

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 22 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26461784

研究課題名(和文)腫瘍血管特異的な作用であるEPR効果を利用した新規イメージングプローブの開発

研究課題名(英文)Development of the novel imaging probe which used EPR effect

研究代表者

船木 善仁(Funaki, Yoshihito)

東北大学・サイクロトロン・ラジオアイソトープセンター・講師

研究者番号：50261491

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)：I-124を用いた標識合成において未反応であったI-124の回収を行い、I-124の再利用を検討したところ、陰イオン交換カラムを用いることによって再利用できる可能性が考えられた。I-124標識SIB(スクシンイミジルヨードベンゾエイト)を原料からIODOGEN法を用いて合成したところ、I-124標識SIBは約50%の収率で得られた。しかし、動物実験に供するだけのI-124標識ラクトソームは合成できなかった。

研究成果の概要(英文)：In labeled synthesis with I-124, un-reacting I-124 was recovered and reuse of I-124 was investigated. It may be considered that I-124 was reused by anion-exchange column. I-124 labeled SIB (succinimidyl iodine benzoate) was synthesized using IODOGEN method. I-124 labeled SIB was obtained by about 50 % of yield. However, I-124 labeled lactosome which is used for an animal experiment was not synthesized.

研究分野：核薬学

キーワード：ヨウ素124 イメージングプローブ 腫瘍

1. 研究開始当初の背景

近年の Positron Emission Tomography(PET)の普及に伴い、脳機能イメージングや腫瘍イメージングなど様々なイメージングプローブが開発されており、申請者も2種類のイメージングプローブを開発している。(・Funaki Y. et al. J. Pharm. Sci. 91(2):105-12, 2003, Nucl. Med. Bio. 34:981-7, 2007)特に、腫瘍においては早期発見、早期治療が必要なことから腫瘍診断におけるイメージングプローブは重要な役割を担っている。この腫瘍イメージングプローブの代表的なものとして ^{18}F FDG が挙げられる。このプローブは保険適用も認められたことから国内では200を越えるPET施設でこれを用いた腫瘍診断が広く普及している。しかし、この ^{18}F FDGもすべての腫瘍に対して有効なイメージングプローブではないことから、 ^{18}F FDGに代わる新しい腫瘍診断のイメージングプローブの開発が精力的に行われている。正常組織と比較して腫瘍特異的な作用は種々あるが、その中の一つとして、腫瘍組織では血管透過性が著しく亢進しているため、高分子や微粒子が血管より流出しやすく、また、リンパ系が発達していないために、腫瘍組織に到達した物質は蓄積するという性質、いわゆる Enhanced permeation and retention effect (EPR 効果)がある。このEPR効果を利用して、ミセルやリポソーム等をポジトロン放出核種で標識する試みが行われている。既に山本らは疎水性である乳酸と親水性であるサルコシン(天然アミノ酸)のポリマー(ラクトソーム)を用い、これをF-18で標識した腫瘍イメージングプローブの開発に成功している。(Nucl. Med. Bio. 40:387-394, 2013)このイメージングプローブは担癌マウスにおいて腫瘍への取り込みが投与後6時間まで経時的に上昇していることから、時間依存的に集積量が上昇することが期待できるが、F-18の半減期が約2時間であるため、投与後、長時間経過後の集積を見ることはほぼ不可能である。従って、F-18より半減期の長いポジトロン放出核種でこのラクトソームを標識すれば、より腫瘍への集積が高いイメージングプローブが開発できるのではないかと、この着想に至った。そこで、当施設で製造実績があるポジトロン放出核種であり、かつ半減期が4.15日と汎用的にPETに用いられている核種よりも長いヨウ素124(以下I-124)を用いてラクトソームを標識し、これを用いて生物学的評価を行うこととした。

2. 研究の目的

本研究は半減期が約4日と他の汎用的なPET核種よりも長いポジトロン放出核種であるI-124を用いて両親媒性のミセル構造を持つラクトソームを標識することにより、EPR効果を利用したPETにおける腫瘍イメージングプローブとしての有用性を検討するものである。ラクトソームへの標識はラクトソ-

ム自体を直接標識する方法と、予め疎水性の高い化合物にI-124を標識し、それをラクトソーム内に包含させる二種類の方法で標識ラクトソームを作製する。次いで、腫瘍細胞を移植した担癌マウスを作製し、動物用PETを用いてこの2種類の標識ラクトソームの腫瘍集積を解析する。また、腫瘍径の小さい腫瘍に対しても同様に解析を行うことで、作製した標識ラクトソームの新規腫瘍イメージングプローブとしての評価を行う。

3. 研究の方法

(1) ^{124}I の製造

^{124}I の製造は当施設にあるサイクロトロンを用いて行う。ターゲットとして $^{124}\text{TeO}_2$ を用い、 $^{124}\text{Te}(p,n)^{124}\text{I}$ の核反応により ^{124}I を製造した。

(2) 反応後の未反応 ^{124}I の回収

市販の陰イオン交換カラムを用い、導入実験としてメチルタイロシンへのI-124導入反応を行い、未反応のI-124の回収を試みた。

(3) ^{124}I 標識 SIB の作製

I-124標識SIB(スクシンイミジルヨードベンゾエイト)を原料から IODOGEN 法を用いて合成した。合成条件は先にI-125を用いた条件検討によって得られた条件を用い、その後HPLCを用いて分離、精製を行った。

(4) ^{124}I 標識ラクトソームの作製

得られたI-124標識SIBを用いてミセル化合物に標識合成を行った。

4. 研究成果

(1) ^{124}I の製造

^{124}I の製造には不純物である長半減期の ^{125}I の生成が抑制できる $^{124}\text{Te}(p,n)^{124}\text{I}$ 核反応を適用した。

ターゲットは0.28gの $^{124}\text{TeO}_2$ に0.02g(6wt%)の Al_2O_3 を加えた混合物を白金プレートに固着して作製した。

14 MeVのプロトンビームを3~4 μA で約5時間照射し、ターゲットマトリックス内に ^{124}I を製造した。

照射後のターゲットを電気加熱炉で650°Cで40分間、さらに700°Cで35分間加熱することにより乾留した。遊離した ^{124}I は酸素気流により0.1M NaOH溶液(0.5mL)に捕集した。

^{124}I のターゲットからの回収率は94~97%であり、NaOH溶液への捕集率は82~88%であった。また、5時間の照射時間で ^{124}I の生成量は200MBqであった。

照射終了後95時間の時点で放射性核種純度は98%であった。不純物は ^{123}I が1%、 ^{126}I が0.4%、 ^{124}Sb が0.6%であった。

(2) 反応後の未反応 ^{124}I の回収

本研究はサイクロトロンで製造された核種、I-124を用いるが、これまでのI-124を用い

た種々の放射性薬剤の標識合成において、収率は10~20%と決して高くなかった。すなわち、未反応の I-124 を廃棄していたことになる。これらのことを鑑み、未反応であった I-124 を回収することにより、サイクロトロンによって製造された I-124 を再利用することを考えた。

導入実験として SIB の代わりに I-124 標識メチルタイロシン(IMT)を用い、反応液を固相抽出に供し、水相画分を陰イオン交換樹脂 (Sep-Pak Accell Plus QMA)に通したところ、約 85 %が捕集された。このことから、未反応の ^{124}I は陰イオン交換樹脂を用いて回収できることが明らかとなった。続いて捕集された陰イオン交換樹脂からの ^{124}I の溶出は K_2CO_3 (33 $\mu\text{mol}/\text{mL}$)を用いて行った。溶出の結果を図 1 に示す。

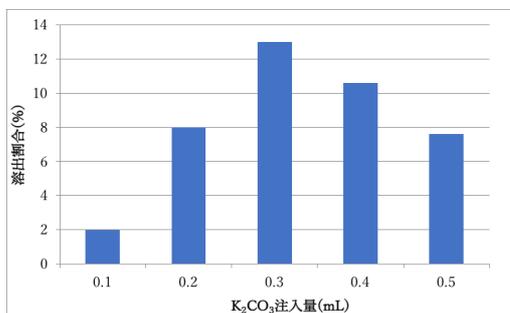


図 1 注入量に対する陰イオン交換樹脂からの ^{124}I 溶出割合

注入量 0.3 mL で溶出割合は最大となり、それ以上注入しても溶出割合は減少した。合計 0.5 mL の注入により得られた溶出率は、41.2 % となった。

得られた K_2CO_3 溶液内の放射能が ^{124}I であることを確認するため、HPLC で分析を行った。その結果、保持時間 2~3 分程度のところに放射能ピークが見られたことから、 K_2CO_3 溶液内の放射能は ^{124}I であることが確認された。従って、陰イオン交換カラムを用いた回収は I-124 の効率の良い利用法として期待できると考えられる。

(3) ^{124}I 標識 SIB の作製

初めに pH の違いによる標識率の変化を検討した。

pH が中性付近である前節の反応条件の場合、水素イオンが修飾抗体のアミノ基に配位結合し、標識前駆体との反応率を低下させると考えられた。そこで、水素イオンの濃度を小さくする目的で pH を 9 付近に調整し、標識率の向上を図った。具体的には反応溶媒を PBS(-) (pH = 7.4) からホウ酸緩衝液 (pH = 9.1, 0.17M $\text{Na}_2\text{B}_4\text{H}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$, 0.015M HCl) に変更して I-124 と SIB 原料を 5 分間反応させた。その結果を表 1 に示す。

表 1 pH の違いによる標識率の変化

ヨウ素 124	SIB 原料	pH	標識率
1.6 pmol	1.6 pmol	7.4	1.5%
1.6 pmol	1.6 pmol	9.1	6.8%

この結果から pH 7.4 と比較すると pH 9.1 では、標識率が約 4 倍上昇することが確認された。次に、I-124 のモル数と SIB の原料のモル比を変化させて反応を行った。その結果を表 2 に示す。

表 2 SIB 原料のモル比による標識率の変化

ヨウ素 124	SIB 原料	モル比	標識率
0.28 pmol	6.4 pmol	1 : 20	2.6%
0.30 pmol	7.0 pmol	1 : 20	2.6%
0.082 pmol	3.2 nmol	1 : 39000	6.4%

この結果から、SIB 原料の量を大幅に増加させることによって標識率が向上することが確認された。

上記の結果より pH9.1、モル比 1:10 で I-124 を 185 MBq 使用して合成を行ったところ標識率 67.6% で I-124 標識 SIB を得ることができた。

(4) ^{124}I 標識ラクトソームの作製

得られた I-124 標識 SIB を用いてミセル化合物に標識合成を行ったが、通常約 200 MBq の I-124 が得られるのに対し 20 MBq 程度しか I-124 が製造できなかった。そのため、 ^{124}I 標識 SIB 標識合成できた放射エネルギーは 10 MBq 程度しか合成できなかった。その後、それを用いて標識合成を行った結果、I-124 標識ミセル化合物の合成は確認できたが、動物実験を行うことができる放射エネルギーの I-124 標識ミセル化合物を得ることができなかった。そのため動物実験を行うことはできなかった。

(5) 結論

I-124 の反応に際し、反応しなかった I-124 の再回収を試みた。その結果、市販の陰イオン交換カラムに未反応の I-124 は捕集され、 K_2CO_3 溶液によって再び溶出されることが確認された。I-124 標識ラクトソームの合成に際し、その標識前駆体である I-124 標識 SIB の標識合成を行ったところ、収率約 67% で得ることができた。しかし、原因は不明だが I-124 の生成量が減少し、I-124 標識ラクトソームの合成は確認できたが動物実験を行うことができる放射エネルギーの I-124 標識ラクトソームを得ることはできなかった。

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 0 件)

〔学会発表〕(計 0 件)

〔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

船木 善仁 (FUNAKI YOSHIHITO)
東北大学・サイバー・ラジ オイット・センター・講
師
研究者番号：50261491

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

(4) 研究協力者

()