

令和 6 年 6 月 5 日現在

機関番号：34401

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2019～2023

課題番号：19H03606

研究課題名（和文）CAR-T療法と微小環境標的の内用放射線療法の融合によるがん治療革新研究

研究課題名（英文）Cancer research toward the integration of CAR-T therapy and microenvironment-targeted radionuclide therapy

研究代表者

天満 敬（Temma, Takashi）

大阪医科薬科大学・薬学部・教授

研究者番号：90378787

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,300,000円

研究成果の概要（和文）：最近がん治療分野において注目を集めるCAR-T治療の固形がんへの適用を可能とすることを旨とし、がん細胞周囲に存在するがん関連脂肪細胞（CAA）やがん関連マクロファージ（TAM）を標的とする内用放射線治療用薬剤開発に取り組んだ。具体的な標的分子として、CAAには脂肪細胞型脂肪酸結合タンパク質、TAMにはマトリクスメタロプロテアーゼ12、p38、シグナル伝達兼転写活性化因子3を選択し、いずれも低分子化合物を母核とする放射性ハロゲン標識プローブを開発した。治療効果の実証には至らなかったがイメージングプローブとしての有効性を示すことに成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で開発したがん微小環境を標的とする新規プローブ群の内用放射線治療への展開が可能となれば、CAR-T治療だけでなくがん細胞を対象とする他の治療法との組み合わせにより、がん治療成績の向上が期待できる。また開発した新規プローブ群の核医学診断への展開が可能となれば、疾患の早期診断や適切な治療法選択への貢献も期待できる。

研究成果の概要（英文）：We have undertaken the development of radiotherapeutic agents targeting cancer-associated adipocytes (CAA) and tumor-associated macrophages (TAM) present around cancer cells to enable the application of CAR-T therapy to solid tumors, which has garnered attention in the field of cancer treatment. As specific target molecules, we selected adipocyte-type fatty acid-binding protein for CAA and matrix metalloproteinase-12, p38, and signal transducer and activator of transcription 3 for TAM. We developed radioactive halogen-labeled probes based on small molecule compounds for all these targets. Although we did not achieve therapeutic efficacy, we succeeded in demonstrating their effectiveness as imaging probes.

研究分野：放射性薬品化学

キーワード：放射性医薬品 がん微小環境 内用放射線療法

1. 研究開始当初の背景

最近がん治療学分野において、三大標準治療である外科療法、化学療法、放射線療法に次ぐ第4の治療法として免疫療法が大きな注目を集めている。とくに、免疫チェックポイント分子と呼ばれる免疫応答を自ら制御する分子に対するモノクローナル抗体(抗PD-1抗体など)や、キメラ抗原受容体(CAR)導入T細胞を用いたT細胞療法が劇的な抗腫瘍効果を示したことから、がん免疫分野は新たな時代に突入したといえる。CAR-T治療とは、がん関連抗原を認識するキメラ抗原受容体を発現させることでがん細胞標的化能力を高めた患者T細胞を体外で増幅した後、患者に戻す遺伝子操作T細胞療法である。CAR-T治療は急性リンパ性白血病などの血液悪性腫瘍において劇的な治療効果を示すが、固形がんを対象とした成功例は未だ報告されていない。

研究代表者は固形がんにおいてCAR-T治療を有効たらしめる方法論を構築することができれば、免疫チェックポイント療法が奏功しない多くのがんへの免疫療法の適用拡大、すなわち、がん治療奏功性の向上、ひいては、健康寿命の延伸、社会福祉の向上に貢献し得ると考えた。研究代表者は、CAR-T治療が血液がんで奏功し固形がんでは奏功しないことから、血液がん細胞では容易にCAR-T細胞ががん細胞にアクセスできるのに比べ、固形がん組織においてはがん細胞周囲に存在する間質細胞・間質組織にCAR-T細胞の送達が阻まれている可能性に思い至った。すなわち研究代表者は、『CAR-T治療に先立ってがん組織間質を選択的に障害しCAR-T細胞送達の障壁を弱体化できれば固形がんへのCAR-T治療が可能となるのではないか』との学術的「問い」を得るに至り、これを本研究課題の核心あるいは作業仮説として、以下の具体的な研究戦略の構築を行った。

2. 研究の目的

本研究課題では、固形がんに対するCAR-T治療を可能とするために、CAR-T細胞の送達障壁となるがん組織間質を選択的に障害する新たな手法を開発することを目的とした。すなわち、がん細胞を取り巻く周辺細胞群ががんの悪性度に強く影響し送達障壁ともなっていると考えられることから、がん細胞周囲に多く存在する脂肪細胞(Cancer Associated Adipocyte, CAA)やマクロファージ(Tumor Associated Macrophage, TAM)を選択的に攻撃しがん組織環境を弱体化させたのち、本体であるがん細胞を標的とするCAR-T治療を施行するアイデアである。

具体的には以下の項目を遂行することとした。

CAAを標的とする内用放射線治療用薬剤開発

TAMを標的とする内用放射線治療用薬剤開発

3. 研究の方法

CAAを標的とする内用放射線治療用薬剤開発

研究代表者らはCAA細胞内に高発現する脂肪細胞型脂肪酸結合タンパク質(FABP4)を標的とした核医学分子イメージング用放射性ハロゲン標識プローブ($^{123/125}\text{I}$]TAP1、 ^{18}F]FTAP1)を世界で初めて開発し(Nishigori K *et al.*, *PLoS One* 2014;9:e94668; Temma T *et al.*, *Nucl Med Biol* 2015;42:184)その特許化にも成功してきた(天満敬他、トリアゾロピリミジン誘導体化合物、特許第6099045号、2017年)。これらの実績を基盤とし、 ^{18}F]FTAP1の課題であった血中滞留性の改善を目的とした検討を行った。

TAMを標的とする内用放射線治療用薬剤開発

TAMは腫瘍の発生、進行、転移を制御することが明らかとなり、最近がん治療標的として大きな注目を集めている。TAMは主にM2マクロファージとされることから、本研究項目では、M2マクロファージあるいはM1からM2への分極を制御する分子を標的とした薬剤開発を進める。具体的には、有望なM2マクロファージ標的分子と期待されるマトリックスメタロプロテアーゼ(MMP)12、p38 α 、シグナル伝達兼転写活性化因子(STAT)3を対象とした放射性ハロゲン標識プローブの開発を目的とした検討を行った。

4. 研究成果

CAAを標的とする内用放射線治療用薬剤開発

FABP4はCAA細胞内に高発現する分子であり、内用放射線治療の標的分子として適していると期待される。研究代表者らはこれまでにFABP4に対して高い結合親和性を有する ^{18}F]FTAP1を開発したが、 ^{18}F]FTAP1は高い血中滞留性を示し、内用放射線治療に向けてその体内動態を改善する誘導体の開発が求められた。

^{18}F]FTAP1の ^{18}F]fluoroethoxy基の代わりに放射性ヨウ素を導入した ^{125}I]TAP1では血中滞留性が低いことから、フッ素をベンゼン環に直接結合させることで血中滞留性を改善できると考えた。また、 ^{18}F]FTAP1のリード化合物を参考にして、疎水性の置換基をさらに導入することでFABP4に対する結合親和性が向上し、その結果として新規誘導体の体内動態を改善するこ

とが可能ではないかと考えた。そこで、まず 15 種類の triazolopyrimidine 誘導体を設計・合成し、構造最適化検討を行った(図 1)。その結果、インビトロ結合実験において、フッ素をベンゼン環に直接結合させた化合物の結合親和性は TAP1 と同等であった。また、triazolopyrimidine 骨格 6 位に置換基を有さず、ハロゲン化アニリンに比べてハロゲン化フェノールを結合した triazolopyrimidine 誘導体で結合親和性が高くなった。特にフェノール構造の *m* 位と *p* 位にハロゲン原子を導入した化合物において FABP4 に対する高い結合親和性が認められた。

続いて、上述の構造最適化検討で FABP4 に対して高い結合親和性を示した化合物を母体化合物として、オージェ電子放出核種である ^{77}Br を導入した ^{77}Br 標識 triazolopyrimidine 誘導体を設計し、対応する非放射性化合物を合成した。インビトロ結合実験において、当該誘導体は FABP4 に対して TAP1 と同等の結合親和性を示した。以上の結果より、当該誘導体が、CAA を標的とする内用放射線治療用薬剤開発に向けた有望なリード化合物となり得ることが示された。

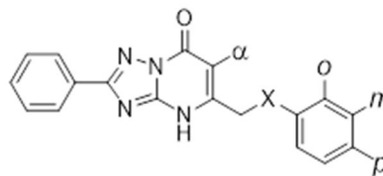


図 1 検討した triazolopyrimidine 誘導体構造 . α : H, Cl, Br, I, X : O, N, *o* : H, F, Cl, CH₃, *m* : H, F, Cl, I, OCH₂CH₂F, *p* : H, F .

TAM を標的とする内用放射線治療用薬剤開発

MMP12、p38 α 、STAT3 はいずれも TAM を対象とする内用放射線治療の標的分子として有望であると考えられる。

MMP12 標的プローブ開発では、研究代表者らはこれまでに MMP12 選択的阻害剤を母核とする放射性ヨウ素標識プローブ [^{125}I]SIA を開発してきた (Hagimori M *et al.*, *Bioorg Med Chem Lett* 2018;2:193-5) が、放射化学的収率が低く実用上の問題となっていた。そこで本研究項目では [^{125}I]SIA の放射化学的収率改善を目指し、放射性ヨウ素標識のために臭素前駆体ではなくピナコールボラン前駆体を用いることとし、新たな前駆体の合成と標識合成に取り組んだ。その結果、逆相 HPLC 法による標識化合物と前駆体との分離が容易になったことに伴い、ピナコールボラン前駆体を用いることで放射化学的収率を既報の倍以上とすることに成功した。

p38 α 標的プローブ開発では、p38 α 選択的阻害剤 R1487 をリード化合物とした放射性ヨウ素標識プローブ [$^{123/125}\text{I}$]4-IR を設計し、 [^{125}I]4-IR を合成してその有効性を調べた。4-IR は代表的な p38 α 阻害剤である SB203580 と同等の阻害活性を示し、 [^{125}I]4-IR は血漿中で 24 時間後も安定であった。モデル動物には作製の容易性の観点からテレピン油の筋肉内投与による炎症マウスが有効と考えこれを用いて調べたところ、炎症領域においては周囲の正常筋肉領域と比べて高い p38 α 、活性化 p38 α の発現を認めた。 [^{125}I]4-IR を本モデルマウスに静脈内投与したところ、炎症組織に高い放射能集積を認めた一方で非標的組織からの放射能消失は速やかであり、インビボイメージング実現の指標となる炎症対血液比、炎症対筋肉比はいずれも高値を示した。 [^{125}I]4-IR 投与後の炎症組織への放射能集積は R1487 や選択的 p38 α 阻害剤の前処置により有意に低下したことから、 [^{125}I]4-IR の p38 α を介した炎症集積性が示唆された。 [^{123}I]4-IR を用いた SPECT/CT 撮像により、炎症部位の明瞭な描出に成功した。以上より、 [$^{123/125}\text{I}$]4-IR は p38 α 標的プローブとして基本的な性質を有することが示された。この結果に基づき、放射性ヨウ素の代わりに放射性臭素を用いることで TAM を標的とするさらなる内用放射線治療用薬剤開発に繋がると考え、 [^{77}Br]4-BR を合成してその有効性を調べた。その結果、 [^{77}Br]4-BR は速やかな組織移行性と血中クリアランスを示し、生理的に高い p38 α 活性を示す褐色脂肪組織 (BAT) に高い放射能集積を認めた。投与 30 分後の BAT 対血液比は 11.7 と高い値を示した。以上より、p38 α 標的薬剤としての [^{77}Br]4-BR の有効性が示唆された。4-IR、4-BR のリード化合物である R1487 が元来有している F を ^{18}F 化する検討も別途進めたところ、トリブチルスズ前駆体と銅触媒を用いることで [^{18}F]R1487 の標識合成に成功した。

STAT3 標的プローブ開発では、STAT3 選択的リン酸化阻害剤をリード化合物として、放射性ハロゲンの中でもリード化合物の物性変化への影響が最も小さいと考えられる ^{18}F と、物性は変化するがそのままオージェ治療へ展開可能な ^{125}I を選択し、それぞれを導入した [^{18}F]FBNAF、 [^{125}I]IBNAF を設計・合成してその有効性を調べた。その結果 FBNAF、IBNAF の両化合物とも用量依存的なリン酸化阻害能を示し、リード化合物同様の STAT3 との相互作用を示唆した。また、担がんマウスを用いて調べたところ、選択的 STAT3 阻害剤の共投与によって [^{18}F]FBNAF 投与後のがん集積放射能は有意に低下し、非投与群と比較して腫瘍対血液比は半分に低下した。さらにオートラジオグラフィ法により腫瘍組織切片における放射能集積局在を調べたところ、隣接切片を用いて調べた免疫染色による STAT3 局在と一致する傾向を認めた。以上より、 [^{18}F]FBNAF は STAT3 標的プローブとして基本的な性質を有することが示された。 [^{125}I]IBNAF の有効性をさらに追及することで STAT3 標的内用放射線治療用薬剤開発に繋がるものと期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Hashimoto T, Kondo N, Makino A, Kiyono Y, Temma T.	4. 巻 36
2. 論文標題 Radiobrominated probe targeting activated p38 in inflammatory diseases	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Ann Nucl Med	6. 最初と最後の頁 845-852
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s12149-022-01764-2.	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 Hashimoto T, Kondo N, Hirata M, Temma T	4. 巻 35
2. 論文標題 Development of radioiodinated pyrimidinopyridone derivatives as targeted imaging probes of activated p38 for single photon emission computed tomography	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Ann Nucl Med	6. 最初と最後の頁 1293-1304
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s12149-021-01669-6	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 Kondo N, Wakamori K, Hirata M, Temma T.	4. 巻 528
2. 論文標題 Radioiodinated bicyclic RGD peptide for imaging integrin $\alpha_v\beta_3$ in cancers.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochem Biophys Res Commun	6. 最初と最後の頁 168-173
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bbrc.2020.05.106	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 Hirata M, Asano A, Magata Y, Ohmomo Y, Temma T	4. 巻 34
2. 論文標題 Synthesis and evaluation of novel radioiodinated anthranilate derivatives for in vivo imaging of vascular endothelial growth factor receptor with single photon emission computed tomography	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Annals of Nuclear Medicine	6. 最初と最後の頁 486-495
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s12149-020-01475-6	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 Miyazaki A, Kanai Y, Wakamori K, Mizuguchi S, Futatsugi M, Hirano F, Kondo N, Temma T	4. 巻 9
2. 論文標題 Synthesis and evaluation of [18F]FBNAF, a STAT3-targeting probe, for PET imaging of tumor microenvironment	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 EJNMMI Radiopharmacy and Chemistry	6. 最初と最後の頁 46
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s41181-024-00276-w	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計31件(うち招待講演 4件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 水口芹奈、近藤直哉、天満 敬
2. 発表標題 線維芽細胞活性化タンパク質を標的としたSPECTイメージングのための[111In]In-FAPI-04の合成に関する検討
3. 学会等名 第72回日本薬学会関西支部総会・大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 二木未来哉、近藤直哉、金井泰和、天満 敬
2. 発表標題 ポジトロン断層撮像法による活性化p38 イメージングのための放射性フッ素標識R1487の合成に関する検討
3. 学会等名 第72回日本薬学会関西支部総会・大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 若森恵太、宮崎杏奈、金井泰和、田口ありさ、大田洋一郎、尾江 悟、秋澤宏行、切畑光統、近藤直哉、天満 敬
2. 発表標題 脂肪酸結合タンパク質4のPETイメージングのための[18F]dFTAP1の合成に関する基礎的検討
3. 学会等名 日本薬学会第143年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 宮崎杏奈、石松花蓮、西川侑里、金井泰和、若森恵太、高田慎也、平野楓子、近藤直哉、天満 敬
2. 発表標題 がん微小環境評価のためのSTAT3標的PET用イメージングプローブの開発に関する基礎的検討
3. 学会等名 日本薬学会第143年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 尾江 悟、田中裕之、佐藤隆浩、水野雄貴、宿里充穂、近藤直哉、天満 敬、秋澤宏行
2. 発表標題 Fatty acid binding protein-4標的PETプローブの開発に向けた新規フッ化アリール結合triazolopyrimidine誘導体の合成
3. 学会等名 第65回日本薬学会関東支部大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 石松花蓮、近藤直哉、西川侑里、天満 敬
2. 発表標題 STAT3標的放射性分子イメージングプローブの開発に向けた基礎検討
3. 学会等名 第71回日本薬学会関西支部総会・大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 橋本知行、近藤直哉、牧野 顕、清野 泰、天満 敬
2. 発表標題 ピリミジノピリドン骨格を有する新規放射性臭素標識p38 標的プローブの開発
3. 学会等名 第61回日本核医学会学術総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 田口ありさ、近藤直哉、園田珠実、尾江 悟、秋澤宏行、天満 敬
2. 発表標題 トリアゾロピリミジノン骨格を有する脂肪細胞型脂肪酸結合タンパク質標的プローブの改善に関する検討
3. 学会等名 日本薬学会第142年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 近藤 直哉、天満 敬
2. 発表標題 インテグリン V 3を標的とした放射性ヨウ素標識二環性RGDペプチドプローブの開発
3. 学会等名 第79回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 橋本知行、中井那美、吉田直史、近藤直哉、平田雅彦、天満 敬
2. 発表標題 ピリミジノピリドン誘導体の p38 標的プローブとしての有効性に及ぼす標識位置の影響に関する検討
3. 学会等名 日本薬学会第141年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 黒川璃子、平田雅彦、富永桃子、木戸凧子、近藤直哉、大桃善朗、天満 敬
2. 発表標題 ヒト上皮成長因子受容体2を標的とする新規SPECT 用分子イメージングプローブの開発に関する基礎的検討
3. 学会等名 第14回日本分子イメージング学会総会・学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 竹口温子、橋本知行、平田雅彦、花園楓、柿坂隆志、吉田直史、近藤直哉、大桃善朗、天満敬
2. 発表標題 新規p38 標的炎症イメージングプローブ123I-FIC のin vivo 有効性評価
3. 学会等名 第14回日本分子イメージング学会総会・学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 天満 敬
2. 発表標題 分子イメージングに基づく非侵襲的インビボ機能分析
3. 学会等名 日本分析化学会近畿支部第3回支部講演会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 橋本知行、平田雅彦、竹口温子、花園 楓、柿坂隆志、吉田直史、渡邊裕之、飯國慎平、小野正博、大桃善朗、近藤直哉、天満 敬
2. 発表標題 p38 イメージングプローブ[123I/125I]FICのテレピン油誘発炎症モデルマウスを用いた有効性評価
3. 学会等名 日本薬学会第140年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 甲斐研吾、平田雅彦、栗本健太、近藤直哉、天満 敬
2. 発表標題 肺がんにおけるT790M変異EGFRを検出可能とするSPECT用イメージングプローブの合成
3. 学会等名 日本薬学会第140年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Tomoyuki Hashimoto, Masahiko Hirata, Atsuko Takeguchi, Kaede Hanazono, Ryuji Kakisaka, Naofumi Yoshida, Hiroyuki Watanabe, Shimpei Iikuni, Masahiro Ono, Yoshiro Ohmomo, Naoya Kondo, Takashi Temma
2. 発表標題 Development a p38 imaging probe for qualitative diagnosis of inflammation diseases
3. 学会等名 Society of Nuclear Medicine and Molecular Imaging 66th Annual Meeting
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 天満 敬、宮崎杏奈、金井泰和、若森恵太、高田慎也、平野楓子、近藤直哉
2. 発表標題 シグナル伝達兼転写活性化因子3のPETイメージングを目的とした[18F]KYZ3の開発に関する研究
3. 学会等名 第17回日本分子イメージング学会総会・学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 天満 敬
2. 発表標題 生体内MMPのインビボイメージングのための分子プローブ開発研究
3. 学会等名 第28回日本病態プロテアーゼ学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 二木未来哉、金井泰和、若森恵太、近藤直哉、天満 敬
2. 発表標題 ポジトロン断層撮像法による活性化p38 イメージングのための放射性フッ素標識R1487の合成
3. 学会等名 第73回日本薬学会関西支部総会・大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 宮崎杏奈、飯尾友李佳、金井泰和、若森恵太、水口芹奈、二木未来哉、平野楓子、近藤直哉、天満 敬
2. 発表標題 STAT3を標的としたPET用イメージングプローブの有効性評価に関する検討
3. 学会等名 日本薬学会第144年会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 林 舞子、宮崎杏奈、高橋寛翔、若森恵太、水口芹奈、二木未来哉、平野楓子、近藤直哉、天満 敬
2. 発表標題 STAT3を標的としたSPECT用イメージングプローブの合成と評価
3. 学会等名 日本薬学会第144年会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 水口芹奈、宮崎杏奈、近藤直哉、天満 敬
2. 発表標題 活性化素種の核医学イメージングのための放射性ヨウ素標識プローブの開発
3. 学会等名 日本薬学会第144年会
4. 発表年 2024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	近藤 直哉	関西医科大学・附属光免疫医学研究所・講師	研究期間内は大阪医科薬科大学薬学部・助教。 2024年4月より現職。
	(Kondo Naoya)		
	(80756172)	(34417)	

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	藤森 功 (Fujimori Ko) (70425453)	大阪医科薬科大学・薬学部・教授 (34401)	
研究分担者	秋澤 宏行 (Akizawa Hiromichi) (90311795)	昭和薬科大学・薬学部・教授 (32624)	
研究分担者	尾江 悟 (Onoe Satoru) (90756107)	昭和薬科大学・薬学部・助教 (32624)	
研究分担者	平田 雅彦 (Hirata Masahiko) (00268301)	大阪医科薬科大学・薬学部・講師 (34413)	分担は前半2年間のみ。

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