

令和 3 年 5 月 13 日現在

機関番号：14301

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K17166

研究課題名（和文）クマリンを基盤とした炭酸脱水酵素IX標的がんセラノスティクス用薬剤の開発

研究課題名（英文）Development of coumarin-based theranostic agents targeting carbonic anhydrase-IX

研究代表者

飯國 慎平（Ikuni, Shimpei）

京都大学・薬学研究科・助教

研究者番号：70837731

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：固形腫瘍の低酸素領域に高く発現することが知られている炭酸脱水酵素IX(CA-IX)を標的としたがんセラノスティクス薬剤の開発を計画した。クマリン骨格の安定性に問題があることが示唆されたため、新規CA-IXリガンドとして以前に我々が見出したイミダゾチアジアゾールスルホンアミド(IS)をクマリンの代わりに用いることとした。ISを基盤とした放射標識CA-IXイメージングプローブを開発するため、¹¹¹In、⁶⁸Ga、および^{99m}Tcにより標識したIS誘導体をそれぞれ設計・合成した。CA-IX高発現腫瘍移植マウスを用いた検討により、いずれの化合物もセラノスティクス薬剤として有用であ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

固形がんにおける低酸素領域は、がんの化学療法や放射線治療に対する抵抗性を示すため、その領域を生体イメージングにより体外から可視化することは患者の治療方針の決定に有意義である。炭酸脱水酵素IXはがん低酸素領域に高発現することが報告されているため、本研究成果である炭酸脱水酵素IXを標的とした放射性薬剤により、患者におけるがんの低酸素領域の場所を体外から可視化できる可能性が示された。また、本研究成果を治療用放射性薬剤に応用することにより、患者一人ひとりの病態に適合する治療（個別化医療）を展開できると期待される。

研究成果の概要（英文）：The purpose of this study is to develop cancer theranostic agents targeting carbonic anhydrase-IX (CA-IX) overexpressed in hypoxic regions of solid tumors. Our original CA-IX ligand, imidazothiadiazole sulfonamide (IS)-based compounds labeled with ¹¹¹In, ⁶⁸Ga, or ^{99m}Tc were designed and synthesized. A biodistribution study using CA-IX high-expressing tumor-bearing mice demonstrated that the ¹¹¹In, ⁶⁸Ga, or ^{99m}Tc-labeled IS derivatives had favorable tumor accumulation. SPECT imaging performed with the ¹¹¹In-labeled IS derivative resulted in tumors in model mice being clearly visualized, while no marked radioactivity was observed in the normal organs. These results indicate that the ¹¹¹In, ⁶⁸Ga, or ^{99m}Tc-labeled IS derivatives may be effective CA-IX-targeting theranostic agents.

研究分野：放射線科学

キーワード：炭酸脱水酵素IX セラノスティクス イメージング 固形腫瘍

1. 研究開始当初の背景

セラノスティクス(theranostics)は、治療(therapeutics)と診断(diagnostics)のそれぞれのモダリティを組み合わせたものと定義される(Jadvar H et al., Radiology, 286, 388-400, 2018)。診断のモダリティとして、核磁気共鳴イメージング(magnetic resonance imaging, MRI)、陽電子放出断層撮像(positron emission tomography, PET)、単光子放出断層撮像(single photon emission computed tomography, SPECT)など、治療のモダリティとして、化学療法、放射線治療などが挙げられる。近年、PET/SPECT と RI 内用療法を組み合わせたラジオセラノスティクス(radiotheranostics)が、大きな注目を集めている。放射標識された前立腺特異的膜抗原阻害薬によるラジオセラノスティクスは、がん患者における腫瘍の PET イメージングに伴って RI 内用療法を行うことで劇的な治療効果が得られるなど、大きな成功を収めている(Kratochwil C et al., J Nucl Med, 57, 1941-4, 2016)。このように、低分子薬剤を用いたラジオセラノスティクスは、セラノスティクスの実現に非常に有効であると考えられている。

低酸素誘導シグナル伝達カスケードにおける生体分子を標的とすることは、がん治療に有効な戦略であると考えられてきた。低酸素誘導因子カスケードにより、炭酸脱水酵素(carbonic anhydrase, CA)のアイソザイムの1種である CA-IX など、様々なタンパク質の発現が調節される。CA-IX は二酸化炭素と水からプロトンと炭酸水素イオンを産生する可逆反応を触媒し、様々なタンパク質と共同して細胞内外の pH を調節することにより、がん細胞の増殖や転移に関与すると考えられている。多種類の腫瘍において CA-IX の過剰な発現が認められるから、CA-IX はがんの治療および診断における優れた標的であると考えられている。現在までに、CA-IX を標的とした治療または診断のための低分子薬剤の開発研究が活発に行われてきたが、治療および診断を組み合わせた CA-IX 標的セラノスティクス用薬剤に関する報告は、数がかなり限られている。

以上より、腫瘍低酸素領域のセラノスティクスを実現し得る CA-IX 標的薬剤の開発が強く望まれている。

2. 研究の目的

本研究の目的は、低酸素環境に高く特異的に発現する CA-IX を標的とした新規がんラジオセラノスティクス用放射性金属薬剤の開発である。

現在までに開発されてきた CA-IX 標的低分子薬剤は、主にスルホンアミドを基盤とする。スルホンアミドは CA に結合することが報告されているが、他の CA アイソザイムと比較して、CA-IX への選択性が低いことが知られている。一方で近年、CA との結合部位がスルホンアミドとは異なるクマリン誘導体が、新たに CA-IX 阻害剤として報告され、適切な置換基の導入により、高い CA-IX 選択性を有する化合物も見出されている。

クマリンの CA 阻害能に関する報告はあるが、クマリンを利用した CA-IX イメージングおよびセラノスティクスに関する報告は未だ無いことから、クマリンを基盤とした CA-IX 標的セラノスティクス用放射性金属薬剤の開発研究は CA-IX 標的低分子薬剤の開発研究の更なる発展をもたらすことが期待できる。

3. 研究の方法

固形腫瘍の低酸素領域に高く発現することが知られている CA-IX を標的としたがんセラノスティクス薬剤の開発を目的として、金属配位子である DOTA にクマリン誘導体(CA-IX リガンド)を2分子導入した新規化合物 CM2 を設計・合成した。CM2 に SPECT 用放射性核種である ^{111}In を導入した ^{111}In CM2 を放射化学的収率 22%で作製した(図 1)。しかし、 ^{111}In CM2 を H_2O 中で 30 分間静置後、HPLC により放射化学的純度を測定したところ、 ^{111}In CM2 のほとんどが分解されたことが認められた。クマリン骨格の安定性に問題があることが示唆されたため、新規 CA-IX リガンドとして以前に我々が見出したイミダゾリアゾールスルホンアミド(IS)をクマリンの代わりに DOTA に導入した DO3A-IS1 を設計・合成し、SPECT 用 ^{111}In で標識した ^{111}In DO3A-IS1 を作製した(図 2)。また、PET 用 ^{68}Ga または SPECT 用 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ を基盤とした IS 誘導体である ^{68}Ga Ga-DO3A-IS1 および $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ISB2 を設計・合成した(図 2)。 ^{68}Ga Ga-DO3A-IS1 に関しては、 ^{68}Ga と比較して半減期が長く扱いやすい ^{67}Ga により標識した ^{67}Ga Ga-DO3A-IS1 を合成し、それを用いて基礎的評価を行った。これらの化合物について、CA-IX 高発現(HT-29)細胞および低発現(MDA-MB-231)細胞を用いた細胞結合実験、HT-29 腫瘍移植モデルマウスを用いた体内放射能分布実験、PET/SPECT イメージング評価を行うことにより、CA-IX イメージングプローブとしての有用性を評価した。

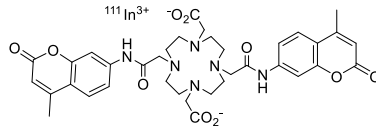


図 1. $[^{111}\text{In}]\text{In-CM2}$ の化学構造

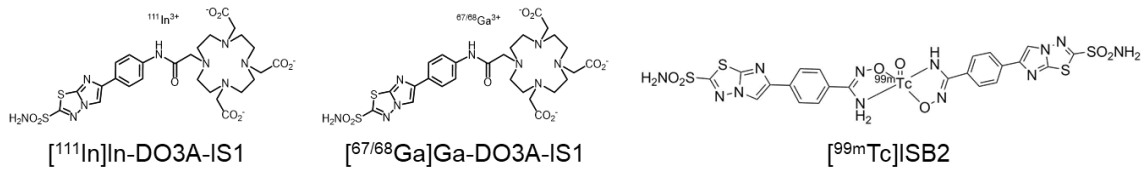


図 2. $[^{111}\text{In}]\text{In-DO3A-IS1}$ 、 $[^{67/68}\text{Ga}]\text{Ga-DO3A-IS1}$ 、 $[^{99\text{m}}\text{Tc}]\text{ISB2}$ の化学構造

4. 研究成果

$[^{111}\text{In}]\text{In-DO3A-IS1}$ および $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-DO3A-IS1}$ の標識前駆体である DO3A-IS1、 $[^{99\text{m}}\text{Tc}]\text{ISB2}$ の標識前駆体である ISBHam を下記スキーム(図 2)に従い合成した。

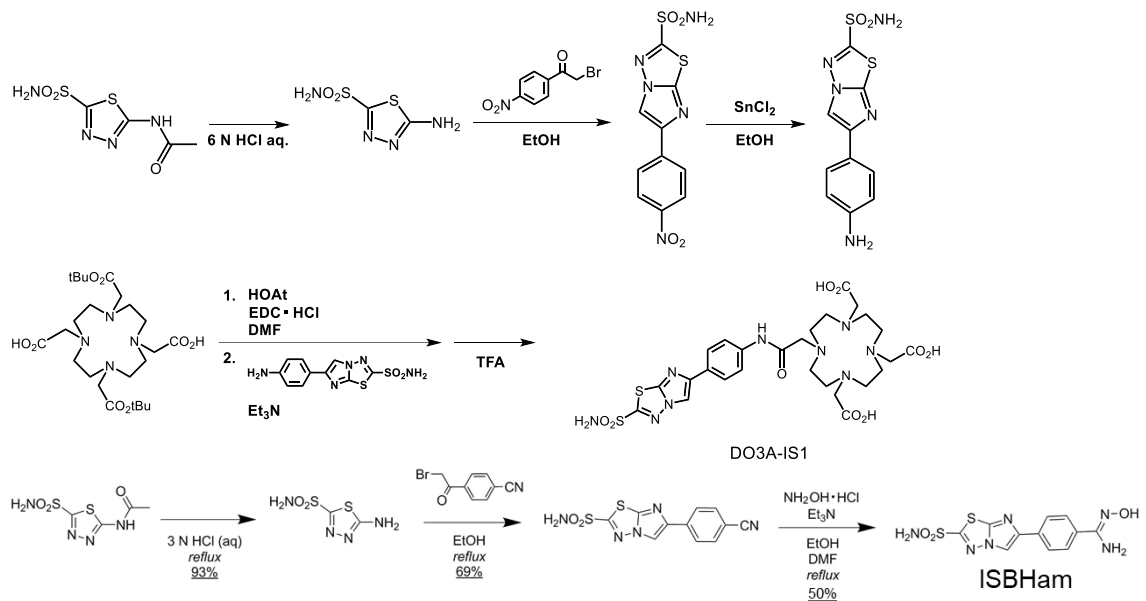


図 3. DO3A-IS1 および ISBHam の合成スキーム

それぞれの標識前駆体より $[^{111}\text{In}]\text{In-DO3A-IS1}$ 、 $[^{67/68}\text{Ga}]\text{Ga-DO3A-IS1}$ 、 $[^{99\text{m}}\text{Tc}]\text{ISB2}$ を作製した。

細胞結合実験において、 $[^{111}\text{In}]\text{In-DO3A-IS1}$ 、 $[^{67}\text{Ga}]\text{Ga-DO3A-IS1}$ 、 $[^{99\text{m}}\text{Tc}]\text{ISB2}$ はいずれも CA-IX 高発現 (HT-29) 細胞に対する特異的結合性を示した。また、いずれの化合物も、モデルマウスを用いた体内放射能分布実験において良好な腫瘍集積性を示した (図 4-6)。

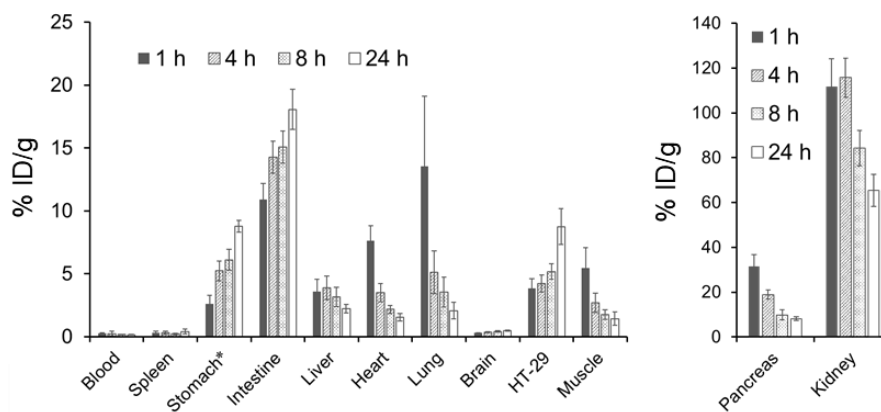


図 4. HT-29 腫瘍移植モデルマウスにおける $[^{111}\text{In}]\text{In-DO3A-IS1}$ の体内分布

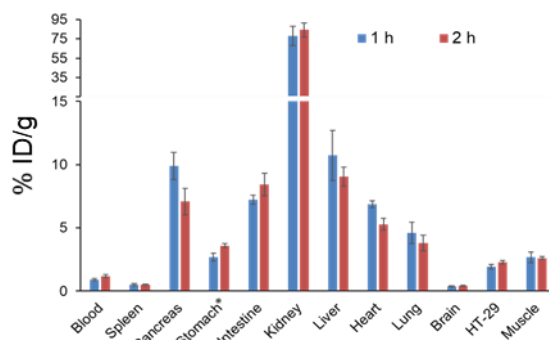


図 5. HT-29 腫瘍移植モデルマウスにおける $[^{67}\text{Ga}]\text{Ga-DO3A-IS1}$ の体内分布

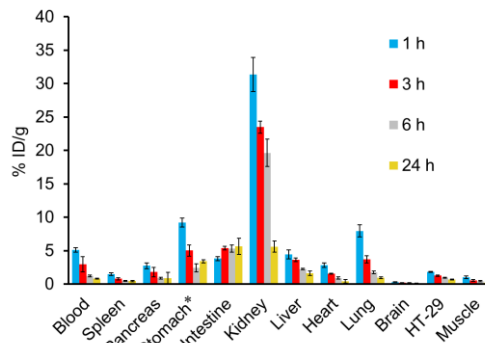


図 6. HT-29 腫瘍移植モデルマウスにおける $[^{99\text{m}}\text{Tc}]\text{ISB2}$ の体内分布

$[^{111}\text{In}]\text{In-DO3A-IS1}$ および $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-DO3A-IS1}$ を用いて、HT-29 腫瘍移植モデルマウスの SPECT および PET イメージング実験をそれぞれ行った(図 7)。 $[^{111}\text{In}]\text{In-DO3A-IS1}$ を用いた SPECT および $[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-DO3A-IS1}$ を用いた PET により、モデルマウスの腫瘍を描出することに成功した。

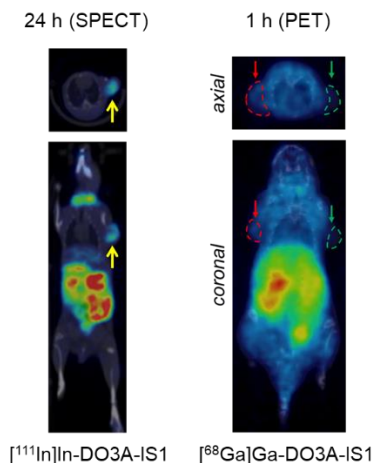


図 7. HT-29 腫瘍移植モデルマウスの SPECT イメージング($[^{111}\text{In}]\text{In-DO3A-IS1}$)および PET イメージング($[^{68}\text{Ga}]\text{Ga-DO3A-IS1}$)

以上より、治療用核種を用いた検討は未実施であるが、 $[^{111}\text{In}]\text{In-DO3A-IS1}$ 、 $[^{67/68}\text{Ga}]\text{Ga-DO3A-IS1}$ 、 $[^{99\text{m}}\text{Tc}]\text{ISB2}$ が CA-IX 標的ラジオセラノスティクス薬剤としての有用である可能性が示された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3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 Iikuni Shimpei, Okada Yuya, Shimizu Yoichi, Watanabe Hiroyuki, Ono Masahiro	4. 巻 30
2. 論文標題 Synthesis and evaluation of indium-111-labeled imidazothiadiazole sulfonamide derivative for single photon emission computed tomography imaging targeting carbonic anhydrase-IX	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters	6. 最初と最後の頁 127255 ~ 127255
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bmcl.2020.127255	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 -

1. 著者名 Iikuni Shimpei, Kitano Anna, Watanabe Hiroyuki, Shimizu Yoichi, Ono Masahiro	4. 巻 30
2. 論文標題 Synthesis and evaluation of novel technetium-99m-hydroxamate complex based on imidazothiadiazole sulfonamide targeting carbonic anhydrase-IX for tumor imaging	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters	6. 最初と最後の頁 127596 ~ 127596
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bmcl.2020.127596	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 -

1. 著者名 Nakashima Kazuma, Iikuni Shimpei, Okada Yuya, Watanabe Hiroyuki, Shimizu Yoichi, Nakamoto Yuji, Ono Masahiro	4. 巻 93
2. 論文標題 Synthesis and evaluation of ⁶⁸ Ga-labeled imidazothiadiazole sulfonamide derivatives for PET imaging of carbonic anhydrase-IX	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nuclear Medicine and Biology	6. 最初と最後の頁 46 ~ 53
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.nucmedbio.2020.11.008	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4件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 岡田 祐哉, 飯國 慎平, 渡邊 裕之, 志水 陽一, 小野 正博
2. 発表標題 腎集積低減を目指した炭酸脱水酵素IXを標的とする放射性金属錯体の合成と評価
3. 学会等名 日本薬学会 第140年会 (京都)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 北野 杏奈, 飯國 慎平, 渡邊 裕之, 志水 陽一, 小野 正博
2. 発表標題 イミダゾチアジアゾールスルホンアミド骨格を導入した新規 ^{99m} Tc-ヒドロキサムアミド錯体の炭酸脱水酵素IXイメージングプローブとしての有用性評価
3. 学会等名 日本薬学会 第140年会 (京都)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 中島 一磨, 飯國 慎平, 岡田 祐哉, 渡邊 裕之, 志水 陽一, 小野 正博
2. 発表標題 炭酸脱水酵素IXのPETイメージングを目的とした放射性ガリウム標識イミダゾチアジアゾールスルホンアミド誘導体の合成と基礎的評価
3. 学会等名 日本薬学会 第140年会 (京都)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 中島 一磨, 飯國 慎平, 岡田 祐哉, 渡邊 裕之, 志水 陽一, 小野 正博
2. 発表標題 炭酸脱水酵素IXを標的とした新規 ⁶⁸ Ga標識化合物の合成と評価
3. 学会等名 第60回日本核医学会学術総会 (神戸)
4. 発表年 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

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
---------	---------