

Studies on Development of New Tumor-seeking Agents (Unnatural Synthetic Amino Acids) for Tumor-Nuclear Medicine Imaging : A Structure-activity Relationship between Unnatural Synthetic Amino Acids and Tumor Affinity

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/8247

腫瘍核医学診断のための新しい放射性薬剤の合成開発に関する研究

—非天然型人工アミノ酸類の構造と腫瘍親和性の相関性—

金沢大学医学部核医学講座 (主任: 久田欣一教授)

柴 和 弘

(平成3年1月14日受付)

新しい放射性腫瘍診断薬の開発を目的として、非天然型の α 位に水素を有しない非天然型アミノ酸に着目し、非天然型アミノ酸の構造による腫瘍親和性の影響についてその相関性を調べ、現在最も広く用いられている腫瘍診断薬である $^{67}\text{Ga-citrate}$ に代わる新しい放射性腫瘍診断薬の可能性について検討した。非天然型アミノ酸として10種の脂環式アミノ酸類および α -aminoisobutyric acid (AIB)とそのAIB類似体7種の計18種類をBücherer法を改良した独自の方法で ^{14}C -標識合成を行い、これらをエールリッヒ担がんマウスに投与し、経時的に腫瘍および一般臓器を摘出し、体内分布測定を行った。また全身マクロオートラジオグラフィによる定量化も試み、上記の18種の非天然型アミノ酸の腫瘍親和性および腫瘍特異性について比較した。また、テレピン油で誘発した炎症巣を右足大腿部に持つマウスを用いて炎症巣への集積性の検索および、生体内での代謝および排泄経路を検討する目的で代謝実験も行った。その結果、非天然型アミノ酸類の ^{14}C -標識合成については、アミノ酸の合成法であるBücherer法の改良により、 3.7MBq ($100\mu\text{Ci}$) という少量の放射能の ^{14}C -シアン化カリウム ($^{14}\text{C-KCN}$) から2行程で高い放射化学的収率 (55.6%~94.1%) および高い放射化学的純度 (>99%) で目的の高比放射能 (222MBq (6.0mCi)~ 1.93GBq (52.1mCi)/mmol) の ^{14}C -標識非天然型アミノ酸を合成することができた。非天然型アミノ酸類の腫瘍親和性および腫瘍特異性については、脂環式アミノ酸類は環が小さいほど腫瘍集積率が高く、経時的に著しい増加傾向を示した。またアミノ酸の官能基 ($-\text{NH}_2$, $-\text{COOH}$) から離れた位置 (3, 4位の位置) に比較的小さい側鎖 (メチル基等) を有する脂環式アミノ酸は一般臓器への集積率が低くなるが、腫瘍集積率は保持されるため腫瘍特異性 (腫瘍/臓器比) が増した。一方、アミノ酸の官能基に近接した位置 (2位の位置) にメチル基を有する脂環式アミノ酸や位置に関係なくフェニル基のような大きな置換基を有する脂環式アミノ酸は腫瘍親和性が著しく減少した。また α -aminoisobutyric acid (AIB) 類似体は側鎖が大きくなるにつれて、すなわち炭素骨格数が増すほど腫瘍親和性は減少した。腫瘍特異性は炭素骨格数 (カルボキシル基の炭素は含まない) が4および5のAIB類似体が優れていた。代謝・排泄についてはすべての非天然型アミノ酸は未代謝のまま尿中より排泄され、排泄率は腫瘍特異性の高い非天然型アミノ酸ほど速く体外へ排泄された。以上の結果から総合的に判断すると脂環式アミノ酸では3位にメチル基を有する5員環のアミノ酸である1-amino-3-methyl-cyclopentane-1-carboxylic acid (3-MeACPC) とAIB類似体ではAIBより炭素骨格が1つ多い α -amino-2-methylbutanoic acid (AMB) が腫瘍集積率が投与後30分でそれぞれ 16.32 ± 2.45 , $13.28 \pm 1.11\%$ dose/g と $^{67}\text{Ga-citrate}$ の $2.04 \pm 0.08\%$ dose/g (投与後18時間での値) に比べ高値を示した。さらに、 $^{67}\text{Ga-citrate}$ は腫瘍特異性 (腫瘍/血液, 肝臓, 脾臓, 胃, 小腸比) が低い欠点を有するのに対し、3-MeACPC とAMBのいずれも腫瘍特異性が高く、また炎症巣への集積も見られないためポジトロン核種 (^{11}C 等) で標識することによりポジトロン断層 (positron emission tomography, PET) 用の優れた放射性腫瘍診断薬になることが期待された。

Key words 1-amino-3-methyl-cyclopentane-1-carboxylic acid, α -amino-2-methyl-butanoic acid, tumor-seeking agent, tissue distribution, whole-body autoradiogram

放射性腫瘍診断薬の開発は放射性医薬品の開発分野の中でも重要な課題となっている。現在、核医学腫瘍診断薬として広く利用されているのは1969年以来使われている $^{67}\text{Ga-citrate}$ ¹⁾である。しかし $^{67}\text{Ga-citrate}$ は肝臓、脾臓、腸管、骨等の正常臓器や炎症部位²⁾にも多く集積するため腫瘍特異性が優れているとは言えず、腫瘍診断薬としては限界がある。したがって $^{67}\text{Ga-citrate}$ に代わる放射性腫瘍診断薬の開発が望まれており現在までに数多くの研究がなされている。しかし未だに $^{67}\text{Ga-citrate}$ に代わりうる腫瘍特異性に優れた放射性腫瘍診断薬は開発されていない。 ^{11}C 、 ^{13}N 、 ^{18}O 、 ^{18}F のようなポジトロン核種は生体内構成元素(^{18}F はHまたはOHの代替元素)と化学的性質が同じ放射性同位元素であるため生体内および天然に存在するすべての物質を標識できる可能性を有し、またポジトロン断層(positron emission tomography, PET)を用いることにより定量的評価が得られる。したがって悪性腫瘍と正常組織との物質代謝、酵素反応、増殖能、膜輸送能などの生化学的、生理学的相違に基づき適当な物質や化合物をポジトロン核種で標識することにより、悪性腫瘍の診断(鑑別診断も含む)、ならびに代謝パラメーターなどの定量化に基づく治療指針に利用しようという研究が盛んに行われている。例えば(1)糖類似物質³⁻⁶⁾、(2)アミノ酸⁷⁻¹⁰⁾、(3)核酸前駆物質^{11,12)}、(4)核酸合成阻害物質^{13,14)}、(5)ポリアミン¹⁵⁻¹⁷⁾などが報告されている。これらは悪性腫瘍が正常組織に比べ(1)は糖代謝、解糖系の一酵素であるヘキソキナーゼ活性が亢進、(2)はアミノ酸代謝、タンパク合成能、膜輸送能が亢進、(3)、(4)は増殖能の増加に伴い核酸代謝が亢進、(5)は細胞増殖に伴いポリアミンの生合成が亢進していることなどを利用したものである。著者はこれらの中でアミノ酸類がその種類およびD型、L型の違いにより腫瘍親和性に大きな差があること¹⁸⁾、また1-amino-cyclopentane-1-carboxylic acid (ACPC)¹⁹⁾や α -aminoisobutyric acid (AIB)²⁰⁾のような非天然型アミノ酸が天然アミノ酸に比べて腫瘍への集積が著しく増加することや正常組織への集積もそれぞれ特徴的な差がみられることから、アミノ酸類、特に α 位に水素を有しない非天然型アミノ酸に着目した。そこで種々の非天然型アミノ酸を合成し、それらの化学構造の相違による腫瘍親和性の影響についてその相関性を調べる

ことにより、腫瘍親和性(腫瘍への集積性)ならびに腫瘍特異性(正常組織に対する腫瘍集積の相対比)に優れた腫瘍診断薬の開発につながると考え、18種の非天然型アミノ酸を ^{14}C -標識合成するとともに、体内分布実験、全身オートラジオグラフィ、代謝実験により新しい腫瘍診断薬の開発の可能性について検討した。

材料および方法

I. ^{14}C -標識非天然型アミノ酸の合成およびその分布

1. ^{14}C -標識非天然型アミノ酸の種類

合成した ^{14}C -標識非天然型アミノ酸は以下の18種類である。

脂環式アミノ酸

- 1-aminocyclobutane-1-carboxylic acid (ACBC) (a)
- 1-aminocyclopentane-1-carboxylic acid (ACPC) (b)
- 1-aminocyclohexane-1-carboxylic acid (ACHC) (c)
- 1-aminocycloheptane-1-carboxylic acid (ACHPC) (d)
- 1-aminocyclooctane-1-carboxylic acid (ACOC) (e)
- 1-amino-3-methyl-cyclopentane-1-carboxylic acid (3-MeACPC) (f)
- 1-amino-2-methyl-cyclohexane-1-carboxylic acid (2-MeACHC) (g)
- 1-amino-3-methyl-cyclohexane-1-carboxylic acid (3-MeACHC) (h)
- 1-amino-4-methyl-cyclohexane-1-carboxylic acid (4-MeACHC) (i)
- 1-amino-4-phenyl-cyclohexane-1-carboxylic acid (4-phACHC) (j)

AIB 類似体

- α -aminoisobutyric acid (AIB) (k)
 - α -amino-2-methyl-butanoic acid (AMB) (l)
 - α -amino-2-methyl-pentanoic acid (AMP) (m)
 - α -amino-2-methyl-hexanoic acid (AMH) (n)
 - α -amino-2-ethyl-butanoic acid (AEB) (o)
 - α -amino-2-ethyl-pentanoic acid (AEP) (p)
 - α -amino-2-propyl-pentanoic acid (APP) (q)
 - α -amino-2-phenyl-propionic acid (AphP) (r)
- なお18種の非天然型アミノ酸の構造式を図1に示す。

2. ^{14}C -標識非天然型アミノ酸の合成法

Abbreviations: ACBC, 1-aminocyclobutane-1-carboxylic acid; ACHC, 1-aminocyclohexane-1-carboxylic acid; ACHPC, 1-aminocycloheptane-1-carboxylic acid; ACOC, 1-aminocyclooctane-1-carboxylic acid; ACPC, 1-aminocyclopentane-1-carboxylic acid; AEB, 2-amino-2-ethyl-butanoic acid; AEP, 2-amino-2-ethyl-pentanoic acid; AIB, α -

上記の非天然型アミノ酸の ^{14}C - 標識合成は Bücherer 法を改良した独自の方法により 2 行程で合成した (図 1 に合成ルートを示す)。まず, 耐圧パイレックスガラスチューブ (7mm ϕ \times 100mm) に対応するケトン類 (0.1~0.2mmol), $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ (0.25mmol) および溶媒としてエタノール: 水 (1 : 1) 500ul を加える。そこへシアン化カリウム (KCN) (0.015mmol) (比放射能が計算上 221.6MBq (5.99mCi)/mmol になるように KCN を加えた), ^{14}C -KCN (2.17GBq (58.63mCi)/mmol) 3.7MBq (100uCi) を加え, ただちに融封し, 密封条件下で 70~80°C で 10 時間加熱するこ

とにより対応する ^{14}C - ヒダントイン体を合成する。それらを単離することなしにただちに冷却しジェットエバポレーターにより窒素気流下で溶媒を留去し, 2N-NaOH (500ul) を加える。反応ガラスチューブ容器を再度融封し, さらにステンレス耐圧容器に入れ密封条件下で 210~230°C で 3 時間加熱することにより加水分解を行い目的の ^{14}C - 標識非天然型アミノ酸 (a~r) を得た。精製は冷却後, 濃塩酸により反応溶液を酸性 (pH1) に調製し, 陽イオン交換樹脂カラム (AG50W-X2, 15mm ϕ \times 100mm, 50-100mesh (Bio. Rad, 東京)) に通す。

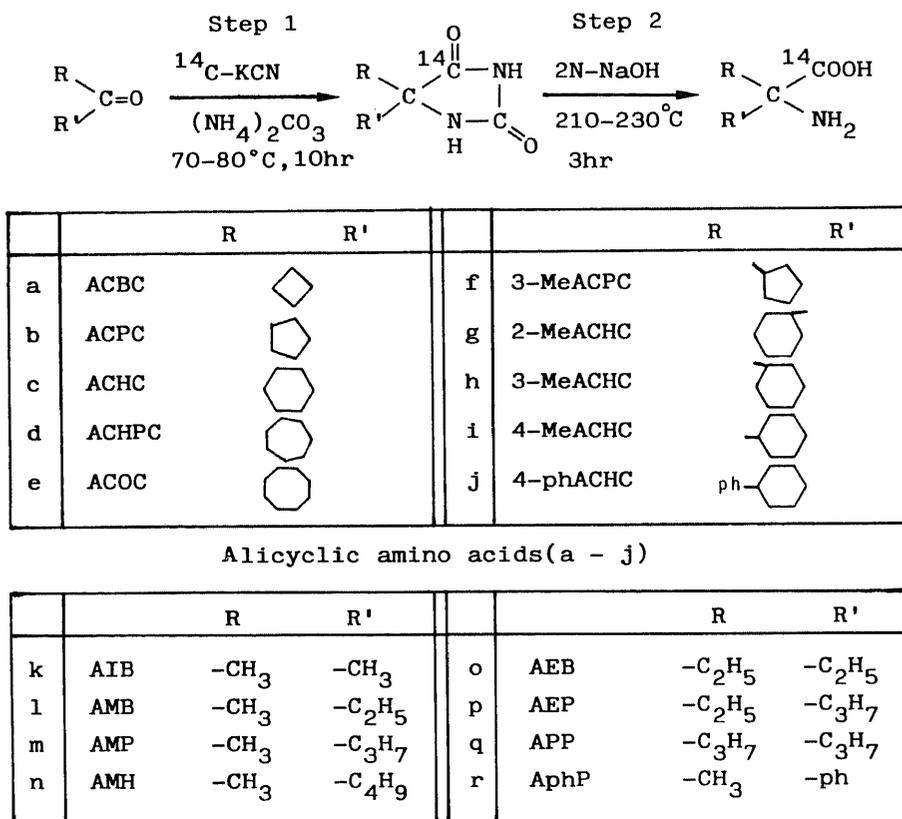


Fig. 1. Synthesis method and structure of ^{14}C -unnatural amino acids (a~r). Step 1: Mixtures of radioactive potassium [^{14}C] cyanide (^{14}C -KCN), ketones and ammonium carbonate ($(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$), were reacted at 70~80°C for 10 hours to give ^{14}C labeled hydantoins. Step 2: The hydantoins were hydrolyzed with 2N-sodium hydroxide (2N-NaOH) at 210~230°C for 3 hours to give ^{14}C labeled unnatural amino acids (a~r).

aminoisobutyric acid; AMB, 2-amino-2-methyl-butanoic acid; AMH, 2-amino-2-methyl-hexanoic acid; AMP, 2-amino-2-methyl-pentanoic acid; AphP, 2-amino-2-phenyl-propionic acid; APP, 2-amino-2-propyl-pentanoic acid; HPLC, highperformance liquid chromatogra-

それから100mlの蒸留水で樹脂を洗浄後、2%アンモニア水にて ^{14}C -標識非天然型アミノ酸を溶出し、エバポレーターにてアンモニアを留去後、生理食塩水を加え必要に応じてpH調節を行い、最後に0.22 μm ミリポアフィルタに通して精製を行った。

3. ^{14}C -標識非天然型アミノ酸の分析

合成した ^{14}C -標識非天然型アミノ酸(a~r)は別途に合成した非標識の非天然型アミノ酸(元素分析(柳本社製, CHN-CorderMT-3, 東京)により確認)を標準アミノ酸試料として、薄層クロマトグラフィ(thin layer chromatography, TLC)と高速液体クロマトグラフィ(highperformance liquid chromatography, HPLC)およびニンヒドリン呈色反応により同定した。TLCはシリカゲルプレート(Merck, Kieselgel 60F₂₅₄, アルミニウムシート, Darmstadt, FRG)で、展開溶媒としてn-ブタノール:酢酸:水=25:6:25を用いた。HPLC分析は Na^+ 型陽イオン交換樹脂(島津製 LC カラム ISC-07/S1504, 4.0mm ϕ ×150mm, 東京), 移動相として0.2Mクエン酸ナトリウムを用い流速0.5ml/min, カラム温度55°Cで行った。放射化学的純度はTLCおよびHPLCにより求めた。比放射能(MBq(mCi)/mmol)はHPLCを用いてo-フタルアルデヒド(OPA)によるアミノ酸の蛍光発色法²⁰⁾により求めた。

II. 動物実験

1. 経時的体内分布の測定

ddy系雄マウス(25~30g)の大腿部皮下にエールリッヒ腹水がんを移植し、直径約1cmの結節となる8日ないし9日目に実験に用いた。投与方法はエーテル麻酔下マウスにそれぞれ上記の18種の ^{14}C -標識非天然型アミノ酸を1匹当たり18.5kBq(0.5 μCi)づつ尾静脈より注射した。投与後10分(f~jを除く), 30分, 60分, 120分に各群4~8匹ずつ頸動脈より脱血した後屠殺し、腫瘍および血液、筋肉、肝臓、脾臓、肺、胃、小腸、膵臓、心臓、脳を摘出した。摘出臓器はただちに重量を測定し、一晚低温暗所で放置後、組織燃焼装置ASC-113(Aloka, 東京)にて燃焼し、 $^{14}\text{CO}_2$ を捕集し、その放射能強度を液体シンチレーションカウンタLSC-703(Aloka)にて測定した。これらの測定値から投与量を100%とした場合における臓器組織1g当りの集積率(%dose/g)および腫瘍/臓器比を求めた。値は平均値±標準偏差で示した。なお、臓器集積

率はマウスの体重差による相違を補正するためマウスの体重を25gに基準化した値で示した。

2. 全身マクロオートラジオグラムの作成

エールリッヒ腹水がんを背部に移植したddy系マウス(25~30g)に ^{14}C -標識非天然型アミノ酸111kBq(3 μCi)を静注し、投与後60分で頸椎脱臼にて屠殺した。全身を5%カルボキシメチルセルロースで包埋してドライアイス-ヘキサン(-70~-80°C)で凍結し試料ブロックを作成した。クライオマイクロームPMV2258(LKB社製, Uppsala)で厚さ20 μm の試料切片を作成後、X線フィルムに標準線源とともに密着させ、4週間露出後現像した。えられたオートラジオグラムのうちAIB(k)とAMB(l)については、Video Digitizer System(NEC社製マイクロコンピュータPC-9801, TI22A-CCDカメラ, AD変換ボードを組み合わせたシステム, 東京)にてフィルム黒化度をデジタル化し、標準線源から得られた標準曲線²⁰⁾より放射能濃度(kBq/g)を求め、これを投与量(kBq)で割ることにより集積率(%dose/g)に換算した。標準線源²⁰⁾として、20%W/Vゼラチン溶液に各種濃度の ^{14}C -標識非天然型アミノ酸を混ぜ凍結(-70~-80°C)後、厚さ20 μm の切片を作成したものをを用いた。

3. 炎症巣への集積度の検討

ddy系雄マウス(25~30g)の大腿部皮下にテレピン油0.1mlを注入後、5日経過した時点の炎症巣を実験に用いた。3-MeACPC(f)とAMB(l)の2種の非天然型アミノ酸について検討した。上記の2種の ^{14}C -標識非天然型アミノ酸をそれぞれ1匹当たり18.5kBq(0.5 μCi)づつ尾静脈より投与した。投与後30分, 60分に各群4匹ずつ頸動脈より脱血後屠殺し、炎症巣および血液、筋肉、肝臓、肺、胃、小腸を摘出し、ただちに重量を測定した。各臓器組織は一晚低温暗所で乾燥後、組織燃焼装置にて燃焼し、 $^{14}\text{CO}_2$ を捕集し、液体シンチレーションカウンタにてそれらの放射能強度を測定した。

4. 代謝・排泄の測定

エールリッヒ担がんddy系雄マウスに ^{14}C -標識非天然型アミノ酸を1匹当たり37kBq(1.0 μCi)づつ尾静脈より投与し、代謝実験装置KN-650(夏目社製, 東京)にて飼育した。投与後1, 2, 4, 8, 24時間の尿、糞、呼気を採集した。尿は摂取した各時間の全量

phy; 2-MeACHC, 1-amino-2-methyl-cyclohexane-1-carboxylic acid; 3-MeACHC, 1-amino-3-methyl-cyclohexane-1-carboxylic acid; 4-MeACHC, 1-amino-4-methyl-cyclohexane-1-carboxylic acid; 3-MeACPC, 1-amino-3-methyl-cyclopentane-1-carboxylic acid;

(ml) を測定後、1.0ml を取りその放射能強度を液体シンチレーションカウンタにて測定した。糞は摂取後ただちに湿重量 (g) を測定し、その一部 (0.3~0.4g) をロ紙カップに取り一晚低温暗所に放置後、組織燃焼装置にて燃焼し、 $^{14}\text{CO}_2$ を捕集し、その放射能強度を測定した。呼気中の $^{14}\text{CO}_2$ の捕集は2段の 4N-NaOH (200ml) に通過させることにより行い、各時間ごとに $250\mu\text{l}$ ずつ採集し、8倍に希釈して 0.5N とした後、放射能強度を液体シンチレーションカウンタにて測定し体外への排泄速度を求めた。尿については薄層クロマトグラフィ (TLC) (Merck, シリカゲル 60F254 アルミシート) を用い、n-ブタノール：酢酸：水 (25：6：25) で展開することにより代謝物の同定を行った。

成 績

I. ^{14}C - 標識非天然型アミノ酸の合成および分析

分析した ^{14}C - 標識非天然型アミノ酸 (a~r) の放射化学的収率、放射化学的純度および比放射能を表1に示す。放射化学的収率は出発原料のケトンから通算してそれぞれ55.6%~94.1%と比較的高収率で合成でき

た。放射化学的純度は薄層クロマトグラフィおよび高速液体クロマトグラフィにより求めたところ18種の ^{14}C - 標識非天然型アミノ酸すべて99%以上と高純度であった。また比放射能 (MBq (mCi)/mmol) は高速液体クロマトグラフィを用いて別途に合成した非標識非天然型アミノ酸を標準試料として、アミノ酸濃度 (10^{-3}M ~ 10^{-4}M) とクロマトグラムピーク面積との検量線をもとに求めた (ACPC の検量線の1例を図2に示す)。その結果、いずれも計算値である 221.6MBq (5.99mCi/mmol) に近い値を示した。またこの合成法により、担体を加えないで ^{14}C -KCN (2.17GBq (58.63 mCi)/mmol) のみで同じように合成した結果、1.93 GBq (52.1 mCi)/mmol という高い比放射能の ^{14}C -ACPC (b) が放射化学的収率64.9%で合成できた。

II. 動物実験

1. 経時的体内分布

1) ^{14}C - 標識脂環式アミノ酸類

10種の ^{14}C - 標識脂環式アミノ酸 (a~j) のエールリッヒ担がんマウスにおける経時的体内分布 (経時的腫瘍集積率および腫瘍/臓器比) を表2, 3に示す。まず、4員環から8員環 (a~e) の環の大きさの異なる脂

Table 1. Radiochemical yield, radiochemical purity and specific activity of ^{14}C -unnatural amino acids (a-r)

		Radiochemical yield (%)	Radiochemical purity (%)	Specific activity (MBq/mmol)
ACBC	a	91.2	>99	220
ACPC	b	90.2	>99	223
ACHC	c	82.1	>99	222
ACHPC	d	76.2	>99	221
ACOC	e	69.5	>99	219
3-MeACPC	f	93.2	>99	210
2-MeACHC	g	71.2	>99	223
3-MeACHC	h	76.4	>99	227
4-MeACHC	i	75.5	>99	250
4-phACHC	j	55.6	>99	219
AIB	k	83.1	>99	263
AMB	l	94.1	>99	266
AMP	m	94.1	>99	280
AMH	n	94.1	>99	255
AEB	o	86.6	>99	253
AEP	p	85.1	>99	254
APP	q	82.1	>99	258
AphP	r	93.3	>99	256

4-phACHC, 1-amino-4-phenyl-cyclohexane-1-carboxylic acid; PET, positron emission tomography; ROI, region of interest; TLC, thin layer chromatography; VDS, video digitizer system

環式アミノ酸を比較し、環の大きさと腫瘍親和性の関係を調べた。腫瘍集積率 (%dose/g) は投与後早期 (10分) では8員環である ACOC (e) がいくぶん低い以外はあまり差は見られなかった。投与後30分以後は4員環である ACBC (a) から8員環である ACOC (e) のいずれも経時的に腫瘍への集積率は増加傾向を示した。特に ACBC (a) や5員環である ACPC (b) は著しい増加傾向を示し、ACBC (a) が投与後30分で 17.76% dose/g, 120分で 28.59% dose/g, ACPC (b) が投与後30分で 15.43% dose/g, 120分で 26.23% dose/g と高い腫瘍集積率を示した。腫瘍/臓器比は ACBC (a) が投与後早期 (10分) の肺, 胃, 小腸と投与後後期 (60分, 120分) の肝臓以外はいずれも最も高値を示し、次いで ACPC (b), ACHC (c) の順であった。このこと

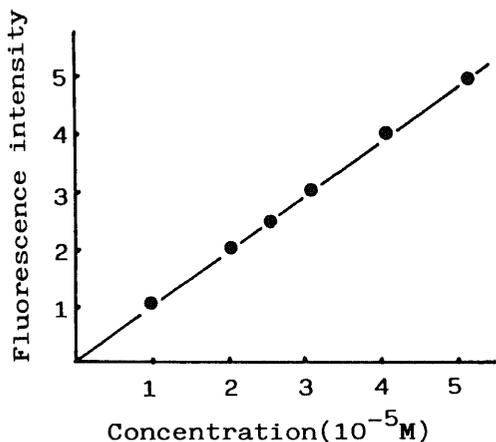


Fig. 2. Correlation between the concentration of ACPC and the fluorescence intensity of ACPC measured by fluorophotometer.

から環が小さいほど腫瘍/臓器比 (肝臓を除く) が高くなる傾向を示した。次に、脂環式アミノ酸の側鎖の影響について検討した。6員環である ACHC (c) とそれぞれ 2 位, 3 位, 4 位の位置にメチル基を持つ 2-MeACHC (g), 3-MeACHC (h), 4-MeACHC (i) および 4 位の位置にフェニル基を持つ 4-phACHC (j) を用いて比較した。腫瘍集積率は 3-MeACHC (h) と 4-MeACHC (i) についてはほぼ ACHC (c) と同じか若干低い程度で同じように高い腫瘍親和性を保持していた。一方、2-MeACHC (g) と 4-phACHC (j) の腫瘍集積率は ACHC (c) に比べ極端に低く、また経時的に減少傾向を示した。腫瘍/臓器比を比較すると、3-MeACHC (h) と 4-MeACHC (i) は血液, 筋肉, 肝臓, 肺, 胃, 小腸, 心臓などの一般臓器への集積率が ACHC (c) に比べ一様に低いためほとんどの臓器において腫瘍/臓器比は ACHC (c) より高い値を示した。同様に 5 員環である ACPC (b) と 3 位の位置にメチル基を持つ 3-MeACPC (f) を比較した結果、腫瘍集積率は 3-MeACPC (f) は投与後30分, 60分, 120分でそれぞれ 16.32 ± 2.45 , 21.48 ± 5.52 , 21.54 ± 1.86 % dose/g と高い値を示し、ACPC (b) と同様に高い腫瘍集積性を保持していた。腫瘍/臓器比は 3-MeACPC (f) は一般臓器への集積率が低いためほとんどの腫瘍/臓器比が ACPC (b) より高い値を示した。

2. ^{14}C - 標識 AIB 類似体

^{14}C -AIB (k) および 7 種の ^{14}C -AIB 類似体 (l~r) のエールリッヒ担がんマウスにおける経時的体内分布 (経時的腫瘍集積率および腫瘍/臓器比) を表 4, 5 に示す。腫瘍集積率 (%dose/g) は側鎖 (R, R') のいずれか一方がメチル基の AIB 類似体 (AIB (k), AMB

Table 2. Tumor uptake of ^{14}C -alicyclic amino acids (a-j) in Ehrlich tumor bearing mice

		10 min	30 min	60 min	120 min
		% dose/g*			
ACBC	a	10.83(0.53)	17.76(4.35)	22.95(4.32)	28.59(4.50)
ACPC	b	12.83(1.41)	15.43(5.88)	17.49(3.75)	26.23(4.26)
ACHC	c	11.28(3.07)	14.08(2.32)	18.34(2.84)	20.65(1.06)
ACHPC	d	9.21(1.46)	10.73(2.01)	14.17(1.55)	16.44(2.70)
ACOC	e	6.19(0.12)	10.99(1.60)	12.65(1.37)	14.60(3.94)
3-MeACPC	f	—	16.32(2.45)	21.48(5.52)	21.54(1.86)
2-MeACHC	g	—	6.50(0.81)	5.30(0.77)	3.93(0.64)
3-MeACHC	h	—	14.68(0.32)	17.01(2.80)	18.44(1.32)
4-MeACHC	i	—	11.04(4.32)	20.44(3.60)	18.73(2.56)
4-phACHC	j	—	3.98(0.65)	4.36(0.26)	2.69(0.15)

* Values represent mean (S.D.) (n=4)
Normalized to body weight of 25g

(l), AMP (m), AMH (n) については炭素骨格数 (カルボキシル基の ^{14}C -炭素は含まない) の増加に伴い減少する傾向が見られ, AIB (k) > AMB (l) > AMP (m) > AMH (n) の順であった. しかし AMB (l) と AMP (m) は AIB (k) と同様に経時的に腫瘍集積率が

増加傾向を示し, 特に AMB (l) は投与後10分, 30分, 60分, 120分でそれぞれ 11.16 ± 0.50 , 13.28 ± 1.11 , 14.40 ± 0.90 , $15.27 \pm 0.63\%$ dose/g と AIB (k) の腫瘍集積率 (13.59 ± 1.48 , 13.39 ± 1.40 , 16.95 ± 2.54 , $18.39 \pm 2.28\%$ dose/g) と同様に高い値を示した. また

Table 3. Tumor to tissue ratios of ^{14}C -alicyclic amino acids (a-j) in Ehrlich tumor bearing mice

Tumor to tissue ratios*					Tumor to tissue ratios*					
10 min					30 min					
30 min					60 min					
60 min					120 min					
Blood					Blood					
ACBC	a	3.3(1.2)	7.1(1.4)	10.5(1.2)	14.9(3.8)	3-MeACPC	f	5.9(1.1)	7.9(1.1)	7.9(0.6)
ACPC	b	3.4(0.6)	4.2(1.6)	6.9(0.9)	9.7(1.7)	2-MeACHC	g	2.8(0.1)	3.2(0.5)	3.7(0.2)
ACHC	c	2.0(0.4)	3.6(0.6)	5.2(0.7)	6.2(0.3)	3-MeACHC	h	4.6(0.6)	6.0(0.3)	7.3(1.0)
ACHPC	d	2.1(0.3)	3.5(0.6)	5.2(0.5)	5.9(0.8)	4-MeACHC	i	3.6(1.7)	7.7(1.0)	7.1(0.5)
ACOC	e	1.9(0.1)	3.7(0.5)	4.8(0.5)	5.9(1.4)	4-phACHC	j	1.9(0.5)	2.9(0.4)	2.6(0.2)
Muscle					Muscle					
ACBC	a	5.7(1.5)	8.0(1.5)	9.3(1.0)	12.8(3.4)	3-MeACPC	f	4.7(0.7)	6.4(1.2)	6.2(0.6)
ACPC	b	5.1(0.8)	3.8(1.9)	4.8(0.7)	7.7(1.4)	2-MeACHC	g	3.0(0.2)	3.0(0.5)	3.6(0.9)
ACHC	c	3.0(0.8)	3.6(0.6)	5.1(0.5)	6.1(0.3)	3-MeACHC	h	5.1(0.2)	6.6(1.2)	7.8(1.0)
ACHPC	d	2.4(0.3)	2.8(0.5)	4.0(0.3)	4.6(0.5)	4-MeACHC	i	3.4(1.4)	6.4(0.9)	6.2(0.4)
ACOC	e	1.6(0.1)	2.9(0.4)	3.7(0.3)	4.5(1.0)	4-phACHC	j	1.9(0.3)	2.6(0.3)	2.2(0.1)
Liver					Liver					
ACBC	a	3.4(1.1)	3.9(0.6)	5.2(0.9)	4.4(0.7)	3-MeACPC	f	5.5(0.5)	7.6(0.6)	7.8(0.8)
ACPC	b	1.6(0.1)	2.0(0.6)	3.0(0.4)	4.8(0.9)	2-MeACHC	g	2.5(0.2)	2.8(0.3)	3.1(0.2)
ACHC	c	2.0(0.5)	3.8(0.7)	5.6(0.8)	6.4(0.1)	3-MeACHC	h	4.9(0.6)	5.7(0.8)	7.3(0.9)
ACHPC	d	2.3(0.3)	3.4(0.6)	4.9(0.5)	5.6(0.6)	4-MeACHC	i	3.8(1.3)	7.5(1.2)	7.1(0.6)
ACOC	e	1.6(0.1)	3.3(0.6)	4.1(0.6)	5.0(1.5)	4-phACHC	j	1.3(0.3)	1.8(0.1)	1.6(0.1)
Lung					Lung					
ACBC	a	2.2(0.8)	4.5(1.1)	6.6(0.8)	10.0(2.7)	3-MeACPC	f	6.1(0.6)	8.8(0.7)	9.0(0.7)
ACPC	b	3.0(0.5)	3.9(1.6)	6.0(1.2)	9.0(1.7)	2-MeACHC	g	2.9(0.1)	3.3(0.6)	3.8(0.2)
ACHC	c	2.1(0.5)	3.9(0.6)	5.8(0.6)	6.6(0.3)	3-MeACHC	h	5.3(0.4)	7.2(0.4)	8.4(1.5)
ACHPC	d	2.5(0.3)	4.0(0.6)	5.8(0.7)	6.6(0.7)	4-MeACHC	i	4.3(2.2)	8.6(1.0)	8.3(1.5)
ACOC	e	2.1(0.1)	4.1(0.6)	5.3(0.4)	6.6(1.8)	4-phACHC	j	1.8(0.3)	2.4(0.3)	2.3(0.2)
Stomach					Stomach					
ACBC	a	1.7(0.7)	3.4(0.8)	4.6(0.7)	7.2(2.8)	3-MeACPC	f	5.1(0.8)	6.8(1.1)	7.8(0.5)
ACPC	b	2.1(0.5)	3.1(1.4)	4.3(1.4)	6.6(1.0)	2-MeACHC	g	3.1(0.3)	3.4(0.5)	3.4(0.7)
ACHC	c	1.6(0.5)	3.3(0.3)	4.5(0.5)	5.2(0.6)	3-MeACHC	h	5.2(0.1)	6.1(0.4)	8.3(1.5)
ACHPC	d	1.8(0.3)	2.8(0.6)	4.4(0.3)	4.9(0.7)	4-MeACHC	i	3.2(1.5)	7.1(0.6)	7.7(0.5)
ACOC	e	1.6(0.2)	3.2(0.4)	4.3(0.4)	4.9(0.5)	4-phACHC	j	2.3(0.4)	3.2(0.2)	2.7(0.2)
Small intestine					Small intestine					
ACBC	a	1.5(0.1)	4.4(0.9)	7.3(1.5)	8.4(3.3)	3-MeACPC	f	5.6(1.0)	7.5(1.0)	7.8(0.7)
ACPC	b	2.6(0.5)	4.1(0.9)	5.6(0.8)	8.0(1.4)	2-MeACHC	g	2.9(0.2)	2.9(0.5)	3.3(0.4)
ACHC	c	2.0(0.5)	4.4(0.6)	5.2(0.8)	6.0(0.3)	3-MeACHC	h	5.1(0.5)	6.3(1.3)	7.9(1.2)
ACHPC	d	2.1(0.4)	3.4(0.7)	4.4(0.6)	5.6(0.7)	4-MeACHC	i	3.8(1.8)	7.9(0.7)	7.4(0.4)
ACOC	e	1.8(0.3)	3.4(0.4)	4.4(0.5)	5.2(0.8)	4-phACHC	j	2.1(0.4)	2.9(0.3)	2.5(0.2)
Heart					Heart					
ACBC	a	2.2(0.3)	3.7(1.1)	4.7(1.1)	6.6(1.3)	3-MeACPC	f	4.5(0.8)	6.8(0.9)	6.9(0.7)
ACPC	b	2.4(0.5)	2.2(0.8)	2.9(0.6)	5.5(1.1)	2-MeACHC	g	1.9(0.1)	2.5(0.2)	2.6(0.2)
ACHC	c	1.8(0.5)	3.1(0.4)	4.6(0.8)	5.1(0.3)	3-MeACHC	h	4.2(0.2)	5.8(0.4)	6.0(0.7)
ACHPC	d	1.7(0.2)	2.8(0.7)	4.2(0.7)	5.0(1.0)	4-MeACHC	i	3.0(0.8)	6.2(0.7)	5.9(0.8)
ACOC	e	1.3(0.1)	3.0(0.5)	4.1(0.5)	4.3(1.3)	4-phACHC	j	1.5(0.2)	2.2(0.1)	2.1(0.1)

* Values represent mean (S.D.) (n=4)

側鎖 (R, R') がいずれもエチル基 (-CH₂CH₃) 以上の大きい側鎖を持つ AIB 類似体 (e~q) は一様に腫瘍集積率が低く、同じ炭素骨格数の AIB 類似体と比較すると投与後30分で AMP (m) (12.23±0.75%dose/g) > AEB (o) (9.83±1.52%dose/g) (炭素骨格数が5), また AMH (n) (11.32±1.24%dose/g) > AEP (6.12±0.69%dose/g) (炭素骨格数が6) のように差が見られた。腫瘍/臓器比については腫瘍集積率が最も高かった AIB (k) は肝臓, 胃, 小腸, 腎臓, 膵臓などの腹部臓器への集積率が高いなど, 臓器による差が大きいのにに対し, 側鎖 (R, R') の一方がメチル基である AIB 類似体 (l~n) は膵臓, 腎臓を除く一般臓器への集積率が低く, 臓器による差が少なかった。その結果, 腫瘍/臓器比を比較すると, 腫瘍/肝臓, 肺, 胃, 小腸, 心臓比はいずれも AIB (k) よりも良く, 特に AMB (l) は高値を示した。またエチル基以上の大きさの側鎖 (R, R') を持つ AIB 類似体 (o~q) はさらに臓器特異性が低く, 一般臓器への集積が少ないため比較的腫瘍集積率が低かった AEB (o) (投与後10分, 30分, 60分, 120分でそれぞれ 7.67±1.03, 9.83±1.52, 9.72±1.66, 8.21±1.89%dose/g) の腫瘍/臓器比は AMB (l) と同じくらい高い値を示した。側鎖にフェニル基を持つ AphP (r) は腫瘍集積率, 腫瘍/臓器比のいずれも低い値であった。

2. 全身マクロオートラジオグラフィ

図3は6種の脂環式アミノ酸 (a, b, c, f, h, i) をそれぞれエールリッヒがんを背部に移植したマウスに静注し, 投与後60分に屠殺して得たオートラジオグラムである。6種の脂環式アミノ酸はいずれも腫瘍, 膵臓に強い集積が見られる。また ACBC (a), ACPC (b) は肝臓にも集積が見られる。

図4は5種の AIB 類似体 (k, l, m, n, o) をそれぞれ

エールリッヒがんを背部に移植したマウスに静注し, 投与後60分に屠殺して得たオートラジオグラムである。5種の AIB 類似体はいずれも腫瘍, 腎臓, 膵臓に強い集積が見られる。AIB (k) は肝臓, 胃壁, 腸管, 心臓にもかなり集積が見られる一方, その他の AIB 類似体 (l, m, n, o) は体内分布実験と同様に一般臓器への集積が一様に低いことが視覚的に確認できる。図5にゼラチン溶液で作製した標準線源より得られたフィルム黒化度のデジタル値と1g当りの放射能濃度 (MBq/g) (μ Ci/g) の相関曲線を示す²⁰。相関曲線は双曲線 $1/y = 0.019 + 6.442 \times 10^{-3} \times 1/x$ で近似でき相関係数は $r = 0.99$ であった。表6に AIB (k) と AMB (l) のオートラジオグラムから求めた腫瘍集積率 (%dose/g) と腫瘍/臓器比を示す。臓器摘出法の値と同様の傾向を示した。しかし, 腫瘍集積率はオートラジオグラフィ法のほうが臓器摘出法より30%ほど高値であった。

3. 炎症巣への集積

テレピン油で誘発した炎症巣を右足大腿部に持つマウスを用いた 3-MeACPC (f) と AMB (l) の経時的体内分布を表7に示す。炎症巣への集積率は 3-MeACPC (f), AMB (l) とともに投与後30分でそれぞれ 2.33±0.35, 1.68±0.42%dose/g, 投与後60分で 2.63±0.33, 1.30±0.05%dose/g といずれも血液, 筋肉などの一般臓器への集積率よりも低値を示した。

4. 代謝・排泄

エールリッヒ担がんマウスを用いた ¹⁴C- 標識非天然型アミノ酸 (b, c, f, g, h, i, j, k, l) の投与後24時間までの排泄率を表8に示す。

これらの非天然型アミノ酸はいずれもほとんど尿から排泄され, 尿中の放射能はすべて未代謝の非天然型アミノ酸であった。また排泄率と腫瘍集積率および臓

Table 4. Tumor uptake of ¹⁴C-AIB analogues (k-r) in Ehrlich tumor bearing mice

		10 min	30 min	60 min	120 min
		% dose/g*			
AIB	k	13.59(1.48)	13.39(1.40)	16.95(2.54)	18.39(2.28)
AMB	l	11.16(0.50)	13.28(1.11)	14.40(0.90)	15.27(0.63)
AMP	m	8.91(1.85)	12.23(0.75)	12.26(0.75)	13.47(0.54)
AMH	n	8.19(0.91)	11.32(1.24)	10.98(1.03)	9.93(1.16)
AEB	o	7.67(1.03)	9.83(1.52)	9.72(1.66)	8.21(1.89)
AEP	p	3.35(0.67)	6.12(0.69)	7.54(0.50)	5.21(0.75)
APP	q	5.57(0.80)	5.83(0.57)	4.52(1.00)	4.57(0.83)
AphP	r	5.36(0.92)	5.21(0.63)	4.62(0.41)	2.66(0.67)

* Values represent mean (S.D.) (n=4-8).

器特異性の間に興味ある相関が見られた。例えば6員環の脂環式アミノ酸(c, g, h, i, j)で比較すると腫瘍集積率の低い2-MeACHC(g)や4-phACHC(j)は投与後24時間で95.4%, 93.5%とほとんどがマウス体外に排泄されるが、腫瘍集積率の高いACHC(c)は12.2%と投与後24時間でも高率に体内に残存していた。また3-MeACHC(h)や4-MeACHC(i)のようにACHC(c)と同程度の腫瘍親和性を保持し、さらに臓器特異性が低い非天然型アミノ酸ではそれぞれ50.8%, 37.1%と中間の値を示した。5員環の脂環式アミノ酸(b, f)やAIB類似体(k, l)についても同様の傾向、すな

わち一般臓器への集積率が低く、臓器特異性が低い非天然型アミノ酸は速く体外に排泄された。

考 察

アミノ酸を核医学診断利用しようという試みは、⁷⁵Se 標識セレンメチオニンが膀胱スキャンに応用されて以来²⁴⁾²⁵⁾、膀胱診断²⁶⁾²⁷⁾および腫瘍診断²⁸⁾⁻³³⁾の分野で広く研究がなされている。その中でもポジロン核種である¹⁴C-アミノ酸はポジロン断層を用いることにより定量的評価も可能であるため腫瘍診断薬としての有用性が期待されている。アミノ酸腫瘍診断への応

Table 5. Tumor to tissue ratios ¹⁴C-AIB analogues (o-r) in Ehrlich tumor bearing mice

		Tumor to tissue ratios*				Tumor to tissue ratios*					
		10 min	30 min	60 min	120 min	10 min	30 min	60 min	120 min		
Blood						Blood					
AIB	k	5.1(0.7)	8.1(1.2)	13.5(1.9)	19.6(1.4)	AEB	o	2.3(0.5)	4.6(0.6)	7.8(0.5)	13.3(2.3)
AMB	l	2.7(0.3)	5.0(0.5)	7.6(0.5)	13.3(1.4)	AEP	p	0.8(0.2)	3.4(0.5)	6.5(0.7)	8.8(0.5)
AMP	m	2.1(0.4)	3.8(0.4)	6.4(0.5)	9.5(0.9)	APP	q	1.6(0.3)	3.0(0.6)	4.8(1.8)	9.1(1.5)
AMH	n	1.5(0.3)	3.7(0.4)	5.3(1.1)	6.1(0.5)	AphP	r	1.1(0.2)	1.9(0.2)	4.6(0.4)	6.0(1.3)
Muscle						Muscle					
AIB	k	12.2(1.4)	14.9(2.1)	14.0(1.7)	15.6(2.4)	AEB	o	10.8(1.3)	12.6(3.8)	16.2(1.5)	16.4(4.1)
AMB	l	8.8(1.6)	12.1(1.4)	12.4(0.9)	13.4(1.8)	AEP	p	2.6(0.6)	7.6(0.8)	9.0(1.0)	8.1(0.0)
AMP	m	7.0(1.1)	7.5(0.6)	7.1(0.6)	9.3(0.8)	APP	q	4.6(0.5)	5.4(0.8)	5.0(1.2)	6.4(1.1)
AMH	n	3.8(0.3)	5.6(0.6)	5.4(0.9)	5.7(0.5)	AphP	r	3.4(0.6)	3.9(0.4)	4.4(0.1)	3.9(0.6)
Liver						Liver					
AIB	k	3.1(1.4)	1.9(0.5)	2.1(0.4)	2.3(0.4)	AEB	o	3.9(0.6)	4.8(1.3)	5.9(0.6)	10.6(1.5)
AMB	l	4.7(0.5)	5.0(0.4)	5.2(0.9)	8.2(0.9)	AEP	p	1.1(0.2)	2.8(0.2)	5.2(0.7)	7.2(1.2)
AMP	m	2.6(0.3)	4.1(0.4)	6.0(0.9)	8.5(0.9)	APP	q	1.3(0.2)	2.1(0.4)	3.5(1.4)	7.5(1.8)
AMH	n	2.1(0.2)	4.1(0.5)	5.3(0.5)	6.2(0.6)	AphP	r	1.3(0.2)	1.8(0.1)	3.7(0.1)	5.2(1.0)
Lung						Lung					
AIB	k	2.9(0.4)	4.1(0.7)	6.6(1.2)	8.0(1.0)	AEB	o	2.2(0.2)	4.0(0.5)	5.3(0.4)	9.7(1.8)
AMB	l	2.2(0.3)	4.7(0.6)	5.7(0.4)	9.5(1.1)	AEP	p	0.9(0.2)	2.9(0.3)	4.9(0.5)	6.2(0.3)
AMP	m	2.1(0.5)	3.8(0.3)	6.7(0.5)	9.6(0.8)	APP	q	1.5(0.1)	3.0(0.7)	3.8(1.0)	7.2(1.2)
AMH	n	1.7(0.3)	3.7(0.4)	6.1(1.1)	7.6(0.8)	AphP	r	1.3(0.3)	2.1(0.2)	4.8(0.1)	6.3(1.4)
Stomach						Stomach					
AIB	k	2.0(0.4)	2.3(0.5)	2.7(0.4)	3.9(0.6)	AEB	o	3.1(0.7)	5.3(0.8)	6.6(0.3)	10.6(1.9)
AMB	l	3.0(0.5)	4.7(0.7)	5.8(0.4)	10.3(1.2)	AEP	p	1.5(0.3)	3.7(0.2)	6.7(0.5)	7.4(0.6)
AMP	m	2.8(0.6)	4.3(0.4)	6.6(0.5)	8.8(0.7)	APP	q	2.8(0.5)	3.7(0.7)	4.9(1.3)	8.0(1.3)
AMH	n	2.3(0.3)	4.1(0.4)	5.9(1.4)	7.3(0.7)	AphP	r	2.4(0.5)	4.0(1.2)	5.1(0.1)	5.6(1.1)
Small intestine						Small intestine					
AIB	k	1.8(0.3)	1.8(0.2)	3.9(0.3)	3.8(0.7)	AEB	o	2.7(0.5)	5.2(1.0)	7.2(0.2)	12.6(3.0)
AMB	l	2.5(0.4)	4.7(0.5)	6.6(0.9)	10.9(1.2)	AEP	p	1.0(0.3)	3.5(0.4)	6.2(0.4)	8.1(0.5)
AMP	m	2.6(0.6)	4.2(0.4)	7.1(0.8)	9.6(0.8)	APP	q	1.9(0.1)	3.2(0.5)	4.5(1.8)	6.7(1.5)
AMH	n	1.9(0.2)	4.6(0.4)	5.9(0.9)	7.1(0.9)	AphP	r	1.5(0.3)	2.3(0.2)	4.6(0.3)	5.7(1.1)
Heart						Heart					
AIB	k	6.0(1.0)	3.9(0.7)	3.8(0.3)	3.4(0.7)	AEB	o	6.0(0.8)	10.9(2.4)	9.6(0.9)	12.0(1.8)
AMB	l	5.5(0.4)	5.5(1.1)	5.9(0.6)	7.8(1.0)	AEP	p	2.1(0.8)	5.4(1.9)	7.6(0.9)	7.1(0.4)
AMP	m	4.9(1.5)	6.7(1.2)	6.6(0.6)	8.6(0.7)	APP	q	2.6(0.4)	3.6(0.5)	3.9(1.4)	5.6(1.2)
AMH	n	3.4(0.6)	4.1(0.5)	5.1(0.7)	7.2(0.9)	AphP	r	2.8(0.5)	3.7(0.3)	4.3(0.2)	3.8(0.8)

* Values represent mean (S.D.) (n=4-8)

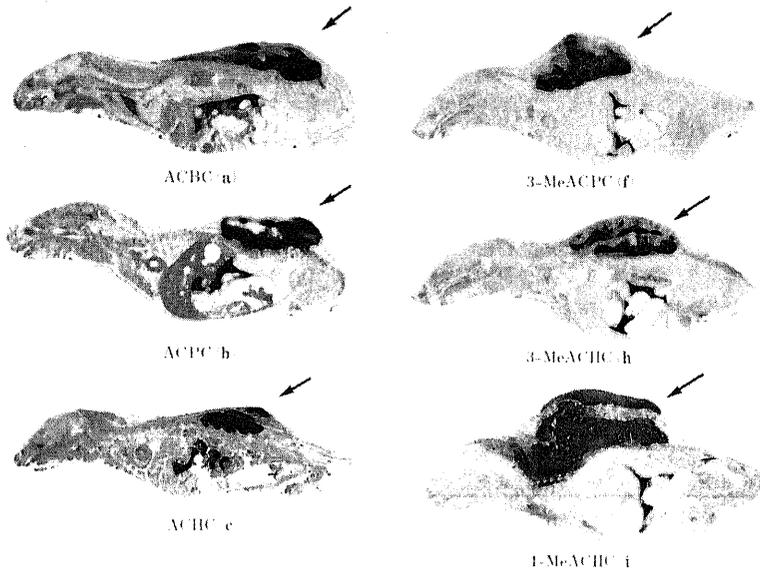


Fig. 3. Autoradiograms of Ehrlich tumor (arrows) bearing mice at 60min after being injected with ^{14}C -labeled alicyclic amino acids (a, b, c, f, h, i).

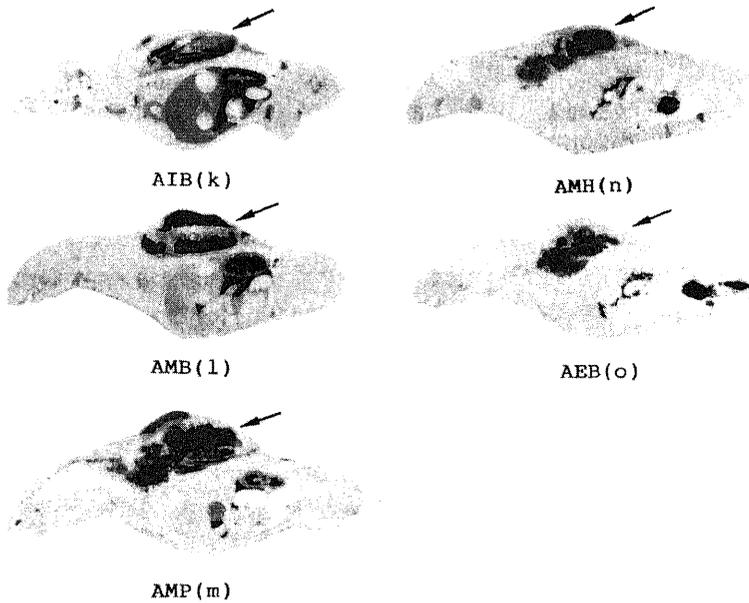


Fig. 4. Autoradiograms of Ehrlich tumor (arrows) bearing mice at 60min after being injected with ^{14}C -labeled analogues of AIB (k, l, m, n, o).

用は、①腫瘍組織では一般に正常組織よりアミノ酸代謝、タンパク代謝が亢進している。②腫瘍の細胞膜の変化によりアミノ酸の膜輸送能が変化しているなどの腫瘍と正常組織との生理的・生化学的相違に基づいて、腫瘍の診断ならびに治療効果の評価に利用しよう

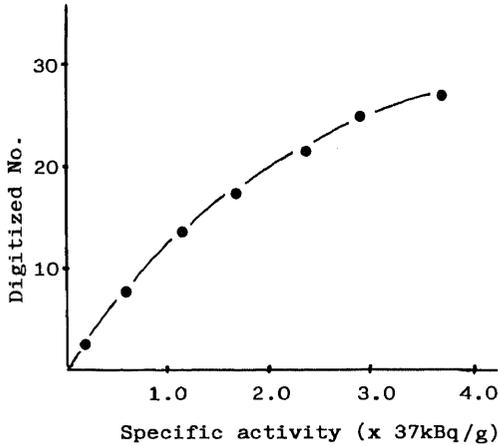


Fig. 5. Correlation between specific activity and digitized number measured by VDS.

というものである。現在までにいろいろな天然型アミノ酸および非天然型アミノ酸について検討されてきたが、その中で非天然型アミノ酸である ACPC や AIB は腫瘍親和性に優れているとされている。ACPC は最初、悪性腫瘍に対して成長を阻害する抗腫瘍薬剤として開発され³⁴⁾³⁵⁾、また ¹⁴C- 標識 ACPC によるオートラジオグラフィ研究により腫瘍に選択的に集積することも報告された¹⁹⁾。その後、ポジトロン核種である ¹¹C で標識した ¹¹C-ACPC が合成され、動物実験⁷⁾ならびに臨床評価⁸⁾³⁶⁾が行われてきた。しかし ACPC は腫瘍親和性は優れているものの、他の一般臓

Table 6. Tumor uptakes and tumor to tissue ratios obtained from quantitative autoradiograms

	Tumor uptakes (% dose/g)	Tumor to tissue ratios	
		Muscle	Liver
AMB	18.9	26.6	10.4
AIB	24.5	36.3	4.3

Table 7. Tissue distribution of ¹⁴C-3-MeACPC and ¹⁴C-AMB in Ehrlich tumor bearing mice

	3-MeACPC (f)		AMB (l)	
	30 min	60 min	30 min	60 min
Inflammation	2.33(0.35)	2.63(0.33)	1.68(0.42)	1.30(0.05)
Blood	3.00(0.13)	2.64(0.27)	2.13(0.13)	1.06(0.07)
Muscle	3.52(0.02)	3.30(0.28)	1.32(0.18)	1.14(0.16)
Liver	3.22(0.24)	2.86(0.30)	2.53(0.32)	2.07(0.26)
Lung	2.78(0.17)	2.29(0.15)	2.46(0.23)	1.57(0.09)
Stomach	3.47(0.12)	3.37(0.09)	3.07(0.26)	1.63(0.12)

* Values represent mean (S.D.) (n=4).
Normalized to body weight of 25 g.

Table 8. Total excretion of ¹⁴C-unnatural amino acids (b, c, f, g, h, i, j, k, l) in Ehrlich tumor bearing mice (% of dose)

		Total excretion	Urine	Feces	CO ₂
ACPC	b	8.6%	7.9%	0.9%	—
ACHC	c	12.2%	12.0%	0.2%	—
3-MeACPC	f	29.2%	28.7%	0.5%	—
2-MeACHC	g	95.4%	95.1%	0.3%	—
3-MeACHC	h	50.8%	48.7%	2.1%	—
4-MeACHC	i	37.1%	36.7%	0.4%	—
4-phACHC	j	93.5%	92.0%	1.5%	—
AIB	k	48.6%	47.5%	1.1%	—
AMB	l	92.3%	92.0%	0.3%	—

器への集積もかなりみられ投与後短時間での腫瘍/臓器比が低く ^{14}C 等の半減期の短いポジロン核種標識を目標とする場合、問題が多い。

AIB は Schmall ら³⁰⁾によって ^{14}C - 標識合成され、腫瘍親和性に優れていることから腫瘍診断³⁰⁾や治療効果の判定³⁰⁾などへの利用の可能性について検討されてきた。しかし、AIB は肝臓、胃、小腸等の一般臓器への集積も高く、適用範囲が脳腫瘍、骨肉腫等に限られている。このように ACPC や AIB のような非天然型アミノ酸は腫瘍親和性に優れているものの、他臓器への集積も高いという欠点がある。しかし、ACPC や AIB のような非天然型アミノ酸 (特に、 α 位に水素を有しないアミノ酸) の化学構造を修飾して、その特異的腫瘍親和性を保持しながら、一般臓器への集積のみ低下させることが可能ならば、腫瘍診断薬としての有用性が高まると期待される。そこで、ACPC と AIB の構造を修飾した18種の類似体をデザインし、腫瘍診断薬としての可能性について検討した。

まず、18種の非天然型アミノ酸の ^{14}C - 標識合成について検討した。脂肪族 α -アミノ酸の合成法としては① α -ハロゲンカルボン酸からアミノ基を導入する方法、②アシルアミノマロン酸エステルから合成する方法、③アズラクトンを経由する方法、④シアノヒドリンを経由する方法 (Strecker 法) や、⑤ヒダントインを経由する方法 (Bücherer 法) 等が知られている。今回目的とする α 位に水素を有しない非天然型人工アミノ酸 ($a\sim r$) の ^{14}C - 標識合成法としてはケトン類を出発原料とする Bücherer 法が適している。そこでまず、従来から報告されている ^{14}C - 標識アミノ酸の合成法³⁰⁾について検討した。なお、比放射能は動物実験における ^{14}C - 標識アミノ酸の投与量 ($2\sim 4\ \mu\text{mol}/\text{kg}$)⁷⁾を参考にすると ^{14}C - 標識アミノ酸の比放射能は最低約 222MBq (6mCi)/mmol 必要と考えられた。しかし、従来の方法ではその放射化学的収率が低かった。その原因として、①加熱反応中に ^{14}C -KCN が ^{14}C - シアン化水素 (^{14}C -HCN) ガスとなり、また水溶液中で酸化的分解を起こしやすいため、反応溶液外へ逃げることから ^{14}C -KCN の損失が生じる。②アルカリ加水分解が還流時の温度条件 ($100\sim 110^\circ\text{C}$) ではうまく進行しない等が考えられる。また、この条件で目的の比放射能を得るには一度に高い放射能 ($18.5\sim 37\text{MBq}$ ($500\sim 1000\ \mu\text{Ci}$)) を使用しなくては合成困難であるため、研究室レベルの合成としては非常に不経済であり実用的でない。そこで Bücherer 法を高温・密封条件下で行えるように改良を加え、 ^{14}C -KCN の揮発および分解による損失を防ぎ、また加水分解反応も

完全に進行するように工夫した。その結果、 3.7MBq ($100\ \mu\text{Ci}$) という少量の放射能の ^{14}C -KCN から高い放射化学的収率 ($55.6\sim 94.1\%$) で目的の比放射能の ^{14}C - 標識人工アミノ酸が得られた。また、この方法を用いて無担体の ^{14}C -KCN (2.17GBq (58.63mCi)/mmol) のみで ACPC の ^{14}C - 標識合成を行った結果、 1.93GBq (52.1mCi)/mmol という高比放射能で、しかも比較的高い放射化学的収率 (64.9%) で ^{14}C - 標識 ACPC が合成できた。 ^{14}C - 標識アミノ酸の合成は ^{14}C - 核種の半減期が約20分と短いことからできるだけ合成時間を短くする必要があるが、この方法は改良することにより充分 ^{14}C - 標識合成に応用可能であると考えられる。

つぎに、合成した18種の ^{14}C - 標識アミノ酸の構造と腫瘍親和性の相関性について検討した。ACPC のような脂環式アミノ酸は環が小さいほど、腫瘍集積性が高く、また時間経過とともに著しい増加傾向を示した。側鎖の種類および位置による影響は、アミノ酸の官能基 (NH_2 , $-\text{COOH}$) のついた α -炭素に隣接する炭素上に側鎖 (メチル基) が存在する場合や、フェニル基のような大きな側鎖が存在する場合、脂環式アミノ酸の腫瘍特異性 (腫瘍/臓器比) がなくなり腫瘍親和性 (腫瘍集積率) が著しく減少した。一方、アミノ酸の官能基から離れた位置 (3位および4位) にメチル基を持つものは脂環式アミノ酸の優れた腫瘍親和性を保持し、さらに一般臓器への集積が減少するため腫瘍特異性が増した。AIB 類似体は両側鎖 (R, R') の種類によって腫瘍親和性に違いが見られた。

側鎖の一方がメチル基の AIB 類似体はアミノ酸の炭素骨格数の増加に伴い腫瘍親和性は減少した。また両側鎖がエチル基以上の大きさの側鎖を持つ AIB 類似体は一樣に腫瘍親和性が減少し、炭素骨格数が同じでも側鎖の一方がメチル基の AIB 類似体に比べて腫瘍親和性が低かった。腫瘍特異性について見てみると、AIB は腫瘍親和性は高いものの肝臓、胃、小腸、腎臓、膵臓などの腹部臓器への集積も高く腫瘍特異性が優れているとはいえない。逆に両側鎖がエチル基以上の大きな側鎖を持つ AIB 類似体は一般臓器への集積が一樣に低く、臓器による差は少ないが (膵臓、腎臓を除く)、腫瘍親和性は AIB に比べかなり低くなっている。側鎖の一方がメチル基で炭素骨格数が比較的少ない AIB 類似体は AIB の持つ優れた腫瘍親和性を保持し、さらに一般臓器への集積が一樣に低く (膵臓、腎臓を除く)、腫瘍特異性に優れていた。

一般に細胞の悪性腫瘍化に伴いアミノ酸、糖のような栄養素などの取り込みが増加することが数多く報告

されている^{40)~42)}。この場合、細胞膜に存在する機能的なアミノ酸キャリアーの数が増加し^{40)~42)}、その性質も変化⁴⁰⁾していると考えられる。非天然型アミノ酸である ACPC はアラニン系およびロイシン系の両輸送システムを介して、また AIB は主にアラニン系輸送システムを介して腫瘍の細胞膜を通り腫瘍細胞に取り込まれると考えられる。脂環式アミノ酸類や AIB 類似体の腫瘍親和性はその構造変化、すなわち脂環式アミノ酸の場合は環の大きさや側鎖の位置および種類、また AIB 類似体の場合は炭素骨格の大きさや側鎖の種類、に大きく影響をうける。これは脂環式アミノ酸の環や AIB 類似体の炭素骨格数が大きくなるにつれてアミノ酸キャリアーのアミノ酸結合部位とそれらのアミノ酸の結合が立体的に困難になり、アミノ酸キャリアーがそれらをアミノ酸として認識しにくくなるためと考えられる。しかし、3-MeACPC (f)、3-MeACHC (h)、4-MeACHC (i) のようなアミノ酸の α 炭素から離れた位置に比較的小さな側鎖 (メチル基) を有する脂環式アミノ酸は、腫瘍への取り込みが ACPC (b) や ACHC (c) とあまり差がなく同程度の腫瘍親和性を保持しており、また同じように AIB 類似体でも AIB にメチル基やエチル基を一つだけ導入した AMB (l) や AMP (m) は AIB (k) と同じように高い腫瘍親和性を保持していた。この理由として腫瘍の細胞膜のアミノ酸キャリアーはその性質が変化し、アミノ酸に対する特異性がかなり低下しているためと考えられる。一方、正常組織の細胞膜ではアミノ酸キャリアーの変化が起こっていないためアミノ酸に対する認識能力が高く、側鎖 (メチル基やエチル基) の存在による構造的相違を認識し、その結果、3-MeACPC (f)、3-MeACHC (h)、4-MeACHC (i)、AMB (l)、AMP (m) は正常組織への取り込みも少なく、またすみやかに組織外へ排泄されると考えられた。

今回合成した非天然型アミノ酸はいずれもほとんど未変化のまま尿から排泄されるが、投与後24時間で ACPC (b) や ACHC (c) がそれぞれ投与量の8.6%、12.2%しか体外へ排泄されないのに対し、3-MeACPC (f)、3-MeACHC (h)、4-MeACHC (i) はそれぞれ29.2%、50.8%、37.1%と速く体外へ排泄され、さらに 2-MeACHC (g)、4-phACHC (j) はそれぞれ95.4%、93.5%と大部分が排泄された。同じように AMB (l) も投与後24時間で92.3%と AIB の48.6%に比べ速やかに体外へ排泄された。このように 3-MeACPC (f) や AMB (l) は ACPC (b) や AIB (k) と同様に腫瘍のアミノ酸代謝亢進に伴い腫瘍に高率に取り込まれるが、細胞内で代謝をうけず細胞外に排泄され

くため、時間経過とともに増加傾向を示す。一方、一般臓器では 3-MeACPC (f) や AMB (l) の方が迅速に組織細胞から洗い出され尿から体外へ排泄される。その結果 3-MeACPC (f) や AMB (l) の方が腫瘍/臓器比が有意に高値を示すと考えられる。

全身オートラジオグラムは①全身レベルでの目的物質の臓器分布が体液成分を含めた直接濃度という形で視覚的に捉えられる、②解像力に優れ臓器内不均一性も調べられる、③ポジトロン断層 (PET) と同様のイメージがえられる、などポジトロン断層用の放射性薬剤の研究をする上で極めて有利な方法と考えられる。そこで今回、オートラジオグラムの定量化を試み臓器摘出法と比較を行った。¹⁴C-標準線源として20%ゼラチンをベースとして8種類の濃度のものを作製した。フィルム濃度測定法としてビデオディジタイゼーションシステムを使用したところフィルム黒化度のデジタル値と1g当りの放射能濃度 (MBq/g) (μ Ci/g) の相関は $1/Y = 0.019 + 6.442 \times 10^{-3} \times 1/X$ で近似でき相関係数は $r = 0.99$ と非常に良い相関を示した。オートラジオグラムから視覚的に腫瘍像を見ると腫瘍内に壊死部も観察され不均一分布を示したが、関心領域 (region of interest, ROI) を壊死部を含まないように設定して腫瘍集積率 (%dose/g) を求めたところ、臓器摘出法の値より約30%ほど高値を示した。このことから不均一分布を示すような場合はオートラジオグラムのほうが定量性に優れていると思われる。しかし、オートラジオグラムの試料切片の厚さは $20 \mu\text{m}$ と薄く ¹⁴C (β^- : 156keV) の場合試料切片の状態や厚さが不均一であるとそのまま黒化度に影響するため、試料切片を作製する際、厚さが不均一にならないように留意する必要がある。

以上より今回著者が検討した18種の非天然型アミノ酸のうち、脂環式アミノ酸では 3-MeACPC (f) が、また AIB 類似体では AMB (l) が腫瘍親和性および腫瘍特異性に優れており、また炎症巣への集積も見られないことから、適応範囲の広い ¹⁴C 用の優れた腫瘍診断薬になりうると考えられた。また、脂環式アミノ酸類に関しては今回原料の合成が極めて困難 (特殊な実験装置が必要) であったため合成できなかった4員環である ACBC (a) の3位の位置にメチル基を有する 1-amino-3-methyl-cyclobutanoic acid (3-MeACBC) が腫瘍親和性および腫瘍特異性に優れた非天然型アミノ酸である可能性が高いと考えられた。

結 論

新しい腫瘍診断薬の開発を目的とし、 α 位に水素を

有しない脂環式アミノ酸と AIB 類似体18種の非天然型アミノ酸について腫瘍モデル実験により構造と腫瘍親和性との間における相関性について検討した結果、以下の結論を得た。

1. 18種の非天然型アミノ酸を Bücherer 法の改良により ^{14}C -標識合成を行い、3.7MBq (100 μCi) という少量の放射能の ^{14}C -シアン化カリウム (KCN) から高い放射化学的収率 (55.6%~94.1%) および高い放射化学的純度 (>99%) で目的の高比放射能 (222MBq (6.0mCi)~1.93GBq (52.1mCi)/mmol) の ^{14}C -標識非天然型アミノ酸を合成することができた。また、この方法は反応温度を上げることにより ^{14}C -標識化にも応用できると考えられる。

2. 脂環式アミノ酸類の構造と腫瘍親和性の相関性に関して、エールリッヒ担がんマウスを用いて10種の脂環式アミノ酸 (a~j) について比較検討したところ、ACBC (4員環) > ACPC (5員環) > ACHC (6員環) > ACHPC (7員環) > ACOC (8員環) の順で腫瘍集積率が高く、環が小さいほど腫瘍親和性が高くなる傾向を示した。また側鎖による影響はアミノ酸の官能基 (-NH₂, -COOH) から離れた位置に比較的小さい側鎖 (メチル基) を有する脂環式アミノ酸は一般臓器への集積率が一樣に低くなる一方、腫瘍集積率は保持されるため腫瘍特異性が高くなる傾向を示した。著者が検討した脂環式アミノ酸の中では5員環で3位にメチル基側鎖を持つ 3-MeACPC が腫瘍親和性および腫瘍特異性に優れていた。

3. AIB 類似体の構造と腫瘍親和性の相関性に関して、エールリッヒ担がんマウスを用いて8種の AIB 類似体について比較検討したところ、AIB を基本構造として側鎖の一方がメチル基の場合はもう一方の側鎖が長くなるにつれて、すなわち炭素骨格数が増えるほど腫瘍親和性が低下した。また両側鎖がエチル基以上の大きさの場合、腫瘍親和性は AIB に比べかなり減少した。一方腫瘍特異性は炭素骨格数 (カルボキシル基 (-COOH) の炭素を含まない) が4および5の AIB 類似体が優れていた。著者が検討した AIB 類似体の中では炭素骨格数が4である AMB が腫瘍親和性および腫瘍特異性に優れていた。

4. エールリッヒ担がんを背部に移植したマウスを用いた全身オートラジオグラフィでの検討の結果、非天然型アミノ酸はいずれも腫瘍組織内に取り込まれているのが視覚的に確認できた。またゼラチンを標準線源として、ビデオディジタイザーシステムにより定量化を行った結果、腫瘍などのような不均一分布を示す組織については臓器摘出法よりオートラジオグラフィ

のほうが定量性に優れていた。

5. 腫瘍親和性および腫瘍特異性に優れた非天然型アミノ酸である 3-MeACPC と AMB についてテレピン油で誘発した実験炎症巣への集積性を検討したところ、いずれも炎症巣への集積性は低く ^{67}Ga -citrate と違い腫瘍と炎症の区別は容易であると考えられた。

6. 非天然型アミノ酸類はほとんど尿から排泄され、尿の TLC 分析の結果、未変化体のまま排泄されていた。また高い腫瘍特異性を示す非天然型アミノ酸ほど排泄速度が速かった。

以上より脂環式アミノ酸では 3-MeACPC、また AIB 類似体では AMB が高い腫瘍親和性および高い腫瘍特異性を有しており、 ^{67}Ga -citrate より優れた腫瘍親和性物質であり、 ^{14}C のようなポジロン核種で標識することによりポジロン断層用の優れた放射性腫瘍診断薬になることが期待された。

謝 辞

稿を終えるに臨み、終始御指導、御校閲を賜りました恩師久田欣一教授に謹んで謝意を表します。また、貴重な御指導、助言を賜りました金沢大学アイソトープ総合センター森 厚文助教授、金沢医療短期大学部安東 醇教授、金沢大学医学部核医学講座松田博史先生、並びに教室員各位に深く感謝致します。

文 献

- 1) Edward, C. L. & Hayes, R. L.: Tumor scanning with ^{67}Ga citrate. *J. Nucl. Med.*, **10**, 103-205 (1969).
- 2) Henkin, R. E.: Gallium-67 in the diagnosis of inflammatory disease. In P. B. Hoffer., C. Bekerman & R. E. Henkin (eds.), *Gallium-67 Imaging*, 1st ed., p65-92, John Wiley & Sons Inc., New York, 1978.
- 3) Som, P., Atkins, H. L., Bandoypadhyay, D., Fowler, J. S., Macgregor, R. R., Matsui, K., Oster, Z. H., Sacker, D. F., Shiue, C. Y., Turner, H., Wan, C-N., Wolf, A. P. & Zabinski, S. V.: A fluorinated Glucose analog, 2-fluoro-2-deoxy-D-glucose (F-18); Nontoxic tracer for rapid tumor detection. *J. Nucl. Med.*, **21**, 670-675 (1980).
- 4) Paul, R., Roeda, D., Johansson, R., Ahonen, A., Haaparanta, M., Solin, O. & Sipila, H.: Scintigraphy with [F-18]2-fluoro-2-deoxy-D-glucose of cancer patients. *Nucl. Med. Biol.*, **13**, 7-12 (1986).
- 5) Ishiwata, K., Yamaguchi, K., Kaneyama,

- M., Fukuda, H., Tada, M., Matsuzawa, T., Muraishi, K., Itoh, J., Kawashima, K., Takahashi, T. & Ido, T.: 2-Deoxy-2-[F-18] fluoro-D-galactose as an in vivo tracer for imaging galactose metabolism in tumor with positron-emission tomography. *Nucl. Med. Biol.*, **16**, 247-254 (1989).
- 6) Paul, R., Aho, K., Bergman, J., Haaparanta, M., Kulmala, J., Reissell, A. & Solin, O.: Imaging for rats with mammary cancer with two 2-deoxy-2-[F-18] fluoro-D-hexose. *Nucl. Med. Biol.*, **16**, 449-453 (1989).
- 7) Hayes, R. L., Washburn, L. C., Wieland, W., Sun, T. T., Turtle, R. R. & Butler, T. A.: Carboxy labeled ¹⁴C-1-aminocyclopentane carboxylic acid, a potential agent for cancer detection. *J. Nucl. Med.*, **17**, 748-751 (1976).
- 8) Huber, K. F., Andrews, G. A., Washburn, L., Wieland, B. W., William, D. G., Hayes, R. L., Butler, T. A. & Winebrenner, J. D.: Tumor location with 1-aminocyclopentane [¹⁴C]carboxylic acid: preliminary clinical trials with single-photon detection. *J. Nucl. Med.*, **18**, 1215-1221 (1977).
- 9) Conti, P. S., Sordillo, E. M., Sordillo, P. P. & Schmall, B.: Tumor localization of alpha-aminoisobutyric acid (AIB) in human-melanoma heterotransplants. *Eur. J. Nucl. Med.*, **10**, 45-47 (1985).
- 10) Kubota, K., Matsuzawa, T., Ito, M., Ito, K., Fujiwara, T., Abe, Y., Yoshioka, S., Fukuda, H., Hatazawa, J., Iwata, R., Watanuki, S. & Ido, T.: Lung tumor imaging by positron emission tomography using C-11 L-methionine. *J. Nucl. Med.*, **26**, 37-42 (1985).
- 11) Larson, S. M., Grunbaum, Z. & Rasey, J. S.: Positron imaging feasibility: selective tumor concentration of ³H-thymidine, ³H-uridine and ¹⁴C-2-deoxyglucose. *Radiology.*, **134**, 771-773 (1980).
- 12) Larson, S. M., Weiden, P. L., Grunbaum, Z., Rasey, J. S., Kaplan, H. G., Graham, M. M., Harp, G. D., Sale, G. E. & Williams, D. L.: Positron imaging feasibility studies. I: characteristics of [³H] thymidine uptake in rodent and canine neoplasms: concise communication. *J. Nucl. Med.*, **22**, 869-874 (1981).
- 13) Abe, Y., Fukuda, H., Ishiwata, K., Yoshioka, S., Yamada, K., Endo, S., Kubota, K., Sato, T., Matsuzawa, T., Takahashi, T. & Ido, T.: Studies on ¹⁸F-labeled pyrimidines. tumor uptake of ¹⁸F-5-fluorouracil, ¹⁸F-5-fluorouridine and ¹⁸F-5-fluorodeoxyuridine in animals. *Eur. J. Nucl. Med.*, **8**, 258-261 (1983).
- 14) Visser, G. W. M., Zwaagstra, O., Gorree, G. C. M., Moonen, P., Herscheid, J. D. M. & Hoekstra, A.: Synthesis and tumour-localizing properties of [¹⁸F]-5-fluorocytosin-arabinoside and [¹⁸F]-5-fluorocytidine. *Eur. J. Nucl. Med.*, **12**, 137-140 (1986).
- 15) Welch, M. J., Coleman, R. E., Straatmann, M. G., Asberry, B. E., Primean, J. L., Fair, W. R. & Ter-Pogossian, M. M.: Carbon-11-labeled methylated polyamine analogs: uptake in prostate and tumor in animal models. *J. Nucl. Med.*, **18**, 74-78 (1977).
- 16) Hiesiger, E., Fowler, J. S., Wolf, A. P., Logan, J., Brodie, J. D., Mcpherson, D., MacGregor, R. R., Christman, D. R., Volkow, N. D. & Flamm, E.: Serial PET studies of human cerebral malignancy with [1-¹⁴C] putrescine and [1-¹⁴C] 2-deoxy-D-glucose. *J. Nucl. Med.*, **28**, 1251-1261 (1987).
- 17) Hwang, D. R., Lang, L., Mathias, C. J., Kadmon, D. & Welch, M. J.: N-3-[¹⁸F] fluoropropylputrescine as potential PET imaging agent for prostate and prostate derived tumors. *J. Nucl. Med.*, **30**, 1025-1210 (1989).
- 18) Tamemasa, O., Goto, R. & Suzuki, T.: Preferential incorporation of some ¹⁴C-labeled D-amino acids into tumor-bearing animals. *Gann.*, **69**, 517-523 (1978).
- 19) Berlinguet, L., Begin, N. & Babinean, L. M.: Autoradiographic studies of the distribution of 1-aminocyclopentane carboxylic acid in normal and cancerous mice. *Can. J. Biochem.*, **40**, 1111-1114 (1962).
- 20) Blasberg, R. & Lajtha, A.: Substrate specificity of steady state amino acid transport in mouse brain slices. *Arch. Biochem. Biophys.*, **112**, 361-377 (1965).
- 21) Schmall, B., Conti, P. S., Bigler, R. E., Zanzonico, P. B., Bahl, J. R., Sundoro-Wu, B. M., Jacobsen, J. K. & Lee, R.: Synthesis and

- quality assurance of C-11 alpha-aminoisobutyric acid (AIB), a potential radiotracer for imaging and amino acid transport studies in normal and malignant tissues. *Int. J. Nucl. Med. Biol.*, **3/4**, 209-214 (1984).
- 22) 辻 志郎：神経核医学画像診断法による受容体マッピングに関する基礎的研究。十全医会誌, **97**, 376-399 (1988).
- 23) 隅屋 寿：ラット脳における N-isopropyl- ^{125}I iodoamphetamine と ^3H -deoxyglucose を用いた定量的二重標識オートラジオグラフィに関する研究。十全医会誌, **96**, 321-337 (1987).
- 24) Blau, M. & Manske, R. F.: The pancreas specificity of ^{76}Se -selenomethionine. *J. Nucl. Med.*, **2**, 102-105 (1961).
- 25) Balu, M. & Bender, M. A.: ^{76}Se -selenomethionine for visualization of the pancreas by isotope scanning. *Radiology.*, **78**, 974 (1962).
- 26) Atkins, H. L., Christman, D. R. & Fowler, J. S.: Organic radiopharmaceuticals labeled with isotopes of short half-life, V. ^{18}F -labeled 5-and-6-fluorotryptophan. *J. Nucl. Med.*, **13**, 713-719 (1972).
- 27) Lambrecht, R. M., Atkins, H. & Elias, H.: A novel 1231-labeling reagent. XIII. Synthesis and loading-dose effects of ^{125}I -4-iodophenylalanine and ^{125}I -5-and-6-iodotryptophan. *J. Nucl. Med.*, **15**, 863-867 (1974).
- 28) Gelgard, A. S., Christine, T. R., Clark, L. P. & Laughlin, J. S.: Imaging of Spontaneous canine tumors with ammonia and L-glutamine labeled with N-13. *J. Nucl. Med.*, **18**, 718-723 (1977).
- 29) Reiman, R. E., Benna, R. S., Gelbard, A. S., Allen, J. S., Vomero, J. J. & Laughlin, J. S.: Imaging of brain tumors after administration of L- ^{13}N -glutamate: concise communication. *J. Nucl. Med.*, **23**, 682-687 (1982).
- 30) Washburn, L. C., Wieland, B. W. & Sun, T. T.: ^{14}C DL-valine, a potential pancreas imaging agent. *J. Nucl. Med.*, **19**, 77-83 (1978).
- 31) Washburn, L. C., Sun, T. T. & Byrd, L. B.: DL-(carboxy- ^{14}C)tryptophan, a potential agent for pancreatic imaging; production and preclinical investigations. *J. Nucl. Med.*, **20**, 857-864 (1979).
- 32) Meyer, G. J., Scholber, O. & Hundeshagen, H.: Uptake of ^{14}C -L-and-D-methionine in brain tumors. *Eur. J. Nucl. Med.*, **10**, 373-376 (1985).
- 33) Bolster, J. M., Vaalburg, W., Paans, A. M. J., Van Dijk, T. H. & Elsinger, P. H.: Carbon-11 labeled tyrosine to study tumor metabolism by positron emission tomography (PET). *Eur. J. Nucl. Med.*, **12**, 321-324 (1986).
- 34) Martel, F. & Berlinguet, L.: Impairment of tumor growth by unnatural amino acids. *Can. J. Biochem. Physiol.*, **37**, 433-439 (1959).
- 35) Connors, T. A., Elson, L. A., Haddow, A. & Rose, W. C. J.: The pharmacology and tumor growth inhibitory activity of 1-aminocyclopentane-1-carboxylic acid and related compounds. *Biochem. Pharmacol.*, **5**, 108-129 (1960).
- 36) Hubner, K. F., Krauss, S., Washburn, L. C., Gibbs, W. D. & Holloway, E. C.: Tumor detection with 1-aminocyclopentane and 1-aminocyclobutane C-11-carboxylic acid using positron emission computerized tomography. *Clin. Nucl. Med.*, **6**, 249-252 (1981).
- 37) Schmall, B. & Bigler, R. E.: Radiolabeled drugs: Use of positron emitting radionuclides. In Spencer, R. P. (ed.), *Radiopharmaceuticals: Structure-activity relationships*, 1st ed., p769-800, Grune & Stratton Inc., New York, 1981.
- 38) Conti, P. S., Sordillo, P. P., Schmall, B., Benua, R. S., Bading, J. R., Bieler, R. E. & Laughlin, J. S.: Tumor imaging with carbon-11 labeled alpha-aminoisobutyric acid (AIB) in a patient with advanced malignant melanoma. *Eur. J. Nucl. Med.*, **12**, 353-356 (1986).
- 39) Sterling, W. R., Henderson, J. F., Mandel, H. G. & Smith, P. K.: The metabolism of 1-aminocyclopentane-1-carboxylic acid in normal and neoplastic tissues. *Biochem. pharmacol.*, **11**, 135-145 (1962).
- 40) Foster, D. O. & Pardee, A. B.: Transport of amino acids by confluent and nonconfluent 3T3 and polyoma virus-transformed 3T3 cells growing on glass cover slips. *J. Biol. Chem.*, **144**, 2675-2681 (1969).
- 41) Isselbacher, K. J.: Increased uptake of amino acids and 2-deoxy-D-glucose by Virus-transformed cells in culture. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **69**, 585-589 (1972).

42) **Lever, J. E.:** Regulation of amino acid and glucose transport activity expressed in isolated membranes from untransformed and SV40-transformed mouse fibroblasts. *J. Cell. Physiol.*, **89**, 779-788 (1976).

43) **Robinson, J. H.:** Density regulation of amino acid transport in cultured, androgen-respon-

sive tumor cells. *J. Cell. Physiol.*, **89**, 101-109 (1976).

44) **Cecchini, G., Lee, M. & Oxender, D. L.:** Transport of amino acids in intact 3T3 and SV3T3 cells, binding activity for leucine in membrane preparations of Ehrlich ascites cells. *J. Supramol. Struct.*, **4**, 441-447 (1976).

Studies on Development of New Tumor-seeking Agents (Unnatural Synthetic Amino Acids) for Tumor-Nuclear Medicine Imaging: A Structure-activity Relationship between Unnatural Synthetic Amino Acids and Tumor Affinity Kazuhiro Shiba, Department of Nuclear Medicine, School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920—J. Juzen Med. Soc., **100**, 100—116 (1991)

Key words 1-amino-3-methyl-cyclopentane-1-carboxylic acid, α -amino-2-methyl butanoic acid, tumor-seeking agent, tissue distribution, whole-body autoradiogram

Abstract

A comparative study of the structure-activity relationship between unnatural synthetic amino acids and tumor affinity was carried out to develop new tumor-seeking agents which have a higher affinity for tumors than ^{67}Ga -citrate. Ten different alicyclic amino acids (a-j) and eight different α -aminoisobutyric acid (AIB) analogs (k-r) were labeled with ^{14}C using a modified Bücherer synthesis. The tissue distribution, whole-body autoradiography, excretion and metabolism of these ^{14}C -labeled unnatural amino acids (a-r) were investigated in Ehrlich tumor bearing mice. The radiochemical yields of these ^{14}C -labeled unnatural amino acids (a-r) were typically 55.6-94.1%. The radiochemical purities of these agents were more than 99% and their specific activities were 222-1930 MBq/mmol. The tumor uptakes and tumor to tissue concentration ratios increased with the decreasing ring size in alicyclic amino acid analogs (8-through 4-membered ring systems) (a-e); alicyclic amino acid analogs containing 3- or 4-methyl group had the higher tumor to tissue concentration ratios. On the other hand, alicyclic amino acid analogs containing 2-methyl group and 4-phenyl group showed the lower tumor uptakes and the lower tumor to tissue concentration ratios. The tumor uptake of AIB analogs (k-r) decreased by increasing the chain length of R and/or R'. AMB, AEB and AMP (4 or 5 carbon chain systems) gave higher tumor to tissue concentration ratios than AIB and other AIB analogs. Autoradiograms of unnatural synthetic amino acids (a, b, c, f, g, h, k, l, m, n, o) showed a very clear tumor image. The Concentration of radio nuclide in heterogeneous tissues such as tumor was measured more accurately by quantitative autoradiography than by tissue distribution. All of these unnatural amino acids (a-r) were almost completely excreted with the urine, and thin layer chromatograms showed that they are not metabolized in the tissues. These results suggest that 3-MeACPC and AMB, if these are labeled with ^{11}C , are excellent potential tumor-seeking agents for detecting cancer in humans using positron emission tomography (PET).