

平成 30 年 6 月 15 日現在

機関番号：17401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2017

課題番号：26461861

研究課題名(和文) アミロイド変性症(AD, FAP)の分子イメージング薬剤EMSの臨床開発

研究課題名(英文) Clinical research for EMS to obtain PET/SPECT images of Amyloidosis in AD and FAP

研究代表者

富吉 勝美 (Tomiyoshi, Katsumi)

熊本大学・大学院生命科学研究部(保)・教授

研究者番号：60188802

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)：全身性アミロイド検索剤前駆体EMSに¹²⁵Iと¹⁸Fを、標識しアミロイド診断薬である¹²⁵I-EISBと¹⁸F-EFSBを標識合成し、臨床応用の基礎実験を行った。1)前駆体EMSのメシル基と¹²⁵I-の求核置換反応により¹²⁵I-EISBを得るための最適反応時間は10分であり、生理食塩水とヒト血清中における¹²⁵I-EISBは精製後24時間までは安定であったことから、体内においても¹²⁵I-EISBは化学的に安定であることが解った。

研究成果の概要(英文)：we made a precursor EMS and ¹⁹F-EFSB labeled stable isotope fluorine on EMS to develop a new imaging probe ¹⁸F-EFSB that detects systemic amyloidosis by PET examination. As a result of histochemical analysis, ¹⁹F-EFSB specifically accumulated in all disease type amyloid. ¹⁸F-EFSB was efficiently labeled with a radiochemical purity of $81.7 \pm 5.1\%$ (n=3) by reaction at 200 degree. for 5 minutes. We also determined the optimal synthesis time and clarify stability of ¹²⁵I-EISB in saline and human serum, respectively. As a result, high radioactive purity $95.88 \pm 3.19\%$ was obtained in 10 minutes by our synthesis and the radiochemical purity was $97.83 \pm 1.40\%$ (n=6) applying our purification system.

研究分野：放射性薬剤

キーワード：全身性アミロイド シス 標識薬剤 ¹⁸F-EFSB 最適合成条件 放射性標識薬剤 ¹²⁵I-EISB 最適反応時間

1. 研究開始当初の背景

アミロイドーシスは不要性タンパク質であるアミロイドが種々の臓器に沈着することにより進行性の機能障害を引き起こす難病である^{1,2)}。進行した疾患に対しての治療は未だ大きな問題があるため、患者が十分な治療効果を得るためには早期診断が重要となる³⁾。しかしアミロイドーシスの一般的な組織診断方法であるコンゴールレッド染色は、生検が必要であり侵襲的で限局的な情報しか提供されない検査であるため、早期診断は依然として困難である³⁻⁵⁾。これらの問題を解決する方法として、アミロイドイメージング用positron emission tomography(PET)プローブを用いてin vivo でアミロイドを画像化する診断法が注目されている⁶⁾。

2. 研究の目的

本研究の目的は、¹⁸F-EFSB を臨床で使用可能な標識薬剤にするための基礎研究として

(1)¹⁹F-EFSB のアミロイドへの反応性を組織化学的分析により検討すること、(2)EMSBB に¹⁸F を標識合成する際の最適な合成条件を検討すること、(3)¹⁸F-EFSB の品質管理を行うことである。

3. 研究の方法

使用標本

すべての標本は、組織病理学検査においてコンゴールレッド染色や遺伝子診断、免疫組織化学によって確定診断に至った厚さ4 μm の連続切片を使用した。病型別に、AL アミロイドーシス患者6名(男性5名、女性1名、70.0 ± 6.4 歳)、AAアミロイドーシス患者2名(男性1名、女性1名、50.0 ± 46.7 歳)、トランスサイレチン型家族性アミロイドポリニューロパチー(FAP: Familial Amyloid Polyneuropathy)患者3名(男性2名、女性1名、52.7 ± 12.0 歳)、野生型トランスサイレチン由来老人性全身性アミロイドーシス(SSA: Senile Systemic Amyloidosis)患者3名(男性2名、女性1名、76.0 ± 2.6 歳)、アミロイド沈着無し患者

4名(男性1名、女性4名、50.3 ± 7.1 歳)であった。

組織染色の分析方法

同一患者の連続切片を用いてコンゴールレッド染色と¹⁹F-EFSB 染色を行った。組織におけるコンゴールレッド陽性部位と¹⁹F-EFSB 蛍光部位の相同性を目視で比較した。

合成方法

kryptofix 222 と炭酸カリウムの混合溶液

(kryptofix222: K₂CO₃: acetonitrile: distilled water = 220mg: 70mg: 3ml : 3ml) 0.4ml を Sep-Pak

QMA に通すことで¹⁸F を反応容器に溶出した。

溶媒を除去するために窒素ガス気流中で150 °C 5 分間加熱乾固した。5 分間冷却した後、

無水アセトニトリル(0.4ml)を加えて再度

150 °C 5 分間共沸蒸留することで水の残留痕跡を除去した。

共沸が終了した反応容器に、EMSBB を無水アセトニトリルで質量%濃度0.4%に希釈した

溶液を加えてフッ素化を行った。本合成は

EMSBB のメシル基を¹⁸F に置換することで行

われる(Fig. 1)。最適な合成条件を検討するた

め反応時間と温度をそれぞれ調べた。初めに

反応温度180 °C で固定し2.5 分間、5 分間、7.5

分間、10 分間、15 分間と変化させた。最適な

反応時間を決定した後、反応温度を150 °C、

170 °C、190 °C、200 °C、210 °C と変化させた。合

成は各反応条件で3回ずつ行った。

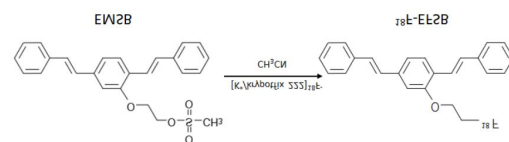


Fig.1 ¹⁸F-EFSB の標識合成

4. 研究成果

1. EFSB の組織染色によるアミロイド親和性の検討

Fig. 2 に種々の全身性アミロイドーシスに対するコンゴールレッド染色と ¹⁹F-EFSB の染色結果を示す。左の行からコンゴールレッド染

色(CR: Congo red)、コンゴレッド染色時偏光レンズ下観察(PL: polarized light)、 ^{19}F -EFSB染色である。AL、FAP、アミロイド沈着無しは消化管生検、AAは腎生検、SSAは心筋生検である。矢印で示すように、すべての組織においてコンゴレッド染色により橙赤色を示す箇所があり、偏光顕微鏡下観察でアップルグリーンの複屈折を呈した。すべての病型のアミロイドにおいて、 ^{19}F -EFSBの集積部位はコンゴレッド陽性部位と一致していた。

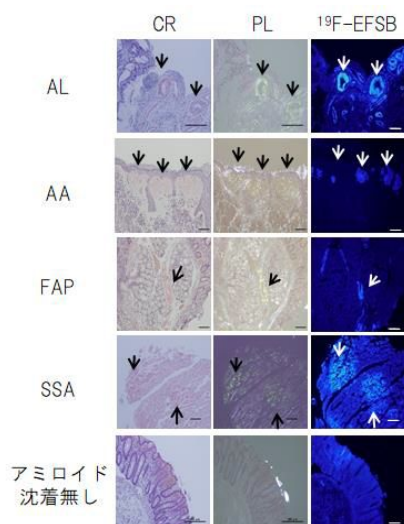


Fig. 2様々な種類のアミロイドへ対するコンゴレッド染色と ^{19}F -EFSBの相同性検討結果(スケールバー: CR, PL=500 μm 、 ^{19}F -EFSB=100 μm)

2. 標識合成の結果

Fig. 3に示すHPLC分析の上段はRAスペクトル、下段はUVスペクトルである。縦軸は信号強度(mV)、横軸は保持時間(minute)である。放射化学的純度は2.5分間で $70.2 \pm 9.3\%$ 、5分間で $74.8 \pm 5.8\%$ 、7.5分間で $69.6 \pm 7.6\%$ 、10分間で $68.2 \pm 5.0\%$ 、15分間で $64.6 \pm 3.2\%$ であった。

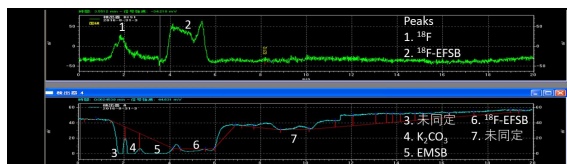


Fig. 3 200 5分間の反応条件で合成された反応液のHPLC分析結果

3. ^{18}F -EFSBの最適な合成条件の検討

反応温度 180 で固定し適切な反応時間を検討したところ、Fig. 3に示す通り反応時間5分で放射化学的純度は $74.8 \pm 5.8\%$ とピークに達し、時間の延長に伴い放射化学的純度は緩やかに減少した。Kumarらは、反応時間の延長は放射線分解を誘発すると報告している。

Table 1 精製後の放射化学的純度

回数	放射化学的純度 (%)
1	97.8
2	96.8
3	88.7
4	97.3
5	94.1
平均	95.1 ± 3.4

結論

新たな全身性アミロイドーシス用の標識薬剤 ^{18}F -EFSBの臨床応用に向けた基礎研究として(1) ^{19}F -EFSBのアミロイド集積性に関する検討、(2)EMSBBに ^{18}F を標識合成する際の最適な合成条件の検討、(3) ^{18}F -EFSBの品質管理を行った。 ^{19}F -EFSBは様々な病型の全身性アミロイドーシス患者のアミロイドに集積したことから、放射性標識薬剤 ^{18}F -EFSBも同様にアミロイドへ集積することが示唆された。

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2件) 査読あり

- 1) 全身アミロイドイメージングプローブ ^{18}F -EFSBの臨床応用に向けた基礎研究: 鈴木涼馬、守島由貴、松永浩文、山下太郎、富吉勝美、熊本大学医学部保健学科紀要、14巻、p33-41, 2018.
- 2) 全身性アミロイドーシス検索薬 ^{125}I -EISBの研究: 最適反応時間および安定性の検討: 柏 昂希、副島彩花、松永浩文、山下太郎、富吉勝美、熊本大学医学部保健学科紀要、14巻、p42-47, 2018.

〔学会発表〕(計4件)

1 全身性アミロイドーシスのイメージングプローブ ^{125}I -EISBの安定性評価: 副島 彩花
第12回九州放射線医療技術学術大会、11月18日2017 鹿児島市 宝山ホール

2 全身性アミロイドーシス診断用新試薬 EFSB の化学的安定度に関する研究：北園 英誉
第 12 回九州放射線医療技術学術大会 11月18日2017 鹿児島市 宝山ホール

3 Evaluation of affinity of newly developed radiolabeled compound EISB on normal mice and amyloid deposition mice and its SPECT/CT imaging with 125I-EISB Koki Kashiwa、The XVIth International Symposium on Amyloidosis, Oct. 21, 2017 .
Vienna Austria

4 19F-EFSB investigation of amyloid accumulation in tissues、Suzuki Ryoma、The 12th Asia Oceania Congress of Nuclear Medicine and Biology ,
Oct.7,2017 PACIFICO Yokohama Japan.

〔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

6. 研究組織
(1)研究代表者

富吉 勝美 (Katsumi Tomiyoshi)
熊本大学・大学院生命科学研究部・教授
研究者番号：60188802

(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

()