

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 27 日現在

機関番号：84203

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23791478

研究課題名(和文) アミノ酸輸送システムAに着目した18F標識癌分子標的薬剤の開発

研究課題名(英文) Development novel fluorine-18 labeled artificial amino acid radiopharmaceutical as a tumor seeking PET molecular imaging based on system A amino acid transport

研究代表者

加川 信也 (KAGAWA, SHINYA)

滋賀県立成人病センター(研究所)・その他部局等・主任研究員

研究者番号：10393191

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円、(間接経費) 930,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、細胞内アミノ酸シグナル系で重要なアミノ酸輸送システムに着目し、 $[^{11}\text{C}]\text{MET}$ によるアミノ酸輸送システムLとは異なる、 $[^{11}\text{C}]\text{MeAIB}$ の ^{18}F 標識アナログである(R)-3- $[^{18}\text{F}]\text{Fluoro-2-methyl-2-N-(methylamino)propanoic acid}$ ($[^{18}\text{F}]\text{NMeFAMP}$)によるシステムAをターゲットにした新規PET薬剤の開発を行う。 ^{11}C (20分)より半減期の長い ^{18}F (109分)で標識した $[^{18}\text{F}]\text{NMeFAMP}$ を新規薬剤として合成し、アミノ酸輸送システムAの分布や活性を定量化しうる生体イメージング診断法の開発を行った。

研究成果の概要(英文)：We have developed [N-methyl- ^{11}C]alpha-methylaminoisobutyric acid ($[^{11}\text{C}]\text{MeAIB}$) PET imaging as a tumor seeking molecular imaging based on system A amino acid transport. The aim of this study was to develop a new artificial amino acid radiopharmaceutical labeled with fluorine-18, which has longer half-life (109 min) than carbon-11 (20 min) and would be widely available in clinical use. To develop novel fluorine-18 labeled tracers, we focused on alpha-Methyl-DL-serine as a starting material. And then we developed a precursor, (R)-3,4-Dimethyl-1,2,3-oxathiazolidine-4-carboxylic acid tert-butyl ester 2,2-dioxide. Labeling of (R)-3- $[^{18}\text{F}]\text{Fluoro-2-methyl-2-N-(methylamino)propanoic acid}$ ($[^{18}\text{F}]\text{NMeFAMP}$) which are fluorinated analogues of MeAIB was carried out conveniently and efficiently in a short period of time (within 90 min). After the purification, $[^{18}\text{F}]\text{NMeFAMP}$ was obtained with a radiochemical purity greater than 99.9%.

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：アミノ酸 アミノ酸輸送システムL $[^{11}\text{C}]\text{MET}$ アミノ酸輸送システムA $[^{11}\text{C}]\text{MeAIB}$ PET $[^{18}\text{F}]\text{NMeFAMP}$

1. 研究開始当初の背景

^{18}F FDG-PET は、前立腺癌・胃癌・肝癌等の診断は不得意とされ、癌の多様性を捉えるには限界もあることから、ポスト FDG として酢酸・コリン・FLT 等の腫瘍診断薬が開発されている。その中でも、L-[methyl- ^{11}C]methionine ([^{11}C]MET) はアミノ酸 PET 診断薬として広く応用されているが、これは標識部位である硫黄に結合した *S*-メチル基が細胞内でメチル基転移反応をおこすため、他の炭素を標識した場合(カルボン酸部位を標識)と比較してタンパク合成を反映する割合が低く、正確なアミノ酸輸送システムの分布や活性度を表しているとはいえない。また、アミノ酸輸送システムは、輸送基質選択性と Na^+ 依存性により、システム A と L に分類され、[^{11}C]MET がアミノ酸輸送システム L の基質であるのに対し、 α -methylaminoisobutyric acid (MeAIB) はエネルギー依存性のアミノ酸輸送システム A の特異的基質である。従って、多くの癌細胞でその活性が増大しているアミノ酸輸送システム A を可視化する方法は、[^{11}C]MET-PET と異なる機能画像として、細胞内アミノ酸シグナル系を介した細胞の代謝活性及び細胞増殖の解明に有望とされる。

当研究所では、アミノ酸輸送システム A に着目し、人工アミノ酸であり代謝安定性が保持される構造である [^{11}C]MeAIB の臨床研究を日本で初めて進めているが、 ^{11}C は半減期が 20 分と短く、広く臨床応用を目指すには不利な点も有する。より半減期の長い ^{18}F (109 分) 標識への応用は、アミノ酸輸送システム A の研究の広範な臨床普及に大いに寄与することが期待される。

従って、MeAIB の ^{18}F 標識体を用いた PET 画像診断の開発から A と L の活性度の違いを判別できれば、癌治療効果早期判定に繋がるだけでなく癌の早期画像診断や適応癌患者の層別化(テーラーメイド医療)に非常に有用であると考えられ、癌治療成績の見極めと癌治療法の選択に大きく貢献すると期待される。加えて、最近新しい分子標的抗癌剤として注目を浴びているアミノ酸輸送システムの阻害剤の研究開発は古くから盛んに行われているが、癌組織でのアミノ酸輸送システム活性に関する Biomarker や評価法がまだ臨床的に確立されておらず、アミノ酸輸送システム阻害剤の臨床試験での妨げとなっている。このような背景から、アミノ酸輸送システム A と L の活性度の違いを判別出来れば抗癌剤の薬物動態や薬効予測が可能となり、アミノ酸輸送システム A を介して取り込みがある抗癌剤の開発が可能と思われ、創薬において非常に有用であると思われる。本研究の成果は、アミノ酸輸送システム阻害剤による癌診療においても大いに貢献しうる医療画像情報になるものと期待される。

2. 研究の目的

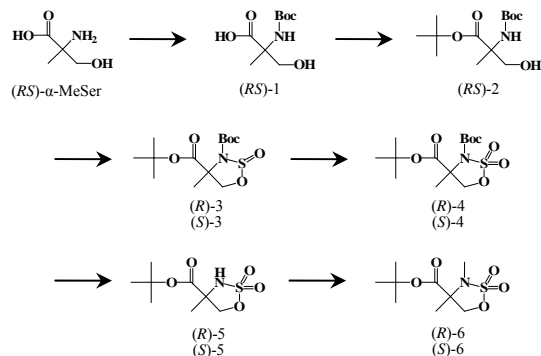
これまでに我々は、細胞内アミノ酸シグナル系で重要なアミノ酸輸送システムに着目し、L-[methyl- ^{11}C]methionine ([^{11}C]MET) によるアミノ酸輸送システム L とは異なる、 α -[*N*-methyl- ^{11}C]-methylaminoisobutyric acid ([^{11}C]MeAIB) によるシステム A を標的にした薬剤の開発を行ってきた。

本研究では、癌治療戦略に大きく寄与しうる細胞機能を判別可能にする画像診断の開発を目指し、 ^{11}C (20 分) より半減期の長い MeAIB の ^{18}F (109 分) 標識アナログ(*R*)-3-[^{18}F]Fluoro-2-methyl-2-*N*-(methylamino)propanoic acid ([^{18}F]NMeFAMP) を新規薬剤として合成し、アミノ酸輸送システム A の分布や活性を定量化しうる生体イメージング診断法の開発を行う。

3. 研究の方法

(*R*)-3,4-Dimethyl-1,2,3-oxathiazolidine-4-carboxylic acid *tert*-butyl ester 2,2-dioxide の合成

2-Amino-2-methyl-3-hydroxy-propanoic acid (α -MeSer) を出発原料として、下記の様々な合成を行い前駆体である 3,4-Dimethyl-1,2,3-oxathiazolidine-4-carboxylic acid *tert*-butyl ester 2,2-dioxide (6) を効率よく合成し、最終的に光学異性体分離用カラムを用いて、目的物である(*R*)-6 を得る (Fig. 1)。将来の臨床応用を目指す上では、大量の前駆体が必要となるため簡便で効率の良い合成法の確立・最適化を目指す。



Reagents and conditions: (a) Boc_2O , $\text{MeOH-Et}_3\text{N-NaOH}$ (aq), rt; (b) $(\text{CH}_3)_2\text{NCH}_2\text{CO}(\text{CH}_2)_2$, 80-90 °C; (c) SOCl_2 , Py , -40 °C; (d) NaOAc , R_2CH_2 , $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{H}_2\text{O}$, 0 °C to rt; (e) MeSO_2H , $+\text{BuOAc}$, DCM , rt; (f) Me_2SO , NaH , THF , rt.

Fig. 1 3,4-Dimethyl-1,2,3-oxathiazolidine-4-carboxylic Acid *tert*-Butyl Ester 2,2-Dioxide の合成

(*R*)-3-[^{18}F]Fluoro-2-methyl-2-*N*-(methylamino)propanoic acid ([^{18}F]NMeFAMP) の合成

^{18}F 標識体の合成のため、[^{18}F]フッ素イオンを QMA カラムに吸着させ、炭酸カリウム/K.222 溶液で脱離し、[^{18}F]KF として反応器に導入する。前駆体である(*R*)-3,4-Dimethyl-1,2,3-oxathiazolidine-4-carboxylic acid *tert*-butyl ester 2,2-dioxide を加えフッ素化し、HCl で加水分解を行い[^{18}F]NMeFAMP を合成する (Fig.

2)。

将来の臨床応用を目指す上では、高標識率で高比放射能の放射性薬剤合成法開発が必要で、そのためには種々の反応条件や分離溶媒選択さらには至適分離・精製方法に関する詳細な検討を繰り返し行い、簡便で安全かつ効率の良い放射性標識合成法の確立を目指す。

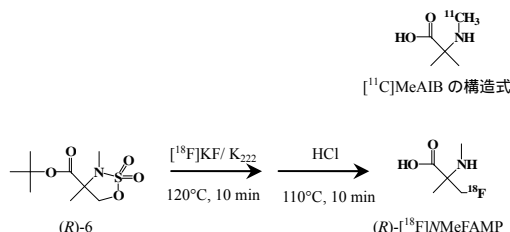


Fig. 2 $[^{18}\text{F}]\text{NMeFAMP}$ の合成と $[^{11}\text{C}]\text{MeAIB}$ の構造式

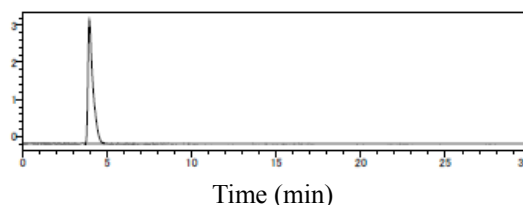
4. 研究成果

α -Methyl-DL-serine (2-Amino-2-methyl-3-hydroxy-propanoic acid) を出発原料として、MeOH/triethylamine/1M NaOHaq (9/1/1)に溶解後、di-*tert*-butyl-dicarbonate と反応させアミノ基を Boc 保護した(RS)-1 を得た (収率 87.2%)。次に、(RS)-1 を無水トルエン中で di-*tert*-butyl acetal と反応させ、カルボキシル基を *t*-Butyl 保護した(RS)-2 を得た (収率 41.2%)。続いて、(RS)-2 を -40 で thionyl chloride と pyridine で環化した。この際、シリカゲルカラムクロマトグラフィーにより光学分割が可能であり、(R)体-3 (収率 40.7%) と(S)体-3 (収率 18.2%) に分離できる事を見出した。続いて、(R)体-3 及び(S)体-3 は RuCl_3 と Sodium periodate の触媒作用により、酸化した(R)-4 (収率 79.7%) 及び(S)-4 (収率 88.2%) を得た。(R)-4 及び(S)-4 の Boc 基を脱保護し (R)-5 (17.4%) 及び(S)-5 (収率 65.4%) を得た。さらに、 Me_2SO_4 を用いて(R)-5 及び(S)-5 をメチル化し、出発原料から 6 段階の反応を経て前駆体である (R)-及び(S)-3,4-Dimethyl-1,2,3-oxathiazolidine-4-carboxylic Acid *tert*-Butyl Ester 2,2-Dioxide (R 体総収率 5.7%、S 体総収率 4.8%) を得た。最後に、前駆体である (R)及び(S)体を $n\text{-Bu}_4\text{NF}$ でフッ素化を行い、出発原料から 7 段階の反応を経て標品である (R)- 及び (S)-3-Fluoro-2-methyl-2-*N*-(methylamino)propanoic Acid ((R)-NMeFAMP 総収率 0.6%、(S)-NMeFAMP 総収率 1.0%) を得た。

以上、 α -Methylserine の D 体、L 体を出発原料として用いることなく、合成過程において(R)体と(S)体の光学分割に成功し、目的物である(R)-N-MeFAMP 及び(S)-N-MeFAMP を得ることが出来た。

$[^{18}\text{F}]\text{NMeFAMP}$ の標識合成は、 $[^{18}\text{F}]\text{フッ素イオン}$ を QMA カラムに吸着させ、炭酸カリウム/ K_{222} 溶液 (K_2CO_3 : 5 μmol / 0.2 mL H_2O 、 K_{222} : 10 μmol / 0.8 mL MeOH) で脱離後、

$[^{18}\text{F}]\text{KF}$ として反応器に導入し前駆体である (R)-3,4-Dimethyl-1,2,3-oxathiazolidine-4-carboxylic Acid *tert*-Butyl Ester 2,2-Dioxide を加えフッ素化した ($120^\circ\text{C} \times 10 \text{ min}$)、1N HCl 0.5 mL で加水分解 ($100^\circ\text{C} \times 10 \text{ min}$) を行った後、HPLC により分離精製 (HILIC $10 \times 250 \text{ mm}$, MeCN:10 mM $\text{CH}_3\text{COONH}_4=80:20$, 5 mL/min) を行ない、(R)-3- $[^{18}\text{F}]\text{Fluoro-2-methyl-2-*N*-(methylamino)propanoic acid}$ ($[^{18}\text{F}]\text{NMeFAMP}$) を収率約 20%、合成時間約 90 分、放射化学的純度 99.9%以上 (Fig. 3) で合成した。



Column: COSMOSIL HILIC 4.6 \times 250mm (NacalaiTesque)
Mobile phase composition: MeCN/10 mM $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ (80/20)
Flow rate: 1.5 mL/min
Column temperature: 35°C
Injection volume: 10 μL

Fig. 3 Radiochemical purity by HPLC

以上の研究により、アミノ酸輸送システムに着目し、 $[^{11}\text{C}]\text{MET-PET}$ によるアミノ酸輸送システム L とは異なる、 $[^{18}\text{F}]\text{NMeFAMP}$ によるシステム A の分布や活性を定量化しうる生体イメージング診断法の開発への可能性が示唆された。

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 11 件)

Takemoto K, Hatano E, Nishii R, Kagawa S, Kishibe Y, Takahashi M, Yamauchi H, Matsumura K, Zaima M, Toriguchi K, Tanabe K, Kitamura K, Seo S, Taura K, Endo K, Uemoto S, Higashi T. Assessment of $[^{18}\text{F}]\text{-fluoroacetate}$ PET/CT as a tumor-imaging modality: preclinical study in healthy volunteers and clinical evaluation in patients with liver tumor. *Ann Nucl Med.* 28(4): 371-80, 2014.

Yoshimoto M, Hirata M, Kanai Y, Naka S, Nishii R, Kagawa S, Kawai K, Ohmomo Y. Monitoring of gefitinib sensitivity with radioiodinated PHY based on EGFR expression. *Biol Pharm Bull.* 37(3) : 355-60, 2014.

Yamauchi H, Higashi T, Kagawa S, Kishibe Y, Takahashi M. Impaired perfusion modifies the relationship between blood pressure and stroke risk in major cerebral artery disease. *J*

Neurol Neurosurg Psychiatry. 84(11) : 1226-32, 2013.

Nishii R, Higashi T, Kagawa S, Kishibe Y, Takahashi M, Yamauchi H, Motoyama H, Kawakami K, Nakaoku T, Nohara J, Okamura M, Watanabe T, Nakatani K, Nagamachi S, Tamura S, Kawai K, Kobayashi M. Diagnostic usefulness of an amino acid tracer, α -[N-methyl-(11)C]-methylaminoisobutyric acid ((11)C-MeAIB), in the PET diagnosis of chest malignancies. Ann Nucl Med. 27(9) : 808-21, 2013.

Hirata M, Kanai Y, Naka S, Yoshimoto M, Kagawa S, Matsumuro K, Katsuma H, Yamaguchi H, Magata Y, Ohmomo Y. A useful EGFR-TK ligand for tumor diagnosis with SPECT: development of radioiodinated 6-(3-morpholinopropoxy)-7-ethoxy-4-(3'-iodophenoxy)quinazoline. Ann Nucl Med. 27(5) : 431-43, 2013.

Yamauchi H, Higashi T, Kagawa S, Kishibe Y, Takahashi M. Chronic hemodynamic compromise and cerebral ischemic events in asymptomatic or remote symptomatic large-artery intracranial occlusive disease. AJNR Am J Neuroradiol. 34(9) : 1704-10, 2013.

Yeh HH, Tian M, Hinz R, Young D, Shavrin A, Mukhopadhyay U, Flores LG, Balatoni J, Soghomonyan S, Jeong HJ, Pal A, Uthamantil R, Jackson JN, Nishii R, Mizuma H, Onoe H, Kagawa S, Higashi T, Fukumitsu N, Alauddin M, Tong W, Herholz K, Gelovani JG. Imaging epigenetic regulation by histone deacetylases in the brain using PET/MRI with ^{18}F -FAHA. Neuroimage. 1(64) : 630-9, 2013

Yamauchi H, Higashi T, Kagawa S, Nishii R, Kudo T, Sugimoto K, Okazawa H, Fukuyama H. Is misery perfusion still a predictor of stroke in symptomatic major cerebral artery disease? Brain. 135(8) : 2515-26, 2012

Hirata M, Kanai Y, Naka S, Matsumuro K, Kagawa S, Yoshimoto M, Ohmomo Y. Synthesis and evaluation of radioiodinated phenoxyquinazoline and benzylaminoquinazoline derivatives as new EGF receptor tyrosine kinase imaging ligands for tumor diagnosis using SPECT. Ann Nucl Med. 26(5) : 381-9, 2012

Watanabe H, Ono M, Kimura H, Kagawa S, Nishii R, Fuchigami T, Haratake M, Nakayama M, Saji H. A dual fluorinated and

iodinated radiotracer for PET and SPECT imaging of β -amyloid plaques in the brain. Bioorg Med Chem Lett. 21(21) : 6519-22, 2011

Ono M, Cheng Y, Kimura H, Cui M, Kagawa S, Nishii R, Saji H. Novel ^{18}F -labeled benzofuran derivatives with improved properties for positron emission tomography (PET) imaging of β -amyloid plaques in Alzheimer's brains. J Med Chem. 54(8) : 2971-9, 2011

[学会発表](計15件)

加川信也, 矢倉栄幸, 西井龍一, 東達也, 山内浩, 川井恵一, 渡邊裕之, 木村寛之, 小野正博, 佐治英郎 固相抽出法による製剤化技術を用いた新規アミロイドイメージング剤 ^{18}F FPYBF-2の合成検討 日本薬学会第134年会 2014.3.28 熊本(平成26年3月27-30日)

加川信也 薬剤製造の現場から PET 化学ワークショップ 2014 2014.2.7 由布院(平成26年2月7-9日)

加川信也, 西井龍一, 東達也, 岸辺喜彦, 高橋昌章, 山内浩, 川井恵一, 渡邊裕之, 木村寛之, 小野正博, 佐治英郎 臨床使用に向けた新規アミロイドイメージング剤 ^{18}F FPYBF-2の合成 第53回日本核医学会学術総会 2013.11.9 博多(平成25年11月8-10日)

加川信也, 西井龍一, 東達也, 山内浩, 高橋和弘, 水間広, 尾上浩隆, 竹本研史, 波多野悦郎, 川井恵一 新しい固相抽出技術を用いた ^{18}F Fluoroacetate (^{18}F FACE)合成法の検討 第53回日本核医学会学術総会 2013.11.9 博多(平成25年11月8-10日)

加川信也, 矢倉栄幸, 西井龍一, 東達也, 岸辺喜彦, 高橋昌章, 山内浩, 水川陽介, 竹本研史, 波多野悦郎, 高橋和弘, 水間広, 尾上浩隆, 川井恵一 ^{18}F Fluoroacetate (^{18}F FACE)臨床研究に向けて PET サマーセミナー2013 2013.8.23 金沢(平成25年8月23-25日)

Shinya Kagawa, Ryuichi Nishii, Tatsuya Higashi, Hiroshi Yamauchi, Kenji Takemoto, Akiko Tachibana, Kazuhiro Takahashi, Hiroshi Mizuma, Hirotaka Onoe, Keiichi Kawai Novel approach for solid-phase radiosynthesis of ^{18}F -Fluoroacetate: Comparison between one-pot and two-pot distillation procedure. The Society of Nuclear Medicine and Molecular Imaging

(SNMMI) 60th Annual Meeting, 2013.6.8-12
VANCOUVER, BC, CANADA (2013)

Shinya Kagawa, Ryuichi Nishii, Tatsuya Higashi, Hiroshi Yamauchi, Kenji Takemoto, Etsuro Hatano, Akiko Tachibana, Kazuhiro Takahashi, Hiroshi Mizuma, Hiroataka Onoe, Shigeki Nagamachi, Keiichi Kawai, Shozo Tamura Radiosynthesis of [¹⁸F]Fluoroacetate by a one-pot distillation procedure: a novel approach of the solid-phase synthesis. The 20th International Symposium on Radiopharmaceutical Sciences (ISRS), 2013.5.12-17 ICC JEJU, Jeju, KOREA (2013)

加川信也、矢倉栄幸、西井龍一、東達也、山内浩、川井恵一、渡邊裕之、木村寛之、小野正博、佐治英郎 新規アミロイドイメージング剤[¹⁸F]FPYBF-2 合成法の検討 第八回日本分子イメージング学会 2013.5.30-31 横浜(平成 25 年 5 月 30-31 日)

加川信也 PET 薬剤合成の勘所: [¹⁸F]フルオロ酢酸 PET 化学ワークショップ 2013 2013.2.9 由布院(平成 25 年 2 月 8-10 日)

Shinya Kagawa, Ryuichi Nishii, Tatsuya Higashi, Hiroyo Araki, Hiroyuki Okudaira, Tomoya Uehara, Masato Kobayashi, Mitsuyoshi Yoshimoto, Yasushi Arano, Keiichi Kawai Radiosynthesis of [¹⁸F]Fluoroacetate: Comparison between on-column hydrolysis method and two-pot distillation procedure using a cassette-type multipurpose automatic synthesizer module. European Association of Nuclear Medicine (EANM) Congress 2012 2012.10.30 イタリアミラノ(平成 24 年 10 月 27-31 日)

加川信也、西井龍一、東達也、岸辺喜彦、高橋昌章、高橋和弘、水間広、尾上浩隆、竹本研史、川井恵一、山内浩 [¹⁸F]Fluoroacetate の合成法の開発: オンカラム加水分解法と two-pot 蒸留法の比較 第 52 回日本核医学会学術総会 2012.10.12 札幌(平成 24 年 10 月 11-13 日)

加川信也、矢倉栄幸、西井龍一、東達也、山内浩、水川陽介、竹本研史、波多野悦郎、高橋和弘、水間広、尾上浩隆、長町茂樹、川井恵一、田村正三 臨床使用に向けた[¹⁸F]Fluoroacetate([¹⁸F]FACE)製造法の検討 第七回日本分子イメージング学会 2012.5.24-25 アクトシティ浜松

(平成 24 年 5 月 24-25 日)

加川信也、西井龍一、東達也、岸辺喜彦、高橋昌章、山内浩、竹本研史、波多野悦郎、長町茂樹、川井恵一、田村正三 PET 腫瘍診断薬[¹⁸F]Fluoroacetate の合成基礎検討 第 51 回日本核医学会学術総会 2011.10.28 つくば(平成 23 年 10 月 27-29 日)

加川信也、西井龍一、竹本研史、東達也、波多野悦郎、水間広、尾上浩隆、長町茂樹、川井恵一、田村正三、Juri G Gerovani F-18 フルオロ酢酸のヒト肝細胞における集積検討 第六回日本分子イメージング学会 2011.5.26-27 神戸国際会議場(平成 23 年 5 月 26-27 日)

加川信也 がん診断に役立つ PET 薬剤の合成・開発 がん診療セミナー 第 16 回「がん診療と放射線被ばく」 2011.5.25 研究所講堂 滋賀県立成人病センター(平成 23 年 5 月 25 日)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況(計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

取得状況(計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

〔その他〕
ホームページ等
<http://www.shigamed.jp/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

加川 信也 (KAGAWA SHINYA)
滋賀県立成人病センター研究所・主任研究員
研究者番号: 10393139

(2) 研究分担者

なし。

(3)連携研究者
なし。