

令和 4 年 6 月 15 日現在

機関番号：21601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K08180

研究課題名(和文)血管新生因子PD-ECGFを標的とした新規At-211標識治療用放射性薬剤の開発

研究課題名(英文)PD-ECGF targeted tumor treatment with new At-211 radiolabeled uracil derivatives

研究代表者

西嶋 剣一 (NISHIJIMA, Ken-ichi)

福島県立医科大学・公私立大学の部局等・講師

研究者番号：60364254

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：血管新生因子である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することが古くから知られている。本研究では、PD-ECGFを標的として新規に開発された5-ハロイミダゾリルウラシル誘導体に関して 放出核種であるAt-211を用いた新しい治療用放射性薬剤の開発を目的とした。サイクロトロンにより製造したAt-211を塩基性条件下、酸化剤と標識前駆体を混合することにより目的とするAt-211標識イミダゾリルウラシル誘導体を得ることに初めて成功した。本研究の成果は、放出核種であるAt-211による新しい放射性薬剤を開発する上で重要な知見を与えた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

固形腫瘍において高レベルで発現するPD-ECGFを標的とした 線放出核種At-211を用いた治療用放射性薬剤の開発を行い、At-211標識化合物を得ることに初めて成功した。今後、細胞および動物実験による有用性の評価を基礎的に検討することにより、新しい治療法の開発に寄与するものと考えられる。

研究成果の概要(英文)：Platelet-derived endothelial cell growth factor (PD-ECGF) is expressed at higher levels in a variety of solid tumors than in normal tissue. The aim of this study was to develop therapeutic radiopharmaceuticals based on a newly developed 5-haloylmidazolyluracil derivative targeting PD-ECGF using At-211, an alpha-ray emitting radionuclide. We succeeded for the first time in obtaining the target At-211-labeled imidazolyluracil derivative by mixing At-211 produced by a cyclotron with an oxidant and a labeling precursor under basic conditions and reacting the mixture at 50 °C or room temperature. In the future, we plan to conduct cellular and animal experiments to fundamentally evaluate the usefulness of the product as a therapeutic radiopharmaceutical. The results of this study provide important insights into the development of novel radiopharmaceuticals using At-211, an alpha-ray emitting radionuclide.

研究分野：放射性薬剤

キーワード：核医学治療 チミジンホスホリラーゼ

1. 研究開始当初の背景

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) は、Thymidine Phosphorylase (TP) と同一タンパク質であること、さらにその酵素活性は、腫瘍の血管新生、浸潤、転移と関連があることが明らかとなっている。また TPD-ECGF/TP が、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することが古くから知られている。我々は、腫瘍に高レベルに発現し、かつ血管新生因子である TP/ PD-ECGF を標的とした新しい腫瘍の診断用放射性薬剤について系統的に開発してきた。その結果、TP に対し高い阻害活性をもつ 5-ハロイミダゾリルウラシル誘導体を合成し、その放射性ヨウ素標識化合物 (IIMU) を得ることに成功した。この I-123/I-125 標識 IIMU は、TP への特異的な腫瘍への高い取り込み、高い腫瘍 - 血液、筋肉比を有すること、I-123 標識 IIMU 集積量と Capecitabine の感受性は対応し I-123 標識 IIMU を用いた TP の画像化により Capecitabine のがん治療効果予測が可能であることなど、腫瘍イメージング剤としての有用性が示唆された。I-123 標識 IIMU は製剤化検討を経て、 ^{123}I IIMU 注射液として、健常者を対象とした First in human 試験が実施された。

2. 研究の目的

「核医学治療」は、細胞殺傷性を有する放射線を放出する放射性同位元素 (RI) により標識された化合物 (放射性薬剤) を体内に投与し、体の内側からがんを殺傷する治療法である。 α 線は β 線と比べ高い生物学的効果比すなわち高い細胞殺傷能を有し、その一方短い飛程のため周囲の正常細胞への影響は低く、高い治療効果が期待される。そのためには α 線放出核種を腫瘍部位に選択的に運ぶ、腫瘍特異性の高い放射性薬剤の開発が必須となる。At-211 は、ヨウ素と同じハロゲン族に属し、加速器で製造可能な α 線放出核種である。そのため放射性ヨウ素標識薬剤で培われた技術からの応用が可能であり、汎用性が期待される。研究者が所属する福島県立医科大学では、 α 線放出核種 At-211 を製造可能な中型サイクロトロンを有しており、安定的な製造を目指し検討が行われている。本研究は、腫瘍診断薬剤を目的に開発した化合物 IIMU を治療用放射性薬剤 At-211 標識 AIMU への展開を目指し、その有用性について基礎的に検討を行うことを目的とした。

3. 研究の方法

本学で製造・精製される At-211 溶液を用いた標識化を検討し、At-211 標識 AIMU の合成法の確立を目指した。標識方法は IIMU の合成法をもとに以下の検討を開始した。

At-211 溶液の製造

α 線放出核種 At-211 は、Bi をターゲットとし $^{209}\text{Bi} (^4\text{He}, 2n) ^{211}\text{At}$ による核反応にて製造した。得られた At-211 の精製は、乾式分離法、すなわち At-211 を含む Al を基盤とした Bi ターゲットを石英管中で 800 度に加熱し、気化した At-211 を室温下捕集し、クロロホルムまたはメタノールにより溶出させ At-211 溶液とした。

5-At-ウラシルの合成

目的とする At-211 標識 AIMU はウラシルを基本骨格とする。そのためまずウラシルの 5 位への At-211 の導入を検討した。At-211 溶液から溶媒を除去しメタノールに溶解した。そこへ酸化剤として N-クロロスチンイミド (NCS) と前駆体を加え室温または 50 度で反応させた。反応混合物は分析 HPLC に付した。

At-211 標識 AIMU の合成

反応溶媒 (アセトニトリル-水、メタノール、PBS、炭酸水素ナトリウム) 酸化剤 (NCS、クロラミン T) 酸化剤の濃度、反応温度 (室温、50 度) および時間 (5 分、30 分、60 分) について検討した。At-211 溶液から溶媒を除去後、そこへ反応溶媒、酸化剤および前駆体を加え反応させた。反応混合物は、HPLC および TLC に付し標識体の有無を確認後、単離精製を試みた。

At-211 標識 AIMU の確認

得られた At-211 標識体が At-211 標識 AIMU であることを確認するため RI 検出器付き LCMSMS による分析を検討した。

At-211 標識 AIMU の安定性

得られた At-211 標識 AIMU の安定性を確認するため、At-211 標識 AIMU を PBS およびヒト血漿中に加え 37 度でインキュベートした。

マウスを用いた遊離型 At-211 の被ばく線量の測定

At-211 標識 AIMU がヒト血漿中で脱アスタチン化が観察されたため、遊離した At-211 の影響、すなわちリスクとなりうる臓器を推察すべく吸収線量を求めることとした。遊離型 At-211 (0.13 MBq) を C57BL/6N マウス (雄性) に投与し、各臓器および血液中の重量あたりの投与した放射能の割合 (%IA/g) を測定した。OLINDA/EXM を用いて、遊離型 At-211 の吸収線量を算出した。

4. 研究成果

At-211 溶液の製造

2 時間の照射により 1200 MBq 程度の At-211 を安定的に製造することができた。照射終了後得られた At-211 は乾式分離装置により精製され、精製時間約 30 分、精製収率約 50% にてクロロホルムまたはメタノールに溶解した At-211 を安定的に得た。

5-At-ウラシルの合成

酸化剤に NCS を用いウラシルと At-211 との反応を検討した結果、何らかの標識物が得られたものの未反応の At-211 が大部分であった。

At-211 標識 AIMU の合成

反応溶媒にアセトニトリル-水、メタノール、PBS を用い反応を検討した結果、いずれもそのほとんどが未反応の At-211 (化学形は不明) であった。しかしながら炭酸水素ナトリウム、酸化剤に NCS を用いたところ HPLC の保持時間から At-211 標識 AIMU と思われる RI ピークを初めて確認することができた。さらに反応温度および時間について検討した結果、室温下でも反応は進行し、50 度、5 分間の反応でもっとも高い放射化学的収率(約 50%)を得た。波能混合物は HPLC に付し精製した結果、放射化学的純度 95% 以上で At-211 標識 AIMU を得ることに成功した。今後の腫瘍移植マウスを用いた治療実験に備え、高放射能での検討を行う予定である。

At-211 標識 AIMU の確認

標識前駆体を用い LCMSMS による分析条件を確立した。

At-211 標識 AIMU の安定性

At-211 標識 AIMU は PBS 中では 1 時間のインキュベートにおいて放射化学的純度 97% に対し血漿中では 85% と脱アスタチン化が見られ、さらに 6 時間においては 33% と低下した。

マウスを用いた At-211 の被ばく線量の測定

マウスを用いた体内動態実験の結果、胃には 24 時間まで高放射能の遊離型 At-211 が存在し、投与後 1 時間後に最も値が観察された。また甲状腺は投与後 6 時間で最も高い集積を示した。OLINDA/EXM による解析の結果、遊離型 At-211 の線量計算(マウスモデル)では、甲状腺の吸収線量(15.1 Gy/MBq)が最も高く、次に胃壁が高い値(5.37 Gy/MBq)となった。

本研究の成果は、腫瘍に高い発現が見られる血小板由来血管内皮細胞増殖因子(PD-ECGF)を標的とした新規治療用放射性薬剤 At-211 標識 AIMU を初めて得ることに成功し、今後さらなる検討をしていく上で重要な知見を与えた。

今後、ヒト皮膚がん細胞 A431 (TP 高発現)、ヒト胃がん細胞 AZ521 (TP 低発現)などの細胞を用い、At-211 標識 AIMU の特異性を明らかにし、腫瘍モデルマウスにより腫瘍への集積および治療効果を検証していきたい。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Aoki Miho, Zhao Songji, Takahashi Kazuhiro, Washiyama Kohshin, Ukon Naoyuki, Tan Chengbo, Shimoyama Saki, Nishijima Ken-ichi, Ogawa Kazuma	4. 巻 68
2. 論文標題 Preliminary Evaluation of Astatine-211-Labeled Bombesin Derivatives for Targeted Alpha Therapy	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Chemical and Pharmaceutical Bulletin	6. 最初と最後の頁 538 ~ 545
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1248/cpb.c20-00077	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 Oriuchi Noboru, Aoki Miho, Ukon Naoyuki, Washiyama Kohshin, Tan Chengbo, Shimoyama Saki, Nishijima Ken-ichi, Takahashi Kazuhiro, Ito Hiroshi, Ikezoe Takayuki, Zhao Songji	4. 巻 10
2. 論文標題 Possibility of cancer-stem-cell-targeted radioimmunotherapy for acute myelogenous leukemia using 211At-CXCR4 monoclonal antibody	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-63557-9	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 Watanabe Shiro, Nishijima Ken-ichi, Okamoto Shozo, Magota Keiichi, Hirata Kenji, Toyonaga Takuya, Shiga Tohru, Kuge Yuji, Tamaki Nagara	4. 巻 34
2. 論文標題 Biodistribution and internal radiation dosimetry of a novel probe for thymidine phosphorylase imaging, [123I]TlMU, in healthy volunteers	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Annals of Nuclear Medicine	6. 最初と最後の頁 595 ~ 599
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12149-020-01469-4	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 Oriuchi Noboru, Aoki Miho, Ukon Naoyuki, Washiyama Kohshin, Tan Chengbo, Shimoyama Saki, Nishijima Ken-ichi, Takahashi Kazuhiro, Ito Hiroshi, Ikezoe Takayuki, Zhao Songji	4. 巻 10
2. 論文標題 Possibility of cancer-stem-cell-targeted radioimmunotherapy for acute myelogenous leukemia using 211At-CXCR4 monoclonal antibody	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 6810
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-63557-9	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 Zhao Songji, Yu Wenwen, Ukon Naoyuki, Tan Chengbo, Nishijima Ken-ichi, Shimizu Yoichi, Higashikawa Kei, Shiga Tohru, Yamashita Hiroko, Tamaki Nagara, Kuge Yuji	4. 巻 9
2. 論文標題 Elimination of tumor hypoxia by eribulin demonstrated by 18F-FMISO hypoxia imaging in human tumor xenograft models	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 EJNMMI Research	6. 最初と最後の頁 51
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13550-019-0521-x	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 Watanabe Shiro, Shiga Tohru, Hirata Kenji, Magota Keiichi, Okamoto Shozo, Toyonaga Takuya, Higashikawa Kei, Yasui Hironobu, Kobayashi Jun, Nishijima Ken-ichi, Iseki Ken, Matsumoto Hiroki, Kuge Yuji, Tamaki Nagara	4. 巻 9
2. 論文標題 Biodistribution and radiation dosimetry of the novel hypoxia PET probe [18F]DiFA and comparison with [18F]FMISO	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 EJNMMI Research	6. 最初と最後の頁 60
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13550-019-0525-6	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 -

〔学会発表〕 計14件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 西嶋 剣一、粟生木 美穂、城寶 大輝、鷲山 幸信、佐々木 茂範、望月 一優、塩入 大護、高橋 和弘
2. 発表標題 [211At]MABG注射液の品質試験：LCMSを用いた確認試験法の開発
3. 学会等名 日本薬学会 第141年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Oriuchi N, Aoki M, Ukon N, Washiyama K, Shimoyama S, Nishijima K, Takahashi K, Ito H, Ikezoe K, Zhao S
2. 発表標題 Feasibility of cancer stem cells-targeted radioimmunotherapy for acute myelogenous leukemia with 211At-CXCR4 monoclonal antibody.
3. 学会等名 2020米国核医学・分子イメージング学会 (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Yoshinaga K, Zhao S, Washino K, Aoki M, Nishijima K, Shimoyama S, Ukon N, Gao F, Washiyama K, Ito N, Yoshioka N, Tamura N, Takahashi K, Higashi T, Ito H
2. 発表標題 色細胞腫モデルにおける211At-MABGと 131I-MIBGの抗腫瘍効果および暗線性の比較
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 Zhao S, Yoshinaga K, Washino K, Aoki M, Nishijima K, Shimoyama S, Ukon N, Gao F, Washiyama K, Ito N, Yoshioka N, Tamura N, Takahashi K, Higashi T, Ito H
2. 発表標題 Effects and safety of alpha-emitting meta-211At-astato-benzylguanidine (211At-MABG) compared with 131I-meta-iodobenzylguanidine (131I-MIBG) on tumor growth suppression in a pheochromocytoma mouse model.
3. 学会等名 2020米国核医学・分子イメージング学会（国際学会）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 趙松吉, 吉永恵一郎, 粟生木美穂, 右近直之, 下山彩希, 西嶋剣一, 鷲山幸信, 鷲野弘明, 高橋和弘, 東達也, 伊藤浩
2. 発表標題 正常マウスにおける211At-MABGの毒性評価
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 鷲野弘明, 趙松吉, 下山彩希, 吉岡菜穂, 伊東奈津江, 粟生木美穂, 右近直之, 吉永恵一郎, 高橋和弘, 伊藤浩, 東達也
2. 発表標題 正常マウスにおける211At-MABGの血液毒性の用量反応関係
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 右近直之, 趙松吉, 鷺野弘明, 吉永恵一郎, 粟生木美穂, 西嶋剣一, 鷺山幸信, 織内昇, 高橋和弘, 東達也, 伊藤浩
2. 発表標題 コンパニオン診断薬としての123I-MIBGから推定した211At-MABGの線量評価検討
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 吉永 恵一郎, 趙 松吉, 粟生木 美穂, 右近 直之, 下山 彩希, 西嶋 剣一, 鷺山 幸信, 鷺野 弘明, 高橋 和弘, 伊藤 浩, 東 達也
2. 発表標題 211At-MABG吸収線量評価におけるコンパニオン診断薬123I-MIBGの活用 核医学
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 趙 松吉, 吉永 恵一郎, 粟生木 美穂, 右近 直之, 下山 彩希, 西嶋 剣一, 鷺山 幸信, 鷺野 弘明, 高橋 和弘, 東 達也, 伊藤 浩
2. 発表標題 正常マウスにおける123I-MIBGと211At-MABGの体内動態の評価
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 鷺野 弘明, 趙 松吉, 粟生木 美穂, 右近 直之, 下山 彩希, 西嶋 剣一, 鷺山 幸信, 吉永 恵一郎, 高橋 和弘, 伊藤 浩, 東 達也
2. 発表標題 正常マウスにおける211At-MABGの薬物動態と代謝産物の予備的評価
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 織内 昇, 趙 松吉, 粟生木 美穂, 譚 成博, 右近 直之, 西嶋 剣一, 鷺山 幸信, 高橋 和弘, 池添 隆之, 伊藤 浩
2. 発表標題 211At標識抗CXCR4抗体の腫瘍移植マウスにおける体内分布
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 粟生木 美穂, 西嶋 剣一, 鷺山 幸信, 城竇 大輝, 下山 彩希, 右近 直之, 趙 松吉, 鷺野 弘明, 高橋 和弘, 東 達也, 伊藤 浩
2. 発表標題 [211At]MABGの薄層クロマトグラフィー手順の探索
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 右近 直之, 趙 松吉, 鷺山 幸信, 織内 昇, 粟生木 美穂, 西嶋 剣一, 譚 成博, 下山 彩希, 久保 均, 高橋 和弘, 伊藤 浩
2. 発表標題 小動物用SPECT装置を用いた211Atによる画像化の基礎検討
3. 学会等名 第14回日本分子イメージング学会学術総会・学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 M. Aoki, K. Minegishi, K. Nishijima, H. Suzuki, S. Sasaki, K. Washiyama, S. Zhao, K. Nagatsu, M. Zhang, K. Takahashi
2. 発表標題 Synthesis of [211At]MABG Using Remote-controlled Synthesizer and Quality Evaluation
3. 学会等名 The 23rd International Symposium on Radiopharmaceutical Sciences (国際学会)
4. 発表年 2019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	東川 桂 (Higashikawa Kei) (10756878)	北海道大学・アイソトープ総合センター・助教 (10101)	
研究分担者	粟生木 美穂 (Aoki Miho) (10783227)	福島県立医科大学・公私立大学の部局等・助手 (21601)	
研究分担者	久下 裕司 (Kuge Yuji) (70321958)	北海道大学・アイソトープ総合センター・教授 (10101)	
研究分担者	趙 松吉 (Zhao Songji) (80374239)	福島県立医科大学・公私立大学の部局等・教授 (21601)	

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