

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 12 日現在

機関番号：14401

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2016～2016

課題番号：16H06942

研究課題名(和文) 線内用療法に向けた癌特異的で腎集積の低いハロゲン化芳香族アミノ酸誘導体の創製

研究課題名(英文) Development of a halogenated derivative of aromatic amino acids for the targeted alpha-radionuclide therapy with high tumor specificity and low renal background.

研究代表者

魏 玲 (Wei, Ling)

大阪大学・医学系研究科・特任助教(常勤)

研究者番号：80783638

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,200,000円

研究成果の概要(和文)：近年、癌の線内用療法に用いる核種として ^{211}At が注目されている。 ^{211}At と同じハロゲンの ^{18}F を持つFAMT (L-[3- ^{18}F]-methyltyrosine) は癌特異性に優れたPETプローブであるため、線内用療法において ^{211}At を送達する化合物の基本骨格として有望である。しかし、FAMTは正常組織の中で唯一、腎臓に集積を示す。本研究では、FAMT類似の芳香族アミノ酸誘導体を用いて、腎近位尿細管の有機イオントランスポーターとの相互作用に寄与する分子内構造を解明した。この成果は、癌特異的にかつ腎集積を低減させた、線内用療法に適した化合物の創製に繋がるものと期待される。

研究成果の概要(英文)：Targeted α -radionuclide therapy (TAT) is an upcoming powerful method for cancer treatment. One of halogens, ^{211}At , has been attracting increasing attention as a novel α -particle emitting-radionuclide. A halogenated derivative of aromatic amino acid, FAMT (L-[3- ^{18}F]-methyltyrosine), developed as a PET tracer for tumor imaging exhibits an excellent cancer specificity. Therefore, substitution of ^{18}F of FAMT with ^{211}At would be a promising approach to develop a novel ^{211}At -delivery agent for TAT. However, FAMT shows a significant background accumulation in kidney, due to the interaction with organic ion transporters in the renal proximal tubule. In this study, we used FAMT-related aromatic amino acid derivatives to reveal the molecular structures involved in the recognition by the renal organic ion transporters. This study gives significant implications for the development of a novel compound for TAT with high tumor specificity and low renal background accumulation.

研究分野：薬理学

キーワード：癌 線内用療法 トランスポーター 構造活性相関 ハロゲン化芳香族アミノ酸誘導体

1. 研究開始当初の背景

癌の放射線同位体内用療法は、放射性元素を含む化合物を投与し、癌病巣に集積させ、体内から放射線で癌細胞を攻撃する治療法であり、飛程の短い線がこの目的のために利用されてきた。例えば、線放出核種である⁹⁰Yを、抗CD20抗体に結合させた抗体医薬⁹⁰Y-ゼヴァリンが、非ホジキンリンパ腫の治療に使用される。しかし線はエネルギーが低く適用範囲に限られるため、より広汎な応用を目指す観点から、線よりもさらに飛程が短く、エネルギーの高い線の利用が検討されている。この線の特性により、腫瘍への特異的な局在をうまく行うことができれば正常組織の被曝を低減することが可能となり、副作用を低く抑えることができる。また、線はエネルギーが高いためDNA切断能や細胞殺傷力も大きく、放射線治療抵抗性を示す低酸素細胞や、感受性の低いS後期細胞にも有効とされている。当該研究分野において、線放出核種として最近注目を集めているのが、ハロゲンであるため安定な共有結合で有機化合物分子に導入できる²¹¹At(アスタチン)である。²¹¹Atは線放出がないため、他の核種よりも安全に取り扱える利点もあり、国内外の複数の研究機関において線内用療法に適用できる抗体医薬や低分子医薬の開発が試みられている。

これまでに研究代表者らは、癌特異性が高く、炎症、良性病変への集積の低いアミノ酸PETプローブであるL-[3-¹⁸F]-¹⁸F-methyltyrosine (FAMT)が、癌細胞特異的に発現するアミノ酸トランスポーターLAT1 (L-type amino acid transporter 1)の特異的基質であることを示した(Wei et al., Cancer Sci. 107: 347-352, 2016)。これによって、FAMTが示す優れた癌特異的な集積は、LAT1の癌細胞特異的な発現によって説明できることが明らかになった。このFAMTは、¹⁸F-methyltyrosineに¹⁸Fを導入して合成されるが、線放出核種である²¹¹Atもフッ素と同様にハロゲンであるため、同様の反応で²¹¹At-methyltyrosineに導入できるものと期待される。しかし、その際に克服しないとしない大きな問題点は、腎集積である(図1)。FAMTを用いたPETイメージングにおいて正常組織での唯一の有意な集積を示すのは腎臓である。腎臓にはLAT1は発現せず、また他のアミノ酸トランスポーターはFAMTを取り込まないことから、アミノ酸ト

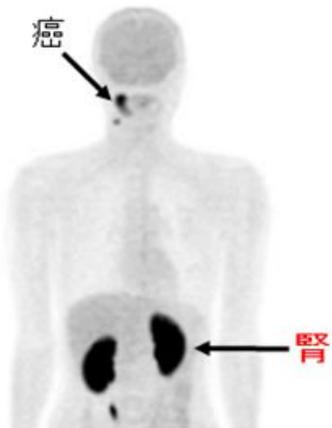


図1: FAMT-PETにおける腎集積

ンスポーター以外のトランスポーターがFAMTの腎集積を担っている可能性を考え、腎近位尿細管の有機イオントランスポーターOAT1、OAT10及びOCTN2がFAMTを取り込み、これが腎集積の原因となっていることを示した(Wei et al., J Pharmacol Sci. 130: 101-109, 2016)。

FAMTのフッ素をヨウ素に置換したL-[3-¹²³I]-¹²³I-methyltyrosine (IMT)は、線放出核種としてSPECT (Single Photon Emission Computed Tomography)に用いられるが、IMT-SPECTは、FAMT-PETと同様、癌特異性が高く、また唯一の生理的集積は腎臓である。これは、フッ素をヨウ素に置換してもトランスポーターとの相互作用が大きく変化しないことを示唆している。一方、LAT1の基質のなかでもL-4-iodo-metatyrosine (4-I-mTyr)は、LAT1選択的ではないが、腎集積は低い(Shikano et al., J Nucl Med. 44: 625-631, 2003)。

2. 研究の目的

本研究は、これまでの癌特異性の高いアミノ酸PETプローブであるFAMTの研究の成果に基づき、線内用療法に適用し得る、癌細胞へ効率良く集積し正常組織への集積の低い化合物をデザインすることを目的とした。FAMT/IMTと4-I-mTyrの腎集積の違いに着目して、種々の芳香族アミノ酸誘導体を用いた構造活性相関解析により、腎集積の原因となる有機イオントランスポーターとの相互作用を起こすFAMT/IMTの構造上の特徴を明らかにすることを試みた。それにより、FAMTの癌特異性を生かしつつ、有機イオントランスポーターに取り込まれない化合物をデザインして、腎臓での予想される副作用を低減し、線内用療法に適用できる化合物の創製を目指した。

3. 研究の方法

上述の通り、FAMTのフッ素をヨウ素に置換したIMTは、FAMTと同様に癌特異性の高い集積を示し、唯一の生理的バックグラウンド集積が腎臓において認められる。これより、フッ素をヨウ素に置換してもトランスポーターとの相互作用が大きく変化しないことが強く示唆される。一方、LAT1の基質のなかでも4-I-mTyrは、LAT1選択性は低いものの、有意な腎集積を示さない。このFAMT/IMTと4-I-mTyrの腎集積の違いに着目し、腎集積の原因となる有機イオントランスポーターとの相互作用を起こすFAMT/IMTの構造上の特徴を明らかにするために、以下の検討を実施した。FAMTの取り込みに寄与するOAT1、OAT10、OCTN2のうち、OAT1は腎近位尿細管上皮細胞の側底膜側、OAT10およびOCTN2は管腔膜側に局在している。重要な知見として、IMTの腎集積は、有機アニオントランスポーターの阻害薬として知られる尿酸排泄促進薬のプロベネシドにより低減される。その際、IMT

の尿中排泄がプロベネシドにより低下することから、尿中排泄を担う側底膜側の有機アニオントランスポーターが IMT の腎集積に重要であると考えられており、FAMT においても同様に、その腎集積には、FAMT を取り込む上記有機アニオントランスポーターのうち、特に側底膜の OAT1 が重要であると考えられる。そこで本研究では、OAT1 に着目した解析を実施した。

具体的には メチル基、4 位 OH 基、3 位ハロゲン基の寄与を決める構造活性相関解析を実施した。FAMT/IMT と 4-I-mTyr の構造上の相違は、FAMT/IMT には メチル基があり 4-I-mTyr にはないこと、FAMT/IMT には 4 位に OH 基があり 4-I-mTyr の OH 基は 3 位であること、および FAMT/IMT には 3 位にハロゲン基があり 4-I-mTyr には 4 位ハロゲン基があることである。これらの相違に着目し、図 2 に示した各化合物と、FAMT を取り込む OAT1 の相互作用を解析した。手法としては Wei et al., J Pharmacol Sci. 130: 101-109, 2016 に記載された方法に従い、OAT1 を発現させたアフリカガエル卵母細胞および OAT1 を安定発現させた哺乳類培養細胞株を用いた抑制実験を実施した。[¹⁴C]パラアミノ馬尿酸の取り込みに対する、それぞれの化合物による抑制の度合を比較した。また、OAT1 が交換輸送をおこなうトランスポーターであることを利用して、細胞に前負荷した [¹⁴C]パラアミノ馬尿酸の試験化合物による放出を検討し、基質結合部位への親和性ととも、輸送活性そのものを評価した。

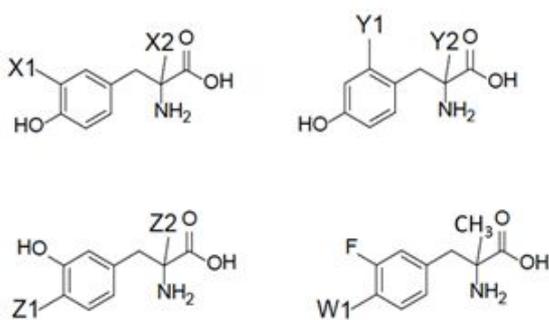


図 2: 構造活性相関解析に用いた化合物の分子構造

4. 研究成果

本研究では、各試験化合物と腎尿細管からの経上皮性の有機アニオン排泄を担う有機アニオントランスポーター OAT1 との相互作用の解析において、アフリカツメガエル卵母細胞発現系とともに、OAT1 を安定発現させた培養細胞株を作製し、OAT1 の基質である [¹⁴C]パラアミノ馬尿酸の取り込みに対する IC₅₀ 値と、前負荷した [¹⁴C]パラアミノ馬尿酸の試験化合物による放出を検討し、基質結合部位への親和性ととも、輸送活性そのものを評価した。SPECT に用いられる IMT は、FAMT のフッ素をヨウ素に置換したものであり、FAMT 同様癌特異性が高いが、FAMT と同様に唯一の生

理的集積は腎臓である。この両者ともに、OAT1 の基質であることが明らかになった。これが腎集積の原因であることが示唆される。これに対して、同様に癌に集積するが腎集積性の低い 4-I-mTyr は、OAT1 による輸送活性が低いことが明らかになった。これは、FAMT や IMT の腎集積が OAT1 による尿細管上皮細胞への取り込みに起因することを支持するものである。IMT と 4-I-mTyr の構造上の相違に基づき、化合物の構造活性相関を検討した。その結果、両者の大きな相違点である メチル基の有無は、OAT1 との相互作用に寄与しないことが明らかになった。これは、FAMT とそのメチル基を欠いた 3-fluoro-L-tyrosine (3FT) の OAT1 との相互作用の解析においても確認された。本研究の成果として、FAMT の癌特異性を生かしつつ、有機イオントランスポーターに取り込まれない、線内用療法に適用できる化合物のデザインにおいて重要な知見を得ることができた。

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 2 件)

Ohgaki R, Wei L, Yamada K, Hara T, Kuriyama C, Okuda S, Ueta K, Shiotani M, Nagamori S, Kanai Y. Interaction of the Sodium/Glucose Cotransporter (SGLT) 2 inhibitor Canagliflozin with SGLT1 and SGLT2: Inhibition kinetics, sidedness of action, and transporter-associated incorporation accounting for its pharmacodynamic and pharmacokinetic features. *J Pharmacol Exp Ther.* 358 (2016) 94-102.
DOI: 10.1124/jpet.116.232025.

Sakiyama M, Matsuo H, Nagamori S, Wei L, Kawamura Y, Nakayama A, Higashino T, Chiba T, Ichida K, Kanai Y, Shinomiya N. Expression of a human NPT1/SLC17A1 missense variant which increases urate export. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids.* 35 (2016) 536-542.
DOI: 10.1080/15257770.2016.1149192

[学会発表](計 2 件)

魏玲、大垣隆一、富永英之、兼田加珠子、奥田傑、永森收志、金井好克. 有機アニオントランスポーター OAT1 に対する芳香族アミノ酸誘導体の構造活性相関: イメージングプローブの腎臓におけるバックグラウンド集積を誘起する分子内構造の同定.
第 90 回 日本薬理学会年会 2017 年 3 月 15-17 日. 長崎.

大垣隆一、Ling Wei、山田和徳、原大樹、
栗山千亜紀、奥田傑、植田喜一郎、
Laurent Leclercq、Rao N.V.S. Mamidi、
塩谷正治、永森収志、金井好克. SGLT2
阻害薬カナグリフロジンのヒト SGLT1 お
よび SGLT2 に対する作用キネティクスと
阻害メカニズムの検討.
第 90 回 日本薬理学会年会 2017 年 3 月
15-17 日. 長崎.

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

魏 玲 (WEI, Ling)

大阪大学・大学院医学系研究科・特任助教

研究者番号：80783638