

厚生労働科学研究費補助金
萌芽的先端利用技術推進研究事業

新規 γ ・ β 線核種によるがん診断・治療の開発研究

(H17-ナノ-016)

平成18年度総括研究報告書

主任研究者 藤林 康久

平成19(2007)年 3月

目 次

I. 総括研究報告

新規 γ ・ β 線核種によるがん診断・治療の開発研究 藤林 康久	-----	3
---	-------	---

II. 分担研究報告

1. 超小型サイクロトロンを用いる放射性同位元素の製造に関する研究 藤林 康久 (別添資料1)	-----	11
2. 薬剤設計、合成に関する研究 徳永 雄次、藤林 康久 (別添資料2、3)	-----	15
3. 分子生物学的評価に関する研究 —瘍内Cu-ATSM集積部位の性質に関する検討— 古川 高子 (別添資料4)	-----	23
4. 全身スクリーニングを目的としたPET用腫瘍イメージングトレーサーの開発 森 哲也、岡沢 秀彦 (別添資料5)	-----	29
5. 臨床診断に関する研究 岡沢 秀彦 (別添資料6、7)	-----	33
6. 婦人科腫瘍診断に関する研究 卵巣癌の病巣検索におけるFDG-PET像と拡散強調画像上の異常信号の比較に 関する研究 富樫 かおり	-----	37
7. 微細電子飛跡検出器に関する研究 谷森 達、身内賢太郎、窪 秀利 (別添資料8、9、10、11)	-----	41
8. 研究成果の刊行に関する一覧表	-----	47

総括研究報告

新規 γ ・ β 線核種によるがん診断・治療の開発研究

（主任）研究者 藤林 康久 福井大学高エネルギー医学研究センター・教授

研究要旨：超小型サイクロトロンによる新規放射性同位元素製造技術の確立，コンピュータシステムによるがん親和性分子設計と合成技術の開発，放射性薬剤の製造・品質管理に関する技術開発，NEDOプロジェクトによる超高感度放射線イメージング機器コンプトンCT（CPT）開発を融合することにより，新規 γ ・ β 線放出核種によるがん診断・治療に有用な薬剤ならびに医療技術を開発する。

A. 研究目的

新しい概念に基づく位置検出型放射線検出装置であるコンプトンCT（CPT）の開発により，従来の核医学用放射性核種に加えて，高エネルギーガンマ線，中半減期核種が標識核種として利用可能となると考えられる。このようなCPT検査では，

- ① 高感度であるため，少量投与で被ばく線量を安全な範囲に維持しながら，
- ② 広いガンマ線エネルギー範囲にわたって必要十分な分解能を確保し，
- ③ かつ，中半減期核種も利用できるため長時間にわたる動態を追跡できる可能性が高い。

また，上記放射性核種の中の多くがガンマ線とともにベータ線を放出することからがん選択性を有するイメージング薬剤がそのまま内部放射線治療薬剤としても利用可能となる可能性が高い。CPTとの併用により，標的となるがん部位ならびに副作用発現の可能性が高い部位における薬剤量（すなわち放射線量）を直接モニタリングできることが期待される。

本研究では，FDG-PETの保険適用により本邦に急速に普及しつつある超小型サイクロトロンを利用し，各病院・センターで実施可能な種々の放射性核種（RI）の製造技術を確立するとともに，それらを用いた新規な概念に基づくがん親和性薬剤の設計開発を行う。これにより，新しいがんの高感度診断法を確立するとともに，非侵襲的かつ最適化されたがん治療技術へと展開していく。

B. 研究方法

CPTの特性ならびに診断・治療同時進行型薬剤標識に適した放射性核種の文献調査から，比較的高エネルギーのガンマ線ならびにがん内部照射治療に適したベータ線を放出する核種として，Cu-64 ならびに Br-77 を選択した。超小型サイクロトロンと固体ターゲットシステムを用いた Cu-64 の製造技術の改良を行うとともに，製造された大量のCu-64 を安全かつ高収率に回収・精製するための自動化装置を開発した。これと並行して Br-77 の製造に必要な Se-77

固体ターゲットの製造開発を行った。また Se-77 をプロトン照射して製造された Br-77 を回収するための電気炉回収装置の構築を行った。一方、これまでの研究において放射性 Cu 標識薬剤 Cu-ATSM によるがんイメージングと治療の可能性を明らかにしてきたが、特に Cu-ATSM 高集積部位の特性について治療効果との関連で詳細に検討を加えた。昨年度導入した分子設計システムにより RDG 配列をリードとすして設計された新規ペプチド型および非ペプチド型分子について、実際に合成検討を行った。

これらと並行して、がんへの移行性を有する F-18、Br-77 標識薬剤について、薬剤製造技術の確立ならびにそれらを用いた基礎、臨床検討を行い、診断から治療への展開の可能性を基礎的に考察した。

(倫理面への配慮)

動物実験にあたっては、福井大学動物実験指針等に従い、実験内容についての承認を受けた上で実施した。

開発された放射能標識分子プローブを人体に適用するにあたっては、状況に応じて学内倫理委員会あるいは治験委員会に諮り、承認を得た上で実施した。被験者からは十分なインフォームドコンセントを得た。

C. 研究結果ならびに考察

超小型サイクロトロンを用いて、がん内部放射線照射治療に適した放射性同位元素の製造が可能であることを明らかにした。

がん細胞に対して特異的に結合する薬剤として、細胞膜インテグリンに対する結合性を有する RGD ペプチドならびにその誘導体について構造計算による分子設計にした

がって、数種の化合物群の合成を行った。その結果、ジフェニルメタンをスペーサー部位に、また、末端にグアニジン部位とカルボキシル基をそれぞれ持つ化合物の合成に成功した。

放射性 Cu を用いたがん親和性薬剤のがん組織内集積とがん細胞の特性についての詳細な検討を行った結果、固形腫瘍内で Cu-ATSM の集積が高い領域は、多数の増殖していない細胞が集まっているユニークな領域であることがわかってきた。この領域は治療に抵抗性を示すと考えられ、がんの質的診断、治療の双方において Cu-ATSM の有用性が示された。

F-18 標識フルオロ酢酸 (FA) は、C-11 標識酢酸に比べ体内動態を長時間観察でき、さらに代謝過程でメタボリックトラッピングが生じると考えられていることから、ポジトロン断層撮影 (PET) 用腫瘍イメージングトレーサーとしての利用が期待されている。そこで、全身を標的とした腫瘍イメージングトレーサーの開発を目的として FA のエステル体である F-18 標識フルオロ酢酸エチル (EFA) に着目し、F-18 標識体の合成ならびにその基礎的検討を行った。その結果、膜透過性の指標となる EFA の血液脳関門透過率は、母体化合物の FA に比べ 3.8 倍と非常に高い値を示し、さらにインビボラット脳で速やかに水溶性物質に代謝されることからプロドラッグとして機能することが示唆された。

臨床検討として、婦人科領域疾患における FES-PET の有用性を検討した。正常子宮内膜への集積は月経周期によりやや差があるが、内膜癌は閉経期の女性に多いため、臨床応用の際、患者の月経周期はあまり影響

が無いと考えられる。一方正常子宮筋層では月経周期による集積の変動はほとんど認められず、SUV値で2～3程度であった。子宮内膜病変では悪性腫瘍でFDG集積が上昇するのに比べ、FES集積は中等度以下であった。子宮筋層病変では、良性疾患(筋腫)でFES集積が上昇するのに比べ、悪性である肉腫ではFES集積が低く、FDGの高集積との間に有意な差があった。婦人科疾患のPET診断に有用性が示された。

また、FDG-PET と MRI との画像比較による婦人科腫瘍診断において、播種を含む活動性病変の検索目的としてFDG-PETと拡散強調画像を用いる場合には、両者の診断精度には大きな差がない可能性が示唆された。

これらの基礎ならびに臨床医学研究と並行して、コンプトンCT (CPT) の開発を行い、可搬型装置が移動後2時間程度で稼動可能であること、多くの高エネルギー γ 線核種の検出が可能であることを実証した。また30 cm 角カメラを作成し稼動開始することができた。

D. 結論

放射性同位元素の製造、その利用から検出技術の開発にいたる、一連の研究体制が構築され、Cu-64について、製造から検出に至る一連の検討を行うことができた。また新しい概念に基づくプローブ設計と合成を開始し、いくつかの有用な化合物を得ることができた。

E. 健康危険情報

特になし

分 担 研 究 報 告

厚生労働科学研究費補助金（萌芽的先端医療技術推進研究事業）

（分担）研究報告書

超小型サイクロトロンを用いる放射性同位元素の製造に関する研究

（分担）研究者 藤林 康久 福井大学高エネルギー医学研究センター・教授

研究要旨： 超小型サイクロトロンによる新規放射性同位元素製造技術の確立，コンピュータシステムによるがん親和性分子設計と合成技術の開発，放射性薬剤の製造・品質管理に関する技術開発，NEDOプロジェクトによる超高感度放射線イメージング機器CPT開発を融合することにより，新規 γ ・ β 線放出核種によるがん診断・治療に有用な薬剤ならびに医療技術を開発する。PET検査の保険適用に伴い急速に普及しつつある超小型サイクロトロンを用いた新しい放射性同位元素製造は、内部照射治療用放射性同位元素の供給の途を開きその普及に資するのみでなく、高価なサイクロトロンの効率的運用に非常に有用である。本年度は、Cu-64 を安定かつ高収率に製造・回収する自動化システムを開発するとともに、Br-77 の製造に必要な Se-77固体ターゲットの製造ならびに Br-77 精製装置の開発を開始した。

A. 研究目的

F-18-フロオロデオキシグルコース (FDG) ならびにポジトロンCT (PET) を用いた検査が保険適用となり、FDG-PETの普及が急速に進んでいる。F-18の半減期は焼く2時間と短いため、製薬企業による全面的供給は難しく、現在本邦のみでも100程度のPET検査施設では超小型サイクロトロンを設置して自らFDGの製造を行っているのが実情である。現状では、F-18製造にサイクロトロンが使われる時間は一日あたり数時間以内であり、高価な機器が有効利用されていない。

近年、共同研究者らによりコンプトン散乱を原理とする新たな γ 線検出装置 (CPT) が開発された。CPTは、非常に感度が高くかつ高エネルギー γ 線でも位置弁別できることから、従来利用が難しいと思われてきた放射性同位元素にも適用可能である。それ

らの中には、 β 線を同時放出することによりがんの内部放射線照射治療に適すると考えられるものが多く含まれる。幸いなことに、それらのいくつかは、超小型サイクロトロンによって製造可能であると考えられる。

本研究では、超小型サイクロトロンを用いてCPTによる検出ならびにがんの内部放射線照射治療に適すると考えられる放射性同位元素の製造技術を確立することを目的とする。

B. 研究方法

上記の目的に適すると考えられる Cu-64 について、昨年度開始した市販のロボット制御システムを用いた簡便なCu-64自動精製装置を完成させた。装置は、臨床使用目的に市販されている三方バルブ、シリンジ

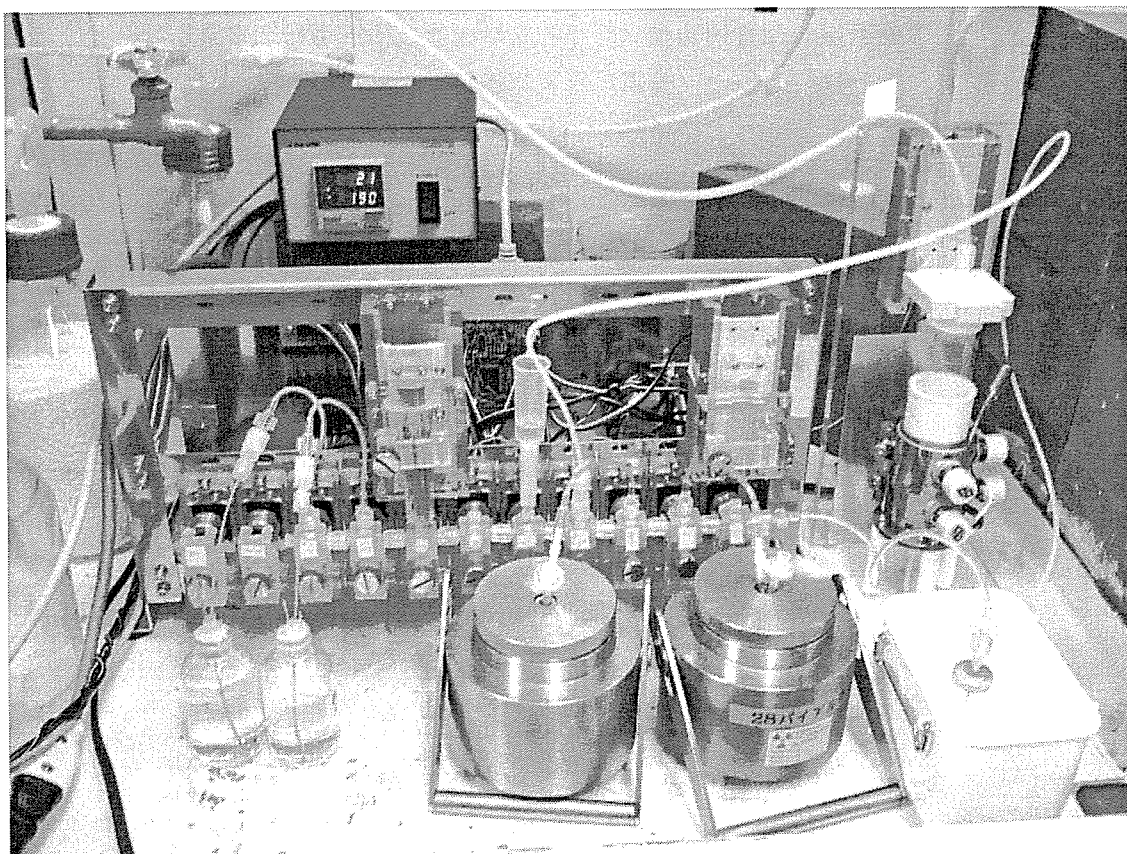


図1. 全自動 Cu-64 精製装置の外観。右に反応容器、前にふたつの放射性物質回収容器が見える。

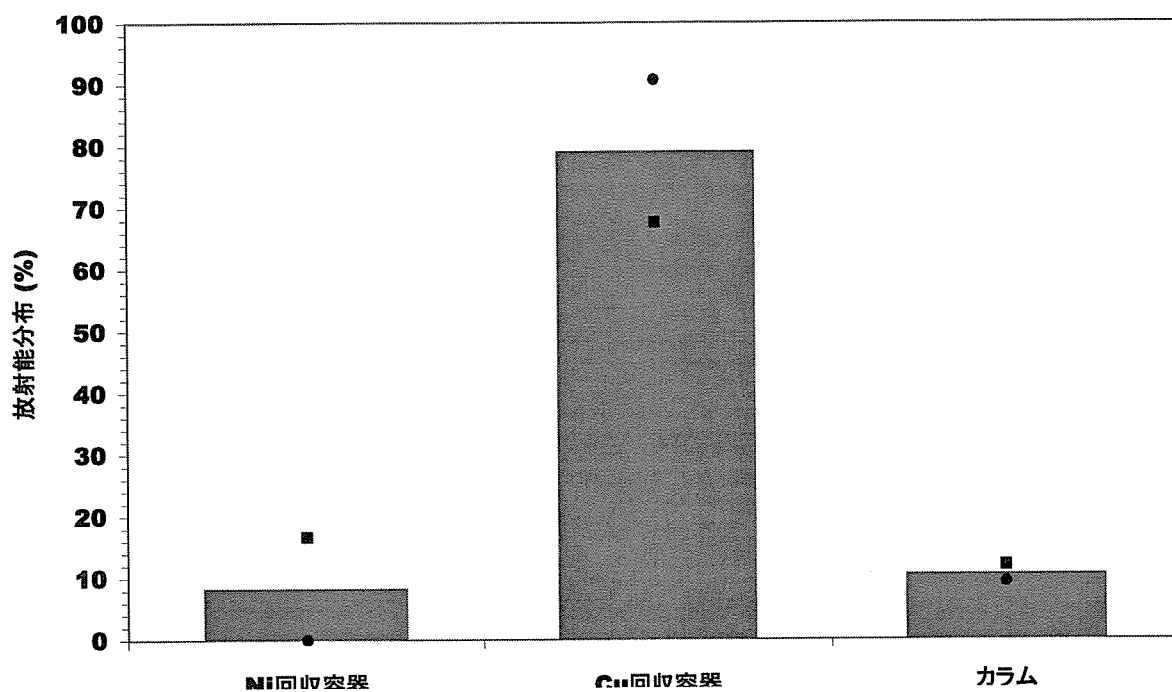


図2. カラム法を用いて⁶⁴Cu精製を行ったときの放射能分布 (n = 2)

プレパックされた市販製品を用いるなど、安全性と簡便性を兼ね備えたものである。

C. 研究結果、D. 考察

図1に開発されたCu-64自動精製装置を示す。種々の条件設定を経て完成されたプログラムでは、作業者には、ターゲットを反応容器に投入するのみの作業を要求するのみで動作開始後1時間でCu-64回収率70%以上を達成した(図2)。

本システムは、非常に柔軟な構築が可能であり、まったくソフトウェアに知識がなくてもプログラミングが可能であるため、多くの自動化システムの開発に応用可能である。次年度には、ハロゲン化合物合成装置の開発を目指す。

これらと並行して、Br-77製造に着手した。Br-77の製造にあたっては、Se-77をターゲットとしてプロトン照射を行う必要がある。このため、Se-77をCu-64と混合・加熱しCopper selenideとしたものをタンダステン円盤上に溶着させたターゲットを製作した。このシステムでは、プロトン照射によって生成されたBr-77を、ターゲット円盤を加熱し昇華させることによって回収・精製することが可能である。しかもターゲット自体には化学的変化を与えないため、そのまま再利用できる利点がある。現在、ターゲットからBr-77を昇華させるための石英セル、ガスライン、加熱炉の設置を行っている。

E. 結論

内部照射治療ならびにCPTに適していると考えられるCu-64を安全かつ高収率に製造・精製するシステムを構築できた。

さらに、Br-77製造に必要な基本的システムを構築した。

F. 健康危険情報

無し

G. 研究発表

1. 論文発表

無し

2. 学会発表

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

無し

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

1. 特許取得

無し

2. 実用新案登録

無し

3. その他

無し

薬剤設計、合成に関する研究

（分担）研究者 徳永 雄次 福井大学大学院工学研究科材料開発工学専攻・
助教授

藤林 康久 福井大学高エネルギー医学研究センター・教授

研究要旨：新規癌診断・治療薬の開発を目的に、癌細胞に対し特異的に結合する化合物の分子設計とその合成を行った。細胞膜レセプターの一つとして知られているインテグリン $\alpha_v\beta_3$ に対し高い結合能を有する Arg-Gly-Asp ペプチドをリード化合物とし、前年度、分子計算を用いてインテグリンに対する結合能の評価を実施したが、その結果を基に数種の化合物群の合成を実施した。その結果、ジフェニルメタンをスペーサー部位に、また、末端にグアニジン部位とカルボキシル基をそれぞれ持つ化合物の合成に成功した。一方、Arg-Gly-Asp ペプチドに対する放射線放出部 (^{18}F) の導入検討を開始した。鍵反応となるフッ素アニオン求核置換反応における条件検討をモデル化合物（ジペプチド類）を用いて行った。その結果、エステル部を持つ化合物で副反応であるラセミ化が進行したものの、エステル部を加水分解したジペプチドでは副反応の進行が認められず、 ^{18}F の導入方法についての基礎情報と導入ルートの決定を行うことができた。これと並行して、ハロゲン標識核酸誘導体の設計、合成、基礎評価を行った。核酸合成については資料にて述べる。

本年度は、上記研究の2段階目前半と3段階目の予備検討を実施し、癌細胞の認識部候補の化合物群の選定を行う。

A. 研究目的

本研究の最終的な目的は、新規癌診断・治療薬を開発することである。そのためのアプローチとして、まず、癌細胞に特異的に結合する化合物の探索を行う。特に、癌細胞レセプターへの特異的な結合能を有する化合物の選別を分子計算を用いて行い、最適化を図る。続いて、分子計算によって得られた結果を基に癌細胞認識部の候補の化合物を合成し、レセプターとの結合能について実測して認識部位の選定を行う。最後に、認識部位に放射線放出部位等の導入を行い診断薬として、さらに細胞毒性を有する部位を認識部に組み入れることによって癌治療薬への変換を実施する (Fig. 1)。

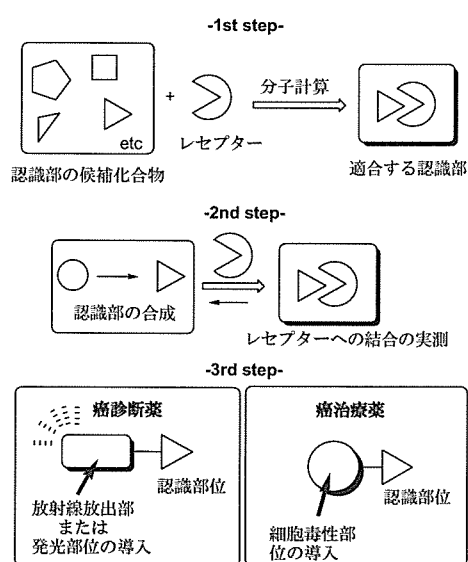


Fig. 1. 本研究のアプローチの模式図

B. 研究方法

1. 非ペプチド性化合物の合成検討

癌細胞増殖に重要な役割を果たしている細胞膜レセプターである $\alpha_v\beta_3$ インテグリンに対し、高い結合能を有するArg-Gly-Aspペプチドをリード化合物に、分子計算によるシミュレーションを前年度行ったが、その結果、高い結合能が期待される化合物群の合成について行った。Arg-Gly-Aspペプチドがインテグリン $\alpha_v\beta_3$ に結合する際には、N末端に存在するグアニジン部とインテグリン α_v のAsp150及びAsp218とが水素結合によって、また、C末端のカルボキシル基においては、インテグリン β_3 のSer121、Ser123、及び、Glu220との間に存在する金属イオンと配位結合により特異的に結合することが知られている。そこで、これら2種の官能基間の距離を適切に固定でき、かつ微調整可能であり、また合成が容易であること、さらに、種々の置換基の変換が可能であり放射線放出部位や細胞毒性を有する部位の導入が容易である化合物を選別した。それら化合物のうち、以下に示す非ペプチド性化合物2種の化合物群を選択し、その合成を検討した。

1-1 ジフェニルメタンをスペーサーとする化合物

前年度の分子計算結果では、下記に示すジフェニルメタンをスペーサー部位に持つ化合物がインテグリンと優位に結合することが見出されたので、本化合物群の合成を検討した。本化合物群の特徴は、認識に重要な部位となるグアニジン部位とカルボキシル部位がベンゼンのパラ位に置換されているため、これら認識のための重要部位が固定されている点と、2個のベンゼン環を結ぶ

部位 (C=X) を変換することで、認識部位間の距離が微調整できる点にある。合成に関しては、グアニジン部・2個のベンゼン環部・カルボキシル部位それぞれの単位を結合する手法で行った (Fig. 2)。

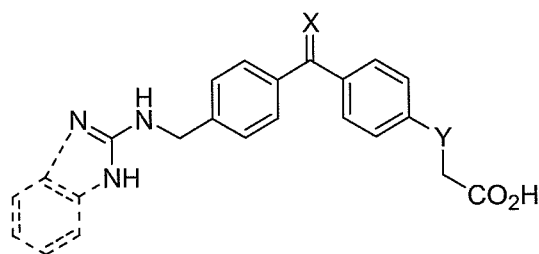


Fig. 2.

1-2. インドール類をスペーサーとする化合物

1と同様にインドール類をスペーサーに持つ化合物についてもシミュレーションで良好な結果が得られたので、その合成を開始した。尚、本化合物に関しては、Arg-Gly-Aspペプチドと類似の位置にインドール (Z=CH) の1位にヘテロ原子が存在する化合物であり、またシミュレーションからArg-Gly-Aspペプチドを上回る結合能が期待できる化合物である。種々の方法にてその合成を行ったが合成が困難であったため、インドール部位をベンゾイミダゾール (Z=N) に変換し新たな分子設計を行った (Fig. 3)。

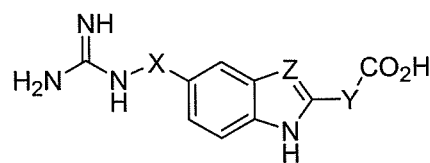


Fig. 3.

2. ペプチド性化合物の合成検討

Arg-Gly-Aspペプチドに対し、放射線放出部として ^{18}F を直接導入する方法も開始した。放射線放出を有するArg-Gly-Aspペプチド

は、化合物自体が癌診断薬になること、また本化合物を用いることで、新規化合物のインテグリンとの結合能の評価に関する基準のサンプルとなるため重要である。¹⁸Fを持つArg-Gly-Aspペプチドの合成には、¹⁸Fの導入方法が鍵となる。¹⁸Fの導入の代表的な方法にフッ素アニオン (F⁻) を用いた求核的な置換反応が有効であることが知られている。しかしながら、F⁻による求核的な反応であるが故、アミド結合の加水分解やペプチドのラセミ化などの副反応が進行することが懸念される。そこで、モデル化合物を用いこれらの課題を解決する条件、並びに基質の選定を行った。

(倫理面への配慮)

本段階において、倫理面への配慮は不必要である。

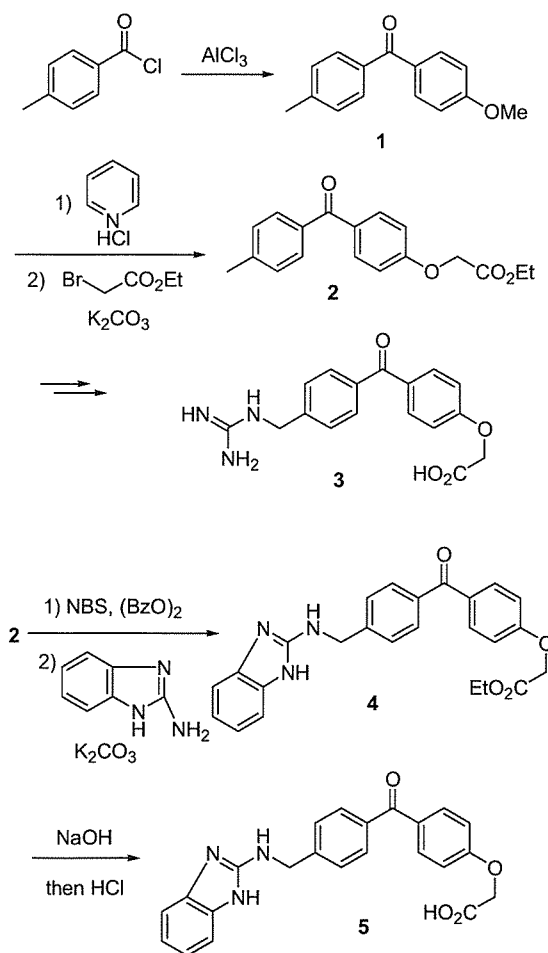
C. 研究結果

1-1. ジフェニルメタンをスペーサーとする化合物の合成検討

まず、トルオイルクロリドとアニソールとのフリーデルクラフト反応により、ベンゾフェノン部の構築を行い **1** とした。続いて、グアニジン部位とカルボキシル基の導入については、カルボキシル基周辺の修飾のバリエーションを考慮し先にグアニジン部位の投入を試みるため、メトキシ基をアセトキシ基に変換した。続いてベンジル位のグアニジン部の導入を実施したものの、精製が困難であり、Scheme 1に示す合成ルートへと変更した。化合物 **1** に対し、フェノール性水酸基の脱保護後、酢酸単位の導入を行いエステル **2** へと変換し、続いてベンジル位のブロモ化に引き続き、グアニジンと

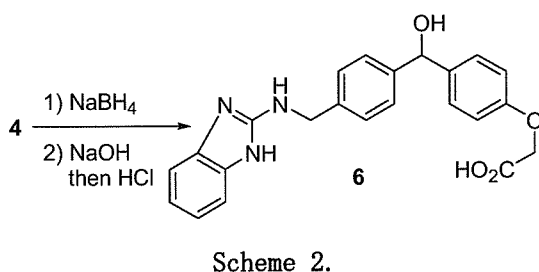
の置換反応を行った。現在単離を試みており、精製後エステル部の加水分解を行い、目的物 **3** への変換を行う予定である。

一方、前年度の結果では、水溶性の高いグアニジン部をイミダゾールやベンゾイミダゾールに変換した化合物においてもインテグリンに対し高い結合力を示すことが、シミュレーションで得られている。そこで、グアニジン部のベンゾイミダゾールへと変更した化合物についての合成を行った。上記の化合物 **2** に対し、ブロモ化後 2-アミノベンゾイミダゾールとの求核置換反応に付しアミン **4** へ誘導し、最後にエステル部位の加水分解によって、アミノ酸 **5** を合成した。



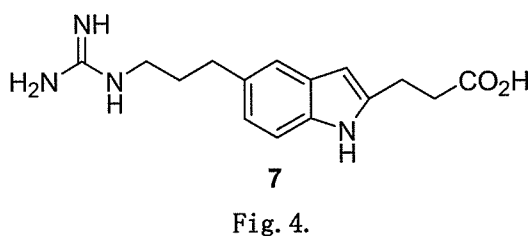
Scheme 1.

また、前述のように本化合物群では2個のベンゼン部を結ぶ官能基が認識部位の微調整に重要な役割を果たしている。そこで、中間体4のケトン部位を還元し、さらに加水分解を行い、第2の目的物6を合成した (Scheme 2)。



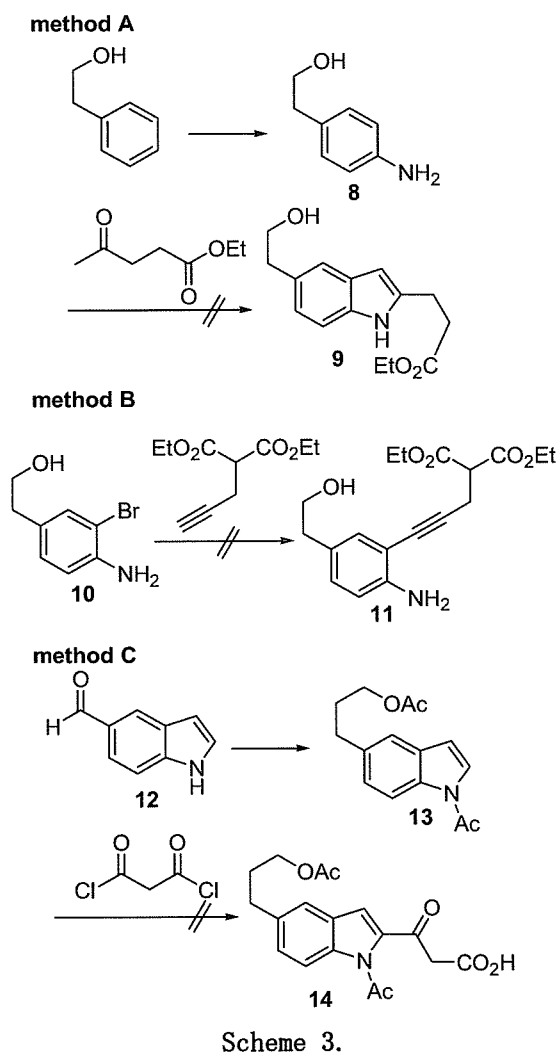
1-2. インドール、またはその類縁体をスペーサーとする化合物の合成検討と分子設計

合成検討：インドールをスペーサー部位とする化合物7の合成を検討した (Fig. 4)。



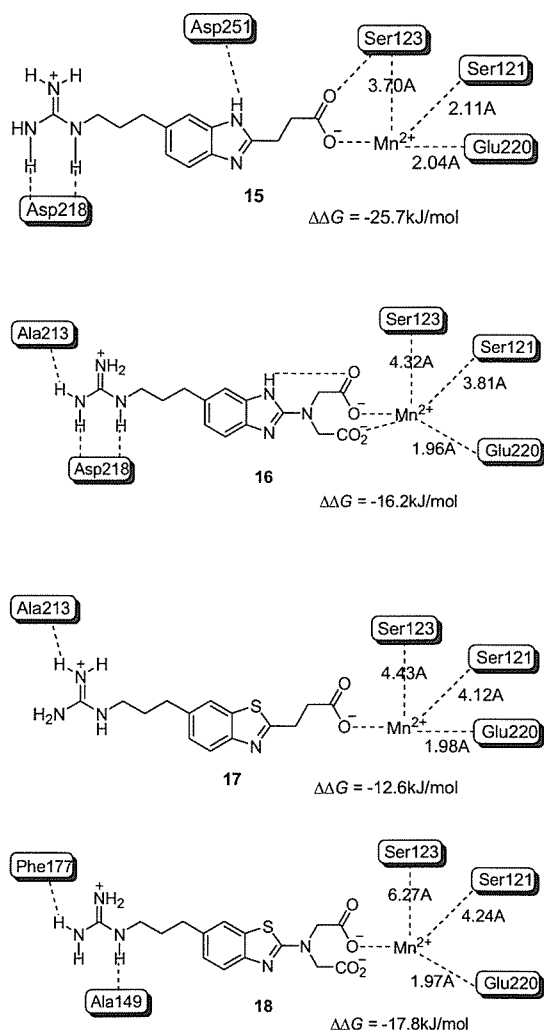
フィッシャーのインドール合成をまず行った。即ち、フェニルエタノールより導いたアニリン8に酸性条件下アセトプロピオネートを作用し、インドール構築を試みたが、目的の反応は進行せず、複雑な混合物を与えた (A法)。また、8のプロモ化で得られる10とマロン酸より誘導したアセチレンとの園頭カップリングを行ったが、11の存在は確認されなかった (B法)。そこで、5位に置換基を持つインドールの2位への修飾

を次に検討した。即ち、12の5位を増炭反応に付し、得られた13に2位への置換基導入を検討したが、本反応においても目的の成績体を確認することはできなかった。そこで、化合物7の分子設計を見直した (Scheme 3)。



分子設計：化合物7では、Arg-Gly-Aspペプチドの類似の位置に窒素原子が存在することが、シミュレーションで良好な結果を与えたものと推察される。そこで、合成の容易さを考慮しインドール部をベンゾイミダゾールやベンゾチアゾールへの変更を行い、

それらの化合物の分子計算を行った。計算は、X線結晶解析によって得られたインテグリンと対象となる化合物(15-18)を併せ、MacroModel 9.1を計算ソフトに、また力場にはOPLS2005を用いて行った。その結果の一部をFig. 5に示す。



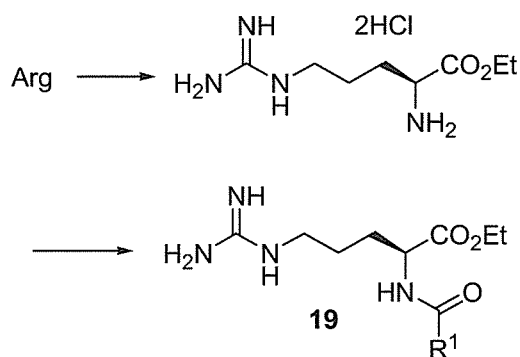
(ただしΔΔGの値は、複合体の自由エネルギーから認識化合物の自由エネルギーを引いた値)

Fig. 5.

計算結果より、グアニジン部位とカルボキシル基がインテグリンと結合し、ΔΔG=-12--25kJ/molと比較的安定な複合体の形成が示唆された。また、化合物15においては、

イミダゾールの窒素原子に存在する水素が新たな水素結合を形成し、インテグリンと強固な結合の可能性を示すことができた。しかしながら、化合物7に比較し、15, 17においてはグアニジン部が、また16, 18では、金属イオンとの結合が不十分と予想される結果であった。

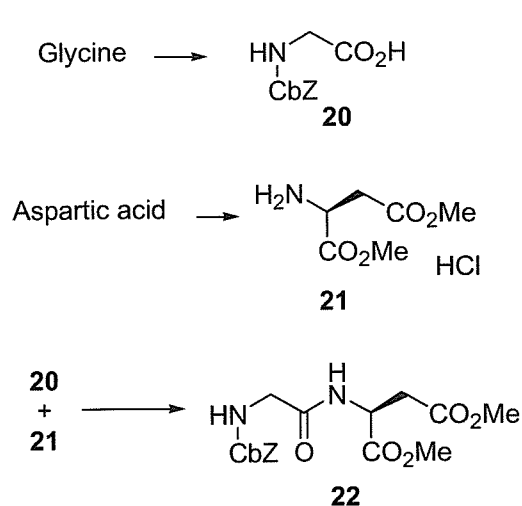
2-1. Arg-Gly-Aspペプチド類の合成検討
合成に際しArg-Gly-Aspペプチドに放射線放出部として¹⁸Fの導入を予定しているが、報告されているX線結晶解析の結果とシミュレーションから、Argの窒素への間接的な導入がインテグリンへの結合を低下することなく目的を達成できる方法と考えられる。また、水溶性の高いグアニジン部を持つArgは、精製の際取り扱いが困難と予想されるため、初めにGly-Aspペプチド合成後Argとのアミド化を行うこととした。まず、Argに対し、カルボキシル基をエステルとして保護し、続いてアミノ基を選択的にアシル化した。今後、フッ素原子が導入可能なアシル基(アミド19のR¹部位)に変更する予定である(Scheme 4)。



Scheme 4.

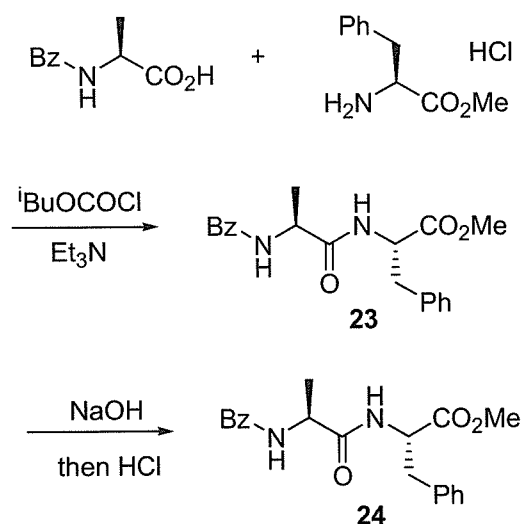
一方、C末端側の合成も行った。まずglycineのアミノ基をベンジロキシカルボニル基で

保護して**20**を得、またaspartic acidのカルボキシル基をエステルとして保護し**21**へと変換し、続いて**20**と**21**とのアミド化を行い、ペプチド**22**の合成を行った。今後は、**19**との反応により、目的のトリペプチドへと導く予定である (Scheme 5)。



Scheme 5.

まず、アラニンとフェニルアラニンの誘導体のアミド化によりモデル化合物のアミドエステル**23**を、またその加水分解によってジペプチド**24**をそれぞれ合成した (Scheme 6)。



Scheme 6.

2-2. フッ素アニオンを用いた求核的置換反応条件におけるペプチドの安定性評価

Arg-Gly-Aspペプチドに対し、 ^{18}F を導入するには次の点を考慮する必要がある。

- ^{18}F が放射性物質あるため取り扱いに制限を受けること、並びにその半減期が約110分と短いため、最終段階またはそれに近い段階で導入する必要がある。
- フッ素アニオンを用いた求核的置換反応においては、その求核 (塩基) 性のためエステル部やアミド部の加水分解が懸念される。
- 2と同様にその求核 (塩基) 性のためペプチドのラセミ化が進行する可能性がある。

そこで簡単なジペプチドをモデル化合物とし、フッ素化における条件検討を行った。

得られたモデル化合物にフッ素化反応の条件に付し、前述した副反応の進行についての結果をtable 1に示す。エステル**23**にCsF存在下60°Cで加熱したところ、溶媒に係らず容易に異性化が起り、反応直後の ^1H NMRスペクトルより**23**とそのジアステレオマーの生成比が、約1:1であり、懸念していた副反応が進行した。また Bu_4NF を用いた場合にも同様に異性化の進行が見られた。一方、**24**の場合においては95°Cで加熱した場合においてもジアステレオマーの存在は500 MHzの ^1H NMR検出限度内において確認されなかった。これは、カルボン酸部位が反応系内でセシウム塩となることで、エステル部の α 位炭素に存在するプロトンの反応性が低下したためと考えられる。この事実は、**23**の異性化がエステル α 位で進行している

ことを示唆している。一方、アミド部とエステル部の加水分解については、全ての反応条件、反応基質において認められなかった。

Table 1. フッ素化条件におけるジペプチド**23**, **24**の安定性の検討

compounds	conditions	isomer ratio	hydrolysis
23	A	1 : 1	non
23	B	1 : 1	non
23	C	ca 1 : 1	non
24	D	< 20 : 1	non
24	E	< 20 : 1	non

condition A: CsF (24mM) 存在下、溶媒をアセトン-d₆とし2日間60°Cで加熱。

condition B: CsF (24mM) 存在下、溶媒をDMSO-d₆とし2日間60°Cで加熱。

condition C: Bu₄NF (48mM) 存在下、溶媒をDMSO-d₆とし2日間60°Cで加熱。

condition D: CsF (63mM) 存在下、溶媒をDMSO-d₆とし1日間95°Cで加熱。

condition E: Bu₄NF (50mM) 存在下、溶媒をDMSO-d₆とし1日間95°Cで加熱。

non: 反応の進行が観察されない。

D. 考察

1. 非ペプチド性化合物の合成検討

ジフェニルメタンをスペーサー部位に持つ化合物群の合成に成功した。本合成における中間体を基に2個のベンゼン環部を結ぶ部位の変更を行い、インテグリン結合部位であるグアニジン部とカルボキシル基間の距離の調節を行うことが必要である。また、本合成戦略はこのタイプの化合物合成にお

いて汎用性があるものと考えられ、カルボキシル基側の修飾も考慮し、種々の化合物合成に展開できるものと考えられる。一方、インドール類をスペーサーに持つ化合物に関しては、合成の困難さや十分な結合かシミュレーションより期待できないことより、他の化合物へと変更すべきと考えられる。今後は、N末端のArg部位を固定し入手容易なスペーサーに持つ化合物、またはC末端のAspを固定しグアニジン部位の導入を行うことが、良い方法と考えられる。

2. Arg-Gly-Aspペプチド類の合成検討とそのフッ素化の検討

ペプチド類のフッ素アニオンによる求核置換反応における安定性について検討した。その結果エステル部を持つ化合物の異性化が確認されたが、カルボン酸では認められなかった。この事実と¹⁸Fの半減期の短さを考慮すると、フッ素化は最終段階で行うことが望ましい。今後の合成戦略は、Arg-Gly-Aspペプチドを合成し、反応性の高いアミノ基に選択的なアシル化を行いアシル基に導入した官能基を足場に¹⁸Fを導入するルート (Fig. 6 A法) と、N-アシルArgとGly-Aspペプチドからその誘導体を導くルート (B法) の2種が可能である。フッ素化のためのアシル基を検討するためにはA法が、また、反応工程数を鑑みるとB法が優れている。また導入するアシル基については、フッ素化を考慮した場合、反応性の高い脱離基の導入が有利であるが、グアニジン部との反応について配慮する必要がある。今後は、脂肪族1級ハライド、アリルハライド、 α -カルボニルハライドなどをアシル基に導入し、そのフッ素化反応を検討する必

要がある。また、 ^{18}F の半減期の短さや放射線量を考慮し、複数の ^{18}F の導入も効果的な方法と考えられる。

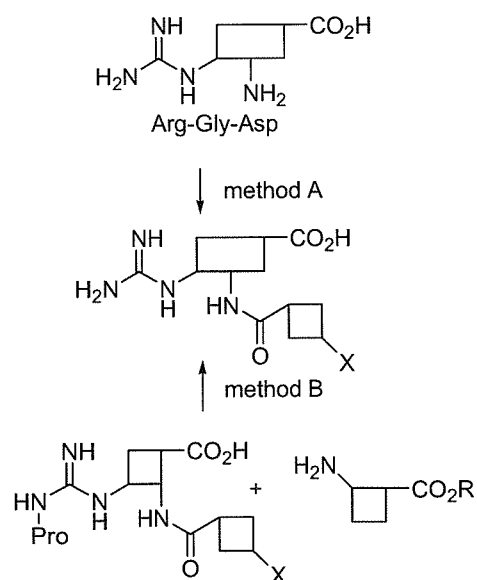


Fig. 6

一方、本化合物は前述したように、癌診断薬としてのみならず、非ペプチド性認識部のインテグリンに対する結合能の評価を行うための基準物質となる。放射線放出部の導入は反応が制限されること、また結合能の評価に時間的な制限を受けるため、蛍光発光部位の導入も同時に検討する必要がある。

E. 結論

1. Arg-Gly-Aspペプチドをリード化合物に、ジフェニルメタンをスペーサー部位に持つ化合物2種の合成に成功した。本合成における中間体はこれらの化合物群合成における重要合成中間体であり、また、本合成ルートが他の類縁体合成に効果的である。また、シミュレーションにて好結果を示したインドール部位をスペーサーに持つ化合物の合成を試みたが困難を要し、スペーサーの変

換を余儀なくされた。今後は入手容易な化合物をスペーサーに用いる予定である。

2. フッ素原子を有するArg-Gly-Aspペプチド類の合成検討を行った。鍵となるフッ素化における副反応が懸念されたが、反応の基質を選択することで、副反応を回避できることが判明した。また、副反応を回避するために2個の合成ルートが可能であることが判明した。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表

1. 論文発表 なし
2. 学会発表 なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 特になし

分子生物学的評価に関する研究

—腫瘍内 Cu-ATSM 集積部位の性質に関する検討—

（分担）研究者 古川 高子 放射線医学総合研究所
分子イメージング研究センター
分子病態イメージング研究グループ
分子診断研究チーム・チームリーダー
福井大学高エネルギー医学研究センター
分子イメージング部門・客員教授

研究要旨： ポジトロン核種により標識されたCu-ATSMは低酸素組織および腫瘍に集積する放射性薬剤としてPET画像診断における臨床的有用性が報告されている。また、Cu-ATSMの集積が高い腫瘍では、放射線治療後の予後が悪いことが報告されており、Cu-ATSMの集積と腫瘍の悪性度や治療抵抗性との関連性が注目される。Cu-ATSMの集積と腫瘍の生化学的・分子生物学的性質や腫瘍の悪性度・治療抵抗性との関係を明らかにするため、マウス腫瘍モデルにおける腫瘍内Cu-ATSM集積部位の特徴を免疫組織学的手法を用いて明らかにし、F-18 FDGの高集積部位と比較する形で検討した。腫瘍内でのCu-ATSMの分布とF-18 FDGの分布には明らかな違いが見られ、数種類の腫瘍細胞に共通して、Cu-ATSMの高集積部位では血管分布がほとんどみられず、また、Ki67を発現する増殖期の細胞もほとんど見られなかったのに対し、F-18 FDGの高集積部位では多数の血管が認められ、また、Ki67を発現する増殖期の細胞も豊富に存在するという非常に興味ある結果が得られた。これは腫瘍の治療方針決定にもかかわる知見であり、今後他の指標による検討を含め、確認を進めたいと考えている。

A. 研究目的

ポジトロン標識 Cu-ATSM は低酸素組織および腫瘍に集積する薬剤として PET 画像診断における臨床的有用性が報告されている。Cu-ATSM の腫瘍／非腫瘍集積比の高い患者では治療後の予後が悪いことが報告されており、Cu-ATSM の集積は腫瘍の悪性度や治療抵抗性に関係する何らかの情

報を伝えていると考えられる。腫瘍の悪性度や治療抵抗性を予測することができれば、治療方針の決定等に有効な情報となり、治療効果や QOL の向上をはかることができると期待されるが、Cu-ATSM の集積と腫瘍の生化学的・分子生物学的性質や腫瘍の悪性度・治療抵抗性との関係には不明な部分が多く残されている。

現在腫瘍の画像診断には F-18 標識 FDG