

2009(2018B)

厚生労働科学研究費補助金

医療機器開発推進研究事業

種々の $\gamma$ 線放出核を用いた早期疾患診断プローブ開発とコンプトンカメラによる

複数核種同時イメージングに関する研究

(H19-ナノ-一般-018)

平成19年度～21年度 総合研究報告書

研究代表者 榎本 秀一

平成22(2010)年5月

厚生労働科学研究費補助金

医療機器開発推進研究事業

種々の $\gamma$ 線放出核を用いた早期疾患診断プローブ開発とコンプトンカメラによる

複数核種同時イメージングに関する研究

(H19-ナノ-一般-018)

平成19年度～21年度 総合研究報告書

研究代表者 榎本 秀一

平成22(2010)年5月

## 目 次

### I. 総合研究報告

種々の $\gamma$ 線放出核を用いた早期疾患診断プローブ開発とコンプトンカメラによる複数核種同時イメージングに関する研究----- 1

榎本 秀一

II. 研究成果の刊行に関する一覧表----- 3 3

III. 研究成果の刊行物・別刷----- 4 3

### IV. NEDO成果報告書 (参考)

半導体コンプトンカメラによる複数分子同時イメージング機器の開発に係わる先導研究----- 3 7 4

種々の $\gamma$ 線放出核を用いた早期疾患診断プローブ開発とコンプトンカメラによる

## 複数核種同時イメージングに関する研究

研究代表者・榎本 秀一 独立行政法人理化学研究所・神戸研究所・分子イメージング科学研究センター・

複数分子イメージング研究チーム チームリーダー

研究要旨：分子イメージング研究の推進により、迅速な生体内における生物学的反応過程リアルタイム可視化が可能になってきた。核医学撮像モダリティは、標的に対して特異性を持つ分子プローブを RI 標識することによってイメージングがなされる。この場合、通常一度に撮像可能な RI 標識分子プローブは一種類だけである。生体内における反応過程は様々な複合的反応である。このため、単一分子プローブでは病態を特徴付けるに心許ない。我々は、がん、炎症および糖尿病早期診断に資する新規分子プローブ創薬研究を推進してきた。複数因子が複合的に関与している生命現象や疾患は多様であり、複数の分子プローブを同時に用いることで、より高度で正確な多元的診断や治療が可能であることは論を待たない。

本研究において我々は、複数分子同時イメージングを実現するため、ゲルマニウム半導体検出器コンプトンカメラを用いた複数分子同時ガンマ線イメージング装置を用いることを提案した。半導体検出器は優れたエネルギー分解能を有するので、それぞれのプローブごとに異なる RI で標識すれば、放出されるガンマ線エネルギーによって識別することが可能となる。また、コンプトンカメラには機械的なコリメータが不要で、高感度かつ、静止撮像でも 3 次元分布の情報が得られるという特徴を有する。

本研究の初年度である平成 19 度は、この複数分子同時イメージング装置 GREI のプロトタイプを用いて、正常および病態モデルマウスに複数の異なる放射性核種でラベルした化合物、イオン状態の核種、既存放射性医薬品を同時投与した複数分子同時リアルタイム代謝イメージングに世界で初めて成功した。また、糖尿病早期診断に資する新分子プローブの開発を行い、既存モダリティである PET との比較や臨床装置開発に向けての現有装置の改良点を洗い出し、装置改良と画像の高精度化を行った。また、JAXA が開発した Si 検出器と CdTe 検出器を組み合わせた半導体コンプトンカメラも使い、同様に小動物を用いた複数分子同時イメージングに成功した。この Si/CdTe コンプトンカメラは 80~662keV までのガンマ線の撮像に成功しており、低エネルギーガンマ線を放出する SPECT 核種も利用可能であることを明らかにした。平成 20 年度は、がんと炎症特異的集積分子プローブ、糖尿病早期診断に資する診断薬などを探索し、正常および病態モデルマウスに複数の異なる放射性核種でラベルした化合物を投与したリアルタイム代謝イメージングを推進した。また、新プローブの開発には、既存モダリティ PET との比較や臨床装置開発に向けての現有装置改良と画像の高精度化を行った。また、GREI に Si を付加することにより、80~200keV までのガンマ線の撮像をシミュレーションし、低エネルギーガンマ線を放出する SPECT 核種も利用可能であることを明らかにした。最終年度である平成 21 年度は、この装置を用いて、がんと炎症特異的診断薬、糖尿病早期診断薬などを探索し、糖尿病発症に関わる新規バイオマーカー探索において、GREI による肥満・糖尿病モデル動物の微量元素イメージングとバイオインフォマティクスを駆使した新規マーカー分子の探索を行った。まず、糖尿病において、血糖値の上昇に先行して膵 $\beta$ 細胞数が減少することに着目し、膵 $\beta$ 細胞数の減少を検出することで、糖尿病の早期診断を可能とする分子イメージングプローブを開発した。これは octreotide を母体化合物として、その N 末アミノ酸を置換した誘導体を設計・合成し、その体内動態を検討した。さらに、この類縁化合物をがん検出プローブとしても応用するため、 $^{111}\text{In}$ -DTPA-D-Phe<sup>1</sup>-octreotide の N 末アミノ酸への負電荷の導入により、腎集積を低減した精度の高い診断、治療を可能とする優れた核医学プローブの開発に成功した。一方、Si 検出器と CdTe 検出器を組み合わせた半導体コンプトンカメラを使い、同様に小動物を用いた複数分子同時イメージングも推進し、さらに GREI に Si 検出器を付加することを実現した。これにより、SPECT 核種と PET 核種の同時測定に成功した。また、Si/Ge およびアレイ型コンプトンカメラによる、撮像性能の向上について検討し、ドップラーブロードニングの影響の効率的な補正法を完成した。さらに 2 台の GREI で構築されたアレイ型コンプトンカメラによる撮像実験で、撮像視野を拡大した高精度の 3 次元断層撮像を実現した。これらの成果により、GREI 開発の基本的な開発の骨子を完成し、今後は臨床装置の開発へと具体的一歩を踏み出すこととなる大きな成果を世界に先駆けてあげることができた。

分担研究者	
片岡洋祐	(独) 理化学研究所分子イメージング科学研究センター・細胞機能イメージング研究チーム・チームリーダー
高橋忠幸	(独) 宇宙航空研究開発機構・宇宙科学研究所・教授
本村信治	(独) 理化学研究所・分子イメージング科学研究センター・複数分子イメージング研究チーム・研究員
金山洋介	(独) 理化学研究所・分子イメージング科学研究センター・複数分子イメージング研究チーム・研究員
羽場宏光	(独) 理化学研究所・仁科加速器研究センター・森田超重元素研究室・専任研究員
北村陽二	金沢大学学際科学実験センター・准教授
御船正樹	岡山大学大学院・准教授
三戸美生	(株) アクロラド・開発部長

## A. 研究目的

本研究は、複数分子同時イメージングに資する新核医学核種の合成とこれを用いた新しい分子イメージングプローブの創薬を行い、かつ、それらのプローブを用いた生体分子動態の低・非侵襲的(非破壊)な可視化を行うことを目的とする。

具体的には、ラットやマウスなどの実験小動物を用いた基礎医学的研究によって、がん、脳神経疾患、糖尿病などの早期診断、がんと炎症の識別化、移植や再生医療の臨床経過観察の指標となる新分子イメージングプローブ候補物質を創薬する。併せて、新たなモダリティとしてコンプトンカメラの臨床用装置の基礎医学的検証も行い、臨床装置へ向けての礎を構築する。また、複数分子同時イメージングに用いるイメージング装置は、開発済プロトタイプコンプトンカメラ(Ge, Si/CdTe, Si/Ge)を用い、臨床特化する改良のための技術開発をNEDOマッチングファンドにより推進する。

現在、分子イメージング研究に関する社会的期待が高まり、生体分子の体内動態の非侵襲的な可視化技術の実用的高度化のニーズがあり、本事業による複数分子同時イメージングの実現により、分子イメージング研究において、以下のようなブレークスルーを期待できる。

- 1) **高特異性標識**: 我々の開発中または開発済みのコンプトンカメラは、これまでPET、SPECTに用いられてきた核種すべてを含む、広域エネルギー(数十~2500keV)ガンマ線放出核を計測することができるため、核種選択の幅が広がり、特異性の高い標識プローブなどの創薬が可能で、合成の制約も小さくなる。
- 2) **低干渉・高透過性標識**: コンプトンカメラの信号源はガンマ線放出核であり、生理学的な干渉が少ない標識化合物や、高透過性、高吸収性の標識化合物を任意に選択することができる。

3) **長期反復計測**: コンプトンカメラは広域エネルギーガンマ線を計測できるため、計測対象となる過程の時定数に応じて選択できる。また、中長期間にわたる物質動態を同一個体で反復計測できる。

4) **複数分子同時計測**: コンプトンカメラは、エネルギー分解能の高いGe半導体、Si半導体およびCdTe半導体を組み合わせたSi/Ge、Si/CdTeを用いることにより、複数のガンマ線放出核種を同時に並行計測することができる。

5) **高感度・高解像度計測(低被ばく化の実現)**: コンプトンカメラは、コリメータを使用しないため感度が高く、検出器部分に半導体を使用し、その検出器内相互作用位置計測技術を用いるため解像度が高い。PET・SPECT核種を含む多様な放射性医薬品が使用可能でありながら、高感度である。また、既存モダリティより少ないRI量で多くの情報を得ることができるため、計測にともなう被ばくを低減できる。

6) **定量計測**: コンプトンカメラは、透過性が高く、吸収や散乱の影響の小さい中・高エネルギーガンマ線を計測でき、画像再構成に期待値最大化最尤推定法などの方法を用いるため、吸収や散乱の影響をさらに減弱し、SPECTよりも高度に定量的な計測ができる。

この事業の推進により、複数分子同時ガンマ線が計測可能となることから、これまでになかった装置(コンプトンカメラ)とプローブ(金属錯体、生体分子など)を用いた新規診断・治療法開発、すなわち、エレクトロニクス、情報技術、材料科学、ライフサイエンスの諸分野を融合した産業の展開が期待できる。

具体的な波及効果として、新規診断・治療法開発・創薬による、QOL向上・医療費削減などがもたらされる。厚生労働行政の観点から、本研究に期待される効果の具体例として、以下のものが挙げられる。

- 1) 治療法のモニタリング技術開発により、遺伝子治療、移植・再生医療、新機能性材料を用いた治療などの次世代医療が実現し、がん、糖尿病などの早期発見に資する診断法が確立できる。また、再生医療や移植医療の成功率の定量的評価などが簡便に行える環境ができ、国民のQOLが向上する。同時に、診断・治療法開発技術や標識生体分子、標識金属錯体化合物などを用いた新規創薬の効率化がはかられ、医療費が削減される。
- 2) 代謝過程の相互作用の解明による、バイオインフォマティクスの高度化により、診断・治療法開発や新規創薬の一部を、高度化されたバイオインフォマティクス技術によって可能となり、開発期間が短縮され、医療費が削減、実験廃棄物による環境汚染リスクなども軽減される。またテーラーメイドも含めた予防医学が進歩する。
- 3) 検出器、回路設計、画像再構成アルゴリズム設計

ノウハウの蓄積によるデータマイニング技術の高度化により、計算機支援設計技術が高度化され、医療機器などの開発費が削減される。

以上のようなさまざまな利点を有する複数分子同時イメージングを実現する新規モダリティの創出と新核医学プローブの創薬を推進することをこの事業の目的としている。

## B. 研究方法

本事業においては、我々の開発してきた基盤技術を集約して、複数分子同時イメージングが可能な新規モダリティの創出とそのため新規放射性医薬品の創薬を行うが、既存の基盤技術と本事業への具体的アプローチは以下のような構成になる。

- 1) 大型加速器(理研リングサイクロトロン、AVFサイクロトロン、RI ビームファクトリー)による有用全元素 RI 製造 ⇒ 新核医学核種の創出、効率的製法の確立(マルチレーザー法(特許)、シングルレーザー製造、自動化学分離法はすでに確立済、RI ビームファクトリーによる RI 製造法を開発(特許))
- 2) 有用新核医学核種のスクリーニング ⇒ 物理学的半減期や製造法(ジェネレーター供給の検討)、国内外の輸送も考慮した供給体制の検討
- 3) 有用新核医学核種による新プローブの創薬 ⇒ 既存核医学用製剤の錯体化合物の利用、既存医薬品(主として金属錯体化合物)の利用、生体分子の標識化、それらを用いた動物実験での実証(新モダリティ Ge(特許)、Si/CdTe(特許)および Si/Ge(特許)などのコンプトンカメラと既存 PET、SPECT、MRI、分光学的手法などとの比較検証を含む。
- 4) 動物実験検証による新モダリティ創出(NEDO)へのフィードバックと改良、臨床装置の開発への寄与 ⇒ Ge、Si/CdTe および Si/Ge の臨床装置(すべて新特許出願予定)への特化と基礎医学実験による検証

本事業の平成 19~21 年度研究計画とその方法を以下に示す。

### I. 新核医学核種の探索と新プローブの創薬

- 1) 核種製造技術の確立と多核種同時イメージングに資する新核医学核種の探索 H19-H20
- 2) ニーズに合わせた新プローブ(標識化合物)の探索と合成(糖尿病初期バイオマーカーの探索とプローブ化) H19 後半-H21
- 3) 2)の新プローブによる GREI を用いた多核種同時イメージング(糖尿病初期診断プローブによるイメージング) H19 後半-H21
- 4) 実用化のための基礎医学研究と他のモダリティ

との比較研究 H19-H21

- PET, MRI, CT などのモダリティとの比較 H20-21
  - 癌、脳神経疾患モデル動物の複数分子同時イメージング H19-H21
  - 糖尿病モデル動物の複数分子イメージング H19-H21
- 5) 実用化に向けての総括 H21

## II. 装置開発と検証

### テーマ 2 装置開発と検証

- 1) Ge コンプトンカメラ(現有)による実験動物の複数分子同時イメージングと改良検討 H19 終了
- 2) Ge コンプトンカメラの改良(NEDO) H19-H20
- 3) 改良 Ge コンプトンカメラによる動物実験と検証 H20-H21
- 4) Si/Ge コンプトンカメラのプロトタイプ完成(NEDO) H21
- 5) アレイ型 Ge コンプトンカメラの完成(NEDO) H21
- 6) Si/CdTe コンプトンカメラによる実験動物の複数分子同時イメージングと改良 H19-H21
- 7) Si/CdTe コンプトンカメラの改良(NEDO) H19-H20
- 8) 改良 Si/CdTe コンプトンカメラによる動物実験と検証 H20-H21
- 9) 臨床用 Si/CdTe コンプトンカメラのプロトタイプ完成(NEDO) H21
- 10) 実用化に向けての総括 H21

(倫理面への配慮)

本提案は、ラット、マウスなどの実験動物を主に使用する。また、一部ヒト由来試や細胞などを用いた研究や臨床研究も含まれる。研究の遂行に当たっては、(独)理化学研究所・臨床および動物実験実施に関する諸規定に従い、実験計画を申請し、承認後に実験を遂行している。

## C. 研究結果と考察

### I. 新核医学核種の探索と新プローブの創薬

#### 平成 19 年度

<新核医学核種の探索>

平成 19 年度は理化学研究所和光研究所 AVF サイクロトロンを用いて、3 核種の製造・精製に成功した。11mg の Ti 箔を照射して得られた  $^{48}\text{V}$  の精製後の放射能は 3.1MBq で、収率は 90%以上であった。3.31mg の  $^{70}\text{ZnO}$  粉末から得られた  $^{67}\text{Cu}$  の精製後放射能は 5.1MBq で、収率は 90%以上であった。尚、

Ga の除去率は 99.9%以上であった(同時生成される  $^{68}\text{Ga}$  を指標に計算)。130mg の Cu 箔から得られた  $^{65}\text{Zn}$  の放射能は 10.6MBq で収率は 90%であった。いずれも複数分子イメージングに適用するのに十分な放射能を製造することに成功し、高い純度で精製可能なことを実証した。これらの生成した核種は、複数分子同時イメージングの撮像に資するためマウスを用いた代謝実験に供した。

今回製造に成功した 3 核種はそれぞれ  $^{48}\text{V}$  : 半減期 16 日、 $^{67}\text{Cu}$  : 半減期 2.6 日、 $^{65}\text{Zn}$  : 244 日と  $^{68}\text{Ga}$  に比べ長い半減期を持つ。そのため、目的病変の結合部位による特異的集積とバックグラウンドとの良好なコントラストを得るのに長時間の代謝の追跡を必要とする抗体など大分子をプローブとした場合、 $^{68}\text{Ga}$  や  $^{18}\text{F}$  など比較的短い半減期の核種に比べて標識に適している。これら核種の DOTA 標識については  $^{65}\text{Zn}$  と  $^{64}\text{Cu}$  を用いて検討を既に開始している。一方、本研究で検討した陽子照射による核種製造法は医療用小型サイクロトロンによる製造への応用の可能性がある。特に  $^{65}\text{Zn}$  の製造に関しては特殊なターゲット材を必要とせず、 $^{64}\text{Cu}$  製造におけるノウハウの応用が容易である。実際の生成量などについては今後検討する必要があるが、小型サイクロトロンで製造可能ならば、PET を有する施設で製造可能という点で新規核医学核種として大いに期待できる。

#### <糖尿病の早期診断のプローブの開発>

膵β細胞のイメージングに資するプローブ開発のため、自動合成装置による  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-octreotide 合成法の確立を行った。まず、合成に関しては、実験時の被ばく軽減化と迅速合成・簡便化を図ることができた。一方、今回の合成過程で明らかになった問題点として、合成プロセスにおける不純物混入が大きなネックになり、実質2%程度の合成能しかないことが判明した。このことから、次年度の課題として、合成ラインの条件について再検討が必要であることが明らかになった。

今回合成した  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-octreotide を用いた膵β細胞を標的とした糖尿病モデルマウスの既存モダリティである microPET イメージングは、対照実験で使用した ICR マウスとともに、肝臓への集積が見られしれ、 $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-octreotide による膵β細胞のイメージングの特異集積は見られなかった。イメージングプローブとして用いるには、膵β細胞特異的もしくは選択的に移行、集積するプローブ開発が必須であり、次年度の検討課題として挙げられた。

一方、 $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-octreotide を用いた GREI を用いたイメージングでは、対照実験で使用した  $^{68}\text{GaCl}_3$  が主に肝臓に集積性を示したが、 $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-octreotide は肝臓およびその他非特異的組織への移行がみられ、膵β細胞特異的ではなかった。

以上の結果から、膵β細胞特異的に発現する受容体

タンパク質(サブファミリーが少ない等)や、膵β細胞に高集積性物質を探索する必要があることが明らかになった。現在、Real-Time PCR 法や種々の分子生物学的手法により、ソマトスタチン受容体に代わる生体物質を探索に着手した。新たなバイオマーカーの探索が、次年度以降の主な検討課題となった。

#### 平成 20 年度

##### <糖尿病の早期診断プローブの開発>

平成 19 年度で課題となった、 $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-ソマトスタチンの合成法の再検討を行ったことで、DOTA のソマトスタチンへの修飾は、固相担体中でのペプチド合成後に DOTA を反応させることで、非特異的なアミノ基への DOTA 修飾を防ぐことができた。これによりペプチドの活性を維持した DOTA-ソマトスタチンの合成が可能となった。また、 $^{68}\text{Ga}$  の標識反応系中の pH を厳密に制御し、pH 3.5 とすることで 40 MBq/nmol の高い比放射能を持つソマトスタチンプローブの合成ができた。これは従来の方法よりも約 2 倍以上の高い比放射能を持つ合成法の確立となった。(2) 合成した  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-ソマトスタチンを SD ラットに投与し、microPET イメージングを行ったところ、膀胱や腎臓に  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-ソマトスタチンが移行されるものの、膵臓を選択的に可視化することに成功した。これは、膵・細胞に比較的高発現しているソマトスタチン受容体に  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-ソマトスタチンが結合したことを反映したイメージング像であると判定できた。

以上の結果から、ペプチドを用いたプローブ開発には、この反応系において、まず固相担体中におけるペプチド合成後、側鎖アミノ基が保護されている段階で、DOTA 修飾反応をかけることにより、選択的に N 末端アミノ基に DOTA 修飾が行えた。この反応は、ペプチドの活性中心部位への DOTA 修飾が防げることから、活性を維持した DOTA-ペプチドの合成を可能とした。また、DOTA への  $^{68}\text{Ga}$  の錯形成反応での pH を厳密にすることで、40 MBq/nmol という高標識化を可能にした。この錯形成反応における pH 制御は、 $^{68}\text{Ga}$  のみならず、 $^{64}\text{Cu}$  など他の RI 金属元素にも応用ができると考えられた。

$^{68}\text{Ga}$ -DOTA-ソマトスタチンによる SD ラットの PET イメージングで、選択的な膵臓の可視化に成功した。ソマトスタチン受容体が膵β細胞に多く発現していることから、今回の PET による膵臓のイメージング像は、膵β細胞のイメージングを反映していると考えられた。この可視化の成功は、膵β細胞の増減を標的とした糖尿病発症のイメージングを可能にするものと示唆された。しかしながら、代謝により標識ペプチドが膀胱や腎臓に蓄積されるため、腎臓や膀胱に蓄積されにくいペプチドへと改良する必要性が課題となった。

肥満・糖尿病モデルにおける新規バイオマーカーの探索において、通常食と高脂肪食負荷マウスの脂

肪組織における遺伝子発現の解析を行ったところ、高脂肪食付加マウスでアディポサイトカインの一つとされる Rbp4 (Retinol-binding protein 4) と炎症反応に関わる TLR (Toll-like receptor) の 2 遺伝子を同定した。Rbp4 はインスリン抵抗性を惹起する生体物質として知られており、その受容体の存在も明らかにされている。一方、TLR は糖尿病時に誘導される腫瘍壊死因子(TNF $\alpha$ )や遊離脂肪酸の受容体として機能している。また、TLR は炎症にも関連する生体物質であることから、糖尿病診断以外にも炎症等のイメージングに利用できる標的因子であることが考えられた。Rbp4 の受容体や TLR は、糖尿病診断で複数分子同時イメージングを可能にする標的因子であることが示唆されたが、Rbp4 受容体の糖尿病発症との関連性や、TLR の他臓器における発現を検討することが課題として残された。

#### <腫瘍のイメージングプローブ開発と既存モダリティとの比較、新核種探索>

ELISA 法を用いた抗体価の評価により、DOTA : セツキシマブモル比=100 : 1 が抗体価を大きく減退させずに最大限の DOTA 結合数を確保できる比率であることが明らかとなった。この条件から得た DOTA-セツキシマブを用いて  $^{64}\text{Cu}$  標識、精製を行った結果、300MBq/nmol の比放射能で抗体分子プローブを得た。EGFR 高発現 A431 細胞株移植マウスから採取した腫瘍組織の蛍光組織免疫染色により、EGFR の高発現を確認した。また、Western blotting の結果からも EGFR の高発現が明らかであった。C6 細胞株群ではいずれもほとんど発現が見られなかった。PET 撮像の結果、 $^{64}\text{Cu}$ -DOTA-セツキシマブ投与後 24 時間、48 時間での撮像結果ではともに腫瘍部への非常に高い放射能集積を示した。Standardized Uptake Value (SUV) を用いた評価では、投与後 24 時間の時点において腫瘍部、肝臓、心臓、大腿筋に関心領域を設定した SUV の値はそれぞれ 6.2、2.9、2.8、0.2 であった。また、投与後 48 時間における同部位の SUV の値はそれぞれ 8.2、2.2、2.0、0.1 であった。同一個体を用いた PET および GREI 撮像の結果、同一部位への放射能集積を両方の再構成画像で観察することができた。

一方、新核種探索の研究では、金円板上に 25mg の  $^{64}\text{Ni}$  を電着メッキして照射することで、約 700MBq の  $^{64}\text{Cu}$  の製造が可能であった。 $\gamma$ 線スペクトロメトリーの結果から、化学分離終了後の時点で  $^{64}\text{Cu}$  以外の  $\gamma$ 線放出核種は検出できなかった。使用した  $^{64}\text{Ni}$  の再利用も可能であった。本手法により、高純度の  $^{64}\text{Cu}$  の製造が可能であった。

以上の結果は、現在の GREI に適した撮像条件として、長時間撮像が可能な長い生物学的半減期、より少ないカウント数で検出可能な局所集積性が挙げられる。このような特徴を有する分子として、分子

標的治療に用いられる抗体医薬の利用が有効と考えられる。抗体は分子量が大きく、血中滞留性も高いものが多いためである。さらに、がん治療に用いられる抗体医薬は、抗原-抗体反応により非常に高い特異的集積が見込まれる。本研究で用いたセツキシマブは大腸がんなどの治療に用いられる抗 EGFR 抗体である。分子標的治療において、薬剤の適応評価は現在組織検査による手法しか実用されておらず、このような抗体医薬のイメージングプローブ化によって非侵襲的な評価系が確立されることの意義は大きい。さらに複数の抗体分子を同様にイメージングプローブ化し、GREI を用いて複数分子同時腫瘍イメージングが実現できれば、非侵襲的に様々な標的分子の発現を同時に評価可能となり、投与薬剤の選択幅が広がり、適応診断、投薬の効果判定のための再検査なども可能になると考えられる。

本研究によって  $^{64}\text{Cu}$ -DOTA-セツキシマブが 48 時間まで腫瘍部位へ特異的・局所的に高集積することがイメージングで確かめられた。周囲組織との階調差も大きく、非常に優れた腫瘍イメージングプローブと考えられる。さらに、同一個体を用いて PET、GREI 双方で同様に腫瘍部への集積を画像化でき、正確なイメージングの比較を可能にしたことから、他の分子プローブ探索においても同様の手法で検討可能である。

一方、新核種探索の研究では、医療用小型サイクロトロンを用いた  $^{64}\text{Cu}$  製造に成功した。99.6% の高濃縮同位体  $^{64}\text{Ni}$  を用いることで高純度の  $^{64}\text{Cu}$  製造が可能となった。しかしながら電着メッキには非常に長い時間 (3-5 日) がかかるため、定常的運用のためには効率的な電着メッキ条件の検討が必要と考えられる。

#### 平成 21 年度

<糖尿病早期診断薬の開発とバイオインフォマティクスからのプローブ探索へのアプローチ>

これまでに、膵  $\beta$  細胞のイメージングを目指した  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-ソマトスタチンの創薬開発と PET イメージングを行い、膵  $\beta$  細胞イメージングの実証に成功した。しかし、複数分子同時イメージング法の確立のためには、さらなる分子マーカーの探索が必要である。

平成 21 年度は肥満・糖尿病状態で変化することが知られている生体内微量元素の変化に着目し、GREI イメージングとマルチトレーサー実験から膵臓でユニークに変化する微量元素を同定し、この微量元素の動態に関わる遺伝子を階層ベイズ法によるバイオインフォマティクスを利用して、公共データベースから候補因子の選択を行った。

具体的には、肥満・糖尿病モデルマウスを作製し、このマウスに理研・仁科加速器センターが保有する大型加速器で製造したマルチトレーサー溶液を尾静



脈投与し、投与後、各組織内 RI 分布を高純度 Ge 半導体検出器により測定した。肥満・糖尿病モデル動物に、 $^{65}\text{ZnCl}_2$ 、 $^{54}\text{MnCl}_2$ 、 $^{85}\text{SrCl}_2$  混合溶液を尾静脈から投与し、GREI イメージングを行った。また、公共データベース (NCBI: National Center for Biotechnology Information、EMBL: European Bioinformatics Institute) で公開している、肥満・糖尿病状の膵臓遺伝子発現プロファイルを用いて、階層ベイズ法による統計解析により、肥満・糖尿病状態で発現変動する金属輸送遺伝子に着目した *In silico* スクリーニングを行った。マルチトレーサー実験による生体微量元素の時間依存的な組織分布を検討した結果、膵β細胞においてインスリン分泌や合成、細胞機能に重要な Zn や Mn 等が、コントロールマウスで測定された時間依存的な代謝反応が、肥満・糖尿病モデルマウスの膵臓組織においては見られなかった。この結果は、疾患モデルにおいて、これら金属元素の吸収や排泄等の生体反応が低下していると考えられた。この代謝反応の低下は膵臓のみならず、インスリンが標的とする肝臓や脂肪組織においても見られた。一方、このマルチトレーサー実験結果から得られたユニークな金属元素の代謝として、Sr が肥満・糖尿病モデルマウスの膵臓組織において測定できた。マルチトレーサー実験から得られた結果をもとに、GREI を用いてγ線放出核種である  $^{65}\text{Zn}$ 、 $^{54}\text{Mn}$  および  $^{85}\text{Sr}$  の 3 核種を使った複数分子同時イメージングを行った。12 時間の撮像実験結果から 3 時間毎の 2D 再構成画像を作製し、コントロールマウスと肥満・糖尿病モデルマウスの代謝イメージングを比較したところ、肥満・糖尿病モデルマウスの膵臓周辺および心臓周辺においてのみ変化する Sr 代謝イメージングに成功した。また、Sr の代謝反応は撮像開始 6-9 時間で組織における吸収が最大となり、12 時間では排泄され、撮像開始後 3 時間のレベルと同等であるという、これまでに全く報告のない新規知見、および、先のマルチトレーサー実験を反映した結果を得た。

マルチトレーサー実験と GREI イメージング実験の結果から、Sr 輸送に関わる遺伝子が糖尿病状態における膵臓イメージングを可能にする新規候補因子でることが示唆された。

一方、Sr を輸送する遺伝子の探索として、階層ベイズモデル法を導入した統計解析手法を構築し、公共データベースを利用した *in silico* スクリーニングを行った。階層ベイズモデル法は、実験毎のデータ、もしくは DNA アレイに使われる同一遺伝子の異なる配列を認識する複数のプローブ間等のデータ、さらに、既存のプローブが単一疾患における遺伝子発現レベルの差異に着目していたことに対して、複数疾患における複数分子の発現様式をも探索することができる手法である。この統計解析手法を用いて、肥満・糖尿病モデルマウスの膵臓組織から Sr を輸送

すると考えられる金属輸送タンパク質を約 20 種類同定した。この候補遺伝子の中には Ca 輸送タンパク質ファミリーである TRPM および TRPV ファミリーに属する遺伝子や、ATPase 駆動型 2 価イオン輸送タンパク質等が含まれていた。複数分子同時イメージングによる膵β細胞イメージングの新規マーカー分子探索において、生体微量元素の代謝過程という観点から精査したところ、Sr 輸送タンパク質が新規マーカー遺伝子になることが判明した。

これまでに、糖尿病の膵臓組織をはじめインスリン標的末梢組織において、代謝異常により、Zn、Mn、Mg や Ca などの金属元素濃度が低下していることが知られている。逆に、肥満・糖尿病状態に変化するユニークな金属元素を同定できれば、それを調節する遺伝子を同定することで、疾患診断に有用な特徴的マーカー分子が発見できると考えられる。本研究は、上記着眼点のもと行い、肥満・糖尿病状態の膵臓組織および心臓において、Sr の代謝に関わる遺伝子が発現していることを示唆する結果を得た。この遺伝子の探索として、階層ベイズモデル法による統計解析から *in silico* スクリーニングを行い、約 20 種類の金属輸送タンパク質をコードする遺伝子を同定した。この中には Ca 輸送タンパク質である TRPM や TRPV ファミリーに属する遺伝子が含まれていた。ファミリー遺伝子はアミノ酸配列の相同性から分類されており、未だ機能未知な遺伝子も存在している。Sr は元素周期表上、Ca と同族であるため、今回の結果は Ca 輸送に関わる一群のタンパク質の中に、Sr 選択性を持つ遺伝子が存在している事を示していると考えられる。

今回、マーカー探索に用いた階層ベイズ法は、複数疾患における複数分子の発現様式をも探索することができる手法である。したがって、この手法はマーカー分子の探索のみならず、複数分子同時イメージングによって得られた、分布の異なるイメージング画像から、診断情報を抽出できる統計解析手法として発展できるものと考えられる。

本研究によって、Sr を輸送する遺伝子が、膵β細胞イメージングによる糖尿病の早期診断に資する新規マーカーとして利用できる可能性が示唆された。今後、この遺伝子を同定することにより、このタンパク質に結合する抗体・ペプチドや低分子化合物を創薬することで、これまでに分子プローブ化に成功しているソマトスタチンを利用した膵β細胞の複数分子同時イメージングによる糖尿病早期診断が実現できると期待される。

#### <糖尿病早期診断プローブの研究：ペプチド薬>

平成 20 年度まで開発を行ってきた  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-ソマトスタチンについて、より腎臓や膀胱に蓄積されにくいペプチドへと改良するため、認識部位のアミノ酸配列として、ソマトスタチン受容体に高親和性

を示す octreotide を採用し、さらに腎臓や膀胱に蓄積されにくいプローブへと改良した。我々の過去の研究では、DOTA-octreotide の N 末アミノ酸を、ベンゼン環を持つアミノ酸である Tyrosine 2 個に置換した化合物が、他の N 末アミノ酸置換型 DOTA-octreotide 誘導体と体内動態が異なり、特に、膵臓に比較的高い集積を示すことが明らかになっている。そこで、ベンゼン環を持つアミノ酸として、Tyrosine とは脂溶性の異なる D-Phenylalanine (D-Phe) に着目し、DOTA-octreotide の N 末に D-Phe を 2 個導入した化合物を設計し、その体内動態を検討し、糖尿病における膵  $\beta$  細胞数の減少を検出可能な早期糖尿病診断薬としての可能性を検討した。 $^{111}\text{In}$ -DOTA-octreotide 誘導体の体内放射能分布は、D-Phe 体、D-Phe-D-Phe 体は、いずれの場合も投与 3 時間後までには血中からほとんど消失し、速やかな血液からのクリアランスを観測した。腎放射能集積を D-Phe 体と D-Phe-D-Phe 体とで比較すると、投与 10 分では D-Phe 体よりも腎集積が有意に低かったが、投与 1 時間以降では有意差はなかった。一方、腎以外の臓器への集積を比較すると、D-Phe-D-Phe 体は、腸、胃、膵臓と肺に特異な集積が見られた。特に膵臓においては、投与初期から非常に高い放射能集積が認められた。一方、ノーマルマウスと STZ マウスにおいて、D-Phe-D-Phe 体の体内放射能分布を比較すると、膵臓への集積は、STZ マウスの方が増加している結果となった。

本研究から、D-Phe-D-Phe 体は膵臓に非常に高い集積性を示し、糖尿病における膵  $\beta$  細胞数の減少を検出可能な核医学プローブとなり得る可能性があると考え、1 型様糖尿病モデルマウスである、STZ マウスを用いて、D-Phe-D-Phe 体の体内放射能分布を検討した。投与後、膵臓への集積は、ノーマルマウスよりも STZ マウスの方がやや増加しており、糖尿病における膵  $\beta$  細胞数の減少を検出することは不可能と考えられる。D-Phe-D-Phe 体は膵  $\beta$  細胞数が減少していると考えられる STZ マウスにおいても非常に高い膵臓集積を示したことから、D-Phe-D-Phe 体の膵臓集積メカニズムは他の octreotide 誘導体とは異なっている可能性が考えられる。今後、D-Phe-D-Phe 体の膵臓集積メカニズムを解明することで、新たな集積メカニズムを持つ新規プローブ開発に繋がる有益な知見が得られることが期待される。

#### <がん診断分子イメージングプローブの開発研究 1：抗体薬>

抗上皮成長因子受容体 (Epidermal Growth Factor Receptor : EGFR) 抗体 (セツキシマブ)、抗 HER2 抗体 (トラスツズマブ)、抗血管内皮増殖因子 (Vascular Endothelial Growth Factor : VEGF) 抗体 (ペバシズマブ) の PET プローブ化を行った。

撮像対象として、BALB/c nu/nu マウスに EGFR 高

発現細胞株である A431 株 (右肩)、HER2 高発現細胞株 BT474 (左肩)、EGFR/HER2 強発現細胞株 SKOV3 (右大腿部)、EGFR/HER2 低発現細胞株 C6 (ネガティブコントロール、左大腿部) を同時移植した担がんモデルマウスを作成し使用した。腫瘍組織内における EGFR、HER2、VEGF 発現について、蛍光組織免疫染色法及び Western blotting 法により評価した。各標識抗体投与後、24 時間および 48 時間の時点で 30 分間の PET 撮像を行い、各がん部位への集積を検討した。撮像後、解剖して各臓器およびがん部位中の放射能を測定した。

PET イメージングの結果、 $^{64}\text{Cu}$ -DOTA-抗 EGFR 抗体の A431、SKOV3 ががん部位への高集積が見られたが、同時に BT474、C6 ががん部位への集積も認めた。また  $^{64}\text{Cu}$ -DOTA-抗 HER2 抗体は各がん組織へ同等の集積が見られたが、投与後 48 時間の時点では SKOV3 ががん部位に特に高い集積が見られた。 $^{64}\text{Cu}$ -DOTA-抗 VEGF 抗体に関しては、A431、C6 ががん部位に集積が見られた。解剖後の放射能測定では、各がん部位、肝臓、血液中に高い放射能があり、PET 結果と同様の集積が確認できた。

現在の GREI に適した撮像条件として、長時間撮像が可能な長い生物学的半減期、より少ないカウント数で検出可能な局所集積性が挙げられる。このような特徴を有する分子として、高い抗原特異性を持ち血中安定性の高い抗体の分子プローブ化が有効と考えられる。さらに、がん治療に用いられる抗体医薬は、医薬品として非常に高い特異性が求められるため、プローブ化後も高い特異的集積が見込まれる。本研究で用いたセツキシマブ、トラスツズマブ、ペバシズマブはいずれもがん治療に用いられる分子標的治療薬であり、これらの分子プローブ化は薬剤の適応診断、治療効果のモニタリングなどにおいて非侵襲的な評価系が確立されることにつながり、意義は大きい。さらに、EGFR、HER2 はがん細胞自体に高発現する分子であり、VEGF は細胞株では発現が見られないががん組織中では発現が見られる、がん微小環境を構成する分子である。この様ながん細胞とその微小環境に発現する複数の分子を同時に解析することで、様々ながんに対応したイメージングが可能になり、またがん悪性度などの評価が可能になると考えられる。

本研究では  $^{64}\text{Cu}$ -DOTA-抗 EGFR 抗体、 $^{64}\text{Cu}$ -DOTA-抗 HER2 抗体、 $^{64}\text{Cu}$ -DOTA-抗 VEGF 抗体が 48 時間まで腫瘍部位へ特異的・局所的に高集積することが確認できた。周囲組織との集積コントラストも大きく、有用な複数分子プローブとなり得る。

#### <がん診断分子イメージングプローブの開発研究 2：ペプチド薬>

Octreotide の N 末端アミノ基に DTPA や DOTA を結合させ、 $^{111}\text{In}$ 、 $^{68}\text{Ga}$ 、 $^{90}\text{Y}$ 、 $^{64}\text{Cu}$  で標識した化合物

は、ソマトスタチンレセプターを発現する腫瘍に対する画像診断薬やアイソトープ治療薬剤として、欧米でその有用性が認められている。しかし、これらの化合物は腫瘍以外に、正常な腎臓へも集積するため、腎臓周辺の腫瘍への適用が困難であり、また、アイソトープ治療においては、腎集積による腎放射線障害を生じることが問題となっている。

$^{111}\text{In-DTPA-D-Phe}^1\text{-octreotide}$  の N 末アミノ酸への負電荷の導入が、腎集積の低減に有効であることを提言してきたが、今回、腎集積を低減した精度の高い診断、治療を可能とする優れたがんイメージングプローブの開発を目的として、DOTA 結合 octreotide について、N 末アミノ酸への負電荷の導入が及ぼす腎臓や腫瘍集積性への影響を検討した。

$^{111}\text{In-DOTA-D-Phe}^1\text{-octreotide}$  (D-Phe 体)、 $^{111}\text{In-DOTA-Asp}^1\text{-octreotide}$  (Asp 体) 及び  $^{111}\text{In-DOTA-Asp-Asp}^1\text{-octreotide}$  (Asp-Asp 体) のいずれの場合も、腎臓において、他の臓器に比べて高い放射能集積が観測された。腎放射能集積を D-Phe 体と Asp 体、Asp-Asp 体とで比較すると、投与 1 時間後以降において、Asp 体及び Asp-Asp 体は D-Phe 体よりも腎放射能集積が低い傾向があった。さらに、その低減の程度は、より負電荷数の多い Asp-Asp 体のほうが、Asp 体よりも大きかった。その他の臓器においては、有意差が認められるポイントはあるものの、放射能の集積量は、腎臓と比べると全体的に非常に少なかった。

D-Phe 体、及び Asp-Asp 体の担癌マウスにおける体内放射能分布は、ノーマルマウスでの結果と同様、Asp-Asp 体は D-Phe 体よりも低い腎集積を示した。また、腫瘍への集積も確認できた。

また、D-Phe 体、及び Asp-Asp 体の担癌マウスにおける  $^{68}\text{Ga-PET}$  画像を撮像した。 $^{111}\text{In}$  標識体での体内分布実験の結果と同様に、Asp-Asp 体は D-Phe 体よりも明らかに低い腎集積を示した。D-Phe 体、及び Asp-Asp 体の担癌マウスにおける腎集積の定量解析の結果、Asp-Asp 体は D-Phe 体よりも腎集積が低減していることがわかった。

本研究から、キレート部分として DTPA や DOTA を持つ D-Phe-octreotide 誘導体は、 $^{111}\text{In}$  や  $^{90}\text{Y}$  のような 3 価の放射性金属と錯体を生成し、その錯体は、腫瘍診断薬や内用放射線腫瘍治療薬剤として、有用性が認められている。しかし、これらは腫瘍だけでなく、正常な腎臓にも非特異的に放射能が集積・滞留することが問題となっている。一方、これまでに、 $^{111}\text{In-DTPA-D-Phe}^1\text{-octreotide}$  の N 末アミノ酸へ負電荷を導入することで、腎臓への放射能集積が低減する可能性があることが報告されている。本研究ではこの点に着目し、より精度の高い核医学プローブを開発することを目的とし、DOTA 結合体について、N 末アミノ酸への負電荷の導入が、化合物の極性や電荷及び腎放射能集積に及ぼす影響について検討した。

腎臓への放射能集積量を比較すると、負電荷を導入した Asp 体及び Asp-Asp 体は、D-Phe 体よりも投与後、腎放射能集積が低い傾向がみられた。さらに、負電荷を 2 つ導入した Asp-Asp 体は、負電荷 1 つの Asp 体よりも腎放射能集積の低減が認められた。一方これまでに、DTPA 結合体では、負電荷を導入した  $^{111}\text{In-DTPA-octreotide}$  誘導体の腎放射能集積が減少することが報告されている。 $^{111}\text{In-DTPA-octreotide}$  誘導体は、近位尿細管によって再吸収されると考えられているが、その近位尿細管細胞の管腔側の細胞膜は、負に帯電している。従って、負電荷を導入した誘導体は、代謝物全体が負に帯電し、管腔側細胞膜の負電荷との静電的な斥力によって再吸収が阻害されたと考えられている。本研究で検討した DOTA 結合体においても、N 末アミノ酸への負電荷の導入により、分子全体の電気的性質が変化したため、その影響により腎放射能集積が低減する傾向があったものと考えられる。このことは、前述した Asp-Asp 体の腎クリアランスが増加していた結果とも合致している。

また、担癌マウスを用いた検討においても、ノーマルマウスでの結果と同様、Asp-Asp 体は D-Phe 体よりも低い腎集積を示した。また、腫瘍への集積も確認できた。さらに、担癌マウスにおける  $^{68}\text{Ga-PET}$  イメージングにおいても、 $^{111}\text{In}$  標識体での体内分布実験の結果と同様に、Asp-Asp 体は D-Phe 体よりも明らかに低い腎集積を示した。 $^{68}\text{Ga-PET}$  イメージングにおいても腎集積が低減していた結果は、DOTA-octreotide 誘導体の N 末アミノ酸への負電荷の導入により、腎放射能集積による妨害の少ない、明瞭な画像が得られる可能性を示している。以上、本研究では、D-Phe 体、Asp 体及び Asp-Asp 体のマウス体内放射能動態を比較検討し、 $^{111}\text{In-DOTA-octreotide}$  誘導体においても、DTPA 結合体と同様に N 末アミノ酸への負電荷の導入により、腎放射能集積が低減する可能性があることを見出した。

#### <新規核医学核種の探索と RI 製造>

画像診断装置の開発においては、プローブとなる新規医薬品の開発と同時に、新核医学核種探索とその標識方法の確立が必要である。現在、理化学研究所分子イメージング科学研究センターでは抗体、核酸、ペプチドなど様々な生体分子を PET イメージングプローブとする手法として、これら分子にキレート分子 1,4,7,10-tetraazacyclododecane-N,N',N'',N'''-tetraacetic acid (DOTA) を結合した後、ポジトロン放出金属核種により標識する手法が採られている。昨年度までに標識に用いる核種として  $^{68}\text{Ge}$ - $^{68}\text{Ga}$  ジェネレータにより容易に入手可能な  $^{68}\text{Ga}$ 、小型サイクロトロンで製造可能な  $^{64}\text{Cu}$  の製造法を確立し、プローブ化に成功してきた。半導体

コンプトンカメラ GREI による複数分子同時イメージング実現のためには、これらを他のガンマ線放出核種で標識することが必要となる。そこで、本研究ではこれまでに理化学研究所で製造法が確立できた<sup>65</sup>Zn と、市販されている<sup>54</sup>Mn、<sup>59</sup>Fe を用いたプローブ標識法の検討を行った。また、これらの他に GREI イメージングに適用可能でサイクロトロン製造の可能な核種の探索を行った。

<sup>65</sup>Zn 及び市販の<sup>54</sup>Mn、<sup>59</sup>Fe を用いた標識法の検討を行った。pH2、3.5、5、6.5 と溶媒温度 40℃、95℃の条件下でそれぞれ DOTA-オクトレオチドとの反応を行い、標識率を評価した。また、サイクロトロンで製造可能かつ GREI 撮像に利用可能なガンマ線エネルギー、半減期を有する放射性核種について *in silico* スクリーニングによる探索を行った。

<sup>65</sup>Zn は<sup>64</sup>Cu の抗体標識に用いる pH6.5、40℃の条件下ではほとんど標識されず、温度を 95℃に上げるといずれの pH でも 90%以上の高標識率を得ることができた。市販の<sup>54</sup>Mn はいずれの条件でもほとんど標識されず、pH が高い条件下では 40℃、95℃に加熱することで不純物と思われる茶褐色の析出、沈殿が見られた。<sup>59</sup>Fe も<sup>54</sup>Mn 同様にいずれの条件でも低い標識率であり、pH3.5 以上では茶褐色の析出、沈殿が見られた。高い比放射能にも関わらず含有する他の金属元素不純物によってほとんど標識できないことがわかった。

GREI イメージングに利用可能な新規核医学核種については、製造の実現可能性、γ線エネルギーなどから検討した結果、以下のものが候補として挙げられた。大型加速器と濃縮同位体を利用した核種製造が必要となるが、臨床で使用可能な程度の短・中半減期を有する核種として<sup>52</sup>Mn (半減期 5.6 日、<sup>52</sup>Cr(p,n)<sup>52</sup>Mn 核反応などで製造可能)、<sup>63</sup>Zn (半減期 38.1 分、<sup>63</sup>Cu(p,n)<sup>63</sup>Zn)、<sup>76</sup>Br (半減期 16 時間、<sup>76</sup>Se(p,n)<sup>76</sup>Br など)、<sup>94</sup>Tc (4.9 時間、<sup>94</sup>Mo(p,n)<sup>94</sup>Tc)、<sup>124</sup>I (半減期 4.15 日、<sup>124</sup>Te(p,n)<sup>124</sup>I)、また、臨床検査に用いるには半減期が長いものの小動物実験など基礎研究に利用可能な核種として<sup>48</sup>V (半減期 15.97 日、<sup>48</sup>Ti(p,n)<sup>48</sup>V で製造可能)、<sup>51</sup>Cr (半減期 27.7 日、<sup>51</sup>V(p,n)<sup>51</sup>Cr)、<sup>54</sup>Mn (半減期 312.2 日、<sup>54</sup>Cr(p,n)<sup>54</sup>Mn)、<sup>56</sup>Co (半減期 77.26 日、<sup>56</sup>Fe(p,n)<sup>56</sup>Co)、<sup>85</sup>Sr (半減期 64.9 日、<sup>85</sup>Rb(p,n)<sup>85</sup>Sr)、<sup>88</sup>Y (半減期 106.6 日、<sup>88</sup>Sr(p,n)<sup>88</sup>Y) が利用可能であると考えられた。

本研究により、放射性 Zn 同位体のペプチド標識条件が確定できた。しかしながら加熱により構造が変化してしまう抗体など高分子に関してはこの反応条件を用いることはできないため、より温和な条件下で反応可能なキレート剤の探索が必須と考えられる。また、市販<sup>54</sup>Mn は高比放射能であるにも関わらず、標識ができず、また茶褐色の沈殿が見られたことから、多量の金属不純物が含まれていることが示唆された。そこで更に、イオン交換カラムによる精

製を試みたが、Mn と他の金属の分配比に大きな差をつける条件がなく、十分な精製率を得ることは困難であった。したがって、<sup>54</sup>Mn の標識利用には大型加速器を用いて高純度の<sup>54</sup>Mn を製造使用する必要があると思われる。また、<sup>59</sup>Fe に関しては、市販品の比放射能が低く低標識率であったが、中性子照射以外による製造が必要で高比放射能を得ることが困難であり、抗体分子の標識には適さないと考えられる。また、今回挙げた GREI イメージングに適用可能な放射性核種の内、<sup>52</sup>Mn、<sup>63</sup>Zn、<sup>76</sup>Br、<sup>124</sup>I は陽電子を放出の割合が数十%以上あり、PET 診断核種としての併用も考えられる(<sup>76</sup>Br、<sup>124</sup>I は既に製造法や PET イメージングについて多数の報告がある)。上記には既に市販されている核種や製造技術を確認した核種も含まれるが、GREI での複数分子同時イメージングを実現するためには、高純度・高比放射能な放射性核種製造法の確立と、<sup>64</sup>Cu と同程度の温和な反応条件で標識可能な核種ごとに適したキレート化合物が必要と言える。

## II. 装置開発と検証

### 平成 19 年度

<Ge コンプトンカメラ (GREI) による実験動物の複数分子同時イメージングと改良点洗い出し、GREI の改良>

既存の GREI を用いて、正常マウスにおける複数核種同時イメージング実験を行った。8 週齢・雄の ICR マウスに、次の 3 種類のトレーサーを連続投与した：(1) アドステロール®-I131 注射液 (富士フィルム RIFA ファーマ)、(2) <sup>85</sup>SrCl<sub>2</sub> (パーキンエルマー)、(3) <sup>65</sup>ZnCl<sub>2</sub> (理研で製造)。このマウスを体温維持器付き撮像台上に拘束し、ネンプター麻酔下で 12 時間の撮像を行った。また、GREI による正常マウスおよび病態モデルマウスを用いて、PET 用プローブ剤を含む種々のトレーサーを用いた撮像実験を行った。実際に撮像実験で使用したトレーサーは、<sup>18</sup>F-FDG、<sup>68</sup>Ga-DOTA-octreotide、<sup>68</sup>GaCl<sub>2</sub>、<sup>65</sup>ZnCl<sub>2</sub>、<sup>59</sup>FeCl<sub>2</sub>、<sup>54</sup>MnCl<sub>2</sub> などである。

正常マウスにおける複数核種同時イメージング実験の結果、投与したそれぞれのトレーサーに含まれる核種に固有の γ線を、取得したエネルギースペクトル上で明確に識別することに成功した。この γ線のエネルギー情報を利用して、それぞれのトレーサーを識別して画像生成のデータ処理を行うことが可能であった。アドステロールは副腎シンチグラムに用いられる放射性医薬品であり、肝臓及び副腎付近の腹部への集積を示す画像が得られた。また、この実験では甲状腺のブロッキング剤を使用しなかったため、遊離した<sup>131</sup>I が甲状腺に集積したと考えられる分布画像も得られた。Sr は向骨元素であるが、<sup>85</sup>Sr の画像生成の結果、背骨及び大腿骨に沿った集積を

示す画像が得られた。Znは腫瘍および肝臓に集積するが、 $^{65}\text{Zn}$ の画像生成の結果、肝臓への集積を示す画像が得られた。

一方、特に $^{18}\text{F}$ 、 $^{68}\text{Ga}$ などのPET用核種の撮像実験については、GREIの撮像で、PET用核種などの500keV程度以下の $\gamma$ 線を撮像すると、画像中に $\gamma$ 線の後方散乱事象の影響によるアーチファクトが顕著に現れることが明らかになった。また、短半減期のPET核種等は放射能強度を上げてデータの有効利用が出来ないことが明らかになり、既存のGREI試作機によるPET核種等の撮像における問題点が明らかになった。

一方NEDOのプロジェクトにおいては、両面直交ストリップ電極式Ge半導体検出器における検出信号処理法の高度化による、 $\gamma$ 線相互作用位置の高精度測定法の開発が進められ、信号処理回路の初期試作機で実証実験を行った結果、既に1mm程度の分解能が得られていることを示す結果が得られた。また、 $\gamma$ 線のトラッキング法の実装も進められ、実測データに適用した結果、現段階でも約3倍程度の感度の向上が実現可能であることが判明した。低エネルギー $\gamma$ 線撮像法については、現有のGeコンプトンカメラの前面に位置感応型Si検出器を追加することによる撮像可能 $\gamma$ 線エネルギー範囲の拡大が図られ、モンテカルロシミュレーションによる検討の結果、期待通りの性能が得られ、PET・SPECT核種を含む広いエネルギー範囲の $\gamma$ 線放出核種を同時に撮像可能な装置が実現できることが確認された。

GREIで複数核種同時 $\gamma$ 線イメージングが可能であることは既に示されていたが、今回撮像に成功したアドステロールはイオンとして投与した核種の生体内における挙動ではなく、副腎皮質の機能と代謝を反映した画像が得られる。さらに生体内で異なる集積性を示すトレーサーと明確に識別された画像を得ることに成功したことから、ここに世界で初めて半導体コンプトンカメラによる複数分子同時イメージングの概念が実証されたと言う事が出来る。

また、長期間継続的な撮像実験に際し、現有Geコンプトンカメラの信号処理回路増幅率の安定性に問題があることが明らかになった。当該問題の解決には、放射線計測分野で汎用されるスペクトロスコピーアンプを導入することで解決可能なことを明らかにした。また、PET用核種などの撮像における画像中のアーチファクトの除去法については、 $\gamma$ 線の後方散乱事象の影響が顕著に現れることが明らかになった。この後方散乱事象が関係していることが示唆されたため、 $\gamma$ 線エネルギースペクトルの情報を用いて後方散乱事象を除去する方法を考案し適用した結果、問題となったアーチファクトを除去した画像を生成することに成功した。さらに、PET核種などの短半減期の核種を撮像する場合、撮像開始時に放射能強度の強いトレーサーを投与する必要があるが、現有GREI試作機は取得データの転送装置の部

分に問題があり、計測時間の多くがデッドタイムになってしまうことが明らかになった。この解決のため、データ処理装置や転送装置を改善したシステムの導入を図り、問題解決に着手することとした。

共同事業であるNEDOのプロジェクトにおいては、GREIの要素技術の高度化が着実に進んでおり、より実用的な撮像実験が可能になれば今後さらに半導体コンプトンカメラによる複数分子同時イメージング法の臨床応用開発が加速されることが期待される。

<Si/CdTeコンプトンカメラ(現有)による実験動物の複数分子同時イメージングと改良点洗い出し、Si/CdTeコンプトンカメラの改良>

Si/CdTeコンプトンカメラシステムの小動物代謝研究を行うため、理化学研究所のRI実験施設に装置を搬入した。これを用いて、正常マウスを用いた複数核種同時イメージング実験を行った。8週齢・雄のICRマウス1匹に次の3種類のトレーサーを投与した：(1)アドステロール<sup>®</sup>-I131注射液(富士フィルムRIファーマ)、(2) $^{85}\text{SrCl}_2$ (パーキンエルマー)、(3)クリアボーン<sup>®</sup>注(日本メジフィジックス)。このマウスを体温調節器付き撮像台上に拘束し、イソフルレン麻酔下で12時間の撮像を行った。

正常マウスを用いた複数核種同時イメージング実験の結果、投与したそれぞれのトレーサーに含まれる核種に固有の $\gamma$ 線を、取得したエネルギースペクトル上で明確に識別することに成功した。この $\gamma$ 線のエネルギー情報を利用して、それぞれのトレーサーを識別して画像生成のデータ処理を行うことが可能であった。アドステロールは副腎シンチグラムに用いられる放射性医薬品であり、肝臓及び副腎付近の腹部への集積を示す画像が得られた。また、この実験では甲状腺のブロック剤を使用しなかったため、遊離した $^{131}\text{I}$ が甲状腺に集積したと考えられる分布画像も得られた。Srは骨親和性の高い元素としてよく知られており、 $^{85}\text{Sr}$ の画像生成の結果、背骨及び大腿骨に沿った集積を示す画像が得られた。クリアボーンは骨シンチグラム用の放射性医薬品であり、 $^{85}\text{Sr}$ と同様の分布が期待された。しかしながら、クリアボーンに含有される $^{99\text{m}}\text{Tc}$ の $\gamma$ 線のデータは今回の実験では多少計数が不十分であったため、再度の撮像実験を行い、検討する必要があることが分かった。

正常マウスを用いた複数核種同時イメージング実験で得られた $\gamma$ 線のエネルギースペクトルにおいて、1匹のマウスに同時に投与されたそれぞれの核種に固有の $\gamma$ 線を明確に識別することが出来た。これは、今回新たに構築したSi/CdTeコンプトンカメラシステムが複数分子同時イメージングに必要な性能を有していることを示している。さらに、同時に投与されたアドステロールと $^{85}\text{Sr}$ の同時画像化に成功して

おり、Si/CdTeコンプトンカメラによる複数分子同時イメージングが可能であることを実証した。

また、この撮像実験で臨床応用開発のためのいくつかの問題点が明らかになった。まず、後段に配置されたCdTe検出器での計数率が顕著に高いため、投与量をさらに増加した短時間の撮像に支障を来たすことが分かった。また、現在のシステムでは前面のSi検出器におけるエネルギーの閾値を十分に下げることが出来ず、<sup>99m</sup>Tcなどの低エネルギーの $\gamma$ 線のコンプトン散乱事象の検出効率が著しく低下することが明らかになった。これらの問題点は、多層検出器の実装技術を含めた検出器の配置の最適化やトリガーロジック等の改良で解決できると考えられ、今後の課題である。

## 平成 20 年度

<Ge コンプトンカメラ (GREI) による実験動物の複数分子同時イメージングと改良点洗い出し、GREIの改良>

Geコンプトンカメラのプロトタイプを用いた撮像実験で、複数分子同時イメージングの実証に成功していたが、これまでの典型的な撮像実験の条件では、5 mm 程度の空間解像度の画像を得るために、約10時間程度の撮像時間を要していた。この条件を改善し、より実用的な撮像実験を行うためには、Geコンプトンカメラに実装される要素技術をさらに高度化することが必要であり、NEDO事業による研究開発の必要性が確認された。また、昨年度に問題として抽出されていた信号処理回路の増幅率安定性の問題や、 $\gamma$ 線の後方散乱事象の影響については、高信頼性のスペクトロスコープアンプや後方散乱事象を除去する計算アルゴリズムがプロトタイプのシステムに実装され、それらの問題は解決した。

共同事業であるNEDOのプロジェクトにおいては、本事業による結果が考慮され、半導体コンプトンカメラの実用化に向けた技術開発がさらに進められ、空間解像度と感度を向上させるための技術開発に成功した。これら2つの性能を極限まで両立させるためにはデジタル信号波形解析が必須の技術であることが見いだされ、NEDO事業において重点的に検討を進めた。

<sup>64</sup>Cu標識抗体プローブの撮像実験に関しては、PETおよびGeコンプトンカメラで撮像した2次元画像を比較した結果、どちらの画像においても移植した腫瘍細胞への特異的な集積性が認められ、<sup>64</sup>Cuおよび抗体プローブの、半導体コンプトンカメラによる複数分子同時イメージングに対する有用性が示された。しかしながら、Geコンプトンカメラの2次元画像では、肝臓周辺への集積濃度が高く表示され、定量性に関する問題点が示された。

一方、キャンベラジャパン株式会社において、2つの結晶間隔を狭くした(25 mm) Ge検出器を製作し

た。現有のプロトタイプ・コンプトンカメラGREI (結晶間隔 45 mm) と比較して結晶間距離を狭くした事による性能劣化が懸念された。しかしながら、デジタルベースの信号処理技術を用いる事により、従来のアナログベースの信号処理方法と比較して、ガンマ線相互作用位置をより正確に導出する事が可能となることが確認できた。そのため、コンプトンカメラとしての性能劣化はほとんど生じないと考えられる。

本研究課題で行われた小動物等の試料や様々な放射性核種を用いた撮像実験の結果から抽出された問題点は速やかに分析され、NEDO事業に反映されて半導体コンプトンカメラの高度化開発のために利用されて成果を上げている。この事例は、本研究事業の特色を活用した好例であると考えられる。

NEDO事業による半導体コンプトンカメラの実用化に向けた技術開発においては、Geコンプトンカメラの空間解像度と感度を向上させるための技術開発に成功し、これらの技術を実装することで、新規標識核種の探索や複数分子同時イメージング研究がさらに活性化することが期待される。

<sup>64</sup>Cu標識抗体プローブの撮像実験の結果に関しては、2次元画像における定量性の問題点が示された。この原因は、この2次元画像の再構成では、仮定した2次元平面内以外の位置における集積濃度の点応答関数の影響が反映されていないためであり、3次元断層画像再構成の必要性が確認された。また、この3次元断層画像撮像を高精度・高効率に行うため、アレイ型半導体コンプトンカメラ開発の必要性が見いだされ、これに関してもNEDO事業で重点的に開発を行うこととなった。

また、今回製作した検出器は可能な限り2つのGe結晶間の距離を狭くした。そのため、コンプトン散乱運動学円錐の軸定義誤差が大きくなり撮像精度の面で現有コンプトンカメラと比較して不利になると予想された。しかしながら、デジタル信号処理技術を用いることにより、ガンマ線相互作用位置を精度良く導出することが可能となる事がわかった。そのため、軸定義誤差を最小限に抑えることが可能となり、現有GREIと同等のカメラ性能が得られると考えられる。今後、この検出器をコンプトンカメラとして用いたファントム実験、小動物実験等を実施し、撮像精度を確認する必要がある。

<Si/CdTe コンプトンカメラ (現有) による実験動物の複数分子同時イメージングと改良点洗い出し、Si/CdTe コンプトンカメラの改良>

Si半導体検出器に関する詳細な検討でその特性が解明されたことで、さらに高度化された信号処理系や撮像システムの設計が可能になった。これにより、さらに高性能でコンパクトなSi/CdTeコンプトンカメラの構築が可能になると期待される。

また、Si半導体検出器のデータ読み出し系が高速化されたことにより、より高い放射能強度の線源を短時間で撮像可能になることが期待される。NEDO事業により宇宙γ線観測で培われた技術をさらに導入することで、可搬型で高性能なSi/CdTeコンプトンカメラが構築され、近接撮像による高精度の画像診断が可能になると期待される。

一方、アクロラドによる検討では、シリコン素子と組み合わせて実装されるCdTe半導体検出器の設計および製作を行った。前年度、理化学研究所で実施した小動物を用いた撮像実験による結果から、検出器のストリップ電極の密度を、より高い物にする必要があることが判明した。そこで、株式会社アクロラドにおいて、より高密度なストリップ電極を有するCdTe半導体検出器を製作した。さらに、製作したCdTe半導体検出器は、コンプトンカメラシステムとして使用するにあたって、十分なエネルギー分解性能を有していることを確認された。

本研究の撮像実験の研究結果は、Si/CdTeコンプトンカメラが、理化学研究所のGeコンプトンカメラと同等のイメージング性能を有することを示しており、可搬型の複数分子同時イメージング装置の実現が期待される。

Si半導体検出器に関する詳細な検討でその特性が解明されたことで、さらに高度化された信号処理系や撮像システムの設計が可能になった。これにより、さらに高性能でコンパクトなSi/CdTeコンプトンカメラの構築が可能になると期待される。また、CdTe半導体検出器のストリップ電極を高密度にしても、検出器のエネルギー分解性能が劣化しないことを確認したが、これは、前年度開発した、半導体の中に発生するキャリアのモビリティ・寿命積を求める手法が、高密度ストリップ電極にも適用可能であることを示している。

## 平成 21 年度

<Ge コンプトンカメラ (GREI) による実験動物の複数分子同時イメージングと改良点洗い出し、GREIの改良>

複数分子同時イメージングを実現する装置として、半導体コンプトンカメラ「GREI」の開発を行っているが、コンプトンカメラは機械的なコリメータを用いないガンマ線撮像装置であり、特に現在のGREIは撮像センサーとしてエネルギー分解能が高い高純度ゲルマニウム(Ge)半導体検出器を用いているため、約200 keV~2 MeVの広いエネルギー範囲のガンマ線を精確に識別した同時撮像が可能である。そこで、それぞれの分子プローブ毎に異なるエネルギーのガンマ線を放出するRIを標識することで、複数分子同時イメージングが可能になる。しかし、撮像するガンマ線のエネルギーが約200 keV以下になると、Ge検出器内で光電吸収が起こる確率が高くなり、効率的

なコンプトンイメージングを行う事は現実的ではなくなる。また、1台のコンプトンカメラでは3次元断層撮像が可能で視野が狭く、特にカメラの軸方向の空間分解能特性の低下は避けられない。本年度は、共同事業であるNEDOの機器開発先導研究プロジェクトで開発中のSi/Geおよびアレイ型コンプトンカメラによる、複数分子同時イメージング装置としての撮像性能の向上について検討した。

Si/Geコンプトンカメラ用のSi半導体検出器としては、NEDO事業においてJAXAが常温で動作可能なSiストリップ検出器やSiパッド検出器の開発を進めてきた。これらの検出器はGe半導体検出器のような大掛かりな冷却システムが不要であり、可搬型のコンプトンカメラシステムの構築に適していると言える。本年度はこれらの検出器に加えて、リチウムドリフト型Si検出器[Si(Li)検出器]の利用について検討した。Si(Li)検出器は単結晶でも1 cm以上もの厚みを持った放射線検出器が実現可能であり、高効率撮像素子として利用可能である。また、撮像視野を拡大し、より高精度な3次元断層画像の取得を可能にするため、我々が使用している2台のGeコンプトンカメラを撮像対象の周囲に配置したアレイ型コンプトンカメラを構築した。このアレイ型コンプトンカメラシステムを用いて、2つの<sup>54</sup>Mnの球状ガンマ線源を撮像視野中心に配置し、撮像実験を行った。

Si(Li)検出器をSi/Geコンプトンカメラの撮像素子として利用可能にするためには、Geコンプトンカメラの場合と同様に、平板型のSi(Li)検出器の表裏両面の電極を互いに直交する方向のストリップ状に分割した、両面直交ストリップ電極式Si(Li)検出器とすることが考えられる。我々は、有感領域が24 mm×24 mm、厚さ3.5 mmで、表裏それぞれの電極が8本のストリップ状に分割された両面直交ストリップ電極式Si(Li)検出器を理研で準備した。この検出器を用いて、<sup>241</sup>Amから放出されるガンマ線およびX線を計測したところ、1 keV以下の優れたエネルギー分解能が得られた。

また、理研で構築したアレイ型コンプトンカメラシステムを用いて、撮像視野中心に配置した2つの<sup>54</sup>Mnの球状ガンマ線源を撮像した結果、1台のコンプトンカメラのみで撮像した画像中では分離できていなかった2つの球状のガンマ線源が、アレイ型コンプトンカメラで撮像した画像中では明確に分離した3次元画像として描出された。

Si(Li)検出器は、単結晶でも厚い放射線検出器が実現可能であり、高効率撮像素子のコンパクトな実装が可能であるため、Si/Geコンプトンカメラ用のSi検出器として適していると考えられる。また、理研で準備した両面直交ストリップ電極式Si(Li)検出器は、1 keV以下という優れたエネルギー分解能が実現可能であり、1つのコンプトン散乱事象に対しては散乱角推定精度の理論限界であるドップラーブロー

ドニングの影響を効率的に補正することが可能になると考えられ、コンプトンカメラを用いた低エネルギーガンマ線イメージングのブレークスルーとなる事が期待される。SPECT検査においては、様々な臓器や組織、疾患に応じた多様な放射性医薬品が用いられているが、それらの多くは200 keV以下のガンマ線を放出するRIで標識されている。つまり、そのような低エネルギーのガンマ線をGREIで効率的に撮像することが可能になれば、既に臨床実用されているPETおよびSPECT用の放射性医薬品と、GREIで新たに撮像可能となる放射性薬剤とを同条件で比較した画像解析が可能となり、より信頼性の高い診断情報の取得も可能になると考えられる。

また、2台の Ge コンプトンカメラで構築されたアレイ型コンプトンカメラによる撮像実験で、本手法の有効性が実証された。コンプトンカメラの場合、必ずしも対称な位置にカメラを配置する必要は無く、撮像対象に応じた最適化が可能である。使用するコンプトンカメラの台数をより多くすれば、さらに撮像視野を拡大した高精度の3次元断層撮像が可能になると考えられる。

#### <Si/CdTe コンプトンカメラ (現有) による実験動物の複数分子同時イメージングと改良点洗い出し、Si/CdTe コンプトンカメラの改良>

これまでにセンサーとして Si 及び CdTe 半導体検出器を組み合わせた Si/CdTe コンプトンカメラの開発を行っており、既に宇宙 $\gamma$ 線観測用のプロトタイプを用い、80 keV から 600 keV の $\gamma$ 線に対する Si/CdTe コンプトンカメラによる $\gamma$ 線イメージングを世界に先駆けて実証することに成功している。このプロトタイプで使用された Si 及び CdTe 検出器も、微細電極形成、バンプ接合、信号処理用 VLSI 技術などについて分担研究者らが研究開発を重ねてきたものであり、その性能は世界最高レベルを達成している。これらの宇宙科学研究で培われた技術を応用することにより、Si/CdTe コンプトンカメラを臨床用複数分子同時イメージング装置として適用可能であることが期待される。本研究では、主に共同事業である NEDO のプロジェクトで臨床応用開発に向けて構築された Si/CdTe コンプトンカメラシステムを用いた小動物等の撮像実験の結果を踏まえ、臨床用撮像装置としての性能や問題点を明らかにし、実用化のための技術開発に有用な情報を得ることを目的とした。

Si/CdTe コンプトンカメラのプロトタイプを用いた小動物等の撮像実験のデータを詳しく解析し、臨床用撮像装置としての性能や問題点を検討した。単純逆投影画像のデコンボリューション法等を用いて画像を生成した。これらの結果を、理化学研究所の Ge コンプトンカメラで撮像されたデータと比較した。

また、低エネルギー $\gamma$ 線の撮像に対して有用な Si

半導体検出器の特性に関して詳しく検討した。この特性を明らかにするため、検出器の内部での応答について、半導体内部での $\gamma$ 線の相互作用や、生成される電子やホール拡散過程を考慮した計算機シミュレーションを行った。

実験データを通じて高精度化したモンテカルロシミュレーターを用いて、小動物撮像用 Si/CdTe コンプトンカメラのデザインの検討を進めた。ASTRO-H 衛星 (2014年打ち上げ予定) に搭載する Soft Gamma-ray Detector (SGD) をベースデザインとして、検出器構成や配置の最適化を行った。

正常マウスを用いた複数核種同時イメージング実験で得られたデータを用いて画像再構成を行った結果、特に $^{131}\text{I}$ -Adosterol の画像は、理化学研究所の Ge コンプトンカメラで撮像された画像と同様の分布を示す結果が得られた。また、 $\gamma$ 線源を用いた撮像実験の結果、幅 3 mm の空隙を描出可能であることが明らかになった。

Si 半導体検出器の特性に関する詳細な検討の結果、半導体内部での $\gamma$ 線の相互作用や、生成される電子やホール拡散過程を考慮した計算機シミュレーションを行うことで、Si 検出器で得られる $\gamma$ 線のエネルギースペクトルを精度良く再現できることが明らかになった。これにより、Si 検出器の応答である検出信号の形成過程が解明され、より高度なシステムを開発するための有用な情報が得られた。

小動物撮像用 Si/CdTe コンプトンカメラデザインの検討では、計 4 台のコンプトンカメラをリング状に配置したデザインでの装置性能を調べた。正六面体の頂点に点線源を仮定して、空間分解能を調べたところ、3.56 mm 離れた MBq レベルの点線源を 30 分の計測時間でクリアに分解できる空間分解能が実現できることがわかった。さらに、マウスを模擬したファントム中で、周辺の正常組織への薬剤の取り込みも考慮したシミュレーションを行った。悪性腫瘍を模擬した直径 10 mm、周辺組織よりも 5 倍の取り込みをもつ領域を 30 分の計測で検出可能であることが分かった。

本研究の撮像実験の研究結果は、Si/CdTe コンプトンカメラが、理化学研究所の Ge コンプトンカメラと同等のイメージング性能を有することを示しており、可搬型の複数分子同時イメージング装置の実現が期待される。

Si 半導体検出器に関する詳細な検討でその特性が解明されたことで、さらに高度化された信号処理系や撮像システム的设计が可能になった。これにより、さらに高性能でコンパクトな Si/CdTe コンプトンカメラの構築が可能になると期待される。

モンテカルロシミュレーションの結果より、SGD 検出器を小動物撮像用に最適化したコンプトンカメラを用いることで、mm レベルの空間分解能を持つ、新しい 3D ガンマ線イメージャーが実現可能であ



ることが分かった。これまでのハードウェアテクノロジーを基礎としつつ、実用機にむけた取り組みを進めてゆく。

#### D. 結論

### I. 新核医学核種の探索と新プローブの創薬

＜核種製造技術の確立と多核種同時イメージングに資する新核医学核種の探索＞

本研究により、イメージングに利用できるRI製造のうち、 $^{48}\text{V}$ 、 $^{67}\text{Cu}$ および $^{65}\text{Zn}$ に成功したことから、新規プローブ医薬品への供給ができることとなった。また、医療用小型サイクロトロンによる製造の可能性を検討した結果、高い放射性核種純度で、分子プローブの探索・開発へ適用するのに十分な放射能を製造・精製することに成功し、定常的に製造可能な環境を構築することができた。製造した $^{64}\text{Cu}$ は、複数分子同時イメージング実現を目的としたプローブ標識、PET撮像、GREI撮像に供することが可能である。製造に成功した $^{64}\text{Cu}$ はDOTAと容易に、より温和な条件下で錯形成可能である。このため、 $^{68}\text{Ga}$ を用いた分子プローブ探索において追跡できなかった長時間（50時間程度）の時間経過における体内動態を追跡することができ、二つを組み合わせることでプローブ探索が効率的に推進可能である。さらに、DOTAによる生体物質への合成およびRI標識は、全自動合成により、実験時の被ばく軽減化と迅速合成・簡便化を図ることが可能である。

本研究によりペプチドなど熱に耐性のある小分子に関しては複数核種での標識（ $^{64}\text{Cu}$ と $^{65}\text{Zn}$ または $^{68}\text{Ga}$ と $^{65}\text{Zn}$ など）が可能となった。しかし、熱により活性が失われる抗体など大分子に関してはそれぞれの核種に適した温和な反応条件による標識方法の探索が必要である。今回挙げた候補核種についても、標識可能な反応条件が確立された後に、高純度・高比放射能な製造法の確立を行うべきである。今回のDOTA修飾、およびRI金属元素の錯形成の高標識化反応の検討は、ペプチドのみならず、抗体やその他生体分子を使った幅広いイメージングプローブの標識化に大きな道を開いたものと考えられる。

＜糖尿病早期診断薬の開発とプローブ探索＞

糖尿病早期診断を目指したペプチドプローブ開発において、これまでに得られた知見を基に、ベンゼン環含有アミノ酸を2つ導入した化合物であるD-Phe-D-Phe体を設計・合成した。対照化合物としてD-Phe体を用いて、D-Phe-D-Phe体の物性やマウス体内放射能動態を比較検討した結果、D-Phe-D-Phe体は、特徴的な体内動態を示し、投与初期での膵臓の集積は、極めて高いことがわかった。そこで、1型様糖尿病モデルマウスである、STZマウスを用いて、D-Phe-D-Phe体の膵臓集積の変化を検討したが、膵臓集積の減少は認められなかった。以上の結果より、D-Phe-D-Phe体を早期糖尿病診断として用いら

れる可能性は低いものの、その膵臓集積のメカニズムを解明することで、新たなプローブ開発に繋がる有益な知見が得られることが期待される。

一方、糖尿病早期診断薬のプローブ探索においては、遺伝子発現解析とバイオインフォマティクスからのアプローチを行った。この探索において、遺伝子発現の解析からは、Rbp4の受容体やTLRが、複数分子同時イメージングを可能にする新規バイオマーカーであることが示され、バイオインフォマティクスからは、Srを輸送する遺伝子が、膵β細胞イメージングによる糖尿病の早期診断に資する新規マーカーとして利用できる可能性を示した。これらのタンパク質に結合する抗体・ペプチドや低分子化合物を創薬することで、本研究で分子プローブ化に成功したソマトスタチン、octreotideを利用した膵β細胞の複数分子同時イメージングによる糖尿病早期診断が実現するものと期待できる。

＜がん分子イメージングプローブの創薬の開発＞

本研究によって $^{64}\text{Cu}$ -DOTA-抗EGFR抗体、 $^{64}\text{Cu}$ -DOTA-抗HER2抗体、 $^{64}\text{Cu}$ -DOTA-抗VEGF抗体ががん複数分子イメージングに有用であることが示唆された。今後これらを他の $\gamma$ 線放出金属核種（ $^{54}\text{Mn}$ 、 $^{65}\text{Zn}$ など）で標識することにより、GREI撮像を可能にするとともに、がん複数分子イメージング法の検討が実現できると思われる。がん複数分子同時イメージングに適用可能な3分子についてプローブ化に成功した。

がん分子のペプチド創薬の開発において、腎臓での放射能集積・滞留を軽減した内用放射線腫瘍治療薬を開発する上での基礎的指針を得ることを目的とし、DOTA結合octreotide誘導体について、N末アミノ酸への負電荷の導入が、化合物の極性や電荷及び腎放射能集積に与える影響を検討した。本研究では、対照化合物として $^{111}\text{In}$ -DOTA-D-Phe<sup>1</sup>-octreotide（D-Phe体）を合成し、N末アミノ酸に負電荷を導入した $^{111}\text{In}$ -DOTA-Asp<sup>1</sup>-octreotide（Asp体）、 $^{111}\text{In}$ -DOTA-Asp-Asp<sup>1</sup>-octreotide（Asp-Asp体）を合成し、それらの物性やマウス体内放射能動態を比較検討した。その結果、DOTA結合octreotide誘導体においても、DTPA結合体と同様にN末アミノ酸への負電荷の導入により腎放射能集積が低減する可能性があることを見出した。この結果は、D-Phe-octreotide誘導体においては、キレート部位の構造に関わらず、負電荷の導入が腎放射能集積の低減に有効であることを示唆している。さらに、担癌マウスを用いた検討において、腫瘍集積性も保持している可能性があることを明らかにした。本研究成果は、正常な腎臓への集積を低減した、高精度な核医学プローブの開発に有用な知見を与えるものと考えられる。

さらに、がんのイメージングプローブ開発において、既存モダリティとの比較を行った研究から、 $^{64}\text{Cu}$ -DOTA-セツキシマブがGREIのイメージング

に適した分子プローブであることが明らかとなった。今後 DOTA-セツキシマブを他の  $\gamma$  線放出金属核種 ( $^{54}\text{Mn}$ ,  $^{65}\text{Zn}$  など) で標識することにより、さらに長時間の GREI 撮像を可能にするとともに、他の分子プローブとの同時イメージングが実現できると思われる。複数分子同時イメージング法の有効性を証明するためのプローブ探索法が確立できた。

## II. 装置開発と検証

<Ge コンプトンカメラ (GREI) による実験動物の複数分子同時イメージングと改良点洗い出し、GREI の改良>

GREI を用いて小動物等の撮像実験を行い、世界に先駆けて半導体コンプトンカメラによる複数分子同時イメージングの概念を実証した。本研究課題で行われた小動物等の試料や様々な放射性核種を用いた撮像実験の結果を分析し、実用的な撮像実験の妨げとなっている問題点を抽出し、さらに高度化が必要な研究開発要素を明らかにすることによって、複数分子同時イメージングの実現に向けた研究開発のための有用な情報が得られた。また、共同事業である NEDO のプロジェクトにおいては、本事業による結果が考慮され、半導体コンプトンカメラの実用化に向けた技術開発がさらに進められた。

PET 用プローブ剤を含む種々のトレーサーを用いた撮像実験を通して、信号処理回路増幅率の安定性、 $\gamma$  線の後方散乱事象の影響、データ処理装置や転送装置の性能などの、臨床応用開発の際の問題点が明らかになり、それらの解決法が検討された。これらの問題については、高信頼性の回路モジュールの使用やデータ転送法・計算アルゴリズムの工夫により解決した。

また、さらに撮像時間を短縮させ、画像の空間解像度を向上させる必要性が示され、これらの解決法が共同事業である NEDO のプロジェクトにおいて開発された。それに加え、Ge コンプトンカメラの空間解像度と感度を向上させるための技術開発にも成功し、これらの技術を実装することで、新規標識核種の探索や複数分子同時イメージング研究がさらに活性化することが期待された。

さらに、Si/Ge およびアレイ型コンプトンカメラによる、複数分子同時イメージング装置としての撮像性能の向上について検討を行った。約 200 keV 以下のエネルギーのガンマ線を効率的にコンプトンイメージングするために考案された Si/Ge コンプトンカメラ用の Si 検出器として、JAXA が開発中の Si ストリップ検出器や Si パッド検出器に加えて、両面直交ストリップ電極式 Si(Li) 検出器の利用可能性が検討された。Si(Li) 検出器は、単結晶でも厚い放射線検出器が実現可能であり、高効率撮像素子のコンパクトな実装が可能であるため、Si/Ge コンプトンカメラ用の Si 検出器として適していると考えられ、

ドップラーブロードニングの影響の効率的な補正の可能性が示された。また、撮像視野を拡大し、より高精度な 3 次元断層画像の取得の可能性を検討するため、2 台の Ge コンプトンカメラを撮像対象の周囲に配置したアレイ型コンプトンカメラを構築し、2 つの  $^{54}\text{Mn}$  の球状ガンマ線源を撮像視野中心に配置して撮像実験を行った。この撮像実験で、本手法の有効性が実証され、使用するコンプトンカメラの台数をより多くすれば、さらに撮像視野を拡大した高精度の 3 次元断層撮像が可能になると期待された。これらの技術が実装されれば、既存の SPECT および PET 用の放射性医薬品も含めた、様々な放射性薬剤の同時撮像も可能になり、先進的かつ汎用性の高い臨床用画像診断装置の実現が期待される。

<Si/CdTe コンプトンカメラによる実験動物の複数分子同時イメージングと改良点洗い出し、Si/CdTe コンプトンカメラの改良>

半導体コンプトンカメラによる複数分子同時イメージングの臨床応用開発に向けて新たに構築した Si/CdTe コンプトンカメラシステムを用いて小動物等の撮像実験を行い、臨床用撮像装置としての問題点の抽出および開発のための検討を行った。正常マウスを用いた複数核種同時イメージング実験で得られた  $\gamma$  線のエネルギースペクトルにおいて、1 匹のマウスに同時に投与されたそれぞれの核種に固有の  $\gamma$  線を明確に識別することに成功し、複数分子同時イメージングに必要な性能を有していることが示された。同時に投与されたアドステロールと  $^{85}\text{Sr}$  の同時画像化に成功し、Si/CdTe コンプトンカメラによる複数分子同時イメージングが可能であることが実証された。この撮像実験を通して臨床応用開発のための問題点が明らかになり、それらは検出器の配置の最適化やトリガーロジックの改良等で解決できると考えられた。

さらに宇宙  $\gamma$  線観測技術を活用し、NEDO 事業で構築された Si/CdTe コンプトンカメラシステムを用いた小動物等の撮像実験の結果を踏まえた検討の結果、臨床用装置としての撮像性能が明らかになった。また、Si 半導体検出器に関する詳細な検討でその特性が解明されたことで、さらに高度化された信号処理系や撮像システムの設計が可能になった。さらに、NEDO 事業による宇宙  $\gamma$  線観測技術の導入が進むことで、可搬型で高性能な Si/CdTe コンプトンカメラが構築され、近接撮像による高精度の画像診断が可能になると期待される。一方、アクロラドによる検討では、世界でもトップクラスの高密度両面ストリップ電極を有する CdTe 半導体検出器の開発に成功した。これにより可搬型の、高精度、大面積のガンマ線イメージング装置が製作可能となった。

E. 健康危険情報

臨床研究および動物研究において、本研究に用いた医薬品、化学物質等に起因すると考えられる副作用、健康危険情報はなかった。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

- (1) 本村信治, 榎本秀一, 半導体コンプトンカメラによる複数分子同時イメージング法の開発, 電気学会技術報告, 印刷中
- (2) Tajima, S., Yamamoto, S., Tanaka, M., Kataoka Y., Iwase, M., Yoshikawa, E., Okada, H., Onoe, H., Tsukada, H., Kuratsune, H., Ouchi, Y., and Watanabe, Y. Medial orbitofrontal cortex is associated with fatigue sensation. *Neurol. Res. Int.* in press.
- (3) H. Haba, D. Kaji, Y. Kasamatsu, H. Kikunaga, Y. Komori, Y. Kudou, K. Morimoto, K. Morita, K. Ooe, K. Ozeki, N. Sato, A. Shinohara, A. Toyoshima, A. Yokoyama, A. Yoneda, and T. Yoshimura, "Superheavy Element Nuclear Chemistry at RIKEN" AIP Conf. Proc. (in press).
- (4) Akazawa, K., Cui, Y., Tanaka, M., Kataoka, Y., Yoneda, Y., and Watanabe, Y. Mapping of regional brain activation in response to fatigue-load and recovery in rats with c-Fos immunohistochemistry. *Neurosci. Res.* 66: 372-379 (2010)
- (5) Yamano, M., Fukuda, S., Joudoi, T., Mizuno, K., Tanaka, M., Kataoka, Y., Kawatani, J., Takano, M., Tomoda, A., Imai-Matsumura, K., Miike, T., Matsuda, F., and Watanabe, Y. Temperament and character as predictors of fatigue-induced symptoms among school children in Japan: a 1-year follow-up study. *Compr. Psychiatry* 51: 256-65 (2010)
- (6) Fujishiro H, Okugaki S, Yasumitsu S, Enomoto S, Himeno S, "Involvement of DNA hypermethylation in down-regulation of the zinc transporter ZIP8 in cadmium-resistant metallothionein-null cells", *Toxicology and Applied Pharmacology*, 241(2), 195-201 (2009).
- (7) Yatagai F, Takahashi A, Honma M, Suzuki H, Omori K, Seki M, Hashizume T, Shimazu T, Enomoto S, Ohnishi T, Ishioka N, "LOH analyses for biological effects of space radiation: Human cell culture in "Kibo" of International Space Station" *Biological Sciences in Space*, 23(1), 11-16 (2009).
- (8) Yatagai F, Sugawara K, Enomoto S, Honma M, "An approach to estimate radioadaptation from DSB repair efficiency", *Journal of Radiation Research*, 50(5), 407-413 (2009).
- (9) 本村信治, 榎本秀一, "複数分子同時イメージングの医療応用実現に向けて: 医療用コンプトンカメラの開発最前線" *メディカルバイオ* Vol.6 47-52 (2009).
- (10) Motomura.S, Fukuchi.T, Kanayama.Y, Haba.H, Watanabe.Y, Enomoto.S, "Three-dimensional tomographic imaging by semiconductor Compton camera GREI for multiple molecular simultaneous imaging" 2009 IEEE Nuclear Science Symposium Conference Record, Orlando, USA, 2009 10, IEEE, USA Piscataway, 3330-3332 (2009).
- (11) Yamato, M., Kataoka Y., Mizuma, H., Wada, Y., and Watanabe, Y. Positron emission tomography and macro- and micro-autoradiographic studies combined with immunohistochemistry on rat intestinal ulceration and healing processes. *J. Nucl. Med.* 50, 1-8 (2009).
- (12) Cui, Y., Takashima, T., Takashima-Hirano, M., Wada, Y., Shukuri, M., Tamura, Y., Doi, H., Onoe, H., Kataoka Y., and Watanabe, Y. [<sup>11</sup>C]PK11195 PET for the in vivo evaluation of neuroinflammation in the rat brain after cortical spreading depression. *J. Nucl. Med.* 50: 1904-1911 (2009).
- (13) Nozaki, S., Mizuma, H., Tanaka, M., Jin, G., Tahara, T., Mizuno, K., Yamato, M., Okuyama, K., Eguchi, A., Akimoto, K., Kitayoshi, T., Mochizuki-Oda, Noriko., Kataoka, Y., and Watanabe, Y. Thiamine tetrahydrofurfuryl disulfide improves energy metabolism and physical performance during physical-fatigue loading in rats. *Nutr. Res.* 29: 867-872 (2009).
- (14) Jin, G., Tanaka, M., Mizuma, H., Nozaki, S., Tahara, T., Mizuno, K., Yamato, M., Kataoka Y., and Watanabe, Y.: "Changes in plasma and tissue amino acid levels in an animal model of complex fatigue", *Nutrition* 25 (5), 597-607 (2009). [Epub 2009 Feb 11].
- (15) 片岡洋祐 神経組織における低反応レベルレーザーの作用機序 ペインクリニック 30, No. 1, 53-58 (2009).
- (16) 片岡洋祐 中枢性疲労の動物モデルと睡眠誘導メカニズム 医学のあゆみ 228, No. 6, 605-609 (2009).
- (17) 片岡洋祐 疲労モデル動物を用いた食薬成分の効能評価 医学のあゆみ 228, No. 6, 728-732 (2009).
- (18) 片岡洋祐, 大和正典, 金光華, 渡辺恭良 各種疲労モデル動物を用いた疲労の分子・神経メカニズム研究の概要 日本疲労学会誌 4, No. 2, 17-20 (2009).
- (19) 片岡洋祐 脳科学研究における光技術と光プローブ 電気学会研究会資料 (光・量子デバイス研究会) 33-36 (2009).
- (20) 片岡洋祐 神経への低反応レベルレーザー作用

の基礎科学 日本レーザー治療学会誌 8, No. 2: 36-40 (2009).

- (21) 片岡洋祐、宇都宮一泰、金原紀章、福島一夫、森巍、柴淳、宇都宮幸子、長谷部靖子、西田邦彦、濱本研、古川哲、奥田拓道、水野敬、馬場吉武、野澤歩、片岡喜由、角田隆巳 テアニン高含有緑茶抹茶摂取による高齢者の認知症予防効果 日本未病システム学会誌 Vol. 15, No. 1, 17-23 (2009).
- (22) S. Watanabe, S. Ishikawa, H. Aono, S. Takeda, H. Odaka, M. Kokubun, T. Takahashi, K. Nakazawa, H. Tajima, M. Onishi, Y. Kuroda: "High energy resolution hard X-ray and gamma-ray imagers using CdTe diode devices", IEEE Transactions on Nuclear Science, Vol.56(3), 777-782(2009).
- (23) S. Takeda, H. Aono, S. Okuyama, S. Ishikawa, H. Odaka, S. Watanabe, M. Kokubun, T. Takahashi, K. Nakazawa, H. Tajima, N. Kawachi: " Experimental results of the gamma-ray imaging capability with a Si/CdTe semiconductor Compton camera", IEEE Transactions on Nuclear Science, Vol.56(3), 783-790(2009).
- (24) Inamura T, Haba H, "Search for a "3.5-eV isomer" in  $^{229}\text{Th}$  in a hollow-cathode electric discharge" Physical Review C, 79(3), 034313-1-034313-10 (2009) .
- (25) Haba H, Akiyama K, Tsukada K, Asai M, Toyoshima A, Yaita T, Hirata M, Sueki K, Nagame Y, "Chloride Complexation of Zr and Hf in HCl Investigated by Extended X-ray Absorption Fine Structure Spectroscopy: Toward Characterization of Chloride Complexation of Element 104, Rutherfordium (Rf)" Bulletin of the Chemical Society of Japan, 82(6), 698-703 (2009) .
- (26) Kasamatu Y, Toyoshima A, Haba H, Toume H, Tsukada K, Akiyama K, Yoshimura T, Nagame Y, "Adsorption of Nb, Ta and Pa on anion-exchanger in HF and HF/HNO<sub>3</sub> solutions: Model experiments for the chemical study of Db" Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry, 279(2), 371-376 (2009).
- (27) Tsukada K, Haba H, Asai M, Toyoshima A, Akiyama K, Kasamatu Y, Nishinaka I, Ichikawa S, Yasuda K, Miyamoto Y, Hashimoto K, Nagame Y, Goto S, Kudo H, Sato W, Shinohara A, Oura Y, Sueki K, Kikunaga H, Kinoshita N, Yokoyama A, Schaedel M, Bruechle W, Kratz J, "Adsorption of Db and its homologues Nb and Ta, and the pseudo-homologue Pa on anion-exchange resin in HF solution" Radiochimica Acta, 97(2), 83-89 (2009).
- (28) Haba H, Kaji D, Komori Y, Kudou Y, Morimoto K, Morita K, Ooe K, Ohzeki K, Sato N, Shinohara A, Yoneda A, "RIKEN Gas-filled Recoil Ion Separator (GARIS) as a promising interface for superheavy element chemistry : Production of element 104,  $^{261}\text{Rf}$ , using the GARIS/gas-jet system" ChemistryLetters,38(5), 426-427 (2009).
- (29) Akiyama K, Haba H, Sueki K, Tsukada K, Asai M, Toyoshima A, Nagame Y, Katada M, " $^{225}\text{Ac}$  metallofullerene: toward  $^{225}\text{Ac}$  nanogenerator in fullerene", Chemistry Letters, 38(10), 978-979 (2009).
- (30) Akiyama K, Haba H, Tsukada K, Asai M, Toyoshima A, Sueki K, Nagame Y, Katada M, "A metallofullerene that encapsulates  $^{225}\text{Ac}$ " Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry, 280(2), 329-331 (2009) .
- (31) Toyoshima A, Kasamatu Y, Tsukada K, Asai M, Kitatsuji Y, Ishii Y, Toume H, Nishinaka I, Haba H, Ooe K, Sato W, Shinohara A, Akiyama K, Nagame Y, "Oxidation of element 102, nobelium, with flow electrolytic column chromatography on an atom-at-a-time scale" Journal of the American Chemical Society,131(26), 9180-9181 (2009) .
- (32) Kasamatsu Y, Toyoshima A, Asai M, Tsukada K, Li Z, Ishii Y, Sato T, Nishinaka I, Kikuchi T, Haba H, Kudou Y, Sato N, Oura Y, Akiyama K, Ooe K, Fujisawa H, Shinohara A, Goto S, Kudo H, Araki M, Nishikawa M, Yokoyama A, Nagame Y, "Anion-exchange experiment of Db with 0.31 M HF/0.10 M HNO<sub>3</sub> solution" JAEA-Review, 2009-036, 67-68 (2009) .
- (33) Kasamatsu Y, Toyoshima A, Asai M, Tsukada K, Li Z, Ishii Y, Toume H, Sato T, Kikuchi T, Nishinaka I, Nagame Y, Haba H, Kikunaga H, Kudou Y, Oura Y, Akiyama K, Sato W, Ooe K, Fujisawa H, Shinohara A, Goto S, Hasegawa Taichi, Kudo H, Nanri T, Araki M, Kinoshita N, Yokoyama A, Fan F, Qin Z, Duellman C, Schaedel M, Kratz J, "Anionic Fluoro Complex of Element 105, Db" Chemistry Letters, 38(11), 1084-1085 (2009) .
- (34) Kikunaga H, Kasamatsu Y, Haba H, Mitsugashira T, Hara M, Takamiya K, Ohtuki T, Yokoyama A, Nakanishi T, Shinohara A, "Half-life estimation of the first excited state of  $^{229}\text{Th}$  by using  $\alpha$ -particle spectrometry" Physical Review C, 80(3), 034315-1-034315-4 (2009).
- (35) Kaji D, Morimoto K, Sato N, Ichikawa T, Ideguchi E, Ozeki K, Haba H, Koura H, Kudou Y, Ozawa A, Sumita T, Yamaguchi T, Yoneda A, Yoshida A, Morita K, "Production and decay properties of  $^{263}\text{Hs}$ " Journal of the Physical Society of Japan, 78(3), 035003/1-035003/2 (2009).
- (36) Morita K, Morimoto K, Kaji D, Haba H, Ozeki K,