

平成 30 年 5 月 17 日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K09886

研究課題名(和文)腫瘍イメージング剤としての放射性金属 - 八臭素化ポルフィリンの開発研究

研究課題名(英文) Study on the development of radiometal-octabromoporphyrines as a tumor imaging agent

研究代表者

北村 陽二 (Kitamura, Yoji)

金沢大学・学際科学実験センター・准教授

研究者番号：10368483

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、新規「放射性金属 - 八臭素化ポルフィリン錯体」を開発し、腫瘍イメージング剤としての可能性について検討した。その結果、八臭素化ポルフィリン誘導体の一つであるOBTCPPが、診断用核種の<sup>111</sup>Inで短時間で標識可能であった。<sup>111</sup>In-OBTCPPは、colon26細胞を移植した担癌マウスにおいて、投与24時間後、腫瘍へ約5%ID/g集積し、腫瘍/筋肉比は、10以上を示した。さらに、投与24時間後にSPECT-CT撮像を行った所、体内分布実験の結果を反映し、腫瘍を画像化可能であった。以上より、<sup>111</sup>In-OBTCPPは腫瘍イメージング剤としての可能性を有することが示された。

研究成果の概要(英文)：In this study, a new radiometal-octabromoporphyrines was developed and the possibility of application for a new tumor imaging agent was examined. As a result, it was found that Octabromotetrakis (4-carboxyphenyl)porphine (OBTCPP) could be very rapidly radiolabelled by <sup>111</sup>In, a radio nuclear for diagnosis. It was also found that, in tumor bearing mice transplanted colon26 tumor cell, <sup>111</sup>In-OBTCPP was accumulated in the tumor at about 5%ID/g, and tumor to muscle ratio was over 10. Furthermore, in SPECT-CT imaging study, the image acquired 24 h after injection reflected bio-distribution study, and the tumor was visualized. In conclusion, <sup>111</sup>In-OBTCPP has possibility of application for a new tumor imaging agent.

研究分野：放射性医薬品

キーワード：放射性医薬品 ポルフィリン 金属 錯体 腫瘍

## 1. 研究開始当初の背景

ポルフィリンは4個のピロールからなる環状構造を基本構造としており、その環の中心に様々な金属元素が結合し、錯体を形成することができる。近年、このポルフィリンの腫瘍集積性と、レーザー光照射により蛍光や活性酸素を発生することを利用した、腫瘍の蛍光診断や、治療を目的とした光線力学療法が開発され、普及しつつある。しかし、このような可視光を用いた診断、治療法では、光の生体組織透過性が劣ることから、表層癌に適用が限定されるという欠点がある。そこで、ポルフィリンを放射性同位元素で標識できれば、光照射は不要となり、深部の腫瘍の診断や治療にも適用可能となる。放射性同位元素の中には、金属元素も存在し、 $^{111}\text{In}$  や  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  は SPECT 診断に、 $^{52}\text{Fe}$ 、 $^{62}\text{Zn}$  や  $^{68}\text{Ga}$  などは PET 診断に、 $^{64}\text{Cu}$  や  $^{90}\text{Y}$  などは内用放射線治療に用いることができる。そこで、報告者は、ポルフィリンに放射性金属を結合させた錯体を開発すれば、腫瘍を標的とする放射性医薬品としての新たな可能性を開拓できると思い至った。

また、臨床における放射性医薬品の使用に際しては、放射性同位元素による標識から精製までを短時間で行うことが要求される。特に、PET 診断においては、半減期の非常に短いポジトロン放出核種を用いるため、標識と精製に要する時間の短縮は非常に重要である。報告者は、ポルフィリン誘導体の開発、及び、その分析学、核医学への応用に関する研究を行ってきた。その研究成果から、八臭素化ポルフィリン誘導体は、これまでのポルフィリンのように長時間の加熱撹拌を必要とせず、多くの金属と速やかに結合することを見出し、この性質は放射性医薬品としての臨床応用に非常に有用であると考えた。実際、報告者はこれまでに八臭素化ポルフィリン誘導体を  $^{65}\text{Zn}$  で標識することに成功してきた。本研究では、他の放射性金属との錯体のさらなる開発を進めた。

現在、放射性医薬品による腫瘍診断は、保険適用されている FDG-PET が普及しつつあるが、腫瘍の種類によっては検出が困難な場合や、下腹部への集積が多く、下腹部臓器の腫瘍は検出不可能であるなど、問題点も多く残されている。それに対し、ポルフィリン誘導体の重要な性質として、様々な種類の腫瘍に対して親和性を有することが挙げられる。本研究では、放射性金属 - 八臭素化ポルフィリン誘導体を新規に合成し、基礎的評価を行い、さらに動物用 PET・SPECT・CT 装置を用いた *in vivo* イメージングによって、腫瘍集積性、体内動態などの画像定量解析を行い、臨床応用に有用な腫瘍イメージング剤を開発することを試みた。

## 2. 研究の目的

本研究では、金属との結合が非常に速い八臭素化ポルフィリン誘導体に着目し、腫瘍イメ

ージング剤としての新規「放射性金属 - 八臭素化ポルフィリン錯体」を開発し、その臨床応用を目指すことを目的とした。

## 3. 研究の方法

### (1) $\text{H}_2$ -OBTCP の合成

#### (1) - Cu-Tetrakis (4-carboxyphenyl) porphine (Cu-TCPP) の合成

TCPP (ALDRICH 社) 50 mg を 0.2 M 酢酸ナトリウム水溶液に溶かし、1 時間還流した後、酢酸銅 20 mg を加えてさらに 30 分間還流した。放冷後、反応液に濃塩酸を加え、生じた沈殿物を PTFE 製のメンブランフィルター(孔径; 0.45  $\mu\text{m}$ ) を用いてろ取し、結晶を酸化リン(V)上で減圧乾燥させ、Cu-TCPP を得た。

#### (1) - Cu-octabromotetrakis(4-carboxyphenyl)porphine (Cu-OBTCP) の合成

Cu-TCPP 40 mg を DMF 30 mL に溶解し、臭化コハク酸イミド(NBC)を 144 mg 加え、70 で 1 時間加熱撹拌した。放冷後、反応液に水を加え、生じた沈殿物をろ取し、結晶を酸化リン(V)上で減圧乾燥させて、Cu-OBTCP を得た。

#### (1) - Octabromotetrakis(4-carboxyphenyl)porphine ( $\text{H}_2$ -OBTCP) の合成

Cu-OBTCP 40 mg を氷酢酸 20 mL に溶解し、濃硫酸 5 mL を添加して一晩撹拌した。撹拌後、砕いた氷を加え、沈殿物を生成させた。沈殿物をろ取し、水酸化ナトリウム水溶液に溶解し、さらにろ過した。得られたる液に少量の濃塩酸を加え、生じた沈殿物をろ取した。結晶を酸化リン(V)上で減圧乾燥させて  $\text{H}_2$ -OBTCP を得た。

### (2) 放射性金属を用いた標識反応の検討

$1 \times 10^{-4} \sim 1 \times 10^{-3}$  M の  $\text{H}_2$ -OBTCP の 0.2 M 酢酸ナトリウム溶液 0.3 mL に、 $^{111}\text{InCl}_3$ 、 $^{67}\text{GaCl}_3$  を添加し、マイクロ波合成装置を用い 100 ~ 170 で 5 分間加熱した。反応後の各化合物の標識率を薄層クロマトグラフィーにより分析した。アルミシートシリカゲル 60 (メルク社製)を用い、展開溶媒はメタノール:0.5 M 水酸化ナトリウム水溶液 = 3 : 1 を用いた。

### (3) 担癌マウスの作製

10% FBS 含有 RPMI 培地で培養した colon26 細胞(マウス結腸癌由来細胞株)を、BALB/c マウス(雄性、5 週齢)の大腿部、または肩に、それぞれ  $5 \times 10^6$  個移植した。

### (4) 担癌マウスにおける放射性金属 - 八臭素化ポルフィリン錯体の体内分布の検討

(3) で作製した担癌マウスに、尾静脈から放射性金属 - 八臭素化ポルフィリン錯体を投与し、設定時間後にマウスを屠殺し、血液及び関心臓器を採取し、重量と放射能を測定した。

#### (5) *In vivo* イメージングによる放射性金属 - 八臭素化ポルフィリン錯体の評価

小動物用 SPECT-CT 装置を用いて、担癌動物における放射性金属 - 八臭素化ポルフィリン錯体の *in vivo* イメージングを行った。得られた画像から、腫瘍集積性の評価を行い、腫瘍イメージング剤としての有用性に関して検討した。

#### 4. 研究成果

OBTCPP はマイクロ波合成装置を用いることで、高い標識率で  $^{111}\text{In}$  標識体を得ることができたが、 $^{67}\text{Ga}$  での標識率は低かった。OBTCPP 15 nmol、160、5 分間の加熱で、標識率 97% で  $^{111}\text{In}$  標識体 ( $^{111}\text{In}$ -OBTCPP) を得ることに成功した。

次に、 $^{111}\text{In}$ -OBTCPP の担癌マウスにおける腫瘍集積性と、体内分布に関する検討を行った。担癌マウスとして、colon26 細胞 (マウス結腸癌由来細胞株) を移植した BALB/c マウスを用い、 $^{111}\text{In}$ -OBTCPP を尾静脈から投与した後の体内分布を検討した。その結果、担癌マウスにおいて、 $^{111}\text{In}$ -OBTCPP の血液クリアランスは比較的遅かったが、投与 24 時間後では約 0.5%ID/g にまで低下した。また、 $^{111}\text{In}$ -OBTCPP は肝臓、脾臓、腎臓に高い集積を示したが、腫瘍へも集積し、投与 24 時間後で、腫瘍に約 5%ID/g の集積を示し、腫瘍/筋肉比は、10 以上であった。さらに、腫瘍イメージング剤としての可能性を検討するため、担癌マウスを用い、 $^{111}\text{In}$ -OBTCPP 投与 24 時間後に SPECT (単一光子放射断層撮影) - CT (コンピューター断層撮影法) の撮像を行った。その結果、体内分布実験の結果を反映し、肝臓や脾臓、腎臓に高集積を示したものの、腫瘍にも集積し、腫瘍を画像化することが可能であった。

以上の結果は、 $^{111}\text{In}$ -OBTCPP が腫瘍のイメージング剤となり得る可能性を有していることを示唆している。

#### 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 14 件)

Ogawa K., Masuda R., Mizuno Y., Makino A., Kozaka T., Kitamura Y., Kiyono Y., Shiba K. and Odani A., Development of a novel radiobromine-labeled sigma-1 receptor imaging probe. *Nuclear Medicine and Biology*, 61, 28-35, (2018). <https://doi.org/10.1016/j.nucmedbio.2018.03.005>, 査読有

Oshima N., Akizawa H., Kawashima H.,

Zhao S., Zhao Y., Nishijima K. I., Kitamura Y., Arano Y., Kuge Y. and Ohkura K., Redesign of negatively charged  $^{111}\text{In}$ -DOTA-octreotide derivative to reduce renal radioactivity. *Nucl Med Biol*, 48, 16-25, (2017). 10.1016/j.nucmedbio.2017.01.006, 査読有

Ogawa K., Ishizaki A., Takai K., Kitamura Y., Makino A., Kozaka T., Kiyono Y., Shiba K. and Odani A., Evaluation of Ga-DOTA-(D-Asp)<sub>n</sub> as bone imaging agents: D-aspartic acid peptides as carriers to bone. *Scientific Reports*, 7, 13971, (2017). 10.1038/s41598-017-14149-7, 査読有

Ogawa K., Aoki M., Fukuda T., Kadono S., Kiwada T. and Odani A., Complexes of myo-Inositol-Hexakisphosphate (IP6) with Zinc or Lanthanum for the Decorporation of Radiocesium. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*, 65, 261-267, (2017). 10.1248/cpb.c16-00792, 査読有

Maejima Y., Horita S., Kobayashi D., Aoki M., O'Hashi R., Imai R., Sakamoto K., Mori M., Takasu K., Ogawa K., Takenoshita S., Zhao S., Hazama A. and Shimomura K., Nesfatin-1 inhibits voltage gated K<sup>+</sup> channels in pancreatic beta cells. *Peptides*, 95, 10-15, (2017). 10.1016/j.peptides.2017.07.001, 査読有

Hu X., Ogawa K., Li S., Kiwada T. and Odani A., Synergistic Effect of Metalation on 4Cisplatin-Porphyrin in Cancer Photodynamic Therapy. *Chemistry Letters*, 46, 764-766, (2017). 10.1246/cl.170095, 査読有

Hu X., Ogawa K., Kiwada T. and Odani A., Water-soluble metalloporphyrinates with excellent photo-induced anticancer activity resulting from high tumor accumulation. *J Inorg Biochem*, 170, 1-7, (2017). 10.1016/j.jinorgbio.2017.02.001, 査読有

Effendi N., Ogawa K., Mishiro K., Takarada T., Yamada D., Kitamura Y., Shiba K., Maeda T. and Odani A., Synthesis and evaluation of radioiodinated 1-{2-[5-(2-

methoxyethoxy)-1H-benzo[d]imidazol-1-yl]quinolin-8-yl}piperidin-4-amine derivatives for platelet-derived growth factor receptor (PDGFR) imaging. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 25, 5576-5585, (2017). <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2017.08.025>, 査読有

Uno I., Kozaka T., Miwa D., Kitamura Y., Azim M. A.-u., Ogawa K., Taki J., Kinuya S. and Shiba K., In Vivo Differences between Two Optical Isomers of Radioiodinated o-iodo-trans-decalinvesamicol for Use as a Radioligand for the Vesicular Acetylcholine Transporter. *PLoS ONE*, 11, e0146719, (2016). [10.1371/journal.pone.0146719](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0146719), 査読有

Ogawa K., Fukuda T., Han J., Kitamura Y., Shiba K. and Odani A., Evaluation of Chlorella as a Decorporation Agent to Enhance the Elimination of Radioactive Strontium from Body. *Plos One*, 11, e0148080, (2016). [ARTN e0148080,10.1371/journal.pone.0148080](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0148080), 査読有

Kitamura Y., Kozaka T., Miwa D., Uno I., Azim M. A.-u., Ogawa K., Taki J., Kinuya S. and Shiba K., Synthesis and evaluation of a new vesamicol analog o-[<sup>111</sup>C]methyl-trans-decalinvesamicol as a PET ligand for the vesicular acetylcholine transporter. *Annals of Nuclear Medicine*, 30, 122-129, (2016). [10.1007/s12149-015-1039-6](https://doi.org/10.1007/s12149-015-1039-6), 査読有

Taki J., Inaki A., Wakabayashi H., Matsunari I., Imanaka-Yoshida K., Ogawa K., Hiroe M., Shiba K., Yoshida T. and Kinuya S., Effect of postconditioning on dynamic expression of tenascin-C and left ventricular remodeling after myocardial ischemia and reperfusion. *EJNMMI Res*, 5, 21, (2015). [10.1186/s13550-015-0100-8](https://doi.org/10.1186/s13550-015-0100-8), 査読有

Ogawa K., Yu J., Ishizaki A., Yokokawa M., Kitamura M., Kitamura Y., Shiba K. and Odani A., Radiogallium Complex-Conjugated Bifunctional Peptides for Detecting Primary Cancer and Bone Metastases Simultaneously. *Bioconjugate Chemistry*, 26, 1561-1570, (2015). [10.1021/acs.bioconjchem.5b00](https://doi.org/10.1021/acs.bioconjchem.5b00)

186, 査読有

Ogawa K., Mizuno Y., Washiyama K., Shiba K., Takahashi N., Kozaka T., Watanabe S., Shinohara A. and Odani A., Preparation and evaluation of an astatine-211-labeled sigma receptor ligand for alpha radionuclide therapy. *Nucl Med Biol*, 42, 875-879, (2015). [10.1016/j.nucmedbio.2015.07.001](https://doi.org/10.1016/j.nucmedbio.2015.07.001), 査読有

〔学会発表〕(計 14 件)

北村 陽二, 佐藤 恭子, 多田 敦子, 小川 数馬, 小阪 孝史, 中島 美由紀, 茂野 泰貴, 高橋 茉衣夏, 小澤 梓, 上出 茉歩, 瀨本 萌凧, 吉田 楓, 斎藤 寛, 柴 和弘: 食品添加物確認試験の赤外スペクトル測定における ATR 法の適用に関する検討、日本薬学会 第 138 年会(もてなしドーム, 石川県) 2018 年 3 月 26 日

茂野泰貴, 小阪孝史, 北村 陽二, 小川 数馬, 柴 和弘: [123I]015V の新規シグマ-1 受容体イメージング剤としての評価、第 15 回次世代を担う若手のためのフィジカル・ファーマフォーラム (PPF2017)(石川県青少年総合研修センター, 石川県) 2017 年 9 月 4 日

茂野泰貴, 小阪孝史, 北村 陽二, 小川 数馬, 柴 和弘: 新規 SPECT 用シグマ-1 受容体イメージング剤の開発研究、第 12 回日本分子イメージング学会総会・学術集会(横浜港 大さん橋ホール, 神奈川県) 2017 年 5 月 25 日

北村 陽二, 佐藤 恭子, 小川 数馬, 小阪 孝史, 中島 美由紀, 茂野 泰貴, 高橋 茉衣夏, 小澤 梓, 斎藤 寛, 柴 和弘: 食品添加物確認試験の赤外スペクトル測定における ATR 法の適用に関する検討、日本薬学会 第 137 年会(仙台国際センター, 宮城県) 2017 年 3 月 26 日

石山 史奈, 小阪 孝史, 高橋 茉衣夏, 北村 陽二, 茂野 泰貴, 小川 数馬, 柴 和弘: 環サイズの異なる vesamicol 類縁体の小胞アセチルコリントランスポーター及びシグマ受容体との構造活性相関、日本薬学会 第 137 年会(仙台国際センター, 宮城県) 2017 年 3 月 26 日

茂野 泰貴, 小阪 孝史, 北村 陽二, 石山 史奈, 小川 数馬, 柴 和弘: 5 員環を有する vesamicol 類縁体のシグマ-1 受容体イメージング剤としての有用性、日本薬学会 第 137 年会(仙台国際センター, 宮城県) 2017 年 3 月 26 日

北嶋 祥太郎, 小澤 梓, 北村 陽二, 小阪 孝史, 茂野 泰貴, 小川 数馬, 柴和弘: ヒト染色体 15 番長腕重複モデルマウスのストレス負荷によるドーパミン受容体への影響、日本薬学会 第 137 年会 (仙台国際センター, 宮城県) 2017 年 3 月 25 日

小阪孝史、緩詰沙耶、茂野泰貴、北村 陽二、小川 数馬、川井恵一、絹谷清剛、柴和弘: SPECT 用 <sup>123</sup>I 受容体イメージング剤 [123I]PIDV の開発研究、第 56 回日本核医学会学術総会 (名古屋国際会議場, 愛知県) 2016 年 11 月 4 日

Ogawa K, Mizuno Y, Makino A, Masuda R, Kozaka T, Kitamura Y, Kiyono Y, Shiba K, Odani A : Development of a radiobromine-labeled compound as a sigma receptor ligand for tumor imaging., 2016SNMMI 63th annual meeting, (Baltimore Convention Center, Sangiego, USA.) 2016 年 6 月 12 日

北村 陽二、小川 数馬、小阪孝史、茂野泰貴、北嶋祥太郎、石山史奈、中島美由紀、御船正樹、川井恵一、絹谷 清剛、齋藤 寛、柴 和弘: <sup>111</sup>In 標識八臭素化ポルフィリン誘導体の腫瘍イメージング剤としての開発研究、第 11 回日本分子イメージング学会総会・学術集会 (神戸国際会議場, 兵庫県) 2016 年 5 月 29 日

Azim MA, Kozaka T, Uno I, Miwa D, Kitamura Y, Shiba K : In vitro evaluation meta-bromo benzovesamicol as PET VACHT imaging Probe., The 2nd Asian Nuclear Medicine Academic Forum 2016, (ANMAF 2016) (Shanghai, China.) 2016 年 5 月 6 日

石山 史奈, 北嶋 祥太郎, 北村 陽二, 小阪 孝史, 小川 数馬, 東田 陽博, 柴和弘: CD157/BST1 ノックアウトマウスのドーパミン神経系の局所脳内分布変化、日本薬学会 第 136 年会 (パシフィコ横浜, 神奈川県) 2016 年 3 月 29 日

北嶋 祥太郎, 菅谷 望, 北村 陽二, 石山 史奈, 小阪 孝史, 小川 数馬, 柴和弘: ストレス性疾患の早期画像診断のターゲットとしてのシグマ受容体の可能性、日本薬学会 第 136 年会 (パシフィコ横浜, 神奈川県) 2016 年 3 月 28 日

小阪 孝史, 柴山 怜子, 稲垣 冬彦, 向智里, 北村 陽二, 小川 数馬, 柴和弘: Vesamicol を母核とする新規 <sup>123</sup>I-2

受容体選択的リガンドの開発研究、日本薬学会 第 136 年会 (パシフィコ横浜, 神奈川県) 2016 年 3 月 28 日

〔その他〕

ホームページ等

<http://ri-center.w3.kanazawa-u.ac.jp/TracerLabHP/index>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

北村 陽二 (KITAMURA YOJI)

金沢大学・学際科学実験センター・准教授  
研究者番号: 10368483

(2) 研究分担者

小川 数馬 (OGAWA KAZUMA)

金沢大学・新学術創成研究機構・准教授  
研究者番号: 30347471