

令和 4 年 5 月 21 日現在

機関番号：12501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K08222

研究課題名(和文) 腫瘍低酸素部位特異的に集積するAt-211標識薬剤の開発

研究課題名(英文) Development of At-211-labeled agents targeting the tumor hypoxia region

研究代表者

鈴木 博元 (Suzuki, Hiroyuki)

千葉大学・大学院薬学研究院・助教

研究者番号：00707648

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：211Atは局所的に非常に高いエネルギーを与える α 線を放出することから、211At標識薬剤では、従来の放射線治療に対して抵抗性を示す腫瘍低酸素領域に対して治療効果が期待できる。しかし、これまでは211Atを安定に結合できる手法が限られており、低酸素領域特異的に集積するニトロイミダゾール誘導体の標識に適した標識法が存在しなかった。本研究では、我々が開発した新規標識法を用いることで、生体内安定であり、かつ腫瘍低酸素領域特異的に集積する211At標識ニトロイミダゾール誘導体を開発した。しかし、腫瘍集積量を改善する必要性が認められ、今後更なる構造最適化が必要であることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

線は従来の治療に対して抵抗性を示すがんに対しても有効な治療効果が期待できる放射線である。従って、線を出す放射性核種を結合(標識)した薬剤を選択的にがん細胞に送達することができれば、非常に有効な薬剤となり得る。線放出核種の一つ211Atは薬剤開発への応用が期待されているが、211Atを安定に結合することが困難であることから、有効な治療薬剤開発が制限されていた。本研究では、様々な化合物に対して211Atを安定に結合する基盤技術を構築し、腫瘍低酸素領域を標的とする薬剤へ応用した。今後本基盤技術を利用することで、腫瘍低酸素領域以外にも様々な211Atを使用する薬剤開発への貢献が期待できる。

研究成果の概要(英文)：Tumor hypoxia region is well known to show a resistance against radiotherapy. Because 211At emits alpha-particles with very high energy and a short path length, 211At-labeled agents may be useful to treat the tumor with a resistance for the conventional radiotherapy. However, radiolabeling methods to provide 211At-labeled compounds with high in vivo stability are limited, making it difficult to develop 211At-labeled nitroimidazole derivatives as agents targeting tumor hypoxia. Recently, we developed a novel astatination scaffold to provide 211At-labeled compounds with high in vivo stability. We applied the scaffold to develop an 211At-labeled nitroimidazole derivative that accumulated in tumor hypoxic region. However, it showed low tumor accumulation, suggesting that further structural modifications would be required to improve the tumor accumulation.

研究分野：放射性薬剤

キーワード：標的構造 線治療 アスタチン-211 腫瘍低酸素部位 ニトロイミダゾール 放射性ヨウ素 ネオペンチル

1. 研究開始当初の背景

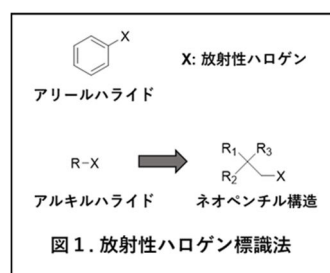
核医学治療では、腫瘍親和性を有する標的指向性分子などに放射性同位元素(**RI**)を結合させることで **RI** を標的細胞に送達し、**RI** が放つ放射線による細胞障害作用を利用して治療を行う。これまでの核医学治療では、**RI** として 線放出核種が利用されてきたが、治療効果が不十分な症例も多数報告されており、また血液毒性が副作用として問題となっていた。これに対して、近年では 線放出核種を利用する核医学治療(標的 線治療)が実施されている。線は線よりも線エネルギー付与 (**LET**)が高く、また飛程が短いために正常組織への被ばくが低減できることから、効果が高く、副作用の少ない治療が期待できる。実際に、線による治療で効果が得られなかった前立腺癌の患者に対して、線では著明な治療効果が得られており、標的 線治療薬剤の研究開発に対して、世界的に注目が集まっている。

腫瘍が放射線抵抗性を示す原因の一つに腫瘍微小環境における低酸素状態が挙げられる。低酸素部位は特に血管から離れた腫瘍組織において観察され、不十分な血液供給や過剰な細胞増殖の結果として生じる。低 **LET** 放射線の治療効果には間接作用の寄与が大きいため、間接作用による初期組織損傷を固定化する作用をもつ酸素が低濃度となれば、その効果は低下する。一方で、高 **LET** 放射線では酸素濃度に依存しない直接作用により治療効果が得られる。従って、これまでの 線放出核種を用いる核医学治療では、治療困難であった放射線抵抗性の癌に対しても、標的 線治療では治療効果が得られることが期待できる。しかし、低酸素特異的にターゲティングする手法が限られているため、これまでに 線放出核種を用いて腫瘍低酸素部位を標的とした治療を行った例は存在せず、標的 線治療の有効性は実証されていない。

標的 線治療への応用が期待される 線放出核種の一つであるアスタチン-²¹¹At(²¹¹At)は放射性ハロゲンであるため、標的指向性分子に共有結合にて直接結合可能である。このため、嵩高いキレート剤を介して標識する必要のある金属 **RI** と比較して、低分子標識薬剤への応用に優れる。放射性ハロゲンを利用した腫瘍低酸素部位特異的な **PET** 薬剤として、放射性フッ素標識ニトロイミダゾール誘導体が開発されている。ニトロイミダゾール誘導体は受動拡散に伴い、腫瘍細胞内に取り込まれた後、生体内のニトロレダクターゼによりニトロ基が還元される。その後、腫瘍細胞内にて生体分子と結合することで、腫瘍細胞内に滞留する。このため、²¹¹At 標識ニトロイミダゾール誘導体は腫瘍低酸素部位を標的とする標的 線治療薬剤の有用な候補となり得る。しかし、放射性フッ素標識薬剤ではアルキルハライド型の標識方法にて放射性フッ素が結合しているが、アルキルハライドは原子番号の大きいハロゲンほど安定性が低下することが知られている。実際に放射性ヨウ素標識ニトロイミダゾール誘導体も開発されているが、生体内安定性が不十分であり、投与後は脱ヨウ素に伴う胃や甲状腺への **RI** の集積が観察されている。さらに、他の放射性ハロゲンを安定に結合可能な標識法を用いても、アスタチンの場合では生体内安定性が不十分となる例が多数報告されている。

2. 研究の目的

本研究では 線が高 **LET** 放射線であることに着目し、従来の核医学治療の際に問題となっていた放射線抵抗性の低酸素腫瘍に標的 線治療を応用することを目指す。具体的には、腫瘍低酸素部位標的薬剤として ²¹¹At 標識ニトロイミダゾール誘導体を開発し、その有用性を評価する。これまでニトロイミダゾール誘導体を低酸素部位特異的な薬剤に応用する際には、標識部位に水溶性の高い構造を導入することで腫瘍/バックグラウンド比や血液クリアランスを向上するように薬剤設計が考えられてきた。このため、²¹¹At 標識部位としては、アリールハライド型の標識法よりも水溶性の調整が容易なアルキルハライド型の標識法が望ましい(図1)。そこで、申請者らはニトロイミダゾール誘導体への応用を視野に入れて、生体内で安定なアルキルハライド型標識法の開発をこれまでに実施してきた。申請者は安定性向上が期待できる標識方法として、ネオペンチル構造に着目した。本標識部位を母体とする ²¹¹At 標識ニトロイミダゾール誘導体を開発し、腫瘍低酸素部位標的治療薬剤としての有用性を評価する。



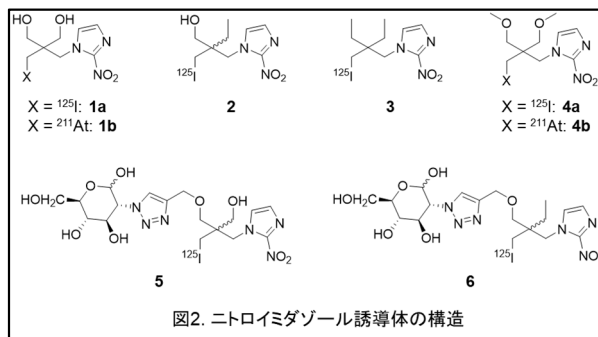
3. 研究の方法

申請者らはこれまでに ²¹¹At 標識部位としてのネオペンチル構造の有用性を評価しており、本研究においても引き続き検討を行った。²¹¹At は入手機会が限られることから、3種の放射性ヨウ素標識ニトロイミダゾール誘導体(1a, 2, 3)をモデル化合物として検討した。最終的に、最も安定な誘導体 1a を ²¹¹At に展開し(1b)、水酸基を二分子有するネオペンチル誘導体を使用することで生体内安定な放射性ヨウ素/²¹¹At 標識化合物が得られることを認めた。化合物 1a は安定性を評価するためのモデル化合物として使用したが、本研究における候補薬剤にもなる

ことから、担癌マウスに投与し、腫瘍集積を評価した。化合物 **1a** の腫瘍集積は低値であったものの、低酸素領域特異的な集積を確認できた(図3)。そこで、化合物 **1** をプロトタイプ化合物として、種々の構造変換を行うことで、腫瘍集積量の向上を図った。

腫瘍集積量が低値となった要因として、化合物 **1a** の水溶性が高く、受動拡散に伴う腫瘍集積量が低下した可能性を考えた。そこで、まず **2** 分子の水酸基をメトキシ基に変換した化合物 **4a** を設計・合成した。**2** 分子の水酸基の化学修飾を行った場合、炭素 八口ゲン結合の **CYP** に対する代謝安定性の低下が懸念される。しかし、メトキシ基は **CYP** による代謝を受けることで脱メチル化され、化合物 **1a** へと変換されることで安定化されると考えた。そこで、化合物 **4a** の **CYP** 代謝安定性を評価し、マウス体内動態を評価した。

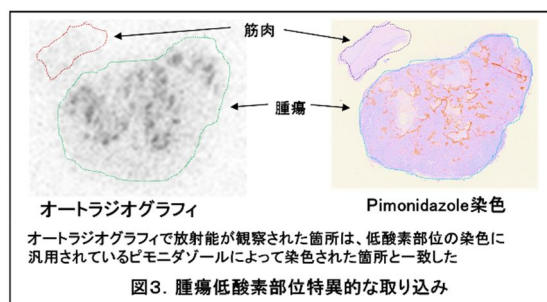
次いで、腫瘍集積量が低値となった別の要因を考えた。初期検討において、化合物 **1**、**2** は生体内でグルクロン酸抱合を受けて尿排泄されることが示された。がん細胞はグルクロン酸抱合を利用し、薬物の排泄性を向上することで薬剤耐性を獲得する例も報告されており、グルクロン酸抱合が腫瘍滞留性を低下している可能性を考えた。この場合、事前に糖修飾を行うことで、グルクロン酸抱合を回避できると考えた。また、化合物 **1** はグルクロン酸抱合後も脱八口ゲンに対して安定であり、化合物 **2** はグルクロン酸抱合を受けることで **CYP** 代謝による脱八口ゲンに対して安定となったことから糖修飾によって安定性の低下が生じる可能性は低いと考え、検討を行った。化合物 **1**、**2** の構造を基にグルコース誘導体を導入した新規候補化合物 **5**、**6** を設計・合成し、**CYP** 代謝安定性とマウス体内動態を検討した。



4. 研究成果

化合物 **1a**、**2**、**3** のモデル化合物を使用した安定性評価研究は本研究に先立ちこれまで実施してきたが、腫瘍低酸素領域標的薬剤開発に有用な標識母体構造の導出に向けて、より詳細な検討を実施した。正常マウス体内動態試験では、化合物 **2**、**3** において胃や甲状腺への集積が観察されていたが、化合物 **1** では低値であった。それぞれの尿分析を行ったところ、化合物 **3** はほとんどの放射活性が **I**-として排泄されていた。化合物 **2** においても **I**-の排泄が観察された一方で、主な放射活性はグルクロン酸抱合体であった。化合物 **1** では **I**-の排泄がほとんど観察されず、その放射活性の大部分はグルクロン酸抱合体として排泄されていた。化合物 **1**、**2** のグルクロン酸抱合体を単離し、**CYP** 代謝に対する安定性を検証したところ、どちらも **CYP** 代謝による脱八口ゲンに対して安定であった。化合物 **2** では **CYP** 代謝による脱八口ゲンが観察されていたことから、グルクロン酸抱合によって安定化されることが示された。**CYP** の代謝産物の代表例として酸素原子付加体が知られていることから、水酸基を豊富に含むグルクロン酸の抱合は **CYP** 代謝の回避に有用であったのかもしれないと考えられる。また、一般的に **CYP** 代謝は脂溶性化合物を基質とし、水溶性向上による排泄促進のために起こることから、グルクロン酸抱合による水溶性向上が **CYP** 代謝に対する安定性向上に寄与した可能性がある。

化合物 **1** を担癌マウスに投与したところ、腫瘍集積量は低値であったが、腫瘍低酸素領域特異的な集積を認めた(図3)。また、胃や甲状腺などへの集積量は低値であり、生体内脱八口ゲンに対して安定であることが示唆された。このことから、腫瘍集積量を向上する必要があるものの、ネオペンチル構造を母体とするニトロイミダゾール誘導体は腫瘍低酸素領域を標的とする薬剤として有用であることが示唆された。そこで、化合物 **1** をプロトタイプ化合物として、その構造変換を行うことで、より高い腫瘍集積を示すニトロイミダゾール誘導体の開発に取り組んだ。



化合物 **4** を設計・合成し、**CYP** 代謝安定性を検討した。マウスミクロソームを用いた検討では、脱ヨウ素も観察された一方で、脱メチルに伴う化合物 **1** の遊離が確認された。従って、脱八口ゲンと脱メチル化に伴う脱八口ゲンに対する安定化は競合的に起こると考えられる。一方、ヒトミクロソームを使用した場合には、脱メチル化のみが観察されたことから、ヒトへ応用した際にはマウスに投与した場合よりも生体内安定性が向上する可能性が示唆された。化合物 **4a** を正常マウスに投与したところ、胃や甲状腺への集積量は低値であった(図4)。化合物 **4a** の ²¹¹At 標識体 (**4b**) を作製し、同様に正常マウス体内動態を検討したところ、**4a** と比較して、胃や甲状腺への集積量が高値となった。化合物 **4a** は担癌マウスに投与し、腫瘍集積も評価したが、

化合物 1 と同様に低値であった。脱メチル化が非常に速やかに進行した結果、化合物 1 と類似した体内動態となった可能性がある。

脂溶性向上による受動拡散に伴う腫瘍集積の向上を図って化合物 4 a を作製した。化合物 4 a の逆相 HPLC の保持時間は化合物 1 と比較して遅延しており、脂溶性は向上していたと考えられる。しかし、腫瘍集積は改善できなかったことから、その後の腫瘍細胞内における代謝が腫瘍集積量の低下につながっている可能性を考えた。そこで、グルコース

誘導体を導入した新規候補化合物の設計・合成を計画した。化合物 1 a, 2 のグルクロン酸抱合体がいずれも安定であったことから、2 種の化合物 5, 6 を設計・合成した。担癌マウスに投与し、体内動態を検討したところ化合物 6 において腫瘍集積の向上が確認された (図 5)。本結果は、ネオペンチル構造を標識部位とする放射性ハロゲン標識ニトロイミダゾール誘導体に対して、適切な化学修飾を行うことで腫瘍集積量を改善できる可能性を示す。しかし、化合物 5, 6 のいずれにおいても胃や甲状腺への集積量の増加が観察され (図 5)、脱ヨウ素の可能性が示唆された。従って、生体内安定であり、かつ高い腫瘍集積を示す ²¹¹At 標識ニトロイミダゾール誘導体の開発には更なる構造最適化が必要であることが示唆された。

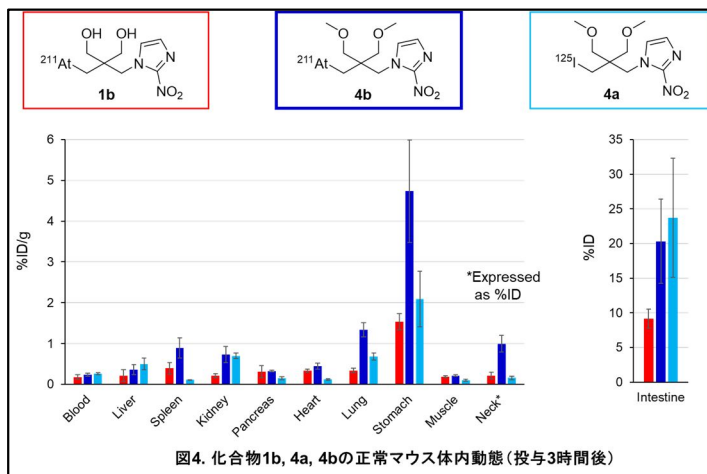


図4. 化合物1b, 4a, 4bの正常マウス体内動態 (投与3時間後)

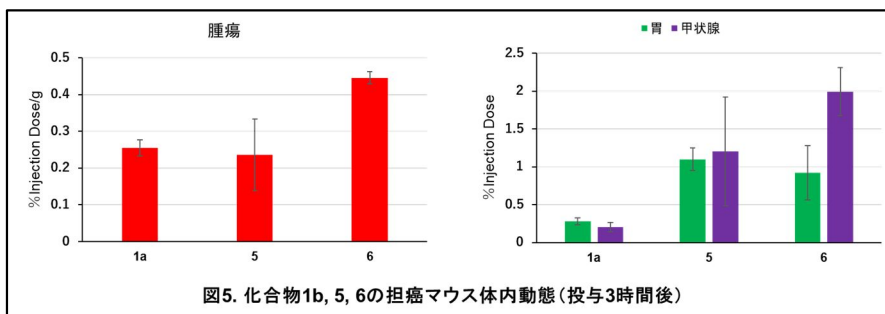


図5. 化合物1b, 5, 6の担癌マウス体内動態 (投与3時間後)

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 Suzuki Hiroyuki, Kaizuka Yuta, Tatsuta Maho, Tanaka Hiroshi, Washiya Nana, Shirakami Yoshifumi, Ooe Kazuhiro, Toyoshima Atsushi, Watabe Tadashi, Teramoto Takahiro, Sasaki Ichiro, Watanabe Shigeki, Ishioka Noriko S., Hatazawa Jun, Uehara Tomoya, Arano Yasushi	4. 巻 64
2. 論文標題 Neopentyl Glycol as a Scaffold to Provide Radiohalogenated Theranostic Pairs of High <i>In Vivo</i> Stability	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Medicinal Chemistry	6. 最初と最後の頁 15846 ~ 15857
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jmedchem.1c01147	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6件（うち招待講演 0件／うち国際学会 1件）

1. 発表者名 鈴木 博元
2. 発表標題 211At標識テトラジン誘導体のプレターゲットング用薬剤としての基礎的評価
3. 学会等名 日本核医学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山下 紗葵
2. 発表標題 ネオペンチル基を標識部位とする211At標識用click chemistry試薬の開発
3. 学会等名 日本薬学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Suzuki H, Tanaka H, Washiya N, Tatsuta M, Sato Y, Kaizuka Y, Watanabe S, Uehara T, Ishioka N, Shirakami Y, Ooe K, Toyoshima A, Watabe T, Hatazawa J, Arano A.
2. 発表標題 Radiohalogenated neopentyl derivatives: A novel scaffold for radioiodinated and astatinated compounds of high stability against <i>in vivo</i> dehalogenation
3. 学会等名 The 11th International Symposium on Targeted-Alpha-Therapy (国際学会)
4. 発表年 2019年 ~ 2020年

1. 発表者名 貝塚祐太、鈴木博元、龍田真帆、田中浩士、上原知也、白神宜史、大江一弘、渡辺茂樹、豊嶋厚史、渡部直史、石岡典子、畑澤順、荒野泰
2. 発表標題 Radiotheranosticsに有用な放射性ヨウ素/アスタチン-211標識母体としてのネオペンチル誘導体の評価
3. 学会等名 第17回次世代を担う若手のためのフィジカル・ファーマフォーラム
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 貝塚祐太、鈴木博元、龍田真帆、田中浩士、上原知也、荒野泰
2. 発表標題 211At / 125I 標識ネオペンチル構造の生体内安定性に対する水酸基の寄与
3. 学会等名 第19回放射性医薬品・画像診断薬研究会
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 貝塚祐太、鈴木博元、佐藤由衣、龍田真帆、鷲谷奈菜、田中浩士、渡辺茂樹、石岡典子、荒野泰、上原知也
2. 発表標題 プレターゲティングに向けた211At標識テトラジン誘導体の開発とその基礎的評価
3. 学会等名 日本薬学会第139年会
4. 発表年 2019年～2020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	大江 一弘 (Ooe Kazuhiro) (90610303)	大阪大学・医学部附属病院・特任助教(常勤) (14401)	

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	佐々木 一郎 (Sasaki Ichiro) (60817477)	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・主任技術員（任常） (82502)	

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