

令和 4 年 6 月 15 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19H03595

研究課題名(和文) 18F標識カチオン型心筋血流薬剤のトランスレーショナル研究

研究課題名(英文) Translational research of a 18F-labeled cation type myocardium perfusion imaging agent

研究代表者

古本 祥三 (Furumoto, Shozo)

東北大学・サイクロトロン・ラジオアイソトープセンター・教授

研究者番号：00375198

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,300,000円

研究成果の概要(和文)：基礎研究で開発したPET薬剤を臨床の現場へトランスレーション(橋渡し)するためには、ヒトに投与できる高品質なPET薬剤を製造可能なシステムの構築が必須である。本研究では、我々が心筋血流イメージングを目的として開発した18F-TAP-Xの臨床用PET薬剤を世界的に普及している市販の標識合成装置で製造するシステムの構築を目指した。我々は、この研究において、HPLC精製を行わずに固相抽出カラムカートリッジだけで標識合成した18F-TAP-Xを高純度で精製することができた。FASTlabにより注射剤として利用可能な18F-TAP-X注射剤を製造することに成功し、その臨床応用への道を開くことができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

虚血性心疾患において、適切な治療方針の決定や治療の効果判定・予後予測を行うためには、核医学的手法による心筋血流評価が重要である。PETによる心筋血流評価を目的として開発された18F-TAP-Xは、ホスホニウム型化合物であるため臨床用PET薬剤としてオンサイト製造することは困難であった。本研究では、市販のPET薬剤合成装置で18F-TAP-Xを製造するための方法を確立することができた。これにより、PET検査ができる病院施設などで18F-TAP-Xを製造し、従来よりも精度の高いPETによる心筋血流検査を実施できる道筋が開けたといえる。

研究成果の概要(英文)：Translational research is needed to apply the PET agents developed in basic research to clinical research, which involves establishing a system to produce high-quality PET agents for routine clinical use. In this study, we aimed to establish a reliable method to produce 18F-TAP-X PET agents for clinical use, which we developed for myocardial blood flow imaging, by using a globally available commercial radiolabeling synthesizer. We were able to purify 18F-TAP-X to high purity in this study using only solid-phase extraction column cartridges without HPLC purification. Then, we succeeded in producing an 18F-TAP-X solution available as an injection agent by FASTlab, leading the way to its clinical application.

研究分野：放射性医薬品学

キーワード：心筋血流 PET ミトコンドリア

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

心筋梗塞や狭心症などの虚血性心疾患は、悪性新生物に次いで死者数の多い疾患である。その病態は、動脈硬化の進行や血栓によって冠動脈が閉塞もしくは狭窄を起こし、それに起因する血流障害によって心臓に障害が起きる。虚血性心疾患の治療効果を高めるためには、その治療方針の決定や治療の効果判定・予後予測を適切に実施する必要がある。核医学検査による心筋血流イメージングは、その有力な手段の一つとして、幅広く利用されている。

現在主流の心筋血流イメージングは、 ^{99m}Tc -Tetrofosmin、 ^{99m}Tc -MIBI、 ^{201}Tl などを用いたシンチグラフィ・SPECTにより行われている。しかしこれらの血流画像は肝臓への高集積性や体型による吸収効果などの影響を大きく受けるため、原理的・技術的に、高精細な心筋血流画像を得ることは難しく、定量性にも限界がある。一方、SPECTよりも空間分解能及び定量性に優れているPETによる心筋血流イメージングは、 ^{82}Rb ($T_{1/2}=1.3$ 分)、 ^{15}O ($T_{1/2}=2$ 分)、 ^{13}N ($T_{1/2}=10$ 分)などの半減期が非常に短い核種の薬剤を用いて行われている。しかし、これらの薬剤はPET検査を実施する施設で自家合成する必要があるため汎用性に欠け、臨床の現場には普及していない。

そこでより半減期が長く最も普及しているPET薬剤の ^{18}F -FDGと同様に、汎用性の高い ^{18}F 核種($T_{1/2}=110$ 分)で標識したPET用心筋血流イメージング剤の開発が求められている。このような背景のもと、我々は ^{99m}Tc -Tetrofosminや ^{99m}Tc -MIBIと同様に心筋に豊富なMtに特異的に集積性を示す独自の ^{18}F -標識Mt膜電位プローブの研究に取り組み、臨床候補プローブとして有望な ^{18}F -TAP-Xを開発することに成功した。

2. 研究の目的

我々が開発した ^{18}F -TAP-Xは、先行研究で開発報告されていた ^{18}F -FBnTPと同じ ^{18}F -ホスホニウムカチオン型トレーサーである。従来の ^{18}F -ホスホニウムカチオン型トレーサーの合成法は、反応操作が非常に煩雑で反応条件が厳しく、臨床応用および市販化が困難であった。そこで我々は、1-pot-2-reactionの簡便な操作法と温和な反応条件で ^{18}F 標識ホスホニウムカチオンを標識合成する方法を開発した。本研究は、このように取り組んできた ^{18}F -カチオン型トレーサー開発の継続的な発展課題であり、将来的に本格的な臨床研究の展開を見据えて行う新規PET薬剤のトランスレーショナル(橋渡し)研究である。この研究ビジョンの実現に向けて、本課題ではグローバルに最も普及しているPET薬剤合成装置FASTlabを用いて臨床使用可能な ^{18}F -TAP-X注射液を製造できるシステムの構築を研究目的とした。

3. 研究の方法

本研究では、臨床用PET薬剤製造装置として世界で最も普及しているFASTlabを用いることとした。FASTlabは、標識合成で使用する試薬やバイアル、固相カートリッジなどをワンパッケージのディスポーザブルカセットにした非常に利便性の高い標識合成装置である。しかしこのカセット内で製剤化までの標識製造を実現するためには、非常に簡便な標識反応方法と標識目的物の簡易精製の確立が必須となる。

そこで本研究では、はじめにこれまでに開発した1-pot-2-reactionよりも簡便な1-pot-1-reactionで ^{18}F -TAP-Xを合成できる新規標識前駆体の合成に取り組んだ。この取り組みで開発に成功した新規標識前駆体を用いて、実際にサイクロトロンで ^{18}O - H_2O から製造した ^{18}F アニオンを用いて塩基コンプレックス活性条件下でフッ素化反応を行い、1-pot-1-reactionでの条件最適化を行った。条件は、反応溶媒(アセトニトリル、DMF、DMSO)、塩基コンプレックス($\text{K}222\text{-KHCO}_3$ 、 $\text{K}222\text{-K}_2\text{CO}_3$ 、 TBA-HCO_3 、 TEA-HCO_3)、反応温度(80-110)、反応時間(5-20分)、前駆体量(1-10mg)を比較検討した。

続いて、FASTlabのディスポーザブルカセットで ^{18}F -TAP-X注射液の製造を実現するために、高速液体クロマトグラフィ(HPLC)を用いない固相抽出だけでの ^{18}F -TAP-X精製法を詳細に検討した。そして固相カートリッジのみによる精製法を確立したのち、カセット上でフッ素化反応から精製を経た製剤化工程までの一連のプロセスの条件最適化を行った。最終製剤に含まれる ^{18}F -TAP-Xの量を調べ、安全性を検証した。

この1-pot-1-reactionで標識合成した ^{18}F -TAP-Xについては、従来法で標識合成したものと同等性を検証するために、健常ラットを用いた小動物PETイメージングにより、心筋の描出性能を比較評価した。従来法と新法でそれぞれ合成した ^{18}F -TAP-X注射液をラット尾静脈内に投与し、120分のダイナミック撮像を行った。さらにその心臓集積性については、現在臨床で用いられているSPECT用薬剤の ^{99m}Tc -MIBIとの比較を行った。方法は、健常ラットに ^{18}F -TAP-Xまたは ^{99m}Tc -MIBIを尾静脈内に投与し、60分後及び120分後に安楽死させ、血液を含む主要臓器組織への放射能集積率(% Injected dose per mg of tissue; %ID/g)を体内分布法により調べた。

4. 研究成果

(1)本研究では、1-pot-1-reactionで ^{18}F -TAP-Xを標識合成するために新規前駆体を設計し、合成することに成功した。この前駆体は、あらかじめ合成したアルキル鎖末端に脱離基を有するホスフィンと脱離基を有するアルキル誘導体を反応させて合成したホスホニウム化合物である。この化合物は保護基を持たないため、 ^{18}F アニオンによる求核置換反応のみによって標識体を合成できることになる。この標識前駆体を用いて、 ^{18}F フッ素化反応の条件をバッチ法で詳細に検討したところ、溶媒はアセトニトリル、塩基コンプレックスは $\text{K}222\text{-KHCO}_3$ 、反応温度は 100°C 、反応時間は15分で放射化学的収率は65~68%と最大の結果を与えた。この収率は従来法と同等以上の結果であり、十分実用性が高いといえる。

(2)標識反応後の固相カートリッジによる精製は、 ^{18}F -TAP-Xがカチオン性化合物であることから親水性の弱陽イオン交換樹脂カートリッジを用いて行った。標識反応を水でクエンチした後、クルード水溶液を同カートリッジに通液、続いてエタノール、水で洗浄した後、生理食塩液で ^{18}F -TAP-Xの溶出を検討した。その結果、エタノールとアスコルビン酸ナトリウムを添加剤として加えることで溶出効率が上がり、さらにUV吸収性の副生成物を除去することに成功した。弱陽イオン交換樹脂カートリッジからの放射能回収率は約9割に及んだ。

これらの反応条件と精製条件の下でFASTlabにより ^{18}F -TAP-Xの生理食塩液(注射液)を製造したところ、全合成時間は34-35分、放射化学的収率は約31%、放射化学的純度は95%以上となり、一般的なPET薬剤と同程度の放射化学的品質であることが確認できた。しかし、この固相精製法では約 $30\mu\text{g/mL}$ の未反応前駆体が最終薬液バイアルに混入することが明らかになった。マイクロドーズ試験の最大投与量基準が $100\mu\text{g}$ であるからこの前駆体混入量は好ましくない。そこで、固相カートリッジを用いてこの前駆体混入を抑制するための精製工程を追加することとした。

(3)標識前駆体は ^{18}F -TAP-Xよりも脂溶性が高いことから、逆相系の固相カートリッジによる前駆体除去条件を検討した。まず初めに非放射性条件下で市販の4種類の逆相固相カートリッジに対して溶出液のエタノール濃度と通液量をパラメーターとして合計24条件を比較検討した。その結果、シリカベースで強い疎水性を持つカートリッジが前駆体を保持しつつ ^{18}F -TAP-Xを比較的効率的に溶出できることが判明した。

そこでこの結果を踏まえ、FASTlabによる ^{18}F -TAP-Xの製造を実際に行い、溶出液のエタノール濃度と液量の最適条件を検討した。その結果、20%エタノール溶液、3.0mLで溶出することで、放射化学的収率は約34%、前駆体混入量は約 $0.3\mu\text{g/mL}$ となった。これは ^{18}F -TAP-Xの担体量と同程度以下の量であり、安全性の観点から問題はないと考えられた。

(4)この新規合成法で合成した ^{18}F -TAP-Xの心筋イメージング性能の評価を目的としてラット-PETを実施したところ、従来法で得られた ^{18}F -TAP-Xと同等のPETイメージング性能を示し(図1)、心筋血流イメージング剤として使用できることが確認できた。また、既存の $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -MIBIと比較してもより高い心臓集積性が確認された(図2)。

以上、本研究において汎用性の高い標識合成装置により放射化学的および化学的に臨床使用可能な品質の ^{18}F -TAP-X注射液(生理食塩液)の製造法を確立した。今後、3ロット製造試験を実施し注射剤としての安全性を確認すれば、臨床用薬剤として使用できることから、心筋血流イメージング剤 ^{18}F -TAP-Xをトランスレーショナルできる道が開けた。

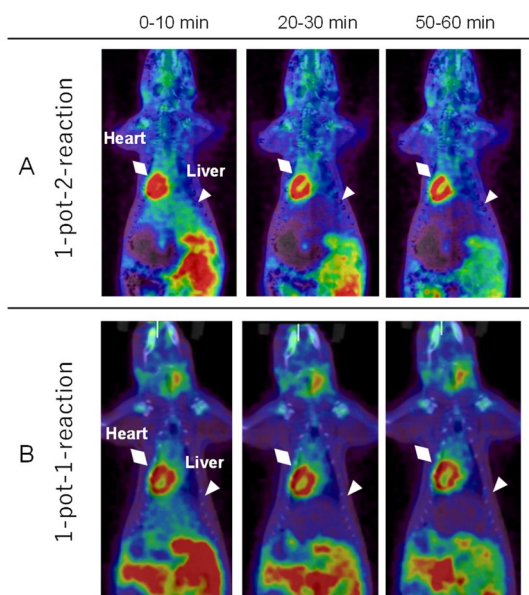


図1 従来法(A)と新規合成法(B)で標識合成した ^{18}F -TAP-XのラットPET画像。

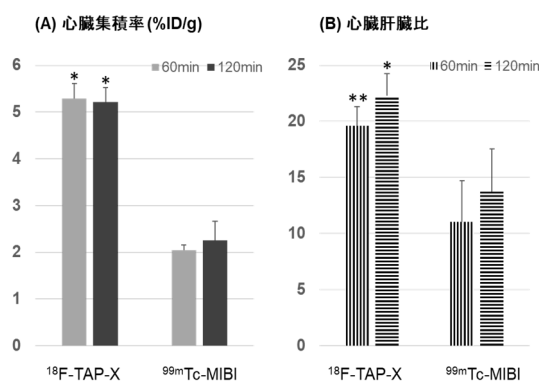


図2 ^{18}F -TAP-Xと $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -MIBIの心臓集積率%ID/g(A)とその心臓肝臓比(B)による心臓集積性の比較。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Shindo Haruhiko, Harada-Shoji Narumi, Ebata Akiko, Sato Miku, Soga Tomoyoshi, Miyashita Minoru, Tada Hiroshi, Kawai Masaaki, Kosaka Shinkichi, Onuki Koji, Usami Shin, Furumoto Shozo, Hayashi Shinichi, Abe Takaaki, Suzuki Takashi, Ishida Takanori, Sasano Hironobu	4. 巻 13
2. 論文標題 Targeting Amino Acid Metabolic Reprogramming via L-Type Amino Acid Transporter 1 (LAT1) for Endocrine-Resistant Breast Cancer	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancers	6. 最初と最後の頁 4375 ~ 4375
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cancers13174375	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 Sato Miku, Harada-Shoji Narumi, Toyohara Takafumi, Soga Tomoyoshi, Itoh Masatoshi, Miyashita Minoru, Tada Hiroshi, Amari Masakazu, Anzai Naohiko, Furumoto Shozo, Abe Takaaki, Suzuki Takashi, Ishida Takanori, Sasano Hironobu	4. 巻 11
2. 論文標題 L-type amino acid transporter 1 is associated with chemoresistance in breast cancer via the promotion of amino acid metabolism	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 589-589
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-80668-5	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 Iwata Ren, Terasaki Kazunori, Ishikawa Yoichi, Harada Ryuichi, Furumoto Shozo, Yanai Kazuhiko, Pascali Claudio	4. 巻 166
2. 論文標題 A concentration-based microscale method for 18F-nucleophilic substitutions and its testing on the one-pot radiosynthesis of [18F]FET and [18F]fallypride	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Applied Radiation and Isotopes	6. 最初と最後の頁 109361 ~ 109361
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.apradiso.2020.109361	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 Liu Jing, Peng Yunhua, Shi Le, Wan Lixin, Inuzuka Hiroyuki, Long Jiangang, Guo Jianping, Zhang Jinfang, Yuan Min, Zhang Shuangxi, Wang Xun, Gao Jing, Dai Xiangpeng, Furumoto Shozo, Jia Lijun, Pandolfi Pier Paolo, Asara John M., Kaelin William G., Liu Jiankang, Wei Wenyi	4. 巻 31
2. 論文標題 Skp2 dictates cell cycle-dependent metabolic oscillation between glycolysis and TCA cycle	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cell Research	6. 最初と最後の頁 80 ~ 93
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41422-020-0372-z	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 古本 祥三、原田 龍一、Rowe Christopher C.、Villemagne Victor L.、岡村 信行	4. 巻 35
2. 論文標題 特集 FDG-PETの最近の進歩とこれからの展開 beyond FDG Alzheimer病の神経病理変化を標的とする分子イメージング薬剤の現状と展望	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 臨床画像	6. 最初と最後の頁 933 ~ 942
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.18885/J01843.2019335227	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12件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 安藤與宏、伊東由夏、石川洋一、岩田錬、古本祥三
2. 発表標題 汎用的自動合成装置への導入を目指した18F-ホスホニウム型MPIトレーサーの合成法開発
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 古本 祥三
2. 発表標題 生活習慣病のPETイメージング
3. 学会等名 第92回日本内分泌学会学術総会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 古本 祥三
2. 発表標題 分子標的型PETトレーサー開発の現状と展望
3. 学会等名 第42回日本臨床薬理学会学術総会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Ren Iwata, Claudio Pascali, Kazunori Terasaki, Yoichi Ishikawa, Ryuichi Harada, Shozo Furumoto, Kazuhiko Yanai
2. 発表標題 A concentration method for efficient microscale one pot radiosynthesis of [18F]FET and [18F]fallypride
3. 学会等名 ISRS2019
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 大多和克紀, 松倉里紗, 柳野賀緒梨, 宮下尚之, 原田龍一, 木村裕一, 古本祥三
2. 発表標題 生体膜環境下におけるMAO-Bの長時間分子動力学シミュレーションと薬剤結合
3. 学会等名 日本物理学会2020年秋季大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 MasakiOttawa, LisaMatsukura, NaoyukiMiyashita, RyuichiHarada, YuichiKimura, ShozoFurumoto
2. 発表標題 The dynamics of dopamine-regulated protein MAO-B in the mitochondrial membrane
3. 学会等名 第58回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 大多和克紀, 田中良奈, 松倉里紗, 宮下尚之, 原田龍一, 木村裕一, 古本祥三
2. 発表標題 PETトレーサーとMAO-B/タンパク質との薬剤結合
3. 学会等名 第43回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 大多和 克紀, 松倉 里紗, 田中 良奈, 柳野 賀緒梨, 宮下 尚之, 木村 裕一, 古本 祥三
2. 発表標題 MAO-Bの長時間分子動力学シミュレーションによる薬剤結合部位の動力学解析
3. 学会等名 日本物理学会第75回年次大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Masaki Ottawa, Lisa Matsukura, Kaori Yanagino, Naoyuki Miyashita, Ryuichi Harada, Yuichi Kimura, Shozo Furumoto
2. 発表標題 Molecular Dynamics Simulation of Monoamine Oxidase B (MAO-B) and the drug binding
3. 学会等名 第20回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 大多和克紀, 松倉里紗, 宮下尚之, 原田龍一, 木村裕一, 古本祥三
2. 発表標題 モノアミン酸化酵素B(MAO-B)の薬剤結合部位のダイナミクスとPETトレーサーの結合
3. 学会等名 日本物理学会第76回年次大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 原田 龍一, 堵 怡青, 工藤 幸司, 岡村 信行, 古本 祥三, 谷内 一彦
2. 発表標題 アストロサイト画像化を目的としたPETプローブ[18F]SMBT-1の代謝特性の検討
3. 学会等名 第15回日本分子イメージング学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Masaki Ottawa, Lisa Matsukura, Naoyuki Miyashita, Ryuichi Harada, Yuichi Kimura, Shozo Furumoto
2. 発表標題 Simulation study of the dynamics of the ligand entrance gate in Monoamine Oxidase B (MAO-B) and PET tracers
3. 学会等名 Pacifichem 2021
4. 発表年 2021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	吉川 雄朗 (Yoshikawa Takeo) (70506633)	東北大学・医学系研究科・准教授 (11301)	
研究分担者	高浪 健太郎 (Takanami kentaro) (90447160)	東北大学・大学病院・講師 (11301)	
研究分担者	進藤 智彦 (Shindo Tomohiko) (80781294)	東北大学・医学系研究科・講師 (11301)	

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
---------	---------