

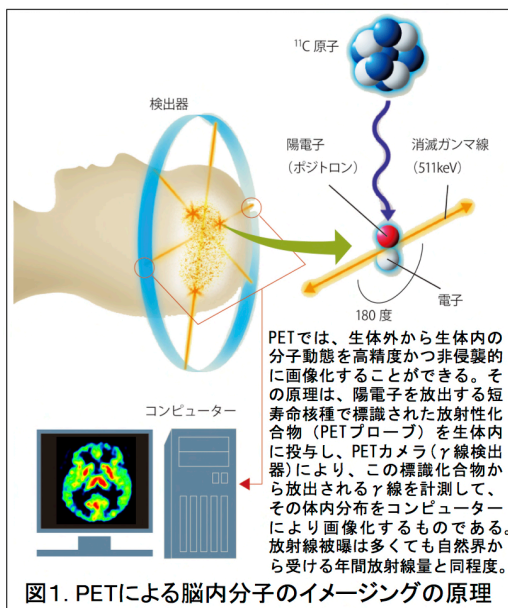
「膵臓やがん組織の選択的イメージングに向けたジペプチド PET プローブの開発」

理化学研究所 ライフサイエンス技術基盤研究センター 土居 久志

1 研究の背景と目的

本研究では、薬物輸送タンパク質の中でも栄養生理学的に重要なペプチドトランスポーターに着目した新規ジペプチド化合物を設計し独自の高速 C-[¹¹C]メチル化法を用いて、その ¹¹C-標識 PET プローブの開発を行うことを企画した。とくに、ペプチドホルモン産生に関わる膵臓や、アミノ酸代謝が亢進しているがん細胞では、ペプチドトランスポーターが高発現していることが知られている。一方で、PET イメージング分野においては、がんのイメージングは最重要課題の一つであり、また、膵臓は通常の X 線撮影では写りにくい臓器であるため、効果的なイメージング手法（画像診断法）の開発が望まれている。本研究では、このような問題点に着目し、膵臓およびがん組織を選択的にイメージングできるジペプチド PET プローブの開発を目指すこととした。

図 1 に PET の原理を簡単にまとめた。PET では ¹¹C、¹³N、¹⁵O、¹⁸F などの陽電子放出核種を用いる（半減期は順に、約 20 分、10 分、2 分、110 分）。これらの主要核種は生体構成元素の同位体であるので、薬剤や生命機能の探索分子（プローブ）に標識する事ができれば、PET 法により生体の in vivo 分子情報が取得できる（PET 分子イメージング）。近年では、動物 PET 研究のみならず、



マイクロドーズ臨床試験（厚生労働省 2008 年 6 月 3 日公示:薬食審査発第 0603001 号）に基づいたヒト PET 臨床研究の実施例が増えてきている。このような背景の下、私達は、PET 化学分野において最も汎用性の高い [¹¹C]ヨウ化メチル標識原料の使用を前提条件として、これまでに芳香環をはじめとした生物活性有機化合物の炭素基本骨格上に [¹¹C]メチル基を高速（わずか数分）で導入できる高速 C-[¹¹C]メチル化反応の開発など、理想的かつ高効率の PET プローブ合成法の開発を行ってきた¹⁾。本研究では、独自の高速 C-[¹¹C]メチル化法を用いて、新規ジペプチド化合物の設計とその ¹¹C-標識 PET プローブの開発を行ってきたので、以下に報告する。

2 研究方法・研究内容

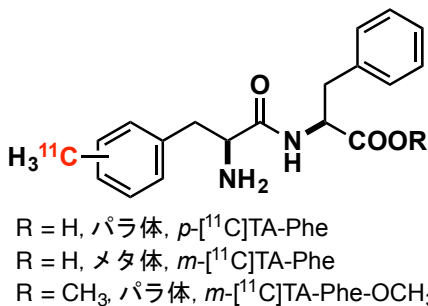


図 2. ¹¹C-標識ジペプチドPETプローブの化学構造

これまでの先行研究で開発した ¹¹C-標識ジペプチドプローブ(図 2)の中でも、とくにパラ位に [¹¹C]メチル基を導入した p-[¹¹C]TA-Phe (RLC13429) は、膵臓および腫瘍のイメージングプローブとして有望であることがわかっている。例えば、担がんマウスを用いた PET イメージング初期研究において、ヒト扁平上皮がん細胞 (A431) を移植したマウスに対して、

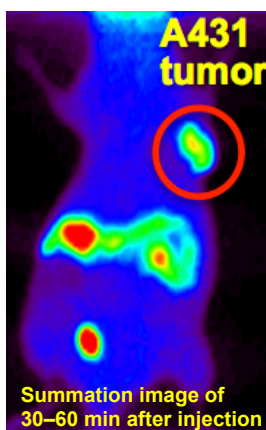


図3. p - $[^{11}\text{C}]$ TA-Pheを用いたA431 腫瘍がんマウスのPETイメージング

p - $[^{11}\text{C}]$ TA-Phe を投与して、PET 撮像を行った結果、脾臓と A431 腫瘍組織に特異的に集積していることが確認された (図 3)。興味深いことに、その他の主要臓器や組織には、ほとんど集積せず (%ID/g: <5)、心臓や肝臓などの主要臓器への集積率は、血液・血漿と同程度か、あるいは、より少ないことも明らかとなった (後述の図 6 を参照)。そこで、本研究では、この p - $[^{11}\text{C}]$ TA-Phe をリードプローブとして、新たにメタ異性体となる m - $[^{11}\text{C}]$ TA-Phe と、プロラジオトレーサーを意図したメチルエステル構造を持つ m - $[^{11}\text{C}]$ TA-Phe-OMe を設計・合成し、先行研究と同様の方法で A431 腫瘍モデルマウスを用いた PET イメージングを行うこととした。

3 研究成果

図 4 には、高速 C - $[^{11}\text{C}]$ メチル化反応の実施に必要な有機ホウ素前駆体 (パラ体とメタ体) の合成を示した。ここでは、出発原料として、L-チロシンあるいは 3-ヒドロキシ-L-フェニルアラニンの Boc 保護体を用いた。まず第 1 段階で、フェニルアラニン *tert*-ブチルエステルと縮合反応を行い、続く第 2 段階で、フェノール水酸基をトリフラート基に変換した。そして、最終の第 3 段階で、Pd 触媒を用いたクロスカップリング反応によりピナコールボラン基を導入した目的の有機ホウ素前駆体の合成を行った。

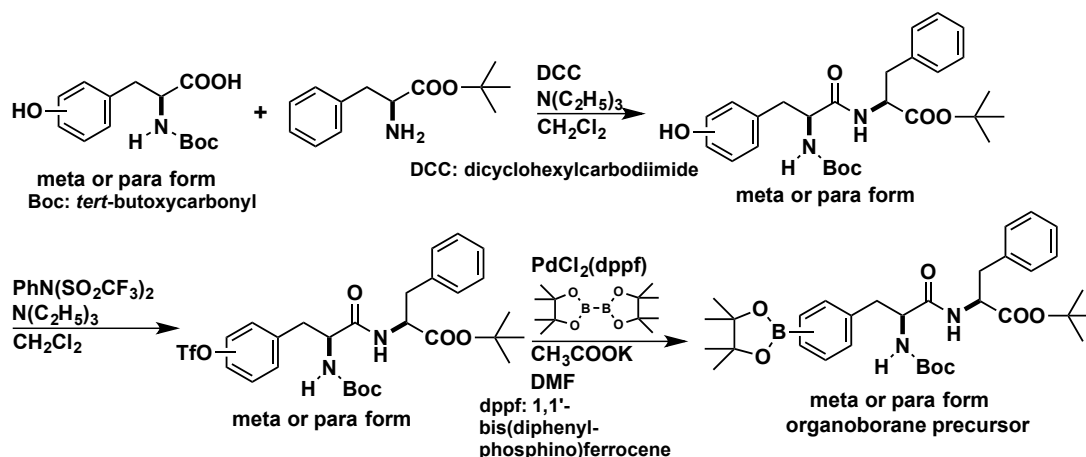


図4. 高速 C - $[^{11}\text{C}]$ メチル化法に必要な有機ホウ素前駆体の合成

続いて、これらの有機ホウ素前駆体を用いて高速 C - $[^{11}\text{C}]$ メチル化反応により、目的の ^{11}C -標識 PET プローブの合成を行った (図 5)。本研究で得られた計 3 種類の ^{11}C -標識ジペプチドプローブについて、A431 腫瘍モデルマウスの PET イメージングを行った。

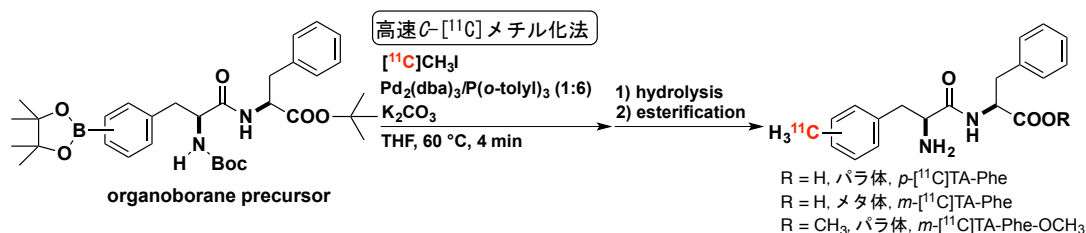


図5. 高速 C - $[^{11}\text{C}]$ メチル化法を用いたジペプチドPETプローブの合成

その結果、いずれのプローブも膵臓 (%ID/g: >35) と A431 腫瘍組織 (%ID/g: >13) に特異的に集積することが確認された (図 6)。我々の知る限り、これほどまでの選択性の高い PET プローブは例がない。このように、¹¹C-標識ジペプチドプローブの膵臓および腫瘍イメージングに向けた有用性を実証することができた。しかし、一方で、本プローブの血液中の代謝物の解析を行ったところ、血中に存在する ¹¹C-標識体のほとんどは、母体の (投与した) [¹¹C]TA-Phe ではなく、アミド結合が代謝を受けて生成した [¹¹C]トリルアラニン ([¹¹C]TA) であることがわかった (図 7)。

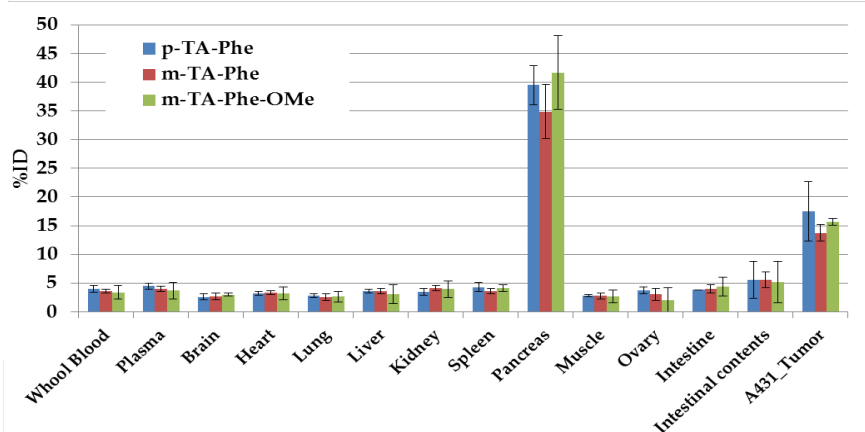


図6. 投与60分後における¹¹C-標識ジペプチドPETプローブの生体内分布

■ 投与後30分における血液サンプルの解析

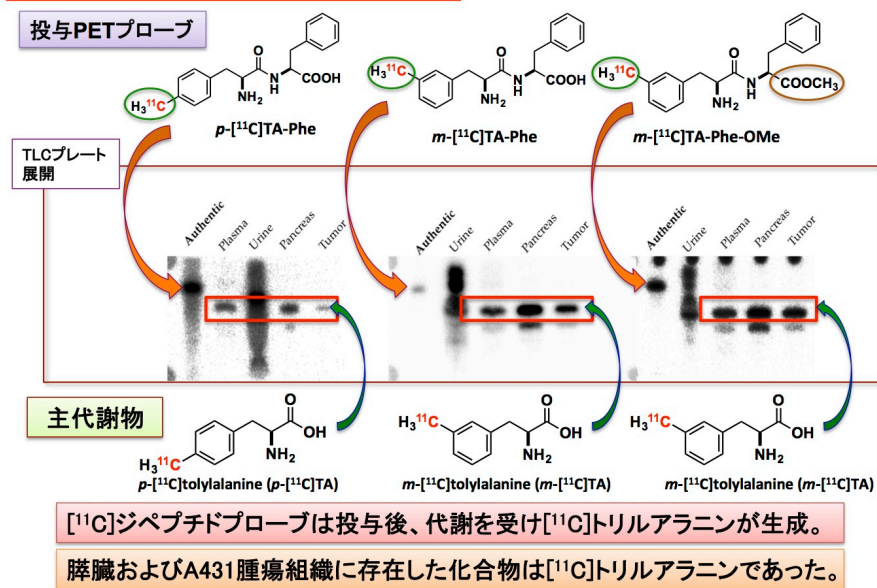
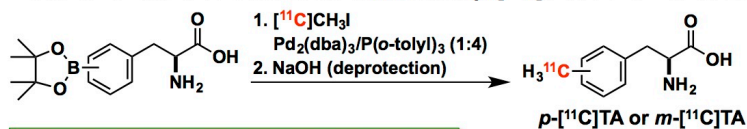


図7. ¹¹C-標識ジペプチドプローブの代謝物解析

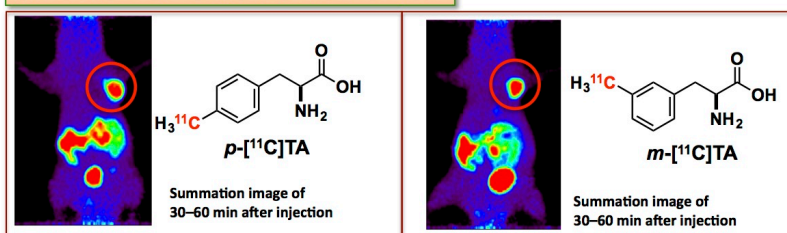
この事実から、新たにパラ体の [¹¹C]トリルアラニン (*p*-[¹¹C]TA) を標識合成して A431 担がんマウスを用いた生体内動態を解析するとともに、脳腫瘍の PET イメージングの可能性を探った (図 8)。その結果、*p*-[¹¹C]TA は *p*-[¹¹C]TA-Phe と同様に、膵臓 (%ID/g: 40 ± 5) と A431 腫瘍組織 (%ID/g: 17 ± 4) に特異的に集積していることが確認された。また、ヒトグリオーマ細胞 (U87MG) を線条体に移植した脳腫瘍モデルマウスを作製し、*p*-[¹¹C]TA を用いた脳腫瘍イメージングを行ったところ、見事に脳腫瘍を画像化することができた (図 8)。

なお、別途実施したトランスポーター研究の結果に基づくと、 p - ^{11}C]TA は主に L-型アミノ酸トランスポーター 1 (LAT1) を介して腫瘍細胞に取り込まれていることが示唆された。これらの結果は、 p - ^{11}C]TA が、LAT1 特異的な PET プローブとして、抹消組織の腫瘍のみならず脳腫瘍のイメージングプローブとしても有用であることを示している。以上の研究成果は、今後、学会発表ならびに学術論文として順次発表していく予定である。

■ 高速 ^{11}C -メチル化法を用いた m -および p - ^{11}C]トリルアラニンの合成



A431 担がんマウスを用いた PET イメージング



p - ^{11}C]TA を用いた U-87 脳腫瘍モデルマウスの PET イメージング

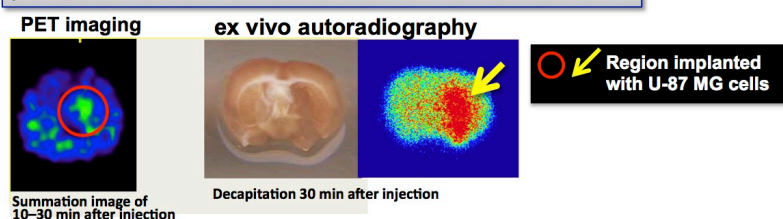


図8. ^{11}C -標識トリルアラニンの腫瘍イメージング

4 生活や産業への貢献および波及効果

PET 分野においては、がんのイメージングは未だ最重要課題の一つである。現在、 ^{18}F]FDG を用いたがん検診が行われているが、 ^{18}F]FDG は、がん細胞のみならず炎症組織にも集積するために、がんと炎症の区別が難しい。加えて、臓器の効果的なイメージング手法の開発も急務の課題である。本件に関して、上述の ^{11}C]TA-Phe および ^{11}C]TA プローブの研究結果は、がんおよび臓器を選択的にイメージングできる可能性を提供するものであり、今後の展開次第では、社会的インパクトは大きいものになると考えている。今後は、共同研究者の医学者らとともに、具体的な PET 臨床研究の素案を作り、最終目標であるヒトの PET イメージングの実現に向けて引き続き努力したい。

【謝辞】

本研究は、理化学研究所ライフサイエンス技術基盤研究センターの尾上浩隆チームリーダー（生体機能評価研究チーム）との共同研究であり、マウスの PET 撮像および薬物動態研究を実施して頂きました。この場をお借りして感謝申し上げます。

【参考文献】

- (1) (a) Suzuki, M., Doi, H., Koyama, H., Zhang, Z., Hosoya, T., Onoe, H., Watanabe, Y. *Chem. Rec.*, **14**(3), 516-541 (2014); (b) Doi, H. *J. Label. Compd. Radiopharm.* **58**, 73-85 (2015).