

# [<sup>11</sup>C]尿酸の合成と痛風の早期 PET イメージング診断への適用の可能性



八塩 桂司

Yashio Keiji

(理化学研究所 分子イメージング科学研究センター)

## 1 はじめに

理化学研究所分子イメージング科学研究センター (CMIS) では生体内の機能分子や薬物分子の動態を、分子イメージング技術を用いて追跡する研究を行っています。分子イメージングとは、生体内での生命現象を生物が生きたままの状態画像化して解析する技術で、患者に負担を掛けずに疾病の早期診断ができる手法として注目されており、陽電子放出断層画像法 (Positron Emission Tomography ; PET) もその中の1つです。当施設では様々な PET 用分子プローブを開発していますが、生体内に存在する分子をそのまま標識して、薬剤投与による影響の調査や、病態による体内分布の変化についての解析研究を行っています。今回は、その中で尿酸をポジトロン放射性核種の炭素 11 (<sup>11</sup>C) で標識した [<sup>11</sup>C]尿酸を用いた研究について紹介させていただきます。

## 2 研究背景

生活習慣病は自覚症状のないまま進行し、合併症を引き起こした後に初めて診断されるケースも多く見られます。そのため、早期の診断・治療が求められていますが、生活習慣病には多くの疾病が含まれるため、そのすべてを診断するには非常に負担が大きいものとなります。そこで、多くの疾病に共通する生体内分子の分布

状態を把握することが、生活習慣病の検査の課題となります。現在、生体内分子の検査は主に血中、尿中濃度の測定で行われていますが、より迅速で正確な診断を可能にするためには、体内での分布の情報も併せて調査することが必要になります。また、その生体内分子を高感度かつ高分解能で検出可能である分子プローブとすることが必須であるといえます。

尿酸は、痛風や高血圧、腎臓病、心臓病、脳卒中など多くの生活習慣病に関わる生体内分子と考えられています。抗酸化作用を示すことから、細胞の老化防止に効果があるとされていますが、血中濃度が高くなると高尿酸血症となり、関節で結晶化することで痛風を発症します。日本人の痛風の有病率は 2003 年時点で全体の 0.5% (男性では 1.1%) であると報告されており<sup>1)</sup>、近年更に増加傾向であると考えられています。また、痛風予備軍ともいえる高尿酸血症患者は 500 万人にも達すると推定されています。このように多くの患者が存在しているのですが、痛風は多くの場合、痛みが起きるまで自覚できません。また、痛風を正確に診断するためには、関節液や関節組織を採取する必要があります。患者に大きな苦痛を与えます。そのため、患者に負担を掛けずに体内の尿酸分布を正確に調査する手法を開発することが、痛風の早期診断には求められていると考えています。

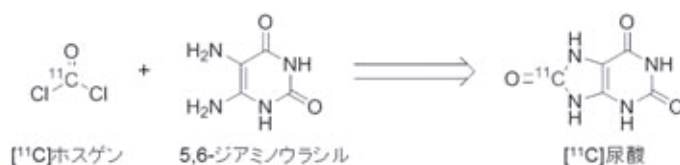


図1  $[^{11}\text{C}]$ 尿酸の合成経路

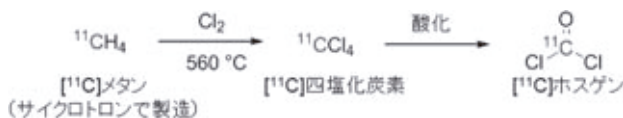


図2  $[^{11}\text{C}]$ ホスゲンの製造法

また高感度、高分解能で生体内の分子を検出する手段として、放射線が体を透過する性質を利用したPETが存在しています。PETは、半減期の短い放射性同位体を使用することにより、小動物からヒトまで含めた生体での分子の動態を、体を傷つけずに高精度かつ定量的に画像化できる手法です。

このような流れから当研究グループは、尿酸を $^{11}\text{C}$ で標識しPET用分子プローブとして用いることで、生体内での尿酸分布の可視化や、疾病状態と通常時との尿酸濃度の比較が可能になるであろうと予測し、研究計画を立ち上げました。

### 3 $[^{11}\text{C}]$ ホスゲンを用いた $[^{11}\text{C}]$ 尿酸の合成

尿酸を $^{11}\text{C}$ で標識するに当たり、その標識部位について検討しました。一般的には $^{11}\text{C}$ での標識には $[^{11}\text{C}]$ ヨウ化メチルが利用されることが多いのですが、尿酸はその構造上 $[^{11}\text{C}]$ ヨウ化メチルで標識することが困難でした。そこで、尿酸の構造の中でカルボニル部位に着目し、そこを標識するために $[^{11}\text{C}]$ ホスゲンを用いることにしました。 $[^{11}\text{C}]$ ホスゲンを選択した理由は、図1に示す反応を行い、一段階で尿酸の8位のカルボニル炭素を標識することが可能であると考えたためです。尿酸の2位も候補となり得ますが、原料(標識前駆体)との反応性や入手の容易さから図1の経路を選択することにしました。

$[^{11}\text{C}]$ ホスゲンを反応に利用するためには、尿酸を標識化するために十分な放射エネルギーを確保する必要がありました。 $[^{11}\text{C}]$ ホスゲンはサイクロトロンで製造した $[^{11}\text{C}]$ メタンを $[^{11}\text{C}]$ 四塩化炭素に変換し、その後酸化することで得られます(図2)。なお、サイクロトロン及び $[^{11}\text{C}]$ ホスゲン合成装置は共に住友重機械工業社製のものを使用しています。当初、 $[^{11}\text{C}]$ 四塩化炭素へは効率よく変換できていたのですが、 $[^{11}\text{C}]$ ホスゲンの製造量が安定していませんでした。そのため、放射線医学総合研究所と横浜市立大学が開発した北川ガス検知管の反応管を利用する手法<sup>2)</sup>を導入することで理研においても効率よく $[^{11}\text{C}]$ ホスゲンを製造することが可能となりました。

このようにして製造された $[^{11}\text{C}]$ ホスゲンを用いて $[^{11}\text{C}]$ 尿酸の合成を検討しました。合成検討開始直後に原料の5,6-ジアミノウラシルの一般的な有機溶媒に対する溶解性が極めて悪く、そのままでは合成反応が進行しないことが分かったので、最適な反応溶媒の調査を行いました。条件検討の結果、*N,N'*-ジメチルプロピレン尿素を溶媒として、*N,N'*-ジイソプロピルエチルアミン存在下で $[^{11}\text{C}]$ ホスゲンと反応させることで、 $[^{11}\text{C}]$ 尿酸を合成することができました(図3)。また、 $[^{11}\text{C}]$ 尿酸はPET試験に使用するために十分な量、品質で合成することができています。

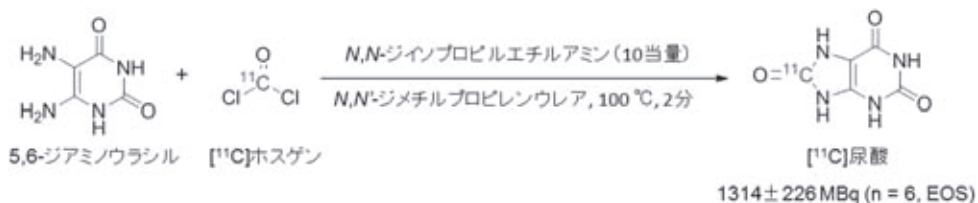


図3  $^{11}\text{C}$ 尿酸の合成法 (サイクロトロン照射; 30  $\mu\text{A} \times 10 \text{ min}$ , EOS : end of synthesis)

#### 4 $^{11}\text{C}$ 尿酸のPET用分子プローブとしての評価

$^{11}\text{C}$ 尿酸がPET用分子プローブとして有効利用が可能であるかを調査するため、動物に投与して、尿酸の体内分布のPET画像を撮像しました。 $^{11}\text{C}$ 尿酸の体内動態の解析には、シーメンス社製PETイメージング装置 (microPET Focus220)、実験動物はラットを使用し、生体内の尿酸の分布を通常のラットと比較するために高尿酸血症誘発ラットを用いています。高尿酸血症誘発ラットの作成は、尿酸代謝酵素ウリカーゼの阻害剤であるオキシネート (オキソソ酸カリウム) をラットに腹腔内投与して高尿酸血症を誘発させています。1.5% イソフルレン吸入麻酔下において、正常ラット、あるいは高尿酸血症誘発ラットに大腿静脈カニューレション手術を行った後、PET装置内に固定し、その後、合成した $^{11}\text{C}$ 尿酸をラット尾静脈から単回ボラス投与しました (投与放射能 130~150 MBq/kgBW, 薬物量として 0.1~0.4  $\mu\text{g/kgBW}$ )。PETスキャンと並行して、大腿静脈から経時的に採血を行い、血液中の放射能濃度を Automatic Gamma Counters (パーキンエルマー社製) で測定しました。PETデータ収集後にヒストグラミングを行い、更にPET画像データはFBP法にて画像再構成を行い、ダイナミックデータを得ました。PET画像の各断面画像において、それぞれの組織の関心領域 (regions of interest, ROI) を設定し、全身放射能に対する割合 (% of total radioactivity) として表現しています。比較に用いる血中内因性尿酸濃度は、HPLCを用いて測定しています。

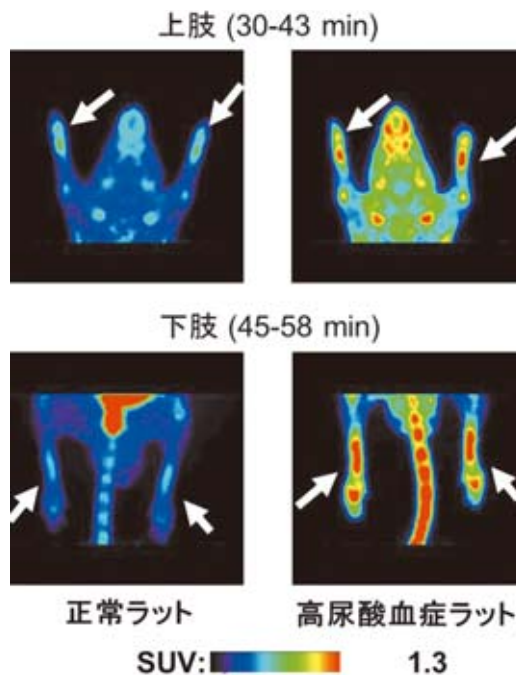


図4  $^{11}\text{C}$ 尿酸を投与後のラットのPET画像

$^{11}\text{C}$ 尿酸をラットに投与後のPETスキャンの結果から、全身における放射能の分布を解析したところ、図4に示すように、正常ラットにおいては主に放射能が腎排泄過程により排泄される過程をPET画像として確認することができました。このような生体内における尿酸の動態の画像化は世界初の実例となります。高尿酸血症誘発ラットにおいては、正常ラットと同様に投与放射能は主に腎排泄されることがPET画像からも明らかでありましたが、四肢の関節部への放射能の集積は、正常ラットと比べ、2.6倍程度上昇していることが示されました。

並行して採取した血中における放射能濃度は、高尿酸血症誘発ラットでは正常ラットと比べ約2倍程度上昇していました。この結果は、特に体内の中でも比較的溫度が低い部位とされる四肢の関節などに  $^{11}\text{C}$ 尿酸が集積し、その集積量は高尿酸血症誘発モデルにおいて顕著に上昇した現象をPETイメージング法により捉えることに成功したことを示しています。さらに、放射能検出器を備えたHPLCを用いた親化合物-代謝物分離定量の結果から、高尿酸血症誘発モデルにおける血中には放射能濃度のほとんどが  $^{11}\text{C}$ 尿酸由来であることも明らかとなりました。

以上の結果は、ヒトで直接的な尿酸に由来する病態診断や、尿酸の体内動態を追跡するための研究を行う前段階として、ラットを用いた評価系により、高尿酸血症時や痛風時にみられる尿酸由来の関節炎の診断や、関節内への尿酸集積の直接的な診断において、新規に標識合成した  $^{11}\text{C}$ 尿酸を用いたPETイメージング法が有効であることを示唆していると考えられます<sup>3)</sup>。

## 5 $^{11}\text{C}$ 尿酸を利用する痛風の早期PETイメージング診断の可能性

現在、痛風の診断は発症（激的な痛みを伴う）した後に行われ、通常は発症前に診断を行うことはありません。また、確定診断には関節液の採取が必要となり、これは患者にとって非常に苦痛となります。 $^{11}\text{C}$ 尿酸を利用したPET診断が可能になれば、身体に尿酸が蓄積

し始めた段階を判別できるようになると考えられますので、発症時の激痛や関節液採取の苦痛を感じることなく痛風を診断し、治療を開始できることとなります。痛風は一度発症すると完治が困難であり、治療は長期間に及ぶことが多いのですが、発症前に治療を開始できれば、完治しやすくなり、治療期間も短縮されることが期待されます。現在、当研究チームでは  $^{11}\text{C}$ 尿酸を使用したヒトのPET臨床試験に向けて準備を行っており、痛風の早期診断の有効性を示すデータ取得を目指しています。

### 【謝辞】

本研究はPET試験での動態解析を担当していただいた高島忠之研究員をはじめ、多くの方々のご協力により進めることができました。この場をお借りして厚く御礼申し上げます。本研究は理化学研究所分子イメージング科学研究センター（渡辺恭良センター長）と日本ペーリンガーインゲルハイム（株）薬物動態安全性研究部、金沢大学医薬保健研究域薬学系との共同研究の成果です。

### 参考文献

- 1) 日本痛風・核酸代謝学会 ガイドライン改訂委員会編, 高尿酸血症・痛風の治療ガイドライン (第2版) (2010)
- 2) Ogawa, M., *et al.*, *Nucl Med Biol*, **37**, 73-76 (2010)
- 3) Yashio, K., *et al.*, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **22**, 115-119 (2012)