

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 4 月 17 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23591811

研究課題名(和文)血管新生因子PD-ECGFを標的としたF-18標識イメージング剤の開発

研究課題名(英文)PD-ECGF-targeted tumor imaging with new F-18 radiolabeled uracil derivatives

研究代表者

西嶋 剣一(Nishijima, Ken-ichi)

北海道大学・医学(系)研究科(研究院)・特任講師

研究者番号：60364254

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：血管新生因子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していることが知られている。本研究では、PD-ECGFの発現、すなわち血管新生をイメージングできるF-18標識放射性薬剤の開発を目的とした。PD-ECGFに親和性をもつF-18標識の合成検討において、新規TP阻害化合物を得ることに成功した。引き続き合成検討を重ねたが目的とする、標識前駆体およびF-18標識体を得ることはできなかった。しかしながら多くの合成実施例からF-18標識化合物を創製する上で、ウラシル誘導体の反応性に関する重要な知見を与えた。

研究成果の概要(英文)：The angiogenic factor PD-ECGF/ thymidine phosphorylase (TP) is expressed at high levels in a variety of solid tumors compared with normal tissue. In this study, we aimed at the development of F-18 radiopharmaceuticals for imaging of angiogenesis. 5-fluoro analog of IIMU and BOMU, a potent inhibitor of TP studied the synthesis was performed. We have succeeded in creating new compounds for TP. However F-labeled TP inhibitor was not given. The results of this study gave an important knowledge on to creating the F-18 labeled compounds.

研究分野：医歯薬学

キーワード：放射性薬剤 癌 チミジンホスホリラーゼ

1. 研究開始当初の背景

多くの腫瘍組織には、対照正常組織に比べて、高濃度に発現する分子の存在が知られており、これが腫瘍の形成、増殖、転移などに関与することが示されている。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放射性イメージング薬剤 (PET、SPECT 薬剤) の開発を系統的に実施している。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の合成に成功し、それら TP 阻害化合物の C-11 標識および I-125 標識化合物の合成を達成した。新規に開発した C-11 標識体は、腫瘍へ取り込みが時間とともに増加する傾向が観察された。PET 薬剤の有用性が示唆されたものの C-11 よりもより半減期の長い核種、すなわち F-18 への展開応用が望まれた。

2. 研究の目的

本研究では、PD-ECGF の発現すなわち腫瘍における血管新生を *in vivo* で選択的にイメージングできる F-18 標識放射性薬剤の開発を目指した。すなわち、これまでに開発した PD-ECGF に対して親和性を有する C-11 標識化合物、I-125/123 標識化合物の骨格を基本とした F-18 標識イメージング剤を設計・合成し、細胞及び動物による評価により F-18 標識化合物の腫瘍イメージング薬剤としての有用性と限界を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) TP の阻害作用を有する化合物の合成
ピリミジン骨格を基本とした TP 阻害作用を持つ化合物を設計・合成を検討した。

フッ素含有新規阻害化合物の合成：ウラシル骨格の 5 位にフルオロメチル基を導入するための標識前駆体、含フッ素新規阻害化合物の合成検討を実施した。

新規阻害化合物の合成および活性測定：

(1) の検討において直接的にフッ素を導入する合成経路において、新規 PD-ECGF 阻害化合物を得ることができた。

(2) 他の F-18 標識化の検討

当初計画していた標識化が困難であったため。アジドと F-18 標識アルキンの [3+2] 付加環化反応により、トリアゾール環を形成する F-18 標識化について検討した。

4. 研究成果

(1) フッ素含有新規阻害化合物の合成

目的とする化合物をあと 1 段階で得るところまで成功した。しかしながら最終反応において様々な条件を試みたが前駆体を得ることができなかった。そのため、再度フルオロメチル基を導入からフッ素を直接導入する合成経路の設計する必要が考えられた。

(1) 新規阻害化合物の合成および活性測定

TP 阻害活性の測定の結果は、予想されたとおり既存の化合物よりも 1/10 低いものの、目的とする含フッ素新規阻害化合物が高い活性を有することが期待された。

(2) 他の F-18 標識化の検討

標識化剤である F-18 標識アルキンは、既報に従い、標識前駆体と [F-18]KF/K222 とのフッ素化反応により放射化学的収率約 10% で得た。また反応混合物は、蒸留によって精製した。

以上、本研究では本研究では、PD-ECGF/TP の発現すなわち腫瘍における血管新生を *in vivo* で選択的にイメージングできる F-18 標識放射性薬剤の開発を目的とし、含フッ素新規 TP 阻害化合物およびその前駆体の合成検討を行った。検討により新規 TP 阻害剤を得ることに成功した。しかしながら目的とする含フッ素 TP 阻害化合物およびその前駆体を得るまでには至らなかった。

本研究の成果は、F-18 標識化合物を創製する上で重要な知見を与えた。今後、F-18 標識化を目指し本研究を進展させていきたい。

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)

Nobuhiro Oshima, Hiromichi Akizawa, Songji Zhao, Yan Zhao, Ken-ichi Nishijima, Yoji Kitamura, Yasushi Arano, Yuji Kuge, Kazue Ohkura, Synthesis and biological evaluation of negatively charged ¹¹¹In-DTPAoctreotide derivatives, 査読有, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 22(4), 1377-1382, 2014
Murakami M, Zhao S, Zhao Y, Yu W, Fatema CN, Nishijima KI, Yamasaki M, Takiguchi M, Tamaki N, Kuge Y., Increased intratumoral fluorothymidine uptake levels following multikinase inhibitor sorafenib treatment in a human renal cell carcinoma xenograft model. 査読有, *Oncol Lett.* 6 (3): 667-672. 2013
Fatema CN, Zhao S, Zhao Y, Murakami M, Yu W, Nishijima KI, Tamaki N, Kitagawa Y, Kuge Y.: Monitoring tumor proliferative response to radiotherapy using

¹⁸F-fluorothymidine in human head and neck cancer xenograft in comparison with Ki-67. 査読有, *Ann Nucl Med.* 27 (4): 355-562. 2013.

Hatano T, Zhao S, Zhao Y, Nishijima K, Kuno N, Hanzawa H, Sakamoto T, Tamaki N, Kuge Y.: Biological characteristics of intratumoral [F-18]-fluoromisonidazole distribution in a rodent model of glioma. 査読有, *Int J Oncol.* 42(3): 823-830. 2013

Watanabe A, Nishijima KI, Zhao S, Zhao Y, Tanaka Y, Takemoto H, Strauss HW, Blankenberg FG, Tamaki N, Kuge Y: Quantitative Determination of Apoptosis of Pancreatic β -Cells in a Murine Model of Type 1 Diabetes Mellitus. 査読有, *J Nucl Med.* 53(10): 1585-91 2012.

Murakami M, Zhao S, Zhao Y, Chowdhury NF, Yu W, Nishijima K, Takiguchi M, Tamaki N, Kuge Y: Evaluation of changes in the tumor microenvironment after sorafenib therapy by sequential histology and ¹⁸F-fluoromisonidazole hypoxia imaging in renal cell carcinoma. 査読有, *Int J Oncol.*, 41(5): 1593-600, 2012

Watanabe A, Nishijima KI, Zhao S, Tanaka Y, Itoh T, Takemoto H, Tamaki N, Kuge Y. Effect of glycosylation on biodistribution of radiolabeled glucagon-like peptide 1. 査読有, *Ann Nucl Med.* 26(2): 184-91, 2012

Zhao S, Kuge Y, Yi M, Zhao Y, Hatano T, Magota K, Nishijima KI, Kohanawa M, Tamaki N. Dynamic ¹¹C-methionine PET analysis has an additional value for differentiating malignant tumors from granulomas: an experimental study using small animal PET. 査読有, *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 38 (10), 1876-86, 2011.

Hua Li, Songji Zhao, Yongnan Jin, Ken-ichi Nishijima, Hiromichi Akizawa, Kazue Ohkura, Nagara Tamaki, Yuji Kuge., Radiolabeled uracil derivative as a novel SPECT probe for thymidine phosphorylase: Suppressed accumulation into tumor cells by target gene knockdown, 査読有, *Nuclear Medicine Communications*, 32 (12), 1211-1215, 2011.

Takeuchi S, Zhao S, Kuge Y, Zhao Y, Nishijima K, Hatano T, Shimizu Y, Kinoshita I, Tamaki N, Dosaka-Akita H. Fluorothymidine PET/CT as an early predictor of tumor response to treatment with cetuximab in human lung

cancer xenografts. 査読有, *Oncol Rep.*, 26 (3), 725-730, 2011.

[学会発表](計 8 件)

Kobashi N, Meike S, Okumura Y, Abe T, Akizawa H, Ohkura K, Nishijima K, Zhao S, Kuge Y, Matsumoto H: Evaluation of a thymidine phosphorylase imaging agent, [¹²³I]IIMU, as a predictive marker for therapeutic efficacy of capecitabine. The 11th International Symposium for Future Drug Discovery and Medical Care. 2013 年 8 月 1-2 日 (Sapporo)

Nishijima K, Zhao S, Zhao Y, Feng F, Shimizu Y, Abo N, Akizawa H, Ohkura K, Tamaki N, and Kuge Y: Preparation and evaluation of [¹²³I]IIMU for SPECT imaging of thymidine phosphorylase expression in tumors. 20th International Symposium on Radiopharmaceutical Sciences, 2013 年 5 月 12-17 日 (Jeju, Korea)

小橋信弥、女池俊介、奥村侑紀、阿部務、秋澤宏行、大倉一枝、西嶋剣一、趙松吉、久下裕司、松本博樹: チミジンホスホリラーゼイメージング剤 [¹²³I]IIMU による Capecitabine の治療効果予測. 日本薬学会第 133 回年会. 2013 年 3 月 27-30 日 (横浜)

趙松吉、李花、西嶋剣一、秋澤宏行、大倉一枝、玉木長良、久下裕司: チミジンホスホリラーゼを標的とする新規腫瘍イメージング剤 (¹²³I-IIMU) の開発: マウス組織におけるチミジンホスホリラーゼ発現と ¹²³I-IIMU 集積との関係. 第 7 回日本分子イメージング学会総会・学術集会、2012 年 5 月 24-25 日 (浜松)

秋澤宏行、趙松吉、高橋正幸、西嶋剣一、松本博樹、関興一、玉木長良、久下裕司、大倉一枝: 放射性標識核酸誘導体による腫瘍の核医学診断と内用療法. 特別シンポジウム 放射線を利用した画像診断・治療の最前線. 日本薬学会第 132 年会、2012 年 3 月 28-31 日 (札幌)

西嶋剣一、越田早織、趙松吉、秋澤宏行、大倉一枝、松本博樹、志賀哲、玉木長良、久下裕司: チミジンホスホリラーゼイメージング剤 [¹²³I]5-iodo-6-[(2-iminoimidazolidinyl)methyl]uracil の開発: タンパク結合測定と画像化の検討: 日本薬学会第 132 年会、2012 年 3 月 28-31 日 (札幌)

西嶋剣一、永井榮一: 薬剤シンポジウム; チミジンホスホリラーゼイメージング剤 [¹²³I]5-iodo-6-[(2-iminoimidazolidinyl)methyl]uracil の研究開発~北海道臨床開発機構とのコラボレーション~: 第 52 回日本核医学会学術総会, 2012 年 10 月 11-13 日

(札幌)

西嶋劍一、越田早織、趙 松吉、秋澤宏
行、大倉一枝、松本博樹、久下裕司：
チミジンホスリラーゼイメグ剤
[¹²³I]5-iodo-6-[(2-iminoimidazolidin
yl)methyl]uracil の開発:血漿タンパク
結合と I-123 標識合成検討, 第 11 回放
射性薬品・画像診断薬研究会, 2011 年
12 月 3 日 (京都)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

西嶋 劍一 (NISHIJIMA KEN-ICHI)
北海道大学・大学院医学研究科・特任講師
研究者番号: 60364254

(2) 研究分担者

大倉 一枝 (OHKURA KAZUE)
北海道医療大学・薬学部・教授
研究者番号: 60094827

(3) 連携研究者

()

研究者番号: