

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 3 年 6 月 8 日現在

機関番号：34417

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2018～2020

課題番号：18H02760

研究課題名（和文）体内動態を制御したAt-211標識アミノ酸による汎用的 線治療法の創出

研究課題名（英文）Development of a versatile alpha particle therapy using At-211 labeled amino acids with controlled pharmacokinetics

研究代表者

花岡 宏史（HANAOKA, Hirofumi）

関西医科大学・医学部・教授

研究者番号：50361390

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,200,000円

研究成果の概要（和文）：細胞殺傷効果の高い 線放出核種であるアスタチン-211（211At）で標識した メチルフェニルアラニン（AMP）誘導体「2-211At-AAAMP」を開発し、担癌マウスにおける評価を行ったところ、腫瘍集積性を示し、またある程度の治療効果が認められた。さらに有機アニオントランスポーター阻害剤プロベネシドの前投与により、2-211At-AAAMPの血液クリアランスが遅延し、腫瘍への集積性増加および滞留性の向上が認められた。以上のことから、2-211At-AAAMPとプロベネシドを併用することにより、治療効果の高い内用放射線療法が実現する可能性が示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

新たな汎用性の高いがん治療薬として、線放出核種である「アスタチン-211（211At）」で標識したアミノ酸誘導体を開発し、担癌マウスにおける治療効果を明らかにした本研究成果は、今後の我が国のがん治療薬開発に大きく貢献するものである。またすでに臨床使用されている薬剤であるプロベネシドとの併用により治療効果を向上させる手法は、安全性が高く、また2-211At-AAAMPのみならず他の多くの薬剤に対して応用可能な手法であることから、学術的意義の大きいものである。

研究成果の概要（英文）：Alpha-emitters are effective in cell killing, and astatine-211 (211At) is an attractive α -emitter of halogen. We developed 2-211At-AAAMP as an α -methyl-phenylalanine analog, and evaluated its potential as a therapeutic agent in tumor-bearing mice. 2-211At-AAAMP accumulated in the tumor and significantly improved the survival of mice without serious side effects. Blood clearance of 2-211At-AAAMP was markedly delayed by pre-loading of probenecid, an organic anion transporter inhibitor, and consequently tumor accumulation level of 2-211At-AAAMP was enhanced. Thus, 2-211At-AAAMP with pre-loading of probenecid would be promising therapeutic method for tumor.

研究分野：がん診断・治療薬剤学

キーワード：内用放射線療法 アミノ酸 At-211 体内動態制御

様式 C-19、F-19-1、Z-19（共通）

1. 研究開始当初の背景

治療用の RI で標識したがん集積性の分子を体内に投与し、がんを集積した RI からの放射線により細胞を殺傷する「内用放射線療法」は、臨床において高い治療効果を示しており、近年は細胞殺傷性の高い α 線放出核種（以下 α 核種）を有する放射性薬剤が研究開発されている。我が国において、現在入手可能であり今後の供給が見込まれる α 核種としては、「アスタチン-211 (^{211}At)」が挙げられる。 ^{211}At の半減期は7.2時間とそれほど長くないため、抗体のような腫瘍集積に時間がかかる高分子化合物での利用は難しいが、ハロゲン核種であるため、かさ高いキレート剤を使用せずに標識可能であり、低分子化合物に対しても ^{211}At を導入することが可能である。低分子化合物は投与早期から腫瘍に集積し、腫瘍内における拡散性も高いことから、 α 核種標識薬剤として有望であると考えられた。

RI 標識アミノ酸は、がん診断薬剤として開発が進められ、そのいくつかは既に臨床応用されている。多くのがんにおいてアミノ酸トランスポーターが高発現していることから、汎用性の高いがん診断薬剤となっている。一方で RI 標識アミノ酸は、非特異的な集積は低いが、排泄臓器である腎臓に対しては高い集積が認められ、また腫瘍への集積性があまり高くないという問題点も認められる。そこで研究代表者らは、より体内動態の優れた新規 RI 標識アミノ酸の開発研究を行い、腫瘍集積性が高く、腎集積が少ない RI 標識アミノ酸の開発に成功している。このことから、これまでの研究成果を治療効果の高い α 核種である ^{211}At に応用すれば、『 ^{211}At 標識アミノ酸誘導体』を用いた内用放射線療法が創出できるのではないかと考えられた。

2. 研究の目的

本研究の目的は、 ^{211}At 標識アミノ酸誘導体を用いた治療効果の高い内用放射線療法を開発することである。本研究計画においては、代表者らが世界で初めて報告した、 α 位にメチル基を有するフェニルアラニン (AMP) を母体化合物とする ^{211}At 標識アミノ酸誘導体を用いる。これまでの知見をもとに ^{211}At 標識 AMP 誘導体を設計・合成し、担がんマウスを用いた評価を行うとともに、AMP 誘導体の体内動態を改善する薬剤との併用により、 ^{211}At 標識アミノ酸の治療効果を増強させることが可能であるかについても検討する。

3. 研究の方法

2位にトリメチルスズ基を導入した標識前駆体を ^{211}At 標識し、保護基を脱保護することで $2\text{-}^{211}\text{At}\text{-AAMP}$ を作製した。作製した $2\text{-}^{211}\text{At}\text{-AAMP}$ は HPLC で精製したのち評価実験に用いた。卵巣がん細胞株である SKOV3 を移植した担がんマウスに対して $2\text{-}^{211}\text{At}\text{-AAMP}$ を投与し、一定時間後に各臓器における放射能集積を定量した。また、担がんマウスに対して治療量の $2\text{-}^{211}\text{At}\text{-AAMP}$ を投与し、定期的に腫瘍サイズを計測しながら経過観察を行うことで治療効果を評価した。

有機アニオントランスポーター阻害剤であるプロベネシドにより、 $2\text{-}^{211}\text{At}\text{-AAMP}$ の体内動態を制御し、治療効果を増強させることを目的として、まずは群馬大学病院より入手可能な ^{18}F 標識アミノ酸 ($^{18}\text{F}\text{-FAMT}$) を用いた検討を行った。プロベネシドの投与量の増加および持続投与や投与経路の変更（静脈内投与→腹腔内投与）等の検討を健常マウスで行った後、最適な方法を用いて担がんマウスにおける検討を行った。 $^{18}\text{F}\text{-FAMT}$ を用いた検討によりプロベネシドの効果を確認した後、プロベネシドを併用した場合の ^{211}At アミノ酸誘導体の体内分布実験を行った。

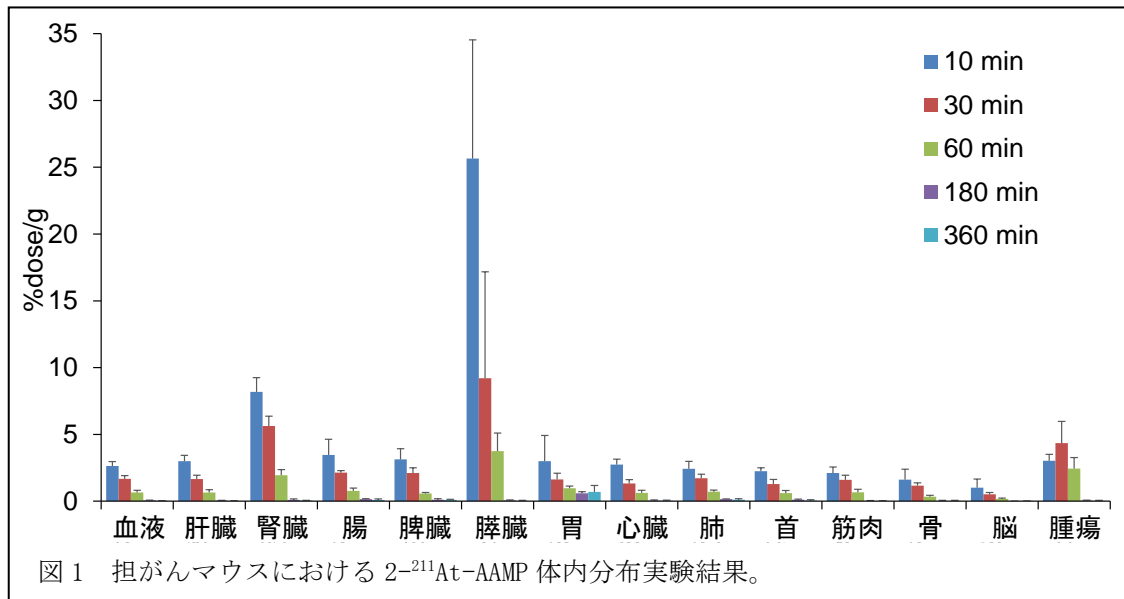
4. 研究成果

< $2\text{-}^{211}\text{At}\text{-AAMP}$ の評価>

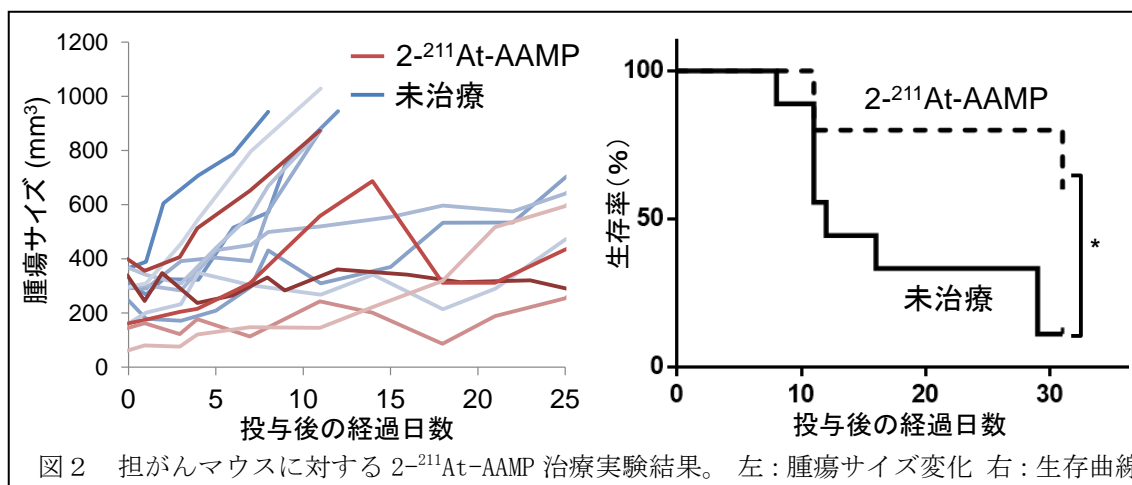
スズ前駆体から $2\text{-}^{211}\text{At}\text{-AAMP}$ を作製したところ、放射化学的収率は $20.9 \pm 3.3\%$ であった。 ^{211}At の供給量は限られていることから、収率の向上が望まれる。これまでに同様の手法により放射性ヨウ素や放射性臭素で標識した AMP 誘導体を作製した場合の放射化学的収率は、50%以上と高かったことから、十分に改善の余地があると考えられるが、収率の低さの要因がどこにあるかは明らかになっておらず、今後の検討課題である。標識した後、HPLC にて精製することで、放射

化学的純度として95%以上の $2\text{-}^{211}\text{At-AAMP}$ を得ることができた。

担がんマウスに対して $2\text{-}^{211}\text{At-AAMP}$ を投与したところ、血液および他の臓器から速やかに消失し、腫瘍への集積性を示した(下図1)。投与1時間後からは腫瘍からもクリアランスされ、投与3時間後には腫瘍内に残存している放射能はわずかであった。



治療効果を検討する目的で、治療量の $2\text{-}^{211}\text{At-AAMP}$ (2MBq)を投与したところ、未治療群と比較してある程度の腫瘍増殖抑制効果が認められた(下図2左)。しかしながらその効果は限定的であり、未治療群と治療群の間に有意差は認められなかった。一方、両群の生存曲線を比較したところ、 $2\text{-}^{211}\text{At-AAMP}$ を投与による有意な生存期間の延長が認められた(下図2右)。

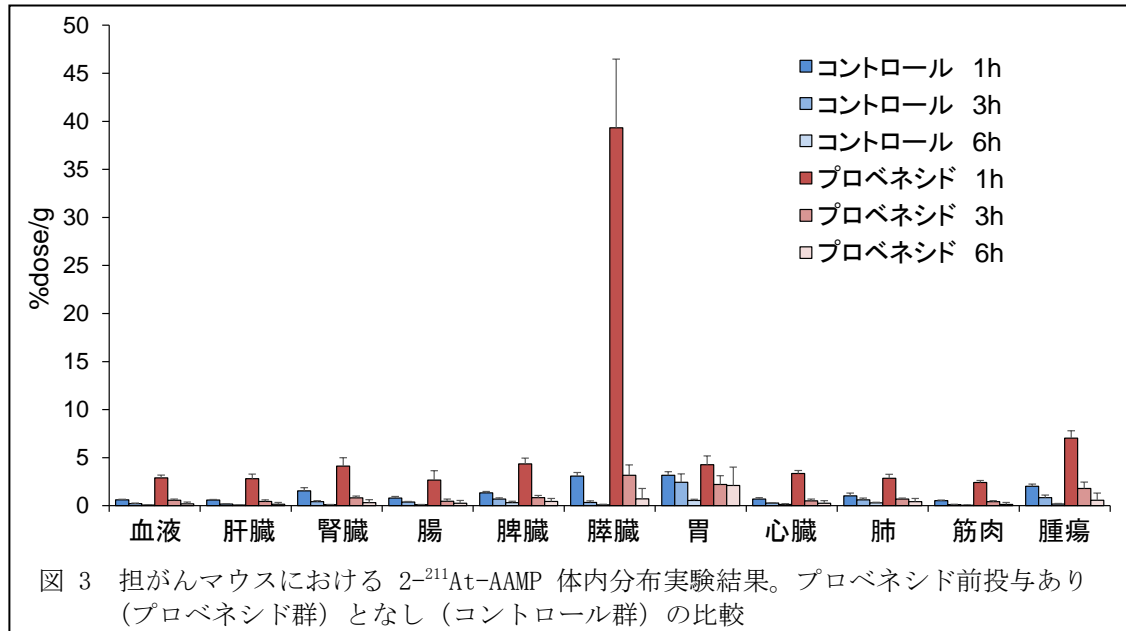


以上、 $2\text{-}^{211}\text{At-AAMP}$ は体内から速やかに消失し、腫瘍への集積性を示した。また治療実験においてある程度の治療効果を示したことから有望な薬剤であると考えられた。一方で治療効果は限定的であり、その要因として、腫瘍集積性は示すものの滞留性が不十分であり、腫瘍に対して十分な線量が照射できていないことが考えられた。

<薬剤併用効果の評価>

健常マウスにおいて、 $^{18}\text{F-FAMT}$ に対してプロベネシドを尾静脈より前投与したところ、 $^{18}\text{F-FAMT}$ の血液クリアランスの遅延および $^{18}\text{F-FAMT}$ の標的であるアミノ酸トランスポーター(LAT1)が発現している膵臓において集積増加が認められた。またその効果はプロベネシドの投与量依存的であった。投与の簡便さおよび効果の持続性を考慮して、プロベネシド腹腔内投与の検討を行ったところ同様の効果が認められた。続いて担がんマウスにおいて検討したところ、プロベネシドを腹腔内に前投与することで、血液クリアランスが遅延し、腫瘍への集積性・滞留性が向上し

た。以上より、プロベネシドはアミノ酸誘導体の血液クリアランスを遅延させることで腫瘍集積性を増加させる作用を有することが確認できた。従って、 $2\text{-}^{211}\text{At-AAMP}$ と併用することで、 $2\text{-}^{211}\text{At-AAMP}$ の腫瘍集積性および滞留性が向上すると期待された。そこでまずは健常マウスに対して、 $2\text{-}^{211}\text{At-AAMP}$ の投与 1 時間前にプロベネシド前投与を行い、プロベネシド投与群と非投与群の比較を行った。その結果、 $2\text{-}^{211}\text{At-AAMP}$ においてもプロベネシド前投与により血液クリアランスが遅延し、脾臓への集積増加が認められた。続いて担がんマウスにおいて検討したところ、血液クリアランスの遅延および腫瘍集積性の増加が認められた（下図 3）。このことから、プロベネシドの投与により $2\text{-}^{211}\text{At-AAMP}$ の治療効果が増強する可能性が示唆された。



以上のように、本研究においては、新規 ^{211}At 標識アミノ酸誘導体として、 $2\text{-}^{211}\text{At-AAMP}$ を開発し、腫瘍集積性および治療効果を示すことができた。さらに、プロベネシドの腹腔内前投与により $2\text{-}^{211}\text{At-AAMP}$ の血液クリアランスが遅延し、腫瘍への集積性増加および滞留性の向上が認められた。このことから、プロベネシドを併用した $2\text{-}^{211}\text{At-AAMP}$ は、治療効果の高い新たな内用放射線療法となりうる可能性が示された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Ohshima Yasuhiro, Suzuki Hiroyuki, Hanaoka Hirofumi, Sasaki Ichiro, Watanabe Shigeki, Haba Hiromitsu, Arano Yasushi, Tsushima Yoshito, Ishioka Noriko S.	4. 巻 90-91
2. 論文標題 Preclinical evaluation of new α -radionuclide therapy targeting LAT1: 2-[²¹¹ At]astato- methyl-L-phenylalanine in tumor-bearing model	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nuclear Medicine and Biology	6. 最初と最後の頁 15~22
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.nucmedbio.2020.08.003	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 花岡宏史、大島康宏、鈴木博元、佐々木一郎、渡辺茂樹、羽場宏光、荒野 泰、石岡典子、対馬義人
2. 発表標題 At-211標識 メチル-フェニルアラニンを用いた内用放射線療法
3. 学会等名 第59回日本核医学会総会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	鈴木 博元 (SUZUKI Hiroyuki) (00707648)	千葉大学・大学院薬学研究院・助教 (12501)	
研究分担者	渡辺 茂樹 (WATANABE Shigeki) (10450305)	国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構・高崎量子応用 研究所 放射線生物応用研究部・主幹研究員（定常） (82502)	
研究分担者	織内 昇 (ORIUCHI Noboru) (40292586)	福島県立医科大学・公私立大学の部局等・教授 (21601)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	渡部 直史 (WATABE Tadashi) (90648932)	大阪大学・医学系研究科・助教 (14401)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関