

令和元年6月11日現在

機関番号：32624

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K10295

研究課題名(和文) がん質的診断のための新規標的グリオキサラーゼIに対する放射性分子プローブの開発

研究課題名(英文) Development of a radiolabeled probe to detect a novel target, glyoxalase I, for diagnosing characteristics of cancers

研究代表者

秋澤 宏行 (AKIZAWA, Hiromichi)

昭和薬科大学・薬学部・教授

研究者番号：90311795

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、がんの治療効果予測やがんの悪性度や薬剤耐性の診断を目的として、核医学画像診断に用いるグリオキサラーゼI (GLO I) 標的放射性分子プローブの開発に取り組んだ。その結果、GLO Iへの結合性を有する放射性化合物を見出すことができた。また、その放射性化合物のカルボキシ基を適切にエステル化することでGLO I標的放射性プローブを開発できる可能性を見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、これまでに誰も試みたことのないグリオキサラーゼI (GLO I) 標的放射性分子プローブの開発に取り組んだ。GLO Iは、がんの悪性度や薬剤耐性と関連すると言われている。また、将来、GLO I阻害剤はがん治療に用いられる可能性がある。したがって、核医学診断用のGLO I標的放射性分子プローブを開発できれば、がん治療の効果予測や予後予測に貢献できると考えられる。また、この診断用放射性分子プローブの開発は、GLO Iを高発現するがんを対象とした核医学治療用放射性医薬品の開発にもつながるものである。

研究成果の概要(英文)：In this study, we aimed to develop a radiolabeled glyoxalase I-targeting probe which is suitable for nuclear medical imaging to predict drug efficacy and prognosis in cancer patients. We successfully synthesized a radiolabeled compound having high binding affinity to glyoxalase I, and demonstrated that the esters derived from the radiolabeled compound could be radiolabeled glyoxalase I-targeting probes for nuclear medical imaging.

研究分野：放射薬品化学

キーワード：がん グリオキサラーゼ 放射性分子プローブ 質的診断 治療効果予測 悪性度診断 核医学 放射性医薬品

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

申請者らは、がんの質的診断を目的とした放射性医薬品の開発研究に取り組んでいる。これまでに、チミジンホスホリラーゼを標的とする放射性プローブが5-フルオロウラシル類を用いるがん治療の効果予測や予後予測に有用である可能性を見出し (ref. ) 現在、自主臨床試験による評価を行う段階に入った。そこで、申請者らは、新たながんの質的診断法の開発を目的として、新しい標的分子を設定し、それに対する核医学画像診断用放射性医薬品を創生するための基礎検討を開始することにした。

GL0 I は、多くのがんで高発現し、細胞毒性のある細胞内代謝産物をグルタチオン依存的に代謝することで、がん細胞のアポトーシスを阻害する酵素であることから (ref. ) 将来、GL0 I 阻害に基づく抗がん剤が開発されることが期待されている (ref. )。その抗がん剤を用いる治療では、GL0 I が高発現するがんでのみ効果が発揮されることが考えられるため、治療効果予測のための診断として、治療開始前に GL0 I の発現量を評価することが望まれる。また、GL0 I の発現は、がんの悪性度や薬剤耐性と関連することが報告されていることから (ref. )

GL0 I の評価法の開発によって、がんの悪性度や薬剤耐性の診断が可能になると期待できる。以上のように、GL0 I は、がんの質的診断のための標的分子となり得るものであるが、これまでに GL0 I の全身評価を目的とした診断法の開発を試みた者は誰もいない。

## <引用文献>

- H. Akizawa, et al., *Nucl. Med. Biol.*, **37**, 427-432, 2010.
- P. J. Thornalley, *Biochem. Soc. Transact.*, **31**, 1343-1348, 2003.
- S. S. More, et al., *J. Med. Chem.*, **52**, 4650-4656, 2009.
- R. Takasawa, et al., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **21**, 4337-4342, 2011.
- C. Antognelli, et al., *Cancer J.*, **12**, 222-228, 2006.
- H. Sakamoto, et al., *Blood*, **95**, 3214-3218, 2000.

## 2. 研究の目的

上述の背景から、申請者らは、GL0 I 発現の全身評価を容易に行える診断法の開発を目的として、核医学画像診断への応用を目的とした GL0 I 標的放射性分子プローブの開発に取り組むこととした。

## 3. 研究の方法

### (1) GL0 I への結合性 (阻害活性) を有する放射性化合物の合成と評価

グルタチオン類似化合物 1 (図 1) は高い GL0 I 阻害活性をもつことが報告されていることから (ref. ) この化合物 1 をリード化合物として分子プローブを設計することとした。しかし、この化合物 1 は水溶性が高いため、細胞内に存在する GL0 I を標的とする放射性プローブを開発するには、GL0 I 阻害活性を有する化合物 1 の放射性標識誘導体を合成するだけでなく、その放射性標識誘導体に対して、更に細胞膜透過性を付与するために、脂溶性を高める修飾を施した誘導体を合成する必要がある。(1)では、上述の最初のステップ、つまり、化合物 1 の放射性標識誘導体の設計、それと同じ構造をもつ非放射性物質の合成、得られた化合物の GL0 I への結合性 (阻害活性) と安定性の評価を行った。

### (2) GL0 I 標的放射性分子プローブの設計と合成

細胞内へ内在化した後に、(1)で設計、合成した放射性標識誘導体に変換される GL0 I 標的放射性分子プローブを開発することを目的に、(1)で設計、合成した放射性標識誘導体に対して、細胞膜透過性を付与するために脂溶性を高める修飾を施した誘導体を設計、合成した。

### (3) GL0 I 標的放射性分子プローブの in vitro での安定性

(2)で合成した放射性分子プローブ候補化合物について、水溶液中での安定性と血漿中での安定性を検討した。

### (4) GL0 I 標的放射性分子プローブの *n*-オクタノール/緩衝液 (pH 7.4) 分配比と in vitro での細胞集積性

構造の修飾により細胞膜を透過するために十分な脂溶性を付与できたかを、放射性標識誘導体の *n*-オクタノール/緩衝液 (pH 7.4) 分配比を求めることで評価するとともに、放射性標識誘導体を培養細胞と in vitro でインキュベートし、細胞に取り込まれるか確認した。

## 4. 研究成果

### (1) GL0 I への結合性 (阻害活性) を有する放射性化合物の合成 (図 1) と評価

グルタチオン類似化合物 1 の Br を放射性ヨウ素 <sup>123/125</sup>I に置換した放射性化合物 2 を設計し、それと同じ構造をもつ非放射性化合物 2' を合成した。非放射性化合物 2' は総収率 14% で得られた。得られた化合物 2' の GL0 I 阻害活性を求めたところ、*K<sub>i</sub>* 値は 0.069 μM で、化合物 1 (0.108 μM) と同等以上であったことから、化合物 2 は生体内で GL0 I に結合親和性を示すと考えられた。また、化合物 2' を pH 7.4 の緩衝液中とインキュベートした結果、化合物 2' の

骨格は十分な安定性を有することを確認できた。そこで、放射性化合物 2 の合成を試みた。放射性ヨウ素の導入位置をトリメチルスズ化した標識前駆体を合成し、その前駆体から  $^{125}\text{I}$  で標識した化合物 2 を放射化学的純度 98%で得ることができた。

## (2) GL0 I 標的放射性分子プローブの設計と合成 (図 1)

細胞内へ内在化した後に、放射性化合物 2 に変換される GL0 I 標的放射性分子プローブを開発することを目的に、放射性化合物 2 の 2 つのカルボキシ基をターシャリーブチルエステル (3)、エチルエステル (4)、シクロペンチルエステル (5)、ナフチルエステル (6)とした誘導体を設計した。そして、それらの放射性化合物、および、それらと同一の構造をもつ非放射性化合物 (3'、4'、5'、6')の合成を検討した。その結果、非放射性化合物 3' と放射性化合物 3 の合成に成功した。放射性化合物 3 は、放射性ヨウ素の導入位置をトリメチルスズ化した標識前駆体を合成し、その前駆体から放射化学的純度 92%で得られた。その他の化合物については、次のとおりである。非放射性化合物 4' は合成に成功した。また、非放射性化合物 5' は合成経路を確立し、放射性化合物 5 については標識前駆体を合成できた。

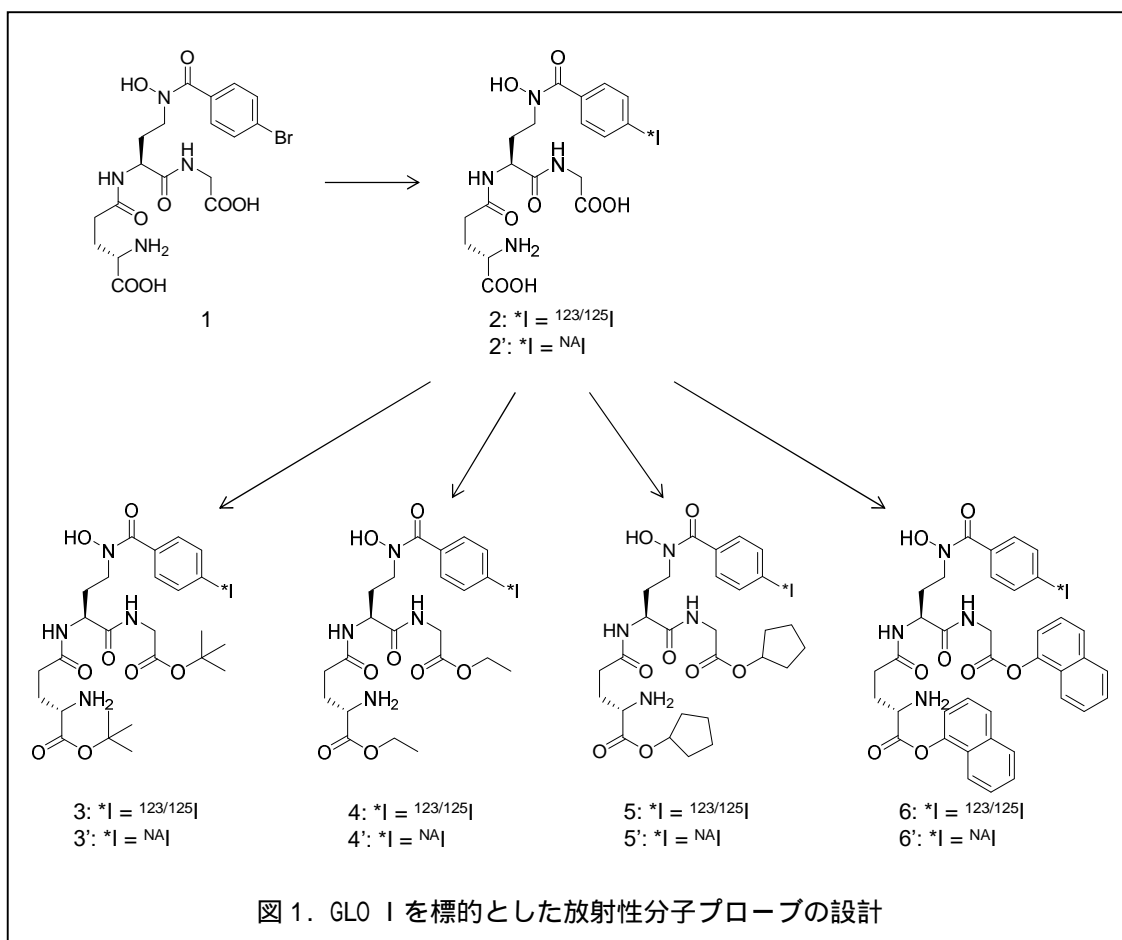
## (3) GL0 I 標的放射性分子プローブの in vitro での安定性

放射性化合物 3 と同一の構造をもつ非放射性化合物 3' をリン酸緩衝液中でインキュベートした結果、本化合物が安定に存在することを確認できた。そこで次に、ヒト血漿中で放射性化合物 3 をインキュベートしたところ、経時的に加水分解が進み、インキュベート開始 5 時間後における未変化体の割合は 17%で、全放射能の 50%が少なくとも化合物 2 へ変化していることを確認した。したがって、細胞内に取り込まれれば、加水分解により化合物 2 へ変換され、GL0 I 依存的に集積する可能性が示された。

## (4) GL0 I 標的放射性分子プローブの *n*-オクタノール/緩衝液 (pH 7.4) 分配比と in vitro での細胞集積性

放射性化合物 2、3 の *n*-オクタノール/緩衝液 (pH 7.4) 分配比  $\log D_{7.4}$  を測定したところ、それぞれ -2.03、-0.45 であった。また、化合物 3 を in vitro で培養細胞とインキュベートしたところ、実質的な取り込みは認められなかった。化合物 2 の 2 つのカルボキシ基をターシャリーブチルエステルとすることで、脂溶性を向上させることはできたが、細胞膜透過性を付与するには不十分であった。

## (5) 以上のように、本研究は GL0 I を標的とする放射性プローブの開発を目的とした。まず、GL0 I への結合性を有する放射性化合物 2 を見出した。そこで次に、細胞内に内在化した後に



加水分解を受けて放射性化合物 2 へ変換される放射性プローブの開発を企図し、化合物 2 の 2 つのカルボキシ基をエステル化した化合物を種々設計し、合成を試み、得られた化合物について評価した。その結果、細胞膜透過性を示す放射性化合物を得るには至らなかったが、化合物 2 のカルボキシ基を適切にエステル化することで GLO I 標的放射性プローブを開発できる可能性を見出した。

#### 5 . 主な発表論文等

〔学会発表〕(計 1 件)

平野愛耶美、尾江悟、鈴木友久、宿里充穂、秋澤宏行、放射性ヨウ素を導入した Glyoxalase I 阻害剤の合成、第 60 回 日本薬学会関東支部大会(東京)、2016 年(平成 28 年)9 月 17 日

#### 6 . 研究組織

##### (1)研究分担者

研究分担者氏名：大倉 一枝

ローマ字氏名：(OHKURA, kazue)

所属研究機関名：北海道医療大学

部局名：薬学部

職名：教授

研究者番号(8桁)：60094827

研究分担者氏名：東川 桂

ローマ字氏名：(HIGASHIKAWA, kei)

所属研究機関名：北海道大学

部局名：アイソトープ総合センター

職名：助教

研究者番号(8桁)：10756878

研究分担者氏名：宿里 充穂

ローマ字氏名：(SHUKURI, miho)

所属研究機関名：昭和薬科大学

部局名：薬学部

職名：講師

研究者番号(8桁)：20525571

研究分担者氏名：尾江 悟

ローマ字氏名：(ONOE, satoru)

所属研究機関名：昭和薬科大学

部局名：薬学部

職名：助教

研究者番号(8桁)：90756107

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。