

平成21年6月17日現在

研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2005～2008
 課題番号：17591298
 研究課題名（和文） シグマレセプターを標的とする癌の分子イメージング画像診断剤の開発に関する研究
 研究課題名（英文） Development of novel sigma receptor selective radiopharmaceuticals for molecular imaging of tumors.
 研究代表者
 大桃 善朗(YOSHIRO OHMOMO)
 大阪薬科大学・薬学部・准教授
 研究者番号：70183241

研究成果の概要：

癌細胞に過剰に発現するシグマレセプターを標的とする癌の核医学分子イメージング診断用放射性薬剤の開発を目指して、新規化合物を合成、評価し、有望な放射性化合物を見出した。これら放射性化合物は、動物実験等において、ターゲットである癌のシグマレセプターに選択的に集積し、癌の良好な画像を得ることができた。また、これら化合物の集積は、癌の悪性と相関するものであり、新しいメカニズムに基づく画像診断薬剤としてさらなる展開が期待された。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2005年度	1,000,000	0	1,000,000
2006年度	900,000	0	900,000
2007年度	800,000	240,000	1,040,000
2008年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
総計	3,500,000	480,000	3,980,000

研究分野：薬学（画像診断薬）

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・放射線科学

キーワード：分子イメージング、画像診断、癌、放射性医薬品、シグマレセプター

1. 研究開始当初の背景

ポジトロン CT (PET) およびシングルフォトン CT (SPECT) などの核医学診断技術が急速に進歩、普及し、癌の核医学画像診断が多くの医療機関で実施されるようになった。この検査法では、癌の原発巣並びに転移巣を同時に全身検索的に診断可能であり、さらに治療効果の判定等にも有効である。

核医学診断には、放射性医薬品が必須であり、当時から現在に至るまで FDG などが使用されている。しかし、癌の特定分子を

標的とする有用な放射性薬剤は未だ少ない状況であった。

2. 研究の目的

シグマレセプターは種々の癌細胞に高密度で発現して、癌形成や細胞分裂に大きく関与していることが判明している。また、シグマレセプター作用薬剤は癌細胞のアポトーシスを誘導し、細胞増殖抑制作用を持つことが明らかとなってきた。

従って、癌細胞に過剰に発現するシグマレセプターは、これを分子標的とする新た

な作用機序を持つ癌の新規治療薬ならびに診断薬開発のターゲットとして有望であると考えられる。

本研究では、癌細胞に過剰に発現するシグマレセプターを標的とする癌の核医学分子イメージング診断用放射性薬剤の開発を目的とした。

3. 研究の方法

これまでの研究成果として見出した有望な新規放射性リード化合物および、リード化合物の構造と活性に関する考察に基づき、新たにドラッグデザインし、合成した新規化合物について、癌の分子イメージング用放射性核医学診断剤としての有用性について検討した。

具体的には、各種培養腫瘍細胞を用いるインビトロ実験と、担癌モデル実験動物を用いるインビボ実験を実施した。

インビトロ実験では、シグマレセプター結合実験等により、各種腫瘍細胞に発現するシグマレセプターの定量的解析を行った。また、各種腫瘍細胞の増殖能、あるいは悪性度などとシグマレセプターの発現量などの相関に関する解析を行った。さらに、本化合物による腫瘍細胞成長抑制作用とアポトーシス誘導機構について検討した。

インビボ実験では、異なる数種類の癌を移植した担癌モデル実験動物（マウス）を作製した。化合物を投与し、生体内動態、癌組織への集積性、シグマレセプターに対する結合選択性、各種癌の増殖能と集積性との相関等について検討した。有望な結果が得られた化合物について、SPECT-CTによる癌の撮像を実施した。

4. 研究成果

1-[2-(3, 4-dimethoxyphenyl) ethyl]-4-(2-iodophenylpropyl)piperazine (o-BON) をリード化合物として、その化学構造と生物活性の相関性を考慮して新たに放射性ヨウ素標識誘導体化合物をドラッグデザインし、合成した。

得られた新規化合物の中で特に、1-[2-(3-methoxy-4-hydroxyphenyl) ethyl]-4-(2-iodophenylpropyl)piperazine (MOH)、および 1-[2-(3-hydroxyphenyl) ethyl]-4-(2-iodophenylpropyl)piperazine (3-HYD) がその後の検討の結果、画像診断薬剤として良好な性質を持つことが判明した。

図1に¹²⁵I 標識 o-BON の A-375 腫瘍細胞膜に発現したシグマレセプターへの結合選択性を示した。¹²⁵I 標識 MOH、および 3-HYD も同様にシグマレセプターに選択的に結合することが確認された。

に結合することが確認された。

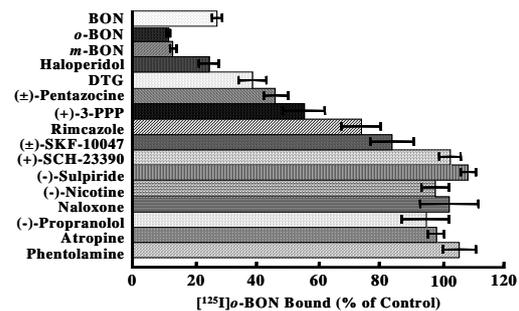


図1. o-BON の A-375 腫瘍細胞膜に発現したシグマレセプターへの結合選択性

これら3種の標識化合物は、いずれも様々な組織由来の癌細胞を用いた各種担癌モデルマウスによる種々の検討から、インビボにおいて癌細胞に発現したシグマレセプターを介して癌に特異的な集積を示し、多様な癌の画像診断に適応可能であると考えられた。

¹²⁵I 標識 MOH および 3-HYD の体内動態は、¹²⁵I 標識 o-BON と比較検討したところ、標的組織である癌への集積性は同等であったが、肝臓、腎臓、肺などの主要な非標的臓器への集積が大幅に低下し、良好な癌対血液、並びに癌対正常組織比が得られた。この傾向は特に¹²⁵I 標識 3-HYD において顕著であり、画像診断により好ましいものであった (図2)。

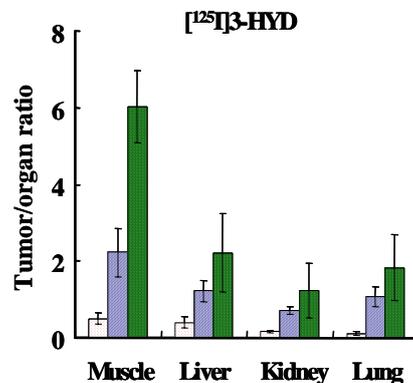


図2. A-375 担癌モデルマウスにおける¹²⁵I 3-HYD の癌対主要臓器集積比

これらの結果は、適切な置換基を選択することにより、結合親和性および組織集積性を制御することが可能で、新たに放射性薬剤を開発する際の重要な知見と考えられた。

実験に使用した各種癌細胞に発現するシグマレセプターの定量的解析、並びに各種癌細胞の増殖速度 (Doubling time) の測定を実施し、¹²⁵I 標識 3-HYD の癌集積との相関について詳細な解析を行った (図3、

図4)。

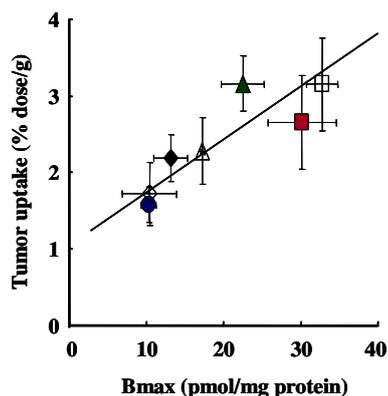


図3. $[^{125}\text{I}]3\text{-HYD}$ の癌集積量とシグマレセプター発現量の相関、次の各癌細胞移植マウス使用 A-375(◆), B-16(□), PC-3(△), ME-180(●), A-549(◇), C-6(■), LS174T(▲)

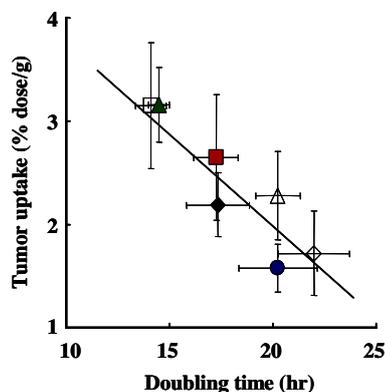


図4. $[^{125}\text{I}]3\text{-HYD}$ の癌集積量と癌増殖能の相関、次の各癌細胞移植マウス使用 A-375(◆), B-16(□), PC-3(△), ME-180(●), A-549(◇), C-6(■), LS174T(▲)

これらの結果は、インビボ担癌マウスにおいて、 ^{125}I 標識 3-HYD の癌組織への集積は、癌細胞におけるシグマレセプター発現量と癌の増殖速度と極めて良く相関するものであった。この事実は、 ^{125}I 標識 3-HYD は、癌の形態学的診断のみならず、癌の悪性度に関する質的診断も可能にするものであることを意味しており、次世代の放射性画像診断剤に求められている特質を有しているものと思われる。

さらに、A-375 担癌モデルマウスにおける $[^{125}\text{I}]3\text{-HYD}$ によるオートラジオグラムおよび SPECT-CT 画像の撮影を行った。図5に示すように、 $[^{125}\text{I}]3\text{-HYD}$ は癌をきわめて明瞭に描出しており、癌の SPECT による画像診断用薬剤として有望であることが明らかとなった。

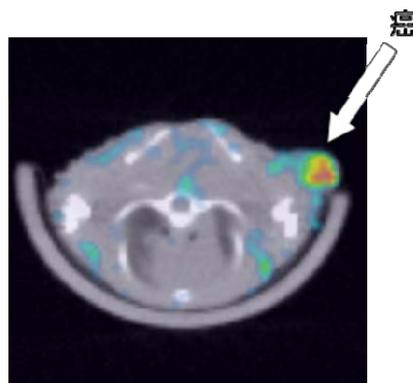


図5. A-375 担癌モデルマウスにおける $[^{125}\text{I}]3\text{-HYD}$ SPECT-CT 画像

以上のように、 ^{125}I 標識 o-BON、MOH、および 3-HYD はいずれも、癌の SPECT 用画像診断剤として有用であり、特に 3-HYD は優れた性質をもつことが明らかとなったが、これら化合物は、インビトロ、およびインビボの双方において、癌細胞成長抑制作用を持つことを見出した。図6に 3-HYD、o-BON および関連誘導体のインビボにおける癌細胞成長抑制効果を示す。

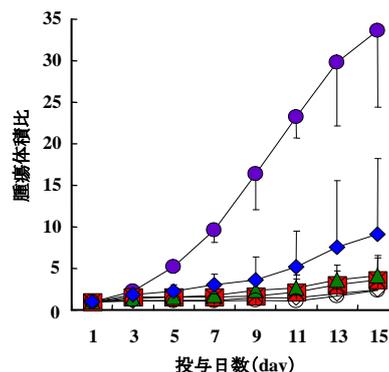


図6. A-375 担癌モデルマウスにおける癌成長抑制作用 Control(●), 3-MIP(◇), 4-MIP(■), 3-HYD(▲), 4-HYD(○), o-BON(◆)

さらに、これら化合物による癌細胞成長抑制作用機構について検討した結果、アポトーシス初期のシグナルである細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇、後期のシグナルである DNA 断片化、さらに、細胞死の指標である LDH 漏出が検出されたことから、この成長抑制作用はアポトーシス誘発に起因することが確認された。

これらの結果から、本研究で見出した化合物は、アポトーシス誘発作用を有しており、さらに標識する放射性同位元素の選択により内部照射による放射線治療作用を付加することが可能と考えられ、癌治療剤

としてあらたな展開の可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計3件)

①Masahiko Hirata, Tetsuya Mori, Takuya Umeda, Takeshi Abe, Tomoya Yamamoto, and Yoshiro Ohmomo: Evaluation of radioiodinated 1-[2-(3,4-dimethoxyphenyl)ethyl]-4-(2-iodophenylpropyl) piperazine as a tumor diagnostic agent with functional sigma receptor imaging by single photon emission computed tomography. Biol. Pharm. Bull. 31, 879-883 (2008). 査読有

②Masahiko Hirata, Tetsuya Mori, Seigo Soga, Takuya Umeda and Yoshiro Ohmomo: In vivo evaluation of radioiodinated 1-[2-(3,4-dimethoxyphenyl)ethyl]-4-(3-phenylpropyl)-piperazine derivatives as new ligands for sigma receptor imaging using single photon emission computed tomography. Biol. Pharm. Bull., 29, 2009-2015 (2006). 査読有

③Masahiko Hirata, Tetsuya Mori, Seigo Soga, Takuya Umeda and Yoshiro Ohmomo: Synthesis and in vitro evaluation of iodinated derivatives of piperazine as a new ligand for sigma receptor imaging by single photon emission computed tomography. Chem. Pharm. Bull., 54, 470-475 (2006). 査読有

[学会発表] (計9件)

①大桃善朗、体内動態の制御を指向した新規シグマリガン ド 3-HYD の癌診断薬剤としての基礎的評価、日本薬学会第 129 年会、2009 年 3 月 26 日、京都

②大桃善朗、PET/SPECT/CT 複合装置による新規 ¹²⁵I 標識シグマリガン ドの撮像と [¹⁸F]FDG との比較、第 48 回日本核医学会、2008 年 10 月 25 日、千葉

③大桃善朗、新規癌診断用シグマレセプター分子イメージング薬剤 MOH の開発、第 3 回日本分子イメージング学会、2008 年 5 月

22 日、大宮

④大桃善朗、体内動態の制御を指向した新規シグマリガン ドの癌診断薬剤としての基礎的評価、日本薬学会第 128 年会、2008 年 3 月 28 日、横浜

⑤大桃善朗、体内動態の制御を目的とした新規シグマリガン ドの合成と評価、日本薬学会第 127 年会、2007 年 3 月 29 日、富山

⑥大桃善朗、o-BON をリード化合物とする脳機能診断用新規シグマリガン ドの基礎的評価、第 46 回日本核医学会総会、2006 年 11 月 10 日、鹿児島

⑦大桃善朗、非標的組織での滞留性改善を目指した新規シグマリガン ドの合成、第 46 回日本核医学会総会、2006 年 11 月 10 日、鹿児島

⑧大桃善朗、置換基変化による新規シグマレセプター機能診断剤の癌集積性の変化と癌成長抑制効果、第 46 回日本核医学会総会、2006 年 11 月 10 日、鹿児島

⑨大桃善朗、新規シグマアゴニストによる細胞内 Ca 濃度の上昇とアポトーシス誘発機構に関する基礎的検討、第 15 回金属の関与する生体関連反応シンポジウム、2005 年 6 月 10 日、大阪

6. 研究組織

(1) 研究代表者

大桃 善朗 (YOSHIRO OHMOMO)
大阪薬科大学・薬学部・准教授
研究者番号：70183241

(2) 研究分担者

(3) 連携研究者