

令和 5 年 6 月 22 日現在

機関番号：22701

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2022

課題番号：19K17204

研究課題名（和文）線放出核種Ra-223を用いたRI内用療法薬開発を可能とする放射性標識法の創出

研究課題名（英文）Creation of a radiolabeling method that enables the development of Therapeutic Radiopharmaceuticals using the alpha-emitting nuclide Ra-223

研究代表者

高田 由貴（TAKADA, Yuuki）

横浜市立大学・医学研究科・特任助教

研究者番号：50348463

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）：容易に入手できる9種のアニオン性フタロシアニンのうち、レーキ作成後の上澄み液中に水溶性化合物の存在が確認されなかった中心金属が無いフタロシアニンテトラスルホン酸（FreeTSPc）、または中心金属が銅のフタロシアニンテトラスルホン酸（CuTSPc）の水溶液に対して¹³³BaCl₂溶液を用いて種々の検討を行ったところ、50%台の標識率でBa-133レーキを得た。
さらにFreeTSPc、またはCuTSPcの粉末に対して、直接¹³³BaCl₂溶液を加え、加熱乾固したのちにレーキを作成したところ、標識率を75～95%まで向上させることができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

Ra-223を用いた線放出RI内用療法薬はゾーフィゴ（²²³RaCl₂）が唯一承認されているのみで他のRa-223標識化合物は実用に至っていない。本研究では、Ra-223および同じアルカリ土類金属のBa-133を用いてフタロシアニンテトラスルホン酸類に対して標識（レーキの作成）を試み、Ba-133をバリウムレーキとして封じ込めることに成功した。

本研究により、Ra-223を用いた線放出RI内用療法薬の開発のための足掛かりを得ることができた。

研究成果の概要（英文）：In this study, three of nine commercially available anionic phthalocyanines, such as phthalocyanine tetrasulfonic acid (FreeTSPc) and copper phthalocyanine tetrasulfonic acid (CuTSPc) had been selected by no water-soluble compounds were found in the supernatant after preparation of lake pigments with barium. As using ¹³³BaCl₂ solution, Ba-133 lake pigments were obtained with a labeling yield of 50-60%. Furthermore, ¹³³BaCl₂ solution was directly added to powder of FreeTSPc or CuTSPc, and after heating to dryness, the labeling yield of Ba-133 lake pigments has been improved to 75-95%.

We gained a foothold for the development of therapeutic radiopharmaceuticals using the alpha-emitting nuclide Ra-223.

研究分野：放射性医薬品学

キーワード：ラジウム-223 線放出RI内用療法薬 アニオン性フタロシアニン レーキ

1. 研究開始当初の背景

アルファ線 (α 線) は、高線エネルギー付与かつ高生物学的効果比という物理的特徴を持つことにより、体内へ取り込んだ際の細胞へのダメージが大きく危険であるという認識から α 線放出核種の臨床利用は難しいと考えられていた。実際、アクチニウム-225 (^{225}Ac) で標識された薬剤では、 ^{225}Ac の壊変時の反跳や ^{225}Ac の娘核種であるフランシウム-221 (^{221}Fr)、アスタチン-217 (^{217}At)、ビスマス-213 (^{213}Bi) の化学的性質により、これらが標識薬剤から外れ、腫瘍組織からも遊離し、正常組織に対して毒性を引き起こすと報告された [Meiderer et al. J. Nucl. Med. 2004]。しかし、患部へ到達さえすれば α 線の飛程はがん細胞 1 個分程度であるため、周囲のがん細胞のみに作用し、正常細胞や臓器へのダメージも少なく、治療効果も高いとして、2013 年に世界で初めて米国 FDA で α 線放出 RI 内用療法薬ゾーフィゴ® (塩化ラジウム-223、 $^{223}\text{RaCl}_2$) が承認された。これをきっかけに、短寿命 α 線核種は安全な核種であるとして欧米を中心に RI 内用療法薬の研究が盛んに行われるようになった。

しかしながら、 ^{217}At 、 ^{213}Bi 、 ^{225}Ac で標識された抗体やペプチドを用いた臨床研究が行われる反面、 ^{223}Ra は $^{223}\text{RaCl}_2$ 製剤による臨床研究しか行われていない。これは、 ^{223}Ra が生体内で安定して配位できるキレート剤が開発されていないことに由来する [Chen et al. Inorg. Chem. 1999, Henriksen et al. Appl. Radiat. Isot. 2002]。近年では、キレート剤に代わりリポソーム [Henriksen et al. Nucl. Med. Biol. 2004, Jonasdottir et al. Anticancer Res. 2006]、リン酸ランタン [Rojas et al. Nucl. Med. Biol. 2015]、ハイドロキシアパタイトナノパーティクル [Kozempel et al. J. Radioanal. Nucl. Chem. 2015]、ナノゼオライトパーティクル [Piotrowska et al. Nucl. Med. Biol. 2017]、炭酸カルシウムマイクロパーティクル [Weström et al. J. Label. Compd. Radiopharm. 2018, Weström et al. Translational Oncology 2018] が、 ^{223}Ra や ^{224}Ra の封じ込めを目的としたリガンドもしくは DDS キャリアとして報告された。しかし、これらの Ra 標識化合物を実用化するには至っていない。このように依然として、いかにして Ra を安定に標識薬剤に結合させておくか、標的の組織内に保持できるか、薬剤を患部まで送達するかといった問題が存在している。

2. 研究の目的

本研究では、以下の 3 点を目的とし、 ^{223}Ra を用いた α 線放出 RI 内用療法薬の開発を目指した。

(1) フタロシアニンラジウムレーキ薬剤の開発

種々のアニオン性フタロシアニン (Anionic Phthalocyanine: APC) と ^{223}Ra の塩 (レーキ) を作成することによって、 ^{223}Ra の封じ込めを図り、レーキ薬剤からの ^{223}Ra の溶出の有無を確認する。

(2) 新規アニオン性フタロシアニン (APC) の合成

(1) による知見から、 ^{223}Ra の封じ込めがより可能な、すなわち物理的・化学的により安定なレーキを形成する APC の設計および合成を行う。

(3) ラジウムレーキ薬剤の抗腫瘍効果の検討

作成したいくつかのレーキ薬剤候補のがん細胞への in vitro および in vivo での抗腫瘍効果を検討し、さらに体内分布を確認し生体内の安定性を評価する。

3. 研究の方法

容易に入手できるアニオン性フタロシアニン (Anionic Phthalocyanine: APC) として、中心金属の無いフタロシアニントテラスルホン酸 (FreeTSPc)、中心金属が銅の銅フタロシアニントテラスルホン酸 (CuPcTS)、銅フタロシアニントリスルホン酸ナトリウム塩 (Water Blue 3)、銅フタロシアニントジスルホン酸ナトリウム塩 (Solvent Blue 38 (ortho 体)、Direct Blue 86 (para 体))、アルミニウムフタロシアニントテラスルホン酸、亜鉛フタロシアニントテラスルホン酸、コバルトフタロシアニントテラスルホン酸、ニッケルフタロシアニントテラスルホン酸の 9 種を用意した。

これら APC の水溶液に $^{223}\text{RaCl}_2$ 溶液または $^{133}\text{BaCl}_2$ 溶液を加えたのち、レーキ (図 1) を作成するため、非放射性 BaCl_2 溶液を加えた。

レーキの発生後、レーキをフィルターろ過もしくは遠心分離し、ろ液とフィルター、レーキと上澄みの放射エネルギーをそれぞれ測定することで標識率を求めた。

さらにレーキに対し水洗等を行うことにより、レーキからの放射性金属の溶出の有無を調査した。

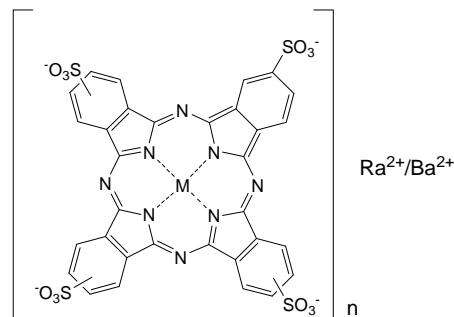


図 1. ラジウム/バリウムレーキ

4. 研究成果

容易に入手できるアニオン性フタロシアニン (APC) 9 種 (図 2) のうち、まず、Water Blue 3 等の中心金属が銅であるフタロシアニンテトラスルホン酸ナトリウム塩、ジスルホン酸ナトリウム塩の水溶液に対して $^{223}\text{RaCl}_2$ 溶液を加え、反応時間や温度等の条件を変えて反応させ、補助として非放射性 BaCl_2 溶液 (以下、塩化バリウム溶液) を添加しレーキ化を試みたところ、予備実験の通りバリウムレーキの作成が可能であることを確認した。次にこれらを遠心分離し、レーキと上澄みに分けてそれぞれの放射エネルギーをガンマカウンターで測定し、 ^{223}Ra の分布を調査したところ、レーキには 10 ~ 25% 程度しか含まれていなかった。

この結果より水に可溶性化合物が存在している可能性を考え、各 APC の水溶液に大過剰の塩化バリウム溶液を添加し、レーキを沈殿させ、その上澄みに APC 由来の化合物が含まれるかどうか調査したところ、中心金属がアルミニウム、亜鉛、コバルトのフタロシアニンテトラスルホン酸や Water Blue 3、Solvent Blue 38、Direct Blue 86 からは水溶性化合物の存在が認められ、このままでは候補化合物としては不適であると判断した。

次に、上澄みに APC 由来の化合物の存在が確認されなかった中心金属が無いフタロシアニンテトラスルホン酸 (FreeTSPc)、銅フタロシアニンテトラスルホン酸 (CuTSPc)、ニッケルフタロシアニンテトラスルホン酸を候補化合物とし、 $^{223}\text{RaCl}_2$ よりも取り扱いが容易な $^{133}\text{BaCl}_2$ 溶液を用いて検討を行った。すなわち、候補化合物のうち、FreeTSPc、CuTSPc に対して、溶存するすべてのフタロシアニンテトラスルホン酸 (TSPc) がレーキとして沈殿しない量の塩化バリウム溶液をあらかじめ加えてから ^{133}Ba を加える等の手技や、TSPc 水溶液の量、TSPc の濃度、反応時間や温度、添加する ^{133}Ba の量や濃度、塩化バリウム溶液との同時添加など条件を変化させてレーキ化を検討したが、これらの条件にほとんど左右されることなく FreeTSPc、CuTSPc いずれもおおむね 50% 台の標識率であった。

このとき得られたレーキを水洗してもレーキの放射エネルギーに変化はほとんどなく、レーキから ^{133}Ba の溶出はないことが確認でき、APC への ^{133}Ba の封じ込めに成功したといえる。

続いて、標識率が 50% 台にとどまる原因として、原料が水溶液であるということが標識を妨げている可能性を考え、TSPc の粉末に対して、直接 ^{133}Ba 溶液 (約 $1.0 \mu\text{Ci}/100 \mu\text{L}$) を加え、加熱乾固したのちに塩化バリウム溶液によりレーキを作成したところ、標識率を 75 ~ 95% まで向上させることができた。しかし、加熱乾固後の処理の仕方によっては標識率が悪くなることもあり、再現性についてより詳細な検討が必要である。

また $^{223}\text{RaCl}_2$ 溶液を用いて標識し、その標識率、安定性を確認し、 ^{133}Ba と同様に APC への封じ込めが可能なものについては、その抗腫瘍効果や生体内安定性の検討を行うことが今後の課題である。

本研究では、 ^{223}Ra と同族の放射性アルカリ土類金属である ^{133}Ba とフタロシアニンテトラスルホン酸 2 種に対してバリウムレーキを作成することによって、75 ~ 95% の標識率で ^{133}Ba を封じ込めることができ、 ^{223}Ra を用いた線放出 RI 内用療法薬の開発のための足掛かりとなった。

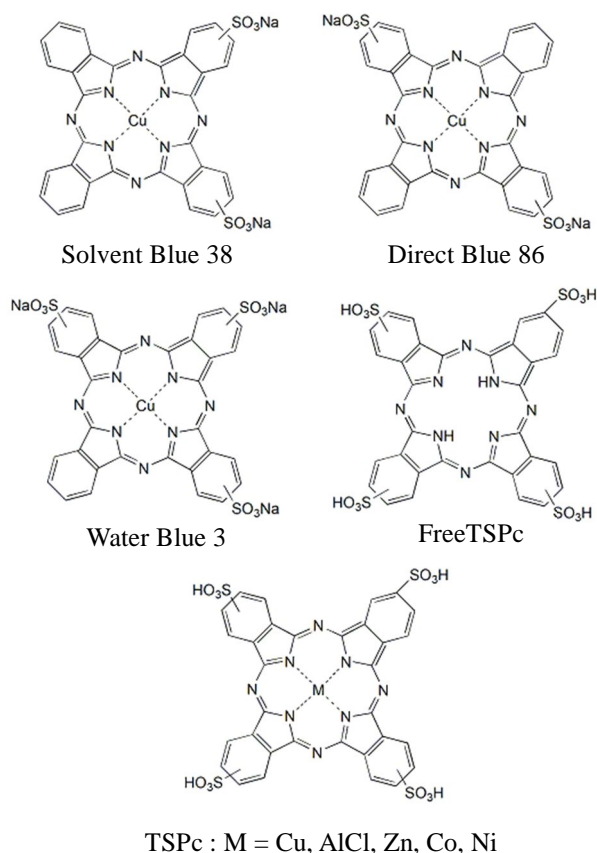


図 2. 本研究で用いたアニオン性フタロシアニン

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------	---------