

平成28年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) 医療分野研究成果展開事業  
産学連携医療イノベーション創出プログラム  
(英語) Medical Research and Development Programs Focused on Technology Transfer  
ACceleration Transformative research for Medical innovation

研究開発課題名： (日本語) [<sup>18</sup>F]DiFA による革新的がん診断 PET 低酸素イメージングシステム  
(英語) New hypoxia PET imaging with [<sup>18</sup>F]DiFA for innovative therapeutic strategy of cancer.

研究開発担当者 (日本語) 大学院医学研究科 病態情報講座核医学分野 准教授 志賀 哲  
所属 役職 氏名： (英語) Department of nuclear medicine, Associate Professor, Tohru Shiga

実施期間： 平成28年4月1日 ～ 平成29年3月31日

分担研究 (日本語) プロトタイプ [<sup>18</sup>F]DiFA 全自動合成装置の開発 (研究項目(4))  
開発課題名： (英語) Development of the prototype automatic synthesizer for [<sup>18</sup>F]DiFA

研究開発分担者 (日本語) 日本メジフィジックス株式会社 創薬研究所 所長 松本博樹  
所属 役職 氏名： (英語) Nihon Medi-Physics Co., Ltd. Research Centre, General Manager, Hiroki Matsumoto

II. 成果の概要 (総括研究報告)

和文

1. 研究開発の目的

固形腫瘍内部で形成される低酸素領域を高精度で検出できる新規低酸素イメージング剤 [<sup>18</sup>F]DiFA を開発した。本研究では、腫瘍低酸素イメージング剤としての [<sup>18</sup>F]DiFA の安全性および有用性を検証し、薬事承認取得をめざす。同時に [<sup>18</sup>F]DiFA の全自動合成装置の開発を行い、 [<sup>18</sup>F]DiFA を用いた新たな腫瘍診断法の確立および実用化をめざす。

## 2. 研究開発の概要

固形腫瘍内部で形成される低酸素領域は放射線治療や化学療法に対して抵抗性を示すため、腫瘍内部の低酸素領域の割合を評価することは、治療方針の決定に不可欠である。本研究では、新規に開発した $^{18}\text{F}$ DiFA について、(1)  $^{18}\text{F}$ DiFA 単回投与における安全性および有用性を探索する臨床研究、(2) 前臨床動物実験による POC 取得、(3)  $^{18}\text{F}$ DiFA 注射液の製造体制確立と安定供給による臨床 POC 取得、(4)  $^{18}\text{F}$ DiFA のプロトタイプ全自動合成装置の開発に取り組み、 $^{18}\text{F}$ DiFA の固形腫瘍新規低酸素イメージング剤としての実用化をめざす。

## 3. 研究開発の成果（平成 28 年度）

### (1) $^{18}\text{F}$ DiFA 単回投与における安全性および有用性を探索する臨床研究【北海道大学】

患者を対象とした探索的臨床試験の実施に先立ち、健常者を対象とした First-in-man 臨床試験を完了した。脳腫瘍・頭頸部癌患者等を対象とした早期探索的臨床試験の試験計画書を作成し、実施・管理に関する各種標準業務手順書の作成・整備を引き続き行った。

### (2) 前臨床動物実験による POC 取得【北海道大学】

#### 1) 小動物 PET、ARG、病理との対比による POC 取得

複数の未治療腫瘍モデルにおいて、 $^{18}\text{F}$ DiFA を用いた PET 撮像により、 $^{18}\text{F}$ FMISO に比べて投与後早期に良好な腫瘍コントラストが得られることを明らかにした。また、pimonidazole を指標とした低酸素領域と $^{18}\text{F}$ DiFA の分布が一致しており、低酸素プローブとして機能することも確認した。

#### 2) $^{18}\text{F}$ DiFA の低酸素腫瘍への集積メカニズムの解明

ヒト頭頸部癌 (FaDu) 細胞のインビトロ培養系を用い、 $^{18}\text{F}$ DiFA が低酸素環境下の細胞特異的に集積することを見出した。また、FaDu 移植マウスの腫瘍組織内における DiFA の代謝評価、DiFA およびその代謝物の分布について検討し、DiFA 還元体のグルタチオン抱合体が生成していること、その分布が腫瘍低酸素領域と類似していることを見出した。

### (3) 臨床 POC 取得のための $^{18}\text{F}$ DiFA 注射液の製造体制確立と安定供給【北海道大学】

品質試験に合格した $^{18}\text{F}$ DiFA を 8 例の臨床研究に供給（出荷）し、臨床研究の推進に貢献した。製造した $^{18}\text{F}$ DiFA 注射液の品質を保証するため、手順書に従い自己点検を実施した。また臨床研究に供給（出荷）された $^{18}\text{F}$ DiFA 注射液の製造に関する記録について、第三者機関による外部監査を受けた結果、定められた基準に適合した体制で $^{18}\text{F}$ DiFA の製造が行われていることが確認された。

### (4) プロトタイプ $^{18}\text{F}$ DiFA 全自動合成装置の開発【日本メジフィジックス株式会社】

北大にて現在までに確立された $^{18}\text{F}$ DiFA 合成反応経路を搭載した全自動合成装置の詳細設計図を作成、本図に基づく流路設計により $^{18}\text{F}$ DiFA の合成反応を問題なく実施できることを確認した。また $^{18}\text{F}$ DiFA を簡便に精製するための検討を実施、目標品質を達成する見込みを得たことから、自動合成装置への組み込みに着手した。更に、 $^{18}\text{F}$ DiFA 全自動合成装置を治験薬 GMP で管理するため、Windows PC 上で動作する GMP 管理ソフトウェアを作成した。

## 英文

Results of this project (2016/04-2017/03)

### (1) Clinical studies to search for the safety and a utility of the [<sup>18</sup>F] DiFA PET. [Hokkaido University]

Prior to the exploratory clinical study for the patients, we completed the First-in-man clinical study for healthy subjects. We made the protocol of the early exploratory clinical study for patients. We continued to make and correct various operating procedures.

### (2) The POC acquisition by the preclinical animal experiment. [Hokkaido University]

#### 1) POC acquisition with comparison among small animal PET, ARG and pathological findings.

In several untreated tumor animal models, we clarified that better tumor contrast was obtained in [<sup>18</sup>F] DiFA images compared with that in [<sup>18</sup>F]FMISO images at the early phase after administration. We also clarified that distribution of [<sup>18</sup>F]DiFA was concordant with pimonidazole -hypoxic maker- distribution. We confirmed that [<sup>18</sup>F]DiFA worked as a hypoxia probe.

#### 2) Elucidation of the accumulation mechanism of [<sup>18</sup>F]DiFA to hypoxic tumor cells

Using in vitro culture system of human head and neck cancer (FaDu) cells, we found that [<sup>18</sup>F]DiFA specifically accumulated cells under the hypoxia environment. Also, we studied about metabolites of [<sup>18</sup>F]DiFA and distribution of the metabolites in the tumor (FaDu) of mice. As a result, we found that glutathione conjugates of the reduced-DiFA were generated and the distribution was similar to hypoxic regions of the tumor.

### (3) Establishment of the production system for [<sup>18</sup>F]DiFA injections and its stable supply for clinical POC acquisition. [Hokkaido University]

We supplied [<sup>18</sup>F]DiFA which passed a quality study to eight clinical studies. We performed self-inspection according to the manuals to guarantee the quality of [<sup>18</sup>F]DiFA. We received the inspection on the production records by a third party organization. Consequently, it was confirmed that our production system was appropriately worked in accordance with pre-determined standards/procedures.

### (4) Development of prototype [<sup>18</sup>F]DiFA automatic synthesizer.[Nihon-Medi-Physics]

We made the detailed drawing of an automatic synthesizer for the synthesis and purification of [<sup>18</sup>F]DiFA to reproduce the method established in Hokkaido University. Design qualification of the synthesizer was performed to trace the manufacturing of [<sup>18</sup>F]DiFA based on its drawing. Simplified purification of [<sup>18</sup>F]DiFA was tested and preliminary results were obtained to achieve the target product quality profile. Therefore, we have started to integrate this new purification to an automatic synthesizer. Furthermore, we made the GMP management software working on Windows PC to manage [<sup>18</sup>F]DiFA automatic synthesizers in accordance with the investigational drug GMP.

## III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 0 件、国際誌 0 件）

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. 新規低酸素標的 PET プローブ <sup>18</sup>F-DiFA の有効性評価のための <sup>18</sup>F -MISO との比較検討, 口頭, 安井博宣, 趙松吉, 東川桂, 右近直之, 志水陽一, 松本博樹, 玉木長良, 久下裕司, 第 16 回放射性医薬品画像診断薬研究会, 2016/10/1, 国内

2. 新規低酸素イメージング剤 “ $^{18}\text{F}$ -DiFA” の腫瘍集積能・腫瘍内代謝物評価，口頭，志水陽一，趙松吉，岸伶美，安井博宣，西嶋剣一，松本博樹，玉木長良，小川美香子，久下裕司，第 16 回放射性医薬品画像診断薬研究会，2016/10/1，国内
3. 新規低酸素標的 PET プローブ  $^{18}\text{F}$ -DiFA の有効性評価を目的とした腫瘍集積能および腫瘍内代謝物の解析，ポスター，安井博宣，志水陽一，趙松吉，東川桂，岸伶美，右近直之，西嶋剣一，松本博樹，小川美香子，玉木長良，久下裕司，第 2 回北大・部局横断シンポジウム，2017/3/14，国内

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. 「悪性度の高いがん細胞 位置特定する検査薬 北大など」，日本経済新聞朝刊 13 頁，2017/2/6，国内

(4) 特許出願

該当なし