

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 年 5 月 29 日現在

機関番号：13301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2016

課題番号：26860987

研究課題名(和文) 固形腫瘍の早期発見・増殖能診断を目的とした  $\sigma$ -2受容体イメージング剤の開発研究

研究課題名(英文) Development of the sigma-2 receptor imaging agent for the purpose of early detection and the proliferation potency diagnosis of the solid tumor

研究代表者

小阪 孝史 (Kozaka, Takashi)

金沢大学・学際科学実験センター・助教

研究者番号：50579836

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：シグマ( $\sigma$ )-2受容体は、乳がんや膵がんなど多種の固形腫瘍細胞において発現が見られ、特に増殖期では静止期と比べ、最大10倍の  $\sigma$ -2受容体が過剰発現していることが明らかにされている。即ち、 $\sigma$ -2受容体は増殖期の固形腫瘍細胞の重要なバイオマーカーであり、 $\sigma$ -2受容体イメージングは、がんの早期発見や増殖能診断に有効な手段となる可能性を意味している。本研究において開発した[125I]PIDVは、in vitro及びin vivoにおいて優れた  $\sigma$ -2受容体集積能を示し、また[123I]PIDVをヒト乳腺癌細胞MCF-7担癌マウスに投与し、SPECTによる  $\sigma$ -2受容体イメージングに成功した。

研究成果の概要(英文)：Expression of sigma-2 receptor is seen in many kinds of solid tumor cell, such as breast cancer and the pancreatic cancer, and sigma-2 receptor of up to 10 times overexpressed in the proliferation period. In other words, sigma-2 receptor was important biomarker of the solid tumor cell for the proliferation period, and sigma-2 receptor imaging is estimated to possess the possibility for early detection and the increase ability diagnosis of cancer. [125I]PIDV, which I developed in this study, showed superior sigma-2 receptor accumulation in in vitro and in vivo and [123I]PIDV worked successfully in sigma-2 receptor imaging with tumor-bearing mouse (human breast adenocarcinoma cell line MCF-7) by the SPECT.

研究分野：分子イメージング

キーワード： $\sigma$ -2受容体 vesamicol 分子イメージング

## 1. 研究開始当初の背景

現在、がん(悪性腫瘍)は日本で死因の約3割を占めており、団塊世代に代表される高齢者の増加は、今後、がん罹患率の増加につながると予想されている。がん克服には早期発見・早期治療が極めて重要であり、これまで様々なバイオマーカーを利用した早期診断法へのアプローチが行われている。中でもポジトロン断層法(PET)や単一光子放射断層撮影(SPECT)を用いた画像診断法は、体への負担が少なく(非侵襲的)、小さな早期がん細胞でも見つけることが出来るという特長を有する。この診断法を利用・発展させていく上で最も重要な因子は、標的がん細胞に特異的に結合する放射性医薬品の開発である。近年、 $[^{18}\text{F}]$ FDGを用いたPET検査が加速度的に普及しているが、 $[^{18}\text{F}]$ FDGはがん細胞だけではなく、糖代謝が多い正常臓器や炎症部位にも集積してしまうという欠点を持ち、また、描画したがん細胞の増殖状態を知ることが出来ない。

一方、シグマ( )-2受容体は、生物学的作用については未だ不明な点が多いが、細胞のアポトーシスに関連していることなどが解明されている。また、乳がんや膵がんなど多種の固形腫瘍細胞において発現が見られ、特に増殖期では静止期と比べ、最大10倍の-2受容体が過剰発現していることが明らかにされている。即ち、-2受容体は増殖期の固形腫瘍細胞の重要なバイオマーカーであり、-2受容体イメージングは、がんの早期発見や増殖能診断に有効な手段となる可能性を意味している。しかしながら、高親和性・高選択性を有する-2受容体イメージング剤は、未だ研究段階の域を超えておらず、その開発が待ち望まれている。

## 2. 研究の目的

Vesamicolは、受容体と小胞アセチルコリントランスポーター(VACHT)に親和性を有することが知られている。申請者はこれまでに、vesamicol類縁体 *p*-iodo-*trans*-decalinvesamicol (PIDV)を新規に合成し、*in vitro*スクリーニングにおいて、PIDVが-2受容体に対して高い親和性と選択性を示すことを明らかにした。そこで次の課題となるのは、化合物構造の最適化、及び-2受容体選択的リガンドとしての更なる生物学的評価である。即ち、PIDVをリード化合物として様々な新規類似構造化合物を合成し、PIDVも含めて*in vitro*や*in vivo*、放射性核種での標識、画像化などの実験を行い、-2受容体イメージング剤としての能力を評価する。本研究は、選択性の高い新規放射性-2受容体イメージング剤を開発し、増殖状態にある固形腫瘍細胞の可視化解析システムの構築を目指すものである。

## 3. 研究の方法

固形腫瘍の早期発見や増殖能診断を目的として、増殖期の固形腫瘍細胞をSPECTやPETにより画像診断することが可能となるトレーサーを新規に開発する。即ち、高い選択性と親和性を示す新規放射性-2受容体イメージング剤を開発する。

1) まず、リード化合物PIDVの化学構造を基に、構造活性相関を考察し、様々な類似構造体や誘導体を合成する。これまでに申請者は、パラ位に官能基(ヨウ素、メチル基)を持つフェニルピペリジン骨格部分が、-2受容体との結合に最適であることを見出している。そこで、フェニルピペリジン骨格は維持したまま、*trans*-decalin骨格部分の様々な構造への変換や各種官能基導入をデザインし、類似構造化合物を合成する。

2) 上記の新規化合物群を*in vitro*薬物阻害実験によりスクリーニングし、より選択性の高い-2受容体リガンドを絞り込んでいく。

3) 次に、得られた高選択的-2受容体リガンドのSPECT用放射性核種による標識(tracer化)として $[^{123}\text{I}]$ 標識を行う。この標識は、トリブチルスズ体を前駆体とした有機スズ-放射性ヨード交換反応という既に確立している手法を活用して、高比放射能標識を行う。前駆体のスズ体までの合成は、PIDV合成経路を応用する予定である。

4) -2受容体の過剰発現が知られているヒト由来乳がん細胞MCF-7(Michigan Cancer Foundation-7)を培養し、これを用いて新規放射性核種標識体の*in vitro*薬物細胞内取り込み実験を行い、-2受容体親和性を評価する。

5) 担癌(MCF-7)マウスを用いた体内分布実験により、*in vivo*での新規放射性核種標識体のがん細胞への集積性や体内動態を調べる。また、担癌マウスに新規放射性核種標識体を投与し、実際にSPECT/PET-CT撮像実験を行い、-2受容体イメージング剤としての評価を行う。

上記1~5を行うことにより、増殖期の固形腫瘍細胞の画像診断を可能にし、がんの早期治療に必要な早期発見や増殖能診断の手法を新たに開発する。

## 4. 研究成果

新規vesamicol類縁体PIDVを合成し、*in vitro*において、PIDVが-2受容体に対して高い親和性と選択性を示すことを明らかにしている。そこで放射性ヨウ素標識したPIDVと腫瘍細胞を用いて、*in vitro*及び*in vivo*におけるPIDVの評価を行った。放射性ヨウ素標識は、トリメチルスズ体OTDVを前駆体に用いる一般的なスズ-ヨウ素交換反応により、 $^{125}\text{I}$ 標識合成に成功した。次に、ヒト乳癌細胞MCF-7、及びヒト悪性黒色腫細胞A375を用いて、 $[^{125}\text{I}]$ PIDVの細胞内取込実験を行った。

その結果, MCF-7 及び A375 のいずれの腫瘍細胞においても, control 群は高い  $^{125}\text{I}$  PIDV 細胞内取込量を示し, また, 阻害剤 haloperidol (10  $\mu\text{M}$ ) によって強く阻害されることが明らかになった. また, *in vivo* 体内分布実験では, MCF-7 及び A375 のいずれの腫瘍細胞においても, 腫瘍細胞に高い集積を示した. MCF-7 をヌードマウスに移植し, 担癌マウスを作成した. また, PTDV を前駆体に用いて一般的なスズ-ヨウ素交換反応による  $^{123}\text{I}$  による標識合成を行い,  $^{123}\text{I}$  PIDV を得た. ヌードマウスに  $^{123}\text{I}$  PIDV 投与 4 時間後, 腫瘍細胞へのトレーサー集積が認められ,  $^{123}\text{I}$  PIDV の -2 受容体イメージング剤としての可能性が示されたと考えている.

また, PIDV をリード化合物として, 4-フェニルピペリジン部とシクロヘキサノール部から成る vesamicol 骨格を堅持し, パラ位にハロゲン基を有する立体配置が各々異なる bicyclo [4.1.0]/[4.2.0]/[4.3.0] 骨格を有する 12 種の vesamicol 類縁体群をデザインし, 有機合成を行った. 合成した新規化合物を阻害剤 (10 種の濃度) として用い, 標的部位とラジオリガンドの結合に対する阻害効果を調べる *in vitro* 薬物阻害実験を行った. その結果, ベンゼン環上パラ位に Br を有する vesamicol 類縁体群はいずれも高い -2 受容体親和性を示し, 中でも bicyclo [4.2.0] 骨格を有する PBcOV が vesamicol と比べて 40 倍以上高い -2 受容体親和性を示した. 一方, 双環性構造が大きくなるに従って -1 受容体親和性が下がる傾向が見られ, 双環性構造の脂溶性・サイズの選択が -2 受容体選択性向上において重要であることが明らかとなった.

次に, パラ位にプロモ基を有し, vesamicol の 6 員環部を 5~8 員環に変換した vesamicol 類縁体群を有機合成し, それらを阻害剤 (10 種の濃度) として用いた *in vitro* 薬物阻害実験を行った. その結果, 5~8 員環及びベンゼン環上パラ位にプロモ基を有する vesamicol 類縁体群はいずれも vesamicol と比べて 4~16 倍高い -2 受容体親和性を示した一方, -1 受容体親和性も高く, 選択性が全く現れないことが分かった.

## 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 5 件)

Izumi Uno, Takashi Kozaka, Daisuke Miwa, Yoji Kitamura, Mohammad Anwar-ul Azim, Kazuma Ogawa, Junichi Taki, Seigo Kinuya, Kazuhiro Shiba, "In Vivo Differences between Two Optical Isomers of Radioiodinated *o*-iodo-*trans*-decalinvesamicol for Use as a Radioligand for the Vesicular Acetylcholine Transporter", *PLoS ONE*, **2016**, *11*, e0146719, pp 1-14, 査読有.

Yoji Kitamura, Takashi Kozaka, Daisuke Miwa, Izumi Uno, Mohammad Anwar-ul Azim, Kazuma Ogawa, Junichi Taki, Seigo Kinuya, Kazuhiro Shiba, "Synthesis and evaluation of a new vesamicol analog *o*- $^{11}\text{C}$  methyl-*trans*-decalinvesamicol as a PET ligand for the vesicular acetylcholine transporter", *Annals of Nuclear Medicine*, **2016**, *30*, pp 122-129, 査読有.

Kazuma Ogawa, Yoshiaki Mizuno, Kohshin Washiyama, Kazuhiro Shiba, Naruto Takahashi, Takashi Kozaka, Shigeki Watanabe, Atsushi Shinohara, Akira Odani, "Preparation and evaluation of an astatine-211-labeled sigma receptor ligand for alpha radionuclide therapy", *Nuclear Medicine and Biology*, **2015**, *42*, pp 875-879, 査読有.

小阪孝史, 北村陽二, 柴 和弘 "脳内小胞アセチルコリントランスポーターのイメージング研究", *PET journal* **2015**, *29*, pp. 8-11, 査読無.

Mohammad Anwar-ul Azim, Takashi Kozaka, Izumi Uno, Daisuke Miwa, Yoji Kitamura, Kazuma Ogawa, Akira Makino, Yasushi Kiyono, Kazuhiro Shiba, "The potential of *o*-bromo-*trans*-decalinvesamicol as a new PET ligand for vesicular acetylcholine transporter imaging", *Synapse* **2014**, *68*, 445-453, 査読有.

[学会発表] (計 18 件)

石山史奈, 小阪孝史, 高橋茉衣夏, 北村陽二, 茂野泰貴, 小川数馬, 柴 和弘, 「環サイズの異なる vesamicol 類縁体の小胞アセチルコリントランスポーター及びシグマ受容体との構造活性相関」, 平成 29 年 3 月 25-27 日 日本薬学会 第 137 年会 (仙台国際センター, 仙台), ポスター発表.

茂野泰貴, 小阪孝史, 北村陽二, 石山史奈, 小川数馬, 柴 和弘, 「5 員環を有する vesamicol 類縁体のシグマ-1 受容体イメージング剤としての基礎的評価」, 平成 29 年 3 月 25-27 日 日本薬学会 第 137 年会 (仙台国際センター, 仙台), ポスター発表.

北嶋祥太郎, 小澤 梓, 北村陽二, 小阪孝史, 茂野泰貴, 小川数馬, 柴 和弘, 「ヒト染色体 15 番長腕重複モデルマウスのストレス負荷によるドーパミン受容体への影響」, 平成 29 年 3 月 25-27 日 日本薬学会 第 137 年会 (仙台国際センター, 仙台), ポスター発表.

小阪孝史, 緩詰沙耶, 茂野泰貴, 北村陽二, 小川数馬, 川井恵一, 絹谷清剛, 柴 和弘, 「SPECT 用 -2 受容体イメージング剤  $^{123}\text{I}$  PIDV の開発研究」, 平成 28 年 11 月 3-5 日 第 56 回日本核医学会学術総会 (名古屋国際会議場, 名古屋), 口頭発表.

Mizuno Y, Makino A, Masuda R, Kozaka T, Kitamura Y, Kiyono Y, Shiba K, Odani A "Development of a radiobromine-labeled

compound as a sigma receptor ligand for tumor imaging」, 平成 28 年 6 月 11-15 日 2016SNMMI 63th annual meeting ( Baltimore Convention Center, Sangiego, USA ), ポスター発表.

Azim MA, Kozaka T, Uno I, Miwa D, Kitamura Y, Shiba K., 「In vitro evaluation meta-bromo benzovesamicol as PET VACHT imaging Probe」, 平成 28 年 5 月 5-8 日 The 2nd Asian Nuclear Medicine Academic Forum 2016 (Shanghai, China), ポスター発表.

⑦ 小阪孝史, 「有機合成化学を基盤とした分子イメージング研究」, 平成 28 年 4 月 2 日 平成 28 年度北信越若手有機合成化学若手研究会 ( 四高記念文化交流館, 金沢 ), 口頭発表.

石山史奈, 北嶋祥太郎, 北村陽二, 小阪孝史, 小川数馬, 東田陽博, 柴 和弘, 「CD157/BST1 ノックアウトマウスのドーパミン神経系の局所脳内分布変化」, 平成 28 年 3 月 27-29 日, 日本薬学会, 第 136 年会 ( 横浜 ), ポスター発表.

北嶋祥太郎, 菅谷 望, 北村陽二, 石山史奈, 小阪孝史, 小川数馬, 柴 和弘, 「ストレス性疾患の早期画像診断のターゲットとしてのシグマ受容体の可能性」, 平成 28 年 3 月 27-29 日, 日本薬学会, 第 136 年会 ( 横浜 ), ポスター発表.

小阪孝史, 柴山怜子, 稲垣冬彦, 向 智里, 北村陽二, 小川数馬, 柴 和弘, 「Vesamicol を母核とする新規 -2 受容体選択的リガンドの開発研究」, 平成 28 年 3 月 27-29 日, 日本薬学会, 第 136 年会 ( 横浜 ), ポスター発表.

粟生木美穂, 鷲山幸信, 柴 和弘, 小阪孝史, 渡邊茂樹, 小川数馬, シグマ受容体を標的とした At-211 標識薬剤の開発研究 第 55 回日本核医学会学術総会 ( 東京医科歯科大学, 東京 ), 2015 年 11 月 5 日 ~ 7 日, 口頭発表.

黒宮里紗, 菅谷 望, 北村陽二, 三輪大輔, 小阪孝史, 小川数馬, 内匠 透, 柴 和弘 「15q 重複モデルマウスにおける脳内ドーパミン神経系の変化」 平成 27 年 3 月 26-28 日 日本薬学会 第 135 年会 ( 神戸 ), ポスター発表.

小阪孝史, 茂野泰貴, 三輪大輔, 北村陽二, Mohammad A. Azim, 小川数馬, 川井恵一, 柴 和弘 「光学活性体 (-)-[<sup>11</sup>C]OMDV の VACHT イメージング剤としての評価」 平成 27 年 3 月 26-28 日 日本薬学会 第 135 年会 ( 神戸 ), ポスター発表.

小阪孝史, 緩詰沙耶, 三輪大輔, 北村陽二, Mohammad A. Azim, 小川数馬, 川井恵一, 柴 和弘 「新規 vesamicol 類縁体 PIDV の -2 受容体イメージング剤としての可能性」 平成 27 年 3 月 26-28 日 日本薬学会 第 135 年会 ( 神戸 ), ポスター発表.

三輪大輔, 小阪孝史, 北村陽二, Mohammad A. Azim, 黒宮里紗, 緩詰沙耶, 小川数馬, 川井恵一, 柴 和弘 「PET 用イメージング剤 [<sup>11</sup>C]OMDV の光学分割と動態評価」 平成 26

年 11 月 6-8 日 第 54 回日本核医学会学術総会 ( 大阪国際会議場, 大阪府 ), 口頭発表.

小阪孝史, 緩詰沙耶, 三輪大輔, Mohammad A. Azim, 黒宮里紗, 北村陽二, 小川数馬, 川井恵一, 柴 和弘 「SPECT 用 -2 受容体イメージング剤の合成と基礎的評価」 平成 26 年 11 月 6-8 日 第 54 回日本核医学会学術総会 ( 大阪国際会議場, 大阪府 ), 口頭発表.

Mohammad A. Azim, Takashi Kozaka, Izumi Uno, Daisuke Miwa, Yoji Kitamura, Kazuma Ogawa, Keiichi Kawai, Yasushi Kiyono, and Kazuhiro Shiba “Introduction of radiobromine labeled decalinvesamicol analogue as a new and promising PET vesicular acetylcholine transporter (VACHT) imaging probe” 平成 26 年 6 月 7-11 日 2014 SNMMI 61th annual meeting ( St. Louis Convention Center, St. Louis, Missouri, USA ), ポスター発表.

小阪孝史, 緩詰沙耶, 三輪大輔, 鷲野いずみ, Mohammad A. Azim, 北村陽二, 小川数馬, 川井恵一, 柴 和弘 「 -2 受容体イメージング剤 PIDV の開発研究」 平成 26 年 5 月 22-23 日 第 9 回日本分子イメージング学会総会・学術集会 ( 千里ライフサイエンスセンター, 大阪府 ), ポスター発表.

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

小阪 孝史 ( KOZAKA, Takashi )  
金沢大学 学際科学実験センター  
助教  
研究者番号：5 0 5 7 9 8 3 6

(2)研究分担者 ( )

研究者番号：

(3)連携研究者 ( )

研究者番号：

(4)研究協力者 ( )