBG 投与 3 時間後で約 30 %dose/g の MBBG が褐色細胞腫細胞に取り込まれることが明らかとなった(図 3)。その取り込みは MIBG に比べて若干低いことを結果となった。しかし、細胞内局在の詳細を明らかにすることはできなかった。また、褐色細胞腫移植マウスを用いた治療実験を行う予定であったが、実験を行うために必要となる放射

エネルギーの Br-77 標識 MBBG を得ることができなかったため、実施できなかった。

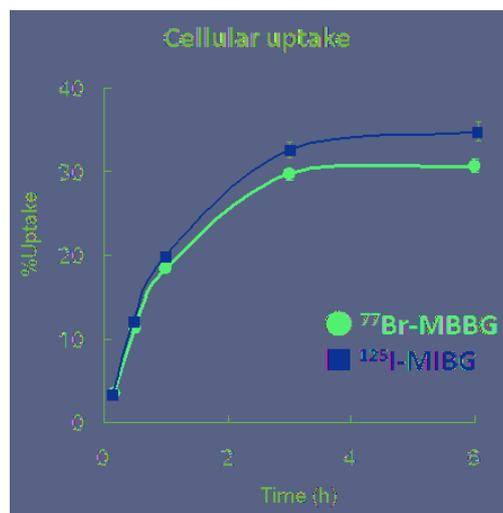


図 3 PC-12 細胞における Br-77 標識 MBBG および I-125 標識 MIBG の取込

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 3 件)

- ① Shigeki Watanabe, Recent Advances of Radio-bromine chemistry, 20th International Symposium on Radiopharmaceutical Science (ISRS2013), 2013/5/12, Jeju, Korea
- ② 渡辺 茂樹 原子力機構における新規 PET 核種の製造と標識薬剤の開発研究、薬物動態・個体差要因可視化による個別化 EBM の推進 学術講演会、2013 年 2 月 8 日、金沢大学
- ③ Shigeki Watanabe, Synthesis and Biological Evaluations of Radiobrominated Compounds for Tumor Imaging, 7th International Symposium on Radiohalogens, 2012/9/18, Whistler, BC, Canada

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

[その他]

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

渡辺 茂樹 (WATANABE, SHIGEKI)

独立行政法人日本原子力研究開発機構・量子
ビーム応用研究部門・研究員

研究者番号：10450305

(2) 研究分担者 なし

研究者番号：

(3) 連携研究者

花岡 宏史 (HANAOKA, HIROFUMI)

千葉大学大学院薬学研究府助教

研究者番号：50361390