

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年6月3日現在

機関番号：14301
 研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2011～2012
 課題番号：23791413
 研究課題名（和文） 前立腺がんの核医学診断を目的とした分子イメージングプローブの開発研究
 研究課題名（英文） Development of Novel Prostate Specific Membrane Antigen Targeting Probes for Prostate Cancer Imaging
 研究代表者 木村 寛之
 (KIMURA HIROYUKI)
 京都大学・放射性同位元素総合センター・助教
 研究者番号：50437240

研究成果の概要（和文）：本研究の目的は、疾患の分子機構を標的として、病態生理学的観点と製剤学的観点からプローブ設計を行い、前立腺がんの核医学診断を目的としたPET・SPECT用分子イメージングプローブを設計・創製することにある。本研究では、前立腺がんの細胞膜上に発現する特異的タンパク質であるProstate-specific membrane antigen (PSMA) を標的としたイメージングプローブの開発を計画した。

PSMA の阻害剤として報告されているメルカプト基を有する非対称ウレア化合物を母格として選択し、新規プローブ $[^{123}\text{I}]\text{IGLCE}$ を設計・合成した。 $[^{123}\text{I}]\text{IGLCE}$ は *in vitro* で PSMA に対する高い親和性、プローブとしての十分な安定性を示した。腫瘍移植モデルマウスにて PSMA 発現腫瘍(LNCAp)に高い集積を示し、その集積は PSMA の阻害剤 2-PMPA で阻害された。 $[^{123}\text{I}]\text{IGLCE}$ を用いた SPECT/CT 撮像では LNCAp を選択的に描出し、 $[^{123}\text{I}]\text{IGLCE}$ の前立腺がん診断用プローブとしての有効性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：PCa (prostate cancer) is the most commonly diagnosed and the second leading cause of cancer-related deaths in men in the world. So, non-invasive diagnoses of PCa by imaging techniques have high clinical benefit. PSMA (Prostate Specific Membrane Antigen) is a noticeable target for PCa imaging. Ten~1,000-fold higher expression of PSMA have been reported in PCa than in normal prostate. Therefore, we started the research for developing novel PSMA imaging probes.

$[^{123}\text{I}]\text{IGLCE}$ showed high stability, high affinity for PSMA, PSMA-specific high tumor uptake, and fast blood clearance. In the SPECT/CT study, $[^{123}\text{I}]\text{IGLCE}$ clearly distinguished LNCAp tumors from PC-3 tumors. These results suggest that $[^{123}\text{I}]\text{IGLCE}$ can be a promising probe for PSMA imaging in future.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・放射線科学

キーワード：放射性医薬品、造影剤、前立腺癌

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

1. 研究開始当初の背景

前立腺がんは、血中マーカー（PSA）の増加、直腸診・超音波検査により発症が疑われると、組織生検による確定診断および CT、MRI を用いたステージ決定・リスク評価が行われ、リスクに応じて外科療法、放射線療法、ホルモン療法の選択がなされている。病状の進行が比較的緩やかで低リスク段階での発見により完治が期待できるがんであるため、診断から治療へのワークフロー効率化のためには、がんのステージング・リスク評価の正確性がキーポイントとなる。しかしながら、現状では確定診断のためには侵襲的生検が必要であり、CT、MRI によるステージングも不完全であるため、非侵襲的にリスク評価が可能な分子プローブの開発が望まれている。

がんを標的とした分子イメージングプローブとして ^{18}F FDG が存在するが、本プローブは尿排泄性で膀胱に非常に高い放射能が集積するため、前立腺がんの診断には必ずしも有効ではない。そこで本研究では、前立腺がんの細胞膜上に発現する特異的タンパク質である Prostate-specific membrane antigen (PSMA) を標的としたプローブ開発を行う。PSMA は、前立腺がん細胞膜上に豊富に存在し、一方で正常な前立腺細胞においてはほとんど発現していない (PSM と呼ばれる細胞質タンパクとして存在)。そのため、PSMA は前立腺がん診断用プローブの標的分子として注目されている。これまでに幾つかの PSMA イメージングプローブが報告されているが、いずれのプローブも腎・膀胱への集積が高く、未だ有効なものは見出されていない。開発したプローブにより得られる画像と CT、MRI の高分解度画像を融合させることで、CT、MRI 単独使用時よりもがんの拡がりをもより正確に捉えることができ、ステージングの精度向上が可能になると考えられる。また、転移した前立腺がん細胞上にも PSMA は発現していることから、全身検索による転移巣検出にも有効性が期待できる。

2. 研究の目的

本研究では、疾患の分子機構を標的として、病態生理学的観点と製剤学的観点からプローブ設計を行い、前立腺がんの核医学診断を目的とした PET・SPECT 用分子イメージングプローブを設計・創製する。これまでの研究成果を基盤として、計算科学的手法を用いた *in silico* で化合物スクリーニングを実施し、理論に基づく効率的なプローブ設計を行い、

インビトロスクリーニング、動物での体内分布実験、代謝物分析、オートラジオグラフィ、PET・SPECT イメージングなどのインビボスクリーニングを経て、PSMA に特異的・選択的に集積する分子イメージングプローブを見出す。

3. 研究の方法

薬剤設計

PSMA は glutamate carboxypeptidase II (GCP II) 活性を有し、GCP II 阻害薬が PSMA と結合性を示すことが報告されている。更に、GCP II と阻害剤 2-PMPA との X 線結晶構造解析が報告されていることから、その複合体の立体構造情報をもとに、計算科学的手法を用いてリガンド結合情報を詳細に解析する。得られた情報を基に、*in silico* で化合物スクリーニングを実施し、リードとなる化合物を探索する。

スクリーニング系の構築

親和性の評価は、SD ラット脳ホモジネートを用いて、 ^3H NAAG が分解して生じる ^3H Glu を定量評価する。具体的には、分子プローブの非標識体（コールド体）を阻害剤として加えた時の ^3H Glu の生成が阻害される割合を定量評価する。プローブの結合親和性評価実験、結合選択性評価実験、細胞取込実験を行うことにより有効性を詳細に調べる。結果は分子設計にフィードバックし、分子プローブの最適化を図る。

分子イメージングプローブのインビボスクリーニング

正常マウス、ラットにプローブを投与して経時的に屠殺し、各臓器の重量および集積した放射能を測定する。更に、異所性皮下接種担がん動物を作製し、有効な評価系を確立する。モデル動物を用いた評価では、腫瘍部位への集積性、腫瘍血液比、腫瘍腎臓比、腫瘍膀胱比を指標に、イメージングを行うのに適した動態を示すプローブの選別を行う。また、非標識体を投与するインビボブロッキング実験、オートラジオグラフィを行うことで、プローブの標的特異性を評価する。有望なプローブについては引き続き、代謝物分析実験、病理学的解析を行い、病理学的エビデンスとの連結作業を進める。結果は分子設計にフィードバックし、分子プローブの最適化を図る。特異的集積が示されたプローブについて、PET・SPECT でイメージングを行い、描出可能かどうかを検討する。

4. 研究成果

マレイミドとチオールは緩和な条件下で容易に進行するので、プローブの誘導化が容易に行えると考えられる。そこで、既報のマレイミド誘導体である HML を用いて ^{123}I 標識プローブ [^{123}I]IGLCE を設計した。

マウス血漿中の安定性を評価したところ、[^{125}I]IGLCE は6時間までは分解産物を認めず、プローブとして十分な安定性を有していると判断した (図1)。

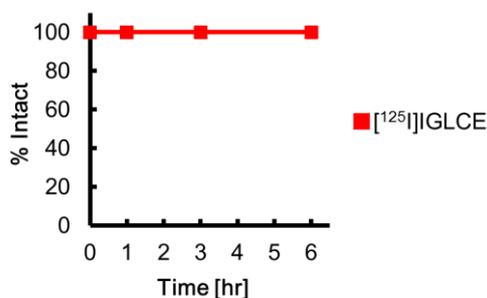


図1. マウス血漿中安定性

ヒト前立腺がん細胞 (LNCaP) を用いた *in vitro* 結合阻害実験にて結合阻害定数 (K_i) を求め、[^{125}I]IGLCE の親和性を評価したところ、[^{125}I]IGLCE は高い親和性を示し ($K_i = 4.98$ nM)、臨床研究が行われている [^{125}I]MIP-1072 よりも高い値となった。[^{125}I]IGLCE は投与30分後に LNCaP (PMSA 高発現細胞) に高い集積を認め (9.5% ID/g)、良好な腫瘍/血液比 (7.2)、腫瘍/筋肉比 (16.5) を示した。また、競合的阻害薬 2-PMPA を同時投与したところ、LNCaP への集積は有意に阻害された (94% 阻害)。

[^{125}I]IGLCE は SPECT/CT 撮像にて LNCaP を明瞭に描出した (図2)。

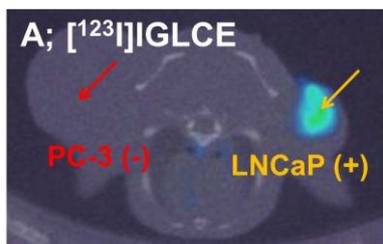


図2. SPECT/CT イメージ

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3件)

1. Kenji Arimitsu, Hiroyuki Kimura, Tetsuya Kajimoto, Masahiro Ono, Yoshiro Ohmomo, Masayuki Yamashita, Manabu Node, and Hideo Saji. Novel design and synthesis of a radioiodinated glycolipid analog as an acceptor

substrate for *N*-acetylglucosaminyltransferase V. *Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals*. in press (査読有)

2. Hiroyuki Kimura, Daisuke Mori, Naoya Harada, Masahiro Ono, Yoshiro Ohmomo, Tetsuya Kajimoto, Hidekazu Kawashima, Hideo Saji. Microwave-assisted Synthesis of Organometallic Complexes of $^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{CO})_3$ and $\text{Re}(\text{CO})_3$: Its Application to Radiopharmaceuticals. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*. 60(1) 79-85 2012 (査読有)

3. Naoya Harada, Hiroyuki Kimura, Masahiro Ono, Daisuke Mori, Yoshiro Ohmomo, Tetsuya Kajimoto, Hidekazu Kawashima, Hideo Saji. Effective Synthesis of $^{99\text{m}}\text{Tc}$ Tricarbonyl Complexes by Microwave Heating. *Journal of Organometallic Chemistry*. 696 3745-3749 2012 (査読有)

[学会発表] (計2件)

1. Naoya Harada, Hiroyuki Kimura, Masahiro Ono, Hideo Saji. [^{123}I]IGLCE, A Novel Prostate Specific Membrane Antigen Targeting Probe for Prostate Cancer Imaging with SPECT. World Molecular Imaging Congress 2012. Conference Center Dublin, Dublin, Ireland. 2012年9月5日~9月8日

2. 原田直弥、木村寛之、小野正博、佐治英郎. PSMA を標的とした前立腺がん診断用放射性プローブの開発. 日本薬学会 第133年会. 横浜市、パシフィコ横浜. 2012年3月27日~3月30日

[図書] (計1件)

1. 佐治英郎、小野正博、天満敬、上田真史、木村寛之. 生体分子イメージングと創薬・臨床画像診断. トランスレーショナルリサーチを支援する遺伝子医学 MOOK20 号ナノバイオ技術と最新創薬応用研究 (橋田充・佐治英郎編) 2012:132-143

[産業財産権]

○出願状況 (計1件)

名称: 前立腺がんを診断可能な核医学イメージングプローブ

発明者: 佐治英郎、木村寛之、小野正博

権利者: 同上

種類: 特許

番号: 特願 2012-195399

出願年月日: 2012年9月5日

国内外の別: 国内

○取得状況（計0件）

無し

〔その他〕

京都大学・薬学研究科・病態機能分析学分野
ホームページ

<http://www.pharm.kyoto-u.ac.jp/byotai/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

京都大学・放射性同位元素総合センター

木村 寛之 (KIMURA HIROYUKI)

研究者番号：50437240

(2) 研究分担者

無し

(3) 連携研究者

無し