2版

様　式　Ｃ－１９、Ｆ－１９－１、Ｚ－１９　（共通）

科学研究費助成事業　　研究成果報告書

平成 ３０ 年　 ６ 月 ２３ 日現在

機関番号：８１６０３
研究種目：研究活動スタート支援
研究期間：2016～2017
課題番号：１６Ｈ０７４３１

研究課題名（和文）腫瘍イメージングを目的とした新規フッ素18標識ホスホニウム誘導体の開発

研究課題名（英文）Development of 18F-labelled phosphonium derivatives for tumor imaging

研究代表者
冨永　隆裕（Tominaga, Takahiro）

一般財団法人脳神経疾患研究所・南東北創薬・サイクロトロン研究所・助手

研究者番号：５０７７８６０２

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費）　　2,100,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では，ポジトロン核種18Fで標識したホスホニウム誘導体について，腫瘍イメージング剤としての性能を評価した。複数のホスホニウム誘導体を合成して，生物学的な比較評価を行い，18F-TAP-Dを腫瘍イメージング剤の候補化合物として選出した。癌細胞を用いた細胞取り込み実験では18F-TAP-Dの良好な取り込みがみられた。一方で，担癌マウスのPET画像では癌特異的な放射能集積は確認できなかった。

研究成果の概要（英文）：In this study, we evaluated 18F-labeled phosphonium derivatives as a tumor imaging agent. We synthesized various phosphonium derivatives and performed biological evaluation. Among them, 18F-TAP-D was selected as a candidate for a tumor imaging agent. In the cellular uptake study, good uptake of 18F-TAP-D was observed in tumor cells. However, we could not confirm the specific radioactivity accumulation to the tumor in the PET study with tumor-bearing mice.

研究分野：放射性医薬品学

キーワード：腫瘍イメージング　ミトコンドリア　ホスホニウム　PET

1. 研究開始当初の背景

日本における死因の第一位は癌であり，その早期発見につながる診断法開発の重要度は高い。^{18}F-FDG による PET 検査では，従来の検査法と組み合わせることで，1 cm 前後の癌の発見が可能であるが，糖代謝が亢進している炎症部位や，生理的に糖の高い集積がみられる組織では，病変部位との正確な鑑別が困難である。^{18}F-FDG の欠点を補うトレーサーとして，アミノ酸（^{11}C-メチオニン），核酸（^{18}F-フルオロチミジン），細胞膜原料（^{11}C-コリン）などが開発されており，癌への高い選択性をもつ薬剤の更なる開発が望まれている。

非局在型脂溶性陽イオン（DLCs）と呼ばれる一群の化合物は，細胞の脂質二重層を容易に通過でき，さらにミトコンドリア（Mt）内膜に形成される負の膜電位に駆動され，Mt に特異的に集積する性質をもつ。また，癌細胞の Mt の膜電位は正常細胞と比較して-60 mV 程度低く，この電位差により DLCs は癌細胞の Mt に十倍程度高く集積すると推定される。これらの性質から，ポジトロン標識した DLCs は，Mt を標的とした癌の有効な診断薬になり得ると期待される。

DLCs の中でホスホニウム構造をもつ ^{3}H-TPP は，^{18}F-FDG と比較してマウスの移植癌に選択的に取り込まれ，さらに炎症部位への集積は少ないことが報告されている。ホスホニウムの有用性が明らかになると，複数の研究グループが臨床への実用化を目指した ^{18}F 標識ホスホニウム誘導体の開発に取り組んできた。しかし，細胞レベルでの報告例はあるものの，腫瘍イメージング研究はほとんど進んでいない。

２．研究の目的

我々の研究グループはこれまでに ^{18}F 標識トリアリールホスホニウム（^{18}F-TAP）の簡便かつ複数の誘導体設計が可能な合成法の開発に取り組んできた（図 1）。

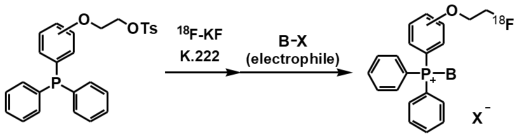

図 1. ^{18}F-TAP の新規合成法

本研究では，新規合成法の合成条件の最適化，複数の誘導体の設計と標識合成，細胞や動物を用いた生物学的評価といった手順で，腫瘍イメージング剤の候補化合物の選出と生物学的な有用性の検証を進める。

３．研究の方法

まず，新規合成法の標識合成条件の最適化を行う。次に最適条件で複数の誘導体の標識合成が可能であるかを検証する。

合成後，各トレーサーを健常マウスに投与して小動物 PET 及び体内分布実験によりその薬物動態を評価する。生物評価の結果から，最も Mt への集積性に優れた誘導体を選出し，腫瘍イメージング剤の候補化合物とする。

選出された誘導体を用いて，複数の癌細胞株での細胞取り込み実験を行い，高集積を示す癌種を特定する。また，癌細胞への集積メカニズムの検証を行う。高集積を示した癌細胞株をヌードマウスに移植して腫瘍モデルマウスを作成し，腫瘍イメージング剤としての有用性を検討する。

４．研究成果

標識側鎖構造の位置が異なる三つの構造異性体（^{18}F-TAP-A, -B, -C）を設計し，合成条件検討を進めた。アセトニトリル溶液中，100℃での反応を最適条件として標識合成を行ったところ，中程度から良好な収率でそれぞれを合成できた。

得られたトレーサーを用いて健常マウスで小動物 PET 及び体内分布実験を行った。その結果，標識側鎖をメタ位にもつ ^{18}F-TAP-A では Mt が豊富に含まれている褐色脂肪組織及び心臓において高い集積性が確認できた。また，肝臓や筋肉からの消失性に優れたことから，^{18}F-TAP-A を基本骨格として選出し，構造の最適化を進めることとした。

次に，^{18}F-TAP-A の誘導体として分子内に異なる官能基をもつ 10 種類の化合物を設計し，中程度の収率でそれぞれの標識合成に成功した。Mt への集積性が優れた誘導体を選出するため，健常マウスを用いた体内分布実験を順次実施した。Mt が豊富な心臓への集積率を指標に比較評価を行ったところ，分子内にプロピル基をもつ ^{18}F-TAP-D が最も高い値を示した。なお，別途行われたラットの心筋細胞株における ^{3}H-TPP を用いたダブルトレーサー実験により，心臓への ^{18}F-TAP-D の集積が Mt 膜電位に依存した機序であることが確認された。以上の結果から，Mt への高い集積性をもつ ^{18}F-TAP-D を腫瘍イメージング剤の候補化合物として選出した。

^{18}F-TAP-D が高く集積する癌種を選出するため，5 種類の癌細胞株（MDA-MB231, MDA-MB453, MCF-7, F98, SKOV3）を用いて ^{18}F-TAP-D の細胞取り込み実験を行った。その結果，ヒト乳がん細胞株である MDA-MB231 は 5 種類の中で最も高い集積性を示した（図 2）。

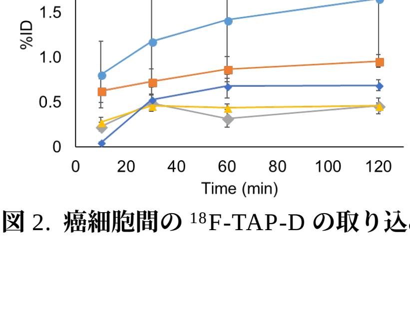

図 2. 癌細胞間の ^{18}F-TAP-D の取り込み

MDA-MB231への ^{18}F-TAP-Dの集積にMt膜電位が関与しているかを検証するため，脱共役剤である CCCP を添加した際の ^{18}F-TAP-D の取り込み率の変化を評価した。その結果，CCCPの濃度依存的に細胞への集積率が低下したため，^{18}F-TAP-DはMt膜電位依存的に MDA-MB231 に集積していると考えられる。

以上の結果から, MDA-MB231由来の乳癌のイメージングに ^{18}F-TAP-D が利用できる可能性が示唆された。そこで，MDA-MB231をヌードマウスの右腋下に皮下投与して担癌マウスを作成し，^{18}F-TAP-Dによる腫瘍イメージングを試みた。しかし，移植癌への特異的な放射能集積は確認できなかった（図3)。

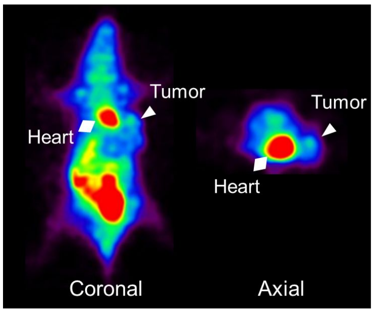

図3. 担癌マウスのPET画像

担癌マウスの移植癌への選択的な集積がみられなかった原因として，癌細胞の生着が不十分であったことが考えられる。癌細胞がネクローシスを起こしていたことや血管新生が不十分であったことなどが一因として考えられるため，今後移植した癌組織の染色や ^{18}F-FDG の集積性を確認することで担癌マウスの妥当性を検証し，*in vivo* 系での ^{18}F-TAP-D のイメージング性能の詳細な評価が必要であると考えられる。

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　0件）

〔学会発表〕（計　5件）

1. 冨永隆裕，風間あずさ，石川洋一，岩田錬，石渡喜一，古本祥三．ミトコンドリアを標的とした新規 ^{18}F 標識ホスホニウム型プローブの開発．第 56 回日本核医学会学術総会，2016年11月3～5，名古屋.
2. 秋田　諒, 冨永隆裕, 石川洋一, 岩田　錬，古本祥三. BNCT を目的とした ^{18}F-標識ボロノホスホニウム誘導体の開発. 第56回日本核医学会学術総会，2016 年 11 月 3～5，名古屋.
3. T. Tominaga, R. Akita, Y. Ishikawa, R. Iwata, K. Ishiwata, S. Furumoto. Development of novel ^{18}F-labeled phosphonium derivatives for mitochondria imaging by positron emission tomography. 22nd ISRS 2017 (International Symposium on Radiopharmaceutical Science), Dresden, May 14th-19th, 2017.
4. S. Furumoto, T. Tominaga, R. Akita, A, Kazama, Y. Ishikawa, R. Iwata, K. Ishiwata. Novel ^{18}F-labeled triarylphosphonium derivatives for mitochondria imaging. EANM'17 Annual Congress of the European Association of Nuclear Medicine, Vienna, October 21th-25th, 2017.
5. 冨永隆裕, 秋田諒, 石川洋一, 岩田錬, 石渡喜一, 古本祥三. ^{18}F 標識ホスホニウム型プローブの構造最適化と集積メカニズムの検証. 第57回日本核医学会学術総会, 2017年10月5～7，横浜.

〔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

６．研究組織
(1)研究代表者
冨永　隆裕（TOMINAGA, Takahiro）
一般財団法人脳神経疾患研究所・南東北創薬・サイクロトロン研究所・助手
研究者番号：50778602

(2)研究分担者
（　　　）

研究者番号：

(3)連携研究者
古本　祥三（FURUMOTO, Shozo）
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：00375198

(4)研究協力者
(　　　)