

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25年4月16日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2010～2012

課題番号：22390228

研究課題名（和文） ^{18}F -標識 PET プローブ合成用トータルマイクロリアクターシステムの開発研究課題名（英文）Development of a total microreactor system for radiosynthesis of ^{18}F -labeled PET probes

研究代表者

岩田 錬（REN IWATA）

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：60143038

研究成果の概要（和文）：電気化学的に濃縮された ^{18}F フッ素イオンをマイクロリアクターによる PET 分子プローブ標識合成利用するため、精製まで含めたトータルシステムとするための基礎的な技術開発：第1段の濃縮チップの改良による濃縮度改善、反応段数の増加による溶媒量の増加に対応するための中間濃縮チップの開発、市販固相抽出カラムによる分離精製の検討を行った。濃縮度低下は移送時の拡散が主要因であること、中間濃縮チップによりオンライン的に大幅に溶媒量を減らすことができることなどの実用化に向けた有用な結果が得られた。

研究成果の概要（英文）：In order to utilize electrochemically concentrated ^{18}F fluoride in microreactor radiosynthesis of ^{18}F -labeled probes, we developed a total system for carrying out the whole procedures from separation of ^{18}F fluoride to purification of a ^{18}F -labeled probe based on the following techniques: to improve the concentration of ^{18}F fluoride with a newly designed chip; to develop a new evaporation chip for on-line concentration of a reaction product solution; to develop a rapid, efficient method for purifying a final product with a solid phase extraction column. We demonstrated that the decrease in concentration of ^{18}F fluoride in acetonitrile was mainly caused by diffusion in transfer tubing and that the evaporation chip worked efficiently under optimized conditions.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	4,700,000	1,410,000	6,110,000
2011年度	6,200,000	1,860,000	8,060,000
2012年度	3,200,000	960,000	4,160,000
総計	14,100,000	4,230,000	18,330,000

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：分子イメージング、マイクロリアクター、標識合成、PET、標識プローブ

1. 研究開始当初の背景

分子イメージングは、生物学・医学分野において必要不可欠な手法として定着しつつある。なかでも人への応用が容易な放射性プローブを用いる PET (陽電子断層撮影法) イメージングは、1970 年ころから 30 年以上におよぶ開発研究の過程を経て今世紀に入りようやく広く普及し始め、臨床研究のみならず創薬研究においても盛んに利用されている。PET 研究の歴史を紐解くまでもなく、この発展を中心的に担って来たのは PET 診断プローブ開発であり、これからの今後の発展を支える基盤であり続けると期待される。

PET 診断用標識プローブ (以下 PET プローブと省略) は、その比放射能の高さを大きな特徴の一つとしている。すなわち、強い放射能を有するが薬理作用を示さない微量の物質 (マイクロスケール以下) で合成・利用される。この高比放射能を生かしマイクロドージングによる前臨床試験に PET が用いられ、新薬開発の推進とコストダウンに貢献することが期待されている。一方、ポストゲノム時代の幕開けにより医薬品の中心をなすペプチド・タンパク関連医薬品の開発において小動物を用いる PET イメージングに対する期待は大きく、マイクロスケールでの PET プローブ合成技術が不可欠である。すなわち、マイクロリアクター合成は迅速で効率的な標識反応を実現するだけでなく、用いる出発原料を大幅に減少させ、微量の注射液の調製を可能にする。

以上のように PET プローブ合成は本来マイクロケミストリーであるが、放射性物質の取り扱いのため遠隔自動操作が必須のため、合成装置に使用する部品等の制約からマクロスケール合成にならざるを得なかった。近年マイクロケミストリーは長足の進歩を遂げ、迅速で効率な反応を実現するマイクロリアクターによる合成研究が盛んに行われている。PET 合成化学においてもこの流れを追いかけるように幾つかの研究が”Proof of the concept” 研究として行われている。これらの研究は、実用的な PET プローブ合成系を構成する「PET 核種の製造と分離濃縮→標識合成→分離精製→調剤」の一連の操作から、マイクロリアクターに容易に適用可能な標識合成だけを対象としたり、あるいは非実用的な微少なスケールでのデモンストレーションにすぎなかったりした。サイクロトロンを用いる PET 核種の製造はマクロ系であり (数 mL の ^{18}F フッ素イオン水から出発する)、引き続き標識反応をマイクロスケールで行うにはブレイクスルーを可能にする濃縮技術の出現を待たなければならなかった。

我々は、PET プローブ合成に関し、臨床利用を念頭に新しい自動化に適する操作法を組み込んだ自動合成装置の開発を中心に研究を進めてきたが、近年は特に GMP 対応の遮蔽環境での標識合成に対応するため自動合成装置の超小型化に努め、 ^{11}C メチオニン- ^{11}C コリン合成ミニチュアモジュールの開発に成功した。これらの自動化技術を基盤とし、次にマイクロリアクターによる ^{18}F -標識合成に取り組むことにした。

マクロスケールで回収される ^{18}F フッ素イオンをマイクロリアクターに導入する方法として、電気化学的な ^{18}F -フッ素イオン捕捉法が利用可能であると着想し、使い捨てのマイクロフローセル (チップ) を用いる ^{18}F -フッ素イオン濃縮法を世界に先駆けて開発することに成功した。そのまま標識反応に利用可能な ^{18}F フッ素イオンを、微量な溶媒中に簡便かつ迅速に調製できる。そこで、平成 19 年度から 3 年間基盤研究 (B) 「 ^{18}F -標識 PET 診断プローブ合成用マイクロリアクターの開発」を実施し、濃縮法の最適化と有用性の実証を行った。

2. 研究の目的

数段の反応を行うことで合成スケールは順次アップするため、最終反応物の分離精製をマイクロスケールで行うことに未だ成功していなく、この問題を解決し、 ^{18}F フッ素イオン濃縮から ^{18}F -標識 PET プローブの精製までの全工程を実行するマイクロリアクター合成システムを開発することが大きな研究目的であった。

これまでの研究では、約 2 mL のターゲット水に溶解した ^{18}F -フッ素イオンを 60~80 μL の反応溶媒中に反応活性のある化学形 ($[\text{K}^+/\text{K}^{222}]^{18}\text{F}$) で濃縮することができた。この溶媒容積を 10 μL 前後に小さくして濃縮率をさらに高めるチップの開発を進めた。次に、分離精製カラムに導入する前の中間濃縮法を開発した。溶媒留去と固相抽出の 2 つの方法を取り上げ、マイクロスケールで実行可能な方法を開発し条件の最適化を行った。これらの開発に基づき、幾つかの有用性のわかっている ^{18}F -標識 PET プローブの合成を通して行い、一つの合成システムとしての完成を目指した。

3. 研究の方法

(1) 研究実施体制

本研究は、研究代表者が所属し主な PET プローブ合成実験を実施する東北大学サイクロトロン・ラジオアイソトープセンター (CYRIC) を中心に、新しい ^{18}F フッ素イオン濃縮チップと反応チップの開発を分担する島津製作所・基盤技術研究所、およびマクロスケールでの従来法での合成とマイクロ

リアクター合成の比較・評価を担当する理化学研究所・分子イメージング科学研究センターの、3 研究施設が協力する体制を構築して行った。しかし、平成 23 年 3 月 11 日に発生した東日本大震災により CYRIC のサイクロトロン施設が被災したため、平成 24 年 10 月に正常に復旧するまでの 1 年半の間は、装置を理研分子イメージング科学研究センターに移設して実験を行った。

(2) 研究方法

一般に、 $[^{18}\text{F}]$ フッ素イオンを用いる ^{18}F -標識 PET プローブの合成は、 ^{18}F -標識反応と脱保護反応からなる 2 段階反応の場合が多い。この場合、

- i. $[^{18}\text{F}]$ フッ素イオンのターゲット水 ($[^{18}\text{O}]\text{H}_2\text{O}$) からの分離
- ii. 標識前駆体である $[\text{K}^+/\text{K}^{222}]^{18}\text{F}^-$ の無水溶媒溶液の調製
- iii. $[^{18}\text{F}]$ フッ素イオンの求核置換による ^{18}F -標識反応
- iv. 脱保護反応 (加水分解)
- v. 固相抽出あるいは HPLC による前駆体等からの分離精製

の 5 つのプロセスから構成される。これらのプロセスを遂行するマイクロリアクターシステム概念図を図 1 に示す。

既存のシステムで約 80 μL に濃縮された $[^{18}\text{F}]$ フッ素イオンの無水溶媒から得られる精製前の加水分解反応液の容量は 400 μL 以上であり、これを 1/10 以下とすることを目標とした。

- ① チップ内部のフローセルの寸法を小さくした次世代 $[^{18}\text{F}]$ フッ素イオン高濃縮チップを試作し、最適な高濃縮条件を求めた。
- ② 反応時間と温度、溶媒の種類、反応基質濃度等を、できるだけ最小溶媒量で実現できる最適条件を求め、これらに適合する反応チップをデザインした。
- ③ 蒸発チップを試作し、オンライン的な反応

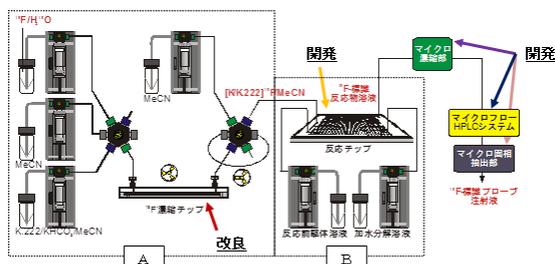


図 1. ^{18}F -標識 PET プローブ合成用トータルマイクロリアクターシステムの開発概念図 (破線部は開発済み)

液の濃縮法を検討した。また、固相抽出によるマイクロスケール濃縮 (精製後の固相抽出による濃縮を含む) についても検討を加えた。

- ④ 市販のマイクロ HPLC システムを利用し

てマイクロスケールでのクロマトグラフィ分離精製を検討したが、十分実施できなかった。

4. 研究成果

- ① 従来の流路幅 4 mm を半分にした 2 mm 幅のチップを試作し、濃縮効率を比較評価した。 $[^{18}\text{F}]$ フッ素イオンの捕集と脱離ともにほぼ同等の効率を得られた。一方、濃縮率をチップから回収される ^{18}F の溶出プロファイルを測定することで求めた結果、図 2 に示すように 80 μL から 60 μL へと有意な改善が見られたが (上図)、次の反応チップへ移送するための中間移送用ループを経た後は、いずれも 200 μL と大きく増大し (下図)、移送途中における拡散がその大きな要因であると推測された。従って、濃縮チップにおける濃縮度の改善を有効にするためには、コネクター類に存在するデッドスペースをできるだけなくした濃縮移送チップの開発が不可欠であると結論した。

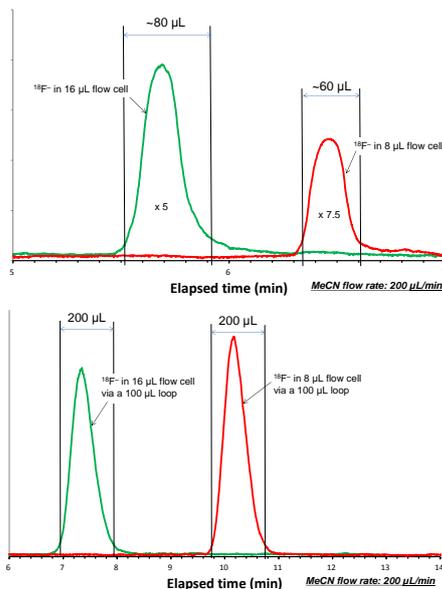


図 2. ^{18}F 溶出プロファイル

- ② マイクロリアクターの特徴は、反応温度と時間を精密に制御可能なことである。マイクロ流路では熱伝導が迅速であるため、反応時間も大幅に短縮されることは既に報告しているが、この利点を生かした反応系を見出した。図 3 に示す ^{18}F -フッ素化反応では、合成収率が反応温度と時間に大きく依存し、高い収率を得るためには高温で 10 秒以内の反応時間を与えることが必要である。マイクロリアクターの優れた利点を初めて実証した具体的な例である。
- ③ 中間濃縮チップを種々デザインし、その有用性を検討した。図 4 にその一例を示す。

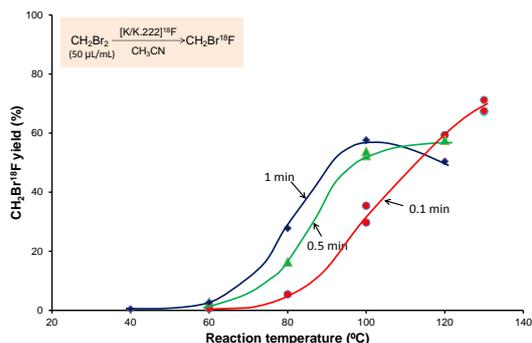


図3. $\text{CH}_2\text{Br}^{18}\text{F}$ 合成における反応温度と時間の関係

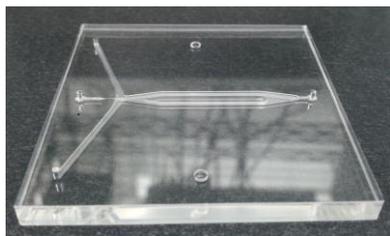


図4. 中間濃縮チップ

濃縮チップから移送される $[\text{K}/\text{k}.222]^{18}\text{F}$ のアセトニトリル溶液をオンライン的に留去し、その後残渣を再びアセトニトリルでチップより溶出し、その溶出プロファイルを観測するとともに、温度と流速の影響を調べた。図5に示す結果は、最適化された条件下(温度: 130°C 、濃縮液導入流速: $300 \mu\text{L}/\text{min}$ 、He 流速: $200 \text{ mL}/\text{min}$ 、回収アセトニトリル流速: $100 \mu\text{L}/\text{min}$)、 ^{18}F が約 $60 \mu\text{L}$ に90%の回収率で得られる様子を示している。不揮発性の生成物を濃縮して効率よく回収できることが分かった。

- ④ クロマトグラフィ的に最も分離に影響し反応溶媒としてもよく使用されるDMSOを取り上げ、極性の高いPETプローブである $[\text{F}^{18}]\text{FMT}$ (*O*-fluoromethyl-*L*-tyrosine) と前駆体のチロシンとの分離を検討した。HPLC分析カラムを使用する場合は $20 \mu\text{L}$ 以上のDMSOでは良好な分離が得られず、反応液量をこのスケールで行うことは現時点でのマイクロリアクター技術では不可能なため、HPLCによる精製は諦めた。次に、固相抽出カラムによる分離を検討した結果、DMSO容量を $100 \mu\text{L}$ として、3種の市販使い捨て固相抽出カラム(C18: 逆相、Hilic: 親水性相互作用、Env-Carb: 強極性化合物への高親和性) による $[\text{F}^{18}]\text{FMT}$ の回収を行ったところ、Env-Carbだけが実用的な分離を与えた。しかし、回収効率は55~70%であり、チロシンの混入率も6~60%と完全に分離できず、満足のいく

結果は得られなかった。

東日本大震災による被災によりサイクロトロンを用いた実験が東北大学で遂行不可能になったとき、温かい支援の手を差し伸べ

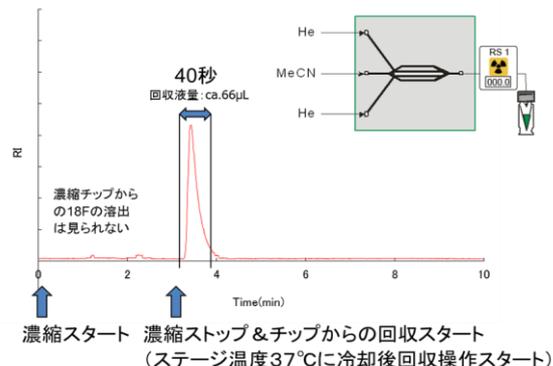


図5. 測定法(右上)と回収プロファイル

て施設利用の機会与えていただきました理化学研究所分子イメージング科学研究センター(現ライフサイエンス技術基盤研究センター生命機能的イメージング部門) 渡辺恭良センター長とスタッフの皆様にご心より感謝いたします。

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10件)

- ① Matsuda T., Furumoto S., Higuchia K., Yokoyama J., Zhang M.-R., Yanai K., Iwata R., Kigawa T., Rapid biochemical synthesis of ^{11}C -labeled single chain variable fragment antibody for immuno-PET by cell-free protein synthesis, *Bioorg. Med. Chem.*, 査読有、20、2012年、6579-6582 (doi: 10.1016/j.bmc.2012.09.038)
- ② Pascali C., Bogni A., Fugazza L., Cucchi C., Crispu O., Laera L., Iwata R., Maiocchi G., Crippa F., Bombardieri E., Simple preparation and purification of ethanol-free solutions of $3'$ -deoxy- $3'$ - $[\text{F}^{18}]\text{fluorothymidine}$ ($[\text{F}^{18}]\text{FLT}$) by means of disposable solid-phase extraction cartridges, *Nucl. Med. Biol.*, 査読有、39、2012年、540-550 (doi: 10.1016/j.nucmedbio.2011.10.005)
- ③ Harada R., Furumoto S., Yoshikawa T., Ishikawa Y., Shibuya K., Okamura N., Iwata R., Yanai K., Synthesis of $[\text{C}^{11}]\text{interleukin 8}$ using a cell-free

- translation system and L-[¹¹C]methionine, Nucl. Med. Biol., 査読有、39、2012年、155-160 (doi: 10.1016/j.nucmedbio.2011.07.005)
- ④ Wong R., Iwata R., Saiki H., Furumoto S., Ishikawa Y., Ozeki E., Reactivity of electrochemically concentrated anhydrous [¹⁸F]fluoride for microfluidic radiosynthesis of ¹⁸F-labeled compounds, Appl. Radiat. Isot., 査読有、70、2012年、193-199 (doi: 10.1016/j.apradiso.2011.09.022)
- ⑤ 岩田 鍊, ¹⁸F-標識分子イメージングプローブのマイクロリアクター合成、ファルマシア、査読無、48、2012年、637-641
- ⑥ Bogni A., Crispu O., Fugazza L., Cucchi C., Laera L., Iwata R., Crippa F., Bombardieri E., Pascali C., [¹⁴C-methyl-¹¹C]Choline by on-column reaction: a study on [¹¹C]CH₃I incorporation and the residual amount of precursor in the product, J. Label. Compd. Radiopharm. 査読有、54、2011年、157-162 (doi: 10.1002/jlcr.1838)
- ⑦ Kaneta T., Okamura N., Minoshima S., Furukawa K., Tashiro M., Furumoto S., Iwata R., Fukuda H., Takahashi S., Yanai K., Kudo Y., Arai H., A modified method of 3D-SSP analysis for amyloid PET imaging using [¹¹C]BF₂-227, Ann. Nucl. Med., 査読有、25、2011年、732-739 (doi: 10.1007/s12149-011-0518-7)
- ⑧ Saiki H., Iwata R., Nakanishi H., Wong R., Ishikawa Y., Furumoto S., Yamahara, R. Sakamoto K., Ozeki E., Electrochemical concentration of no-carrier-added [¹⁸F]fluoride from [¹⁸O]water in a disposable microfluidic cell for radiosynthesis of ¹⁸F-labeled radiopharmaceuticals, Appl. Radiat. Isot., 査読有、68、2010年、1703-1708 (doi: 10.1016/j.apradiso.2010.02.005)
- ⑨ Shibahara I., Kumabe T., Kanamori M., Saito R., Sonoda Y., Watanabe M., Iwata R., Higano S., Takanami K., Takai Y., Tominaga T., Imaging of hypoxic lesions in patients with glioma by using positron emission tomography with 1-(2-[¹⁸F]fluoro-1-[hydroxymethyl]ethoxy)-methyl-2-nitroimidazole, a new ¹⁸F-labeled 2-nitroimidazole analog, J. Neurosurg., 査読有、11、2010年、358-368 (doi: 10.3171/2009.10.jns.09510)
- ⑩ Coenen H.H., Elsinga P.H., Iwata R.,

Kilbourn M.R., Pillai M.R.A., Rajan M.G.R., Wagner H.N., Zaknun J.J., Fluorine-18 radiopharmaceuticals beyond [¹⁸F]FDG for use in oncology and neurosciences, Nucl. Med. Biol., 査読有、37、2010年、727-740 (doi: 10.1016/j.nucmedbio.2010.04.185)

[学会発表] (計3件)

- ① 岩田 鍊, PET診断用プローブ自動合成装置の開発、第51回日本核医学会学術総会、2011年10月27日、つくば
- ② Rebecca Wong, Ren Iwata, Hidekazu Saiki, Shozo Furumoto, Yoichi Ishikawa, Eiichi Ozeki, A customized automated microfluidic platform for radiosynthesis of multiple ¹⁸F PET compounds using electrochemically concentrated [¹⁸F]fluoride, 19th Int. Symp. Radiopharm. Sciences, 2011年8月31日、オランダ・アムステルダム
- ③ Shozo Furumoto, Ryo Shinbo, Youichi Ishikawa, Kazuhiko Yanai, Ren Iwata, Hiroshi Fukuda, Characterization of 2-[¹⁸F]fluoro-2-deoxy-D-mannose ([¹⁸F]FDM) as a tumor imaging agent, 19th Int. Symp. Radiopharm. Sciences, 2011年8月31日、オランダ・アムステルダム

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

○取得状況 (計0件)

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

岩田 鍊 (IWATA REN)

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：60143038

(2) 研究分担者

古本 祥三 (FURUMOTO SHOZO)

東北大学・大学院医学系研究科・准教授
研究者番号：00375198

高橋 和弘 (TAKAHASHI KAZUHIRO)

理化学研究所・分子イメージング科学研究

センター・ユニットリーダー
研究者番号：20370257

(3)連携研究者

小関 英一 (OZEKI EIICHI)
島津製作所・基盤技術研究所・主幹研究員
研究者番号：30192529

斎木 秀和 (SAIKI HIDEKAZU)
島津製作所・基盤技術研究所・主任
研究者番号：70466382