

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 8 月 17 日現在

機関番号：84203

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26461816

研究課題名(和文) 虚血性脳血管障害のイメージングを目的とした新規PET用フルオロ酢酸誘導体の開発

研究課題名(英文) Development of novel [¹⁸F]Fluoroacetate analog for PET Imaging of Ischemic Brain Injury

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)・画像研究部門・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) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)： これまでに我々は、PET診断薬[¹⁸F]Fluoroacetate ([¹⁸F]FACE)に着目し、ラット脳虚血-再灌流モデル及び患者において[¹⁸F]FACEの取り込みとグリア細胞との関係について検討してきた。脳虚血時における[¹⁸F]FACE集積増加の詳細な機構は明らかにされておらず、[¹⁸F]FACEやその誘導体を用いた研究が非常に期待される。本研究では、虚血性脳血管障害を判別可能にする画像診断の開発を目指し、脳への移行性を高めた[¹⁸F]FACE誘導体であるBenzyl [¹⁸F]Fluoroacetate ([¹⁸F]Benzyl FACE)等の薬剤開発を行った。

研究成果の概要(英文)： We reported the relationship between [¹⁸F]Fluoroacetate ([¹⁸F]FACE) uptake and the number of glial cells in rat ischemia/reperfusion injury and patients with atherosclerotic ICA or MCA disease. Further investigation of brain ischemia using [¹⁸F]FACE and the related PET tracers is needed. Therefore, we developed a radiosynthesis of Benzyl [¹⁸F]Fluoroacetate (Benzyl [¹⁸F]FACE), displayed much higher brain perfusion and retention than [¹⁸F]FACE for the purpose of early detection of the ischemic brain injury by PET.

研究分野：核医学

キーワード：Benzyl [¹⁸F]FACE フルオロ酢酸 脳虚血 虚血性脳血管障害 PET [¹⁸F]FACE

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 Acetate・Choline・FLT 等の腫瘍診断薬が開発されている。肝癌においては、 ^{11}C Acetate (^{11}C ACE)の集積は ^{18}F FDG と逆相関の関係があることが知られ、最近では ^{18}F FDG と ^{11}C ACE を併用した肝癌の PET 検査が有効との報告が注目されている。 ^{11}C の半減期は 20 分と非常に短く、より半減期の長い ^{18}F (110 分) 標識への応用は、酢酸・脂肪酸代謝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。しかしながら、その画像診断法は十分に確立されておらず、我々の共同研究施設である米国 MD アンダーソン癌センターのグループが臨床試験へ向けた IND (Investigational New Drug)申請中など、世界的にも限られた施設でのみ使用されているに過ぎない。

そこで我々は、Acetate をフッ素標識した PET 診断薬 ^{18}F FACE (^{18}F Fluoroacetate)に着目し、従来のオンカラム加水分解法とは違う two-pot 蒸留法や新しい固相抽出技術を用いた合成法である one-pot 蒸留法の臨床応用に向けた合成検討を行ってきた。さらに、 ^{18}F FACE は、脳梗塞発症 24 時間以降の虚血部で取り込みが増加することが報告されており (Marik et al., *J Nucl Med*, 2009)、グリア細胞代謝の変化に起因すると想定されている。しかしながら、その集積の詳細な機構は明らかにされていない。我々は、ラット脳虚血-再灌流モデルにおいて ^{18}F FACE の取り込みとグリア細胞との関係について虚血後経過時間による違いを検討し、脳梗塞モデルにおける虚血部位への ^{18}F FACE の取り込み増加は虚血後早期に生じること、またその時点では神経細胞死やグリア細胞活性化を伴わないことが明らかになった。さらに、非標識体の Fluoroacetate (FACE)は、細胞内で酢酸代謝と類似の代謝反応過程を経て Fluorocitrate (FCIT)となり、それ以降の代謝過程を経ず細胞内に滞留することが古くから知られているが、標識された ^{18}F FACE は、 ^{18}F Fluorocitrate (^{18}F FCIT)には代謝されず、 ^{18}F FACE のまま存在していることが明らかとなった。このように、 ^{18}F FACE の虚血性脳血管障害での役割が解明されれば、その病態の詳細な解明に繋がる。脳における ^{18}F FACE の生理的な集積はあまり多くはなく、より脳への高い移行性が期待される ^{18}F Benzyl FACE 等の新規薬剤の開発が期待される。

2. 研究の目的

これまでに我々は、Acetate をフッ素標識した PET 診断薬 ^{18}F Fluoroacetate (^{18}F FACE)に着目し、臨床応用へ向けて従来のオンカラム加水分解法とは違う two-pot 蒸留法や新規に開発した合成法である one-pot 蒸留法の合成

検討、及びラット脳虚血-再灌流モデルにおいて ^{18}F FACE の取り込みとグリア細胞との関係について検討してきた。脳虚血時における ^{18}F FACE 集積増加の詳細な機構は明らかにされておらず、新たな知見を生む可能性がある。本研究では、虚血性脳血管障害を判別可能にする画像診断の開発を目指し、脳への移行性を高めた ^{18}F FACE 誘導体である Benzyl ^{18}F Fluoroacetate (^{18}F Benzyl FACE)等を世界初の薬剤として合成し、従来の ^{15}O -ガスを用いた脳 PET 検査とは異なる新たな脳イメージング法の開発を行う。

3. 研究の方法

標品である Benzyl Fluoroacetate の合成

Benzyl Bromoacetate を出発原料として、 $n\text{-Bu}_4\text{NF}$ を用いて下記の合成を室温で行い、標品である Benzyl Fluoroacetate を合成し、最終的に分離用カラムを用いて目的物を得る (Fig. 1)。

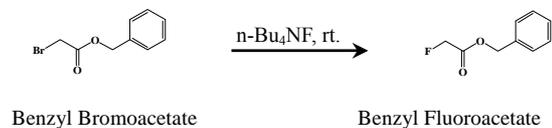


Fig. 1 Benzyl Fluoroacetate の合成

Benzyl ^{18}F Fluoroacetate (^{18}F Benzyl FACE)の合成と品質管理試験

放射性 ^{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 Benzyl Bromoacetate を加えて同位体交換によりフッ素化反応を行ない、HPLC による分離精製と製剤化を経て ^{18}F Benzyl FACE を合成する (Fig. 2)。将来の臨床応用を目指す上では、高収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。さらに、放射性薬剤基準を参考として、品質検定項目 (放射化学的純度・比放射能・残留有機溶媒等)を行う。

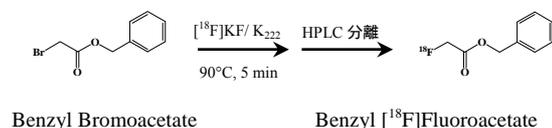


Fig. 2 Benzyl ^{18}F Fluoroacetate の合成

ラット脳虚血-再灌流モデルを用いた ^{18}F Benzyl FACE PET 検査

イソフルレン麻酔下にて中大脳動脈の一過性脳虚血/再灌流障害 (transient MCAO) モデルラット (虚血時間 60 分間) を作製し、拡散強調 MRI、灌流 MRI 画像により当該中

大脳動脈域の虚血を確認する。再灌流 2 時間後および再灌流 7 日後に¹⁸F]Benzyl FACE (150 MBq/kg, i.v.) を投与し、60 分間の PET 撮像を行なう。また、同時期におけるグリア細胞活性の評価のため、抗 CD11b 抗体および抗 GFAP 抗体を用いた免疫組織化学染色を行なう。更に、同時期に TTC 染色も行い、梗塞巣を確認する。

4. 研究成果

Benzyl [¹⁸F]FACE の標識合成は、JFE エンジニアリング社製のカセット式多目的合成装置 (Fig. 3) を用い、前駆体 Benzyl Bromoacetate 3.3 mg をアセトニトリル 0.5 mL に溶解して K[¹⁸F]/Kryptofix 2.2.2 を用いてフッ素化反応を行った後、HPLC にて分離精製を行った (Fig. 4)。

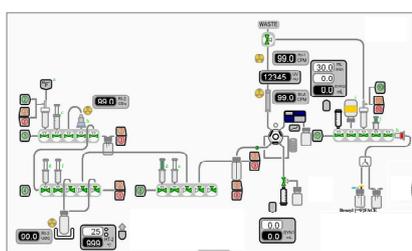
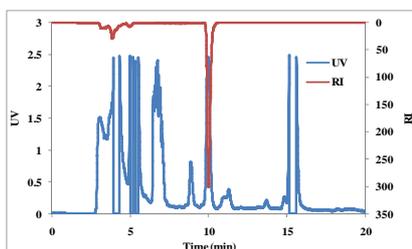


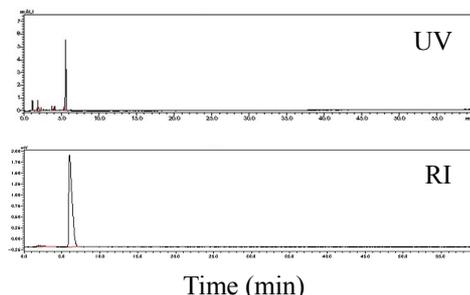
Fig. 3 Benzyl [¹⁸F]Fluoroacetate 合成系統図



Column: COSMOSIL MS-II 10.0×250 mm (NacalaiTesque)
Mobile phase composition: MeCN/H₂O (50/50)
Flow rate: 5 mL/min
Column temperature: RT
Injection volume: 2.0 mL

Fig. 4 HPLC 分取条件

最終製剤化工程には、逆相カラムを用いた固相抽出法によって得られた Benzyl [¹⁸F]FACE を含むエタノール溶液を蒸留水で希釈する方法で行った。また、添加剤として、アスコルビン酸等の放射線分解抑制剤等の検討を行った結果、期待された効果は得られず、放射化学的純度を低下させる原因となった。Benzyl [¹⁸F]FACE の合成は放射能: 15 GBq 以上、合成時間: 50 分以内、収率: 45% 以上、放射化学的純度: 98% 以上で、簡便かつ安全に合成できた。さらに、ポジトロン核医学専門委員会が成熟薬剤として認定した放射性薬剤基準を参考として、品質検定項目 (放射化学的純度・比放射能・残留有機溶媒等) を行った結果、問題のないことを確認した (Fig. 5)。



Column: COSMOSIL MS-II 4.6×250 mm (NacalaiTesque)
Mobile phase composition: MeCN/H₂O (50/50)
Flow rate: 1.5 mL/min
Column temperature: 35°C
Injection volume: 10 μL

Fig. 5 HPLC 分析条件

ラット脳虚血-再灌流モデル (虚血時間 60 分間) における障害側への Benzyl [¹⁸F]FACE の取り込みについて、再灌流 2 時間後では、虚血側中大脳動脈域における Benzyl [¹⁸F]FACE の取り込みは、反対側に比較して著明な増加を示した (Fig. 6)。

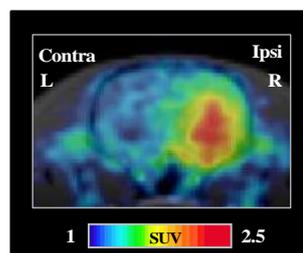


Fig. 6 Benzyl [¹⁸F]FACE-PET at 2 hours after rat ischemia/reperfusion injury

以上の研究により、虚血性脳血管障害を判別可能にする画像診断の開発を目指し、脳への移行性を高めた [¹⁸F]FACE 誘導体である Benzyl [¹⁸F]Fluoroacetate ([¹⁸F]Benzyl FACE) の標識合成に世界で初めて成功した。

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 8 件)

Kagawa S, Nishii R, Higashi T, Yamauchi H, Ogawa E, Okudaira H, Kobayashi M, Yoshimoto M, Shikano N, Kawai K. Relationship between [¹⁴C]MeAIB uptake and amino acid transporter family gene expression levels or proliferative activity in a pilot study in human carcinoma cells: comparison with [³H]Methionine uptake. Nucl Med Biol. 49: 8-15, 2017.
doi: 10.1016/j.nucmedbio.2017.01.008.
Kimura H, Yagi Y, Arimitsu K, Maeda K, Ikejiri K, Takano JI, Kusuhara H, Kagawa S, Ono M, Sugiyama Y, Saji H. Radiosynthesis

of novel pitavastatin derivative (^{18}F PTV-F1) as a tracer for hepatic OATP using a one-pot synthetic procedure. *J Labelled Comp Radiopharm.* *J Labelled Comp Radiopharm.* 59(13): 565-75, 2016.

doi: 10.1002/jlcr.3464.

Arimoto MK, Higashi T, Nishii R, Kagawa S, Takahashi M, Kishibe Y, Yamauchi H, Ishitoya S, Oonishi H, Nakamoto Y, Togashi K. (11)C-methylaminoisobutyric acid (MeAIB) PET for evaluation of prostate cancer: compared with (18)F-fluorodeoxyglucose PET. *Ann Nucl Med.* 30(8): 553-62, 2016.

doi: 10.1007/s12149-016-1098-3.

Yamauchi H, Kagawa S, Kishibe Y, Takahashi M, Higashi T. Progressive cortical neuronal damage and chronic hemodynamic impairment in atherosclerotic major cerebral artery disease. *Stroke.* 47(6): 1534-41, 2016.

doi: 10.1161/STROKEAHA.116.013093.

Yamauchi H, Kagawa S, Kishibe Y, Takahashi M, Nishii R, Mizuma H, Takahashi K, Onoe H, Higashi T. Increase in ^{18}F -Fluoroacetate uptake in patients with chronic hemodynamic cerebral ischemia. *Stroke.* 46(9): 2669-72, 2015.

doi: 10.1161/STROKEAHA.115.010080.

Yamauchi H, Kagawa S, Kishibe Y, Takahashi M, Higashi T. Misery perfusion, blood pressure control, and 5-year stroke risk in symptomatic major cerebral artery disease. *Stroke.* 46(1): 265-8, 2015.

doi: 10.1161/STROKEAHA.114.007134.

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}F -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.

doi: 10.1007/s12149-014-0823-z.

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.

https://www.jstage.jst.go.jp/article/bpb/37/3/37_b13-00559/_article

[学会発表](計18件)

加川信也、水間広、矢倉栄幸、西井龍一、東達也、山内浩、高橋和弘、尾上浩隆、川井恵一 Benzyl ^{18}F Fluoroacetate の one-pot 合成法の開発 日本薬学会第 137 年会 2017.3.26 仙台 (平成 29 年 3 月

24-27 日)

加川信也 PET 化学ワークショップ 2017 2017.2.11 ループ標識法に使用する滅菌スパイラルチューブ 神奈川県三浦郡葉山 (平成 29 年 2 月 10-12 日)

加川信也、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 カセット式多目的合成装置を用いた ^{11}C PiB 合成法の開発: ループ標識法とバブリング標識法の比較 第 56 回日本核医学会学術総会 2016.11.4 横浜 (平成 28 年 11 月 3-5 日)

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 ループ標識法によるカセット式多目的合成装置を用いた ^{11}C PiB の合成検討 日本薬学会第 136 年会 2016.3.28 横浜 (平成 28 年 3 月 26-29 日)

加川信也、水間広、西井龍一、東達也、山内浩、大野正裕、高橋和弘、尾上浩隆、川井恵一 蒸留法による Benzyl ^{18}F Fluoroacetate の合成基礎検討 第 55 回日本核医学会学術総会 2015.11.5 新宿 (平成 27 年 11 月 5-7 日)

加川信也、矢倉栄幸、水間広、西井龍一、東達也、山内浩、大野正裕、高橋和弘、尾上浩隆、川井恵一 one-pot 蒸留法による ^{18}F FACE の合成: オンカラム加水分解法と two-pot 蒸留法との比較 第 15 回放射線医薬品・画像診断薬研究会 2015.9.12 京都 (平成 27 年 9 月 12 日)

Shinya Kagawa, Hiroshi Mizuma, Ryuichi Nishii, Tatsuya Higashi, Hiroshi Yamauchi, Masahiro Ohno, Hiroyuki Tateishi, Kazuhiro Takahashi, Hirotaka Onoe, Keiichi Kawai Development of Benzyl ^{18}F Fluoroacetate Radiosynthesis for PET Imaging of Ischemic Brain Injury. 2015 World Molecular Imaging Congress, 2015.9.2 Honolulu, Hawaii, USA (2015.9.2-5)

Shinya Kagawa, Ryuichi Nishii, Tatsuya Higashi, Hiroshi Yamauchi, Keiichi Kawai, Hiroyuki Kimura, Masahiro Ono, Hideo Saji, Yuichi Sugiyama Radiosynthesis of ^{18}F PTV-F1, pitavastatin (HMG-CoA reductase inhibitor) derivative for Organic Anion Transporter Imaging of Liver. The Society of Nuclear Medicine and Molecular Imaging (SNMMI) 62th Annual Meeting, 2015.6.6 Baltimore, Maryland, USA (2015.6.6-10)

加川信也、水間広、矢倉栄幸、西井龍一、東達也、山内浩、立石裕行、大野正裕、高橋和弘、尾上浩隆、川井恵一 臨床使用に向けた Benzyl ^{18}F Fluoroacetate の合成及び製剤化の検討 第 10 回日本分子イメージング学会 2015.5.20 船堀 (平成 27 年 5 月 20-21 日)

加川信也、水間広、矢倉栄幸、西井龍一、

東達也、山内浩、立石裕行、大野正裕、高橋和弘、尾上浩隆、川井恵一 虚血性脳血管障害イメージング剤：Benzyl [¹⁸F]Fluoroacetate 合成法の開発 日本薬学会第 135 年会 2015.3.27 神戸(平成 27 年 3 月 25-28 日)

加川信也 新規薬剤立ち上げ話：[¹⁸F]フルオロ酢酸 PET 化学ワークショップ 2015 2015.2.6 舞子(平成 27 年 2 月 6-8 日)

加川信也、水間広、西井龍一、東達也、山内浩、長町茂樹、立石裕行、大野正裕、高橋和弘、尾上浩隆、川井恵一 虚血性脳血管障害のイメージングを目的とした Benzyl [¹⁸F]Fluoroacetate の合成基礎検討 第 54 回日本核医学会学術総会 2014.11.6 大阪(平成 26 年 11 月 6-8 日)
西井龍一、加川信也、東達也、山内浩、川井恵一、屋木祐亮、木村寛之、小野正博、佐治英郎、杉山雄一 肝臓における有機アニオントランスポーター(OATP)イメージング剤[¹⁸F]PTV-F1 の臨床使用に向けた合成 第 54 回日本核医学会学術総会 2014.11.6 大阪(平成 26 年 11 月 6-8 日)

加川信也 [N-methyl-¹¹C]MeAIB を用いたアミノ酸イメージング PET サマーマナー2014 2014.8.29 小樽(平成 26 年 8 月 29-31 日)

加川信也 F-18 放射性フッ素を用いた新規 PET 薬剤の開発 第 4 回フッ素化学会 2014.8.7 浜松(平成 26 年 8 月 7-8 日)
Shinya Kagawa, Ryuichi Nishii, Tatsuya Higashi, Hiroshi Yamauchi, Keiichi Kawai, Hiroyuki Watanabe, Hiroyuki Kimura, Masahiro Ono, Hideo Saji Radiosynthesis of [¹⁸F]FPYBF-2, a Novel PET Imaging Probes for β -Amyloid Plaques in Brain. The Society of Nuclear Medicine and Molecular Imaging (SNMMI) 61th Annual Meeting, 2014.6.8 ST. LOUIS, MISSOURI, USA (2014.6.7-11)

加川信也 医療用小型サイクロトロンを用いた PET 用放射性薬剤の製造 滋賀県立成人病センター第 53 回がん診療セミナー 2014.5.29 守山(平成 26 年 5 月 29 日)

加川信也、矢倉栄幸、西井龍一、東達也、山内浩、入野保、川井恵一、屋木祐亮、木村寛之、前田和哉、楠原洋之、小野正博、佐治英郎、杉山雄一 肝臓における有機アニオントランスポーター(OATP)イメージング剤[¹⁸F]PTV-F1 合成法の検討 第九回日本分子イメージング学会 2014.5.22 吹田(平成 26 年 5 月 22-23 日)

〔図書〕(計 1 件)

加川信也、西井龍一、東達也、山内浩、川井恵一 [N-methyl-¹¹C]MeAIB を用いたアミノ酸イメージング PET journal. 31 : 29-31, 2015

〔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)・画像研究部門・主任研究員
研究者番号：10393139

(2) 研究分担者

山内 浩 (YAMAUCHI, Hiroshi)
滋賀県立成人病センター(研究所)・画像研究部門・副所長
研究者番号：40360812

東 達也 (HIGASHI, Tatsuya)
国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構・放射線医学総合研究所 分子イメージング診断治療研究部・部長
研究者番号：50324629

西井 龍一 (NISHII, Ryuichi)
国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構・放射線医学総合研究所 分子イメージング診断治療研究部・主任研究員
研究者番号：60463212

(3) 連携研究者

水間 広 (MIZUMA, Hiroshi)
国立研究開発法人理化学研究所・ライフサイエンス技術基盤研究センター・研究員
研究者番号：00382200

(4) 研究協力者

なし。