

PET による画期的な腎ミトコンドリア機能診断法の開発

堺 俊博¹⁾、山中 祥二²⁾、大庭 弘行³⁾、金澤 奨勝³⁾、
西山 新吾³⁾、細井 理恵⁴⁾、塚田 秀夫³⁾、小川 洋二¹⁾、井上 修¹⁾

1) 阪和インテリジェント医療センター、2) 住重加速器サービス (株) 技術部
3) 浜松ホトニクス (株) 中央研究所、4) 大阪大学大学院医学系研究科保健学専攻

1. 諸言

わが国における慢性腎臓病 (CKD) の罹患数は 1,300 万人にも上る。中でも、近年は糖尿病性腎症が顕著に増加しており、新規人工透析患者の 40% を占めるに至っている。しかし、CKD に有効な薬物はいまだ開発されておらず、現状は食事療法や運動制限等の管理にとどまっている。さらに腎障害のステージの診断に関しては、侵襲性の高い腎生検に頼らざるを得ない。腎臓は老廃物を体外に排泄すると同時に、有用な物質の再吸収に多大なエネルギーを必要としているため、エネルギー産生を担うミトコンドリアの量が脳に次いで多く存在する。CKD の発症にはミトコンドリアの機能異常が大きく関わっているとの知見が蓄積されつつあり、治療薬の標的としてミトコンドリアが大きな対象となっている。

われわれはこれまで、ミトコンドリア電子伝達系の構成成分である Mitochondrial Complex-I に選択的に結合する新規 PET 薬剤^{[18F]BCPP-BF} の臨床応用に向けた基礎研究を進めており¹⁾、アセトアミノフェン誘発肝毒性を鋭敏に検出できること²⁾、ならびに非アルコール性肝炎をきわめて早期に診断できうる可能性を示してきた³⁾。^{[18F]BCPP-BF} は、心筋、肝臓、腎臓などエネルギー代謝の盛んな臓器に選択的かつ高濃度で集積することから、本薬剤の結合能を指標としてこれら臓器の機能診断ができる可能性は非常に高いと考えられる。本研究では、CKD を対象疾患として腎臓における^{[18F]BCPP-BF} の結合能が腎機能の指標に成りうるかを検証し、早期診断法ならびにバイオマーカーとしての有用性をヒトで評価することを最終目的とした。

今年度は、浜松ホトニクス社が開発した^{[18F]BCPP-BF} を、阪和インテリジェント医療センターにおいて、合成および製剤化法・品質管理法の確立を行い、臨床利用を開始するための前臨床段階における有用性に関して放射性薬剤委員会の承認を得ることを目的とした。

2. 方法

放射性核種 ¹⁸F の製造には、住友重機械工業社製のサイクロトロン CYPRIS HM-18 を用い

た。 $[^{18}\text{O}]\text{H}_2\text{O}$ を含むターゲット水に陽子を照射し、 $^{18}\text{O}(\text{p},\text{n})^{18}\text{F}$ の核反応によりフッ化物イオン ($^{18}\text{F}^-$) を製造した。製造した担体無添加の $^{18}\text{F}^-$ を、陰イオン交換能を有するアセセル QMA ライトカートリッジに吸着させ、 $[^{18}\text{O}]\text{H}_2\text{O}$ と分離させた。これを、66 mM K_2CO_3 水溶液 (0.3 mL) と 0.2 M $\text{K}_2.22/\text{CH}_3\text{CN}$ 溶液 (0.2 mL) の混合溶液で溶出し、標識合成に用いた。

$[^{18}\text{F}]\text{BCPP-BF}$ の合成には同社の ^{18}F 化合物合成装置を用い、図 1 に示す反応式により製造した。まず、ナード社製の toluene-4-sulfonic acid 4-[5-(1tert-butyl-5-chloro-6-oxo-1,6-dihydropyridazin-4-yloxymethyl)-pyridin-2-yloxy]-butylester (7 mg) を Tosylate 前駆体に用い、アセトニトリル (1 mL) 中 80°C で 10 分間、単離した $^{18}\text{F}^-$ によるフッ素標識化を行った。

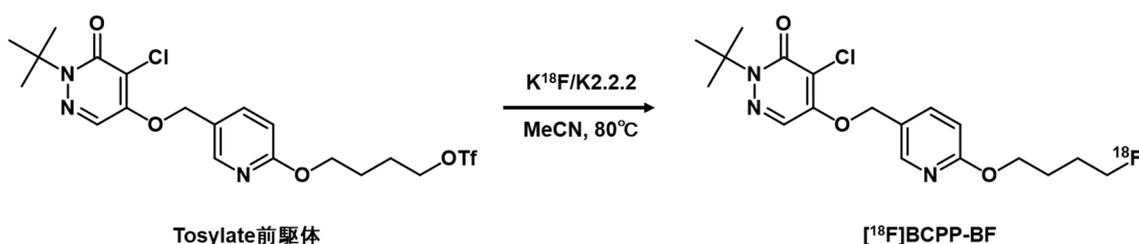


図 1 $[^{18}\text{F}]\text{BCPP-BF}$ の合成経路

次いで、HPLC を用い、目的とする $[^{18}\text{F}]\text{BCPP-BF}$ の分離精製を行った。反応溶媒を加熱留去した後、移動相 (1 mL) を加え、分取用 HPLC に導通した。カラムには YMC-Triart C18 (250×10 mmI.D., S-5 μm) に YMC-Guardpack Pro C18 RS (30×10 mmI.D., S-5 μm) を連結して使用し、移動相 (アセトニトリル:注射用水=60:40) を流速 5 mL/min で用いた。UV 波長 254 nm および RI 検出器により、目的化合物 BCPP-BF の溶出時間 20 分の画分を分取し、可溶化剤として 5%ポリソルベート 80 を含むエタノール溶液 (1 mL) および安定化剤として 25%アスコルビン酸注射液 (0.2 mL) を加えた濃縮フラスコに導き、減圧留去した。これに、生理食塩水を加え濾過滅菌し、 $[^{18}\text{F}]\text{BCPP-BF}$ 注射液を調製した。

3.結果

上述した調製法により、連続して合成した 3 ロットの PET 薬剤 (BCPP-BF_21102101、BCPP-BF_21102901 および BCPP-BF_21110501) を製造した。品質試験の結果を表 1 に示す。

表 1 [¹⁸F]BCPP-BF 注射液 3 ロットの結果

項目	規格値	結果		
		BCPP-BF_21102101	BCPP-BF_21102901	BCPP-BF_21110501
バッチあたりの容量	9±1 mL	8.44 mL	8.84 mL	9.12 mL
放射能	—	4.19 GBq	3.94 GBq	6.29 GBq
比放射能	37 GBq/μmol以上	259.63 GBq/μmol	249.29 GBq/μmol	133.23 GBq/μmol
放射能半減期	105—115分	109.5分	110.3分	107.7分
性状	澄明	澄明	澄明	澄明
粒子の有無	認めない	認めない	認めない	認めない
エンドトキシン試験	0.25 EU/mL以下	<0.097 EU/mL	<0.097 EU/mL	<0.097 EU/mL
無菌試験	菌の発育を認めない	菌の発育を認めない	菌の発育を認めない	菌の発育を認めない
pH	5.0—8.0	6.2	6.2	6.2
放射能の確認試験	511 keVにピークを認める	511 keVにピークを認める	511 keVにピークを認める	511 keVにピークを認める
放射性核種純度	511 keVおよび1022 KeV以外にピークを認めない	511 keV以外にピークを認めない	511 keV以外にピークを認めない	511 keV以外にピークを認めない
放射化学的純度	95%以上	>99%	>99%	>99%
3時間後のRI純度	—	>99%	>99%	>99%
Kryptofix 222	40 ppm以下	<40 ppm	<40 ppm	<40 ppm
残留溶媒				
エタノール	5000 ppm以下	7.29 ppm	8.28 ppm	23.45 ppm
アセトニトリル	410 ppm以下	5.52 ppm	5.76 ppm	4.58 ppm

製造した[¹⁸F]BCPP-BF 注射液は、3 ロットいずれにおいても、すべての品質管理項目の規格を満たしていた。すなわち、粒子の有無や pH、エンドトキシン、無菌試験、残留有機溶媒など、注射剤として必須の要件を満たすとともに、比放射能や放射能半減期、放射化学的など、放射性薬剤特有の規格に適合していた。

また、合成終了から 3 時間後の放射化学的純度が 99%以上を保持していたことから、臨床における有効期限を合成終了後から 3 時間以内とした。

4.考察

今回、PET 実施施設である阪和インテリジェント医療センターにおいて、放射性薬剤 [¹⁸F]BCPP-BF 注射剤の製法および品質管理法を確立した。具体的には、浜松ホトニクス(株)から当センターに薬剤開発に関する技術移転を行った後、本施設に最適化した注射剤製法の確立、および小動物を用いた有効性および安全性の評価を行った。同時に、製造指図書、品質管理基準書等を整備し、得られたデータとともに阪和第二泉北病院内に設置されている、有識者の外部委員で構成される放射性薬剤委員会に諮問した。審議の結果、本施設に

における¹⁸F]BCPP-BF 注射剤の有効性や安全性など、前臨床段階における放射性薬剤としての有用性が確認され、承認を得ることができた。

5.結語

従来 CKD に関しては有効な薬物療法がなかったが、近年ミトコンドリアの機能改善を標的とした治療薬の開発が進められており、昨年にはミトコンドリア機能改善薬であるイメグリミンが承認申請された。CKD の治療薬開発が困難である理由の一つに、治験におけるエンドポイントの設定が困難であることが挙げられるが、本 PET 薬剤が腎機能の指標として使用できれば、治療薬の効果判定に大変有用であり、さらなる薬剤開発にも寄与できる。加えて、侵襲性のきわめて高い腎生検に代わり、PET で非侵襲的に病態の進行度が把握できれば、患者の負担を著しく軽減化しながら疾患の管理が可能となる。さらに、腎機能低下の早期診断が可能となることで、より早期の段階での医療介入が可能となり、CKD 患者の進行抑制が図られる。

大阪を含む近畿圏においては、ミトコンドリア機能を計測できる PET 施設は皆無であり、かつ腎臓を含めた末梢臓器におけるミトコンドリア機能をヒトにおいて評価することは、国際的にも最初の試みである。そのため、本研究は独創的であると同時に、社会的意義および公益性はきわめて大きいと考えられる。

6.文献

- 1) Tsukada H, Nishiyama S, Fukumoto D, Kanazawa M, Harada N. Novel PET probes 18F-BCPP-EF and 18F-BCPP-BF for mitochondrial complex I: a PET study in comparison with 18F-BMS-747158-02 in rat brain. *J Nucl Med.* 2014;55(3):473-80.
- 2) Ohba H, Kanazawa M, Kakiuchi T, Tsukada H. Effects of acetaminophen on mitochondrial complex I activity in the rat liver and kidney: a PET study with 18F-BCPP-BF. *EJNMMI Res.* 2016;6(1):82-91.
- 3) Sakai T, Ohba H, Nishiyama S, Kakiuchi T, Inoue O, Tsukada H. Sensitive and early detection of mitochondrial dysfunction in the liver of NASH model mice by PET imaging with 18F-BCPP-BF. *EJNMMI Res.* 2018;8(1):61-68.