

平成22年 5月21日現在

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2008～2009

課題番号：20790882

研究課題名（和文） ラジオアイソトープ標識ペプチドの腎集積低減法の新規開発

研究課題名（英文） Development of a novel method for reducing renal accumulation of radiolabeled peptides

研究代表者

秋澤 宏行（AKIZAWA HIROMICHI）

北海道医療大学・薬学部・准教授

研究者番号：90311795

研究成果の概要（和文）：

がんの治療法の一つに、ラジオアイソトープ（RI）で標識したがん集積性ペプチドを生体内に投与し、がん放射線を照射する方法がある。しかし、この治療法では、正常な腎臓に放射能が集積することによる副作用が問題となる。本研究では、腎臓に存在する酵素を利用した、RI 標識ペプチドの新しい腎放射能低減法の開発を目的として、検討を進めた。その結果、企図した腎放射能低減法の開発に有用な情報を得ることができた。

研究成果の概要（英文）：

When radiolabeled carcinophilic peptides are administered to cure cancer, renal accumulation of radioactivity, which causes side effect, is observed. My goal is the development of a novel strategy for reducing the renal radioactivity by the action of enzymes in kidneys. Useful information on the development was obtained from the present study.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	2,100,000	630,000	2,730,000
2009年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：放射性薬品化学

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：がん、アイソトープ内用療法、体内動態制御、放射性医薬品、腎臓、刷子縁膜、酵素、ペプチド

## 1. 研究開始当初の背景

最近、抗体を用いたがんのアイソトープ治療が注目されている。一方、低分子量ペプチドは合成が容易で、血液から速やかな消失を示すことから、様々なラジオアイソトープ

（RI）標識ペプチドについて、その受容体を発現するがんに対するアイソトープ治療薬剤としての可能性が検討されている。しかし、いずれの RI 標識ペプチドも、投与早期から腎臓で非特異的な放射能の滞留を示し、臨床

応用への大きな障害となっている。

この腎集積の低減は、ペプチドを用いるアイソトープ治療の成否の鍵を握ることから、再吸収阻害剤や塩基性アミノ酸の前投与や同時投与による低減が試みられてきたが、十分な結果が得られていない。また、申請者らは、RI 標識ペプチドに負電荷を導入することで、腎放射能レベルを半分以下に低減したが、さらなる低減は困難であることを認め、腎集積の低減には、新たな方法論が必要と考えた。

一方、RI 標識抗体 Fab フラグメントもまた、投与早期から非特異的な腎集積を示すことから、これを低減するため、申請者らは、放射性ヨウ素標識試薬 HML を、次のような仮説に基づいて開発した。「HML 標識 Fab は、糸球体濾過を受けた後、尿細管細胞に取り込まれる前に、刷子縁膜酵素の作用で HML 構造中のペプチド配列 (Gly-Lys 配列) が開裂し、*m*-ヨウ素馬尿酸を放射性代謝物として遊離する。この放射性代謝物は尿排泄性が高く、速やかに尿中に排泄されることから、腎放射能レベルを低減できる。」実際、HML 標識 Fab を担がんマウスに投与したところ、がんへの集積を損なうことなく、腎臓の放射能レベルを大きく低減した。

そこで、本研究では、HML に基づく戦略により、RI 標識ペプチドの非特異的な腎集積を低減する方法を開発することを計画した。

## 2. 研究の目的

本研究では、実験結果が最も多く蓄積されている RI 標識ペプチドである RI 標識 octreotide をモデルに選出し、RI 標識ペプチドの腎集積低減法を確立することを目的とした。

## 3. 研究の方法

(1) 腎刷子縁膜酵素の作用で遊離する尿排泄性代謝物として適する放射性化合物を見いだすために、その設計と合成を行い、評価する。

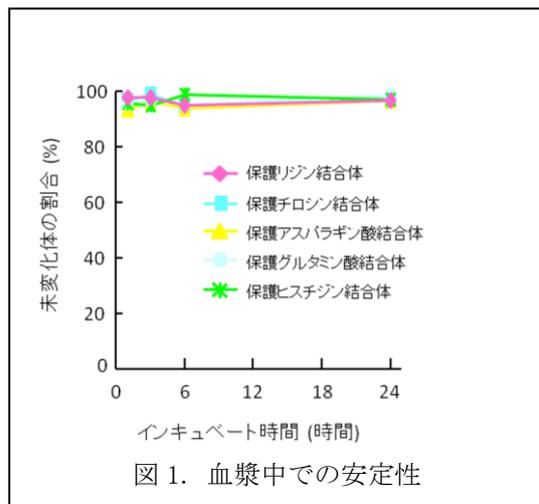
(2) (1)の検討で尿排泄性代謝物として適すると考えられた放射性化合物を、種々のアミノ酸とペプチド結合により結合させる。得られた化合物を血漿中で、また、腎刷子縁膜小胞の存在下でインキュベートすることにより、血漿中で安定で、かつ、腎刷子縁膜酵素の作用で速やかに尿排泄性放射性化合物を遊離するペプチド配列を見いだす。

(3) (2)の検討で速やかに尿排泄性放射性化合物を遊離したペプチド配列を導入した RI 標識 octreotide 誘導体を合成し、これを実験動物を用いて評価し、がんへの集積を損なうことなく腎集積を低減できる誘導体を見いだす。

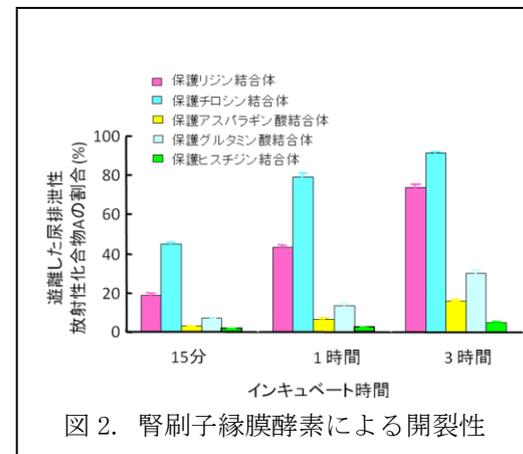
## 4. 研究成果

(1) ①尿排泄性が高いと考えられる放射性化合物 A と、側鎖を保護した種々のアミノ酸 (リジン、チロシン、アスパラギン酸、グルタミン酸、ヒスチジン) とを結合した化合物を合成した。標識前駆体の全合成収率は、3~9%であった。また、標識収率は 30~55%で、得られた放射性化合物の放射化学的純度は 95%以上であった。

② 得られた放射性化合物 A と側鎖保護アミノ酸との結合体を血漿中でインキュベートしたところ、いずれの化合物も、3 時間後においても 95%以上が未変化体として存在し、血漿中で安定なことが示された (図 1)。



③ 得られた放射性化合物 A と側鎖保護アミノ酸との結合体をラット腎刷子縁膜小胞の存在下でインキュベートしたところ、リジン結合体とチロシン結合体は、他の結合体と比べ、速やかに放射性化合物 A を遊離した (図 2)。したがって、尿排泄性が高いと考えられる放射性化合物 A、または、その類似体を、

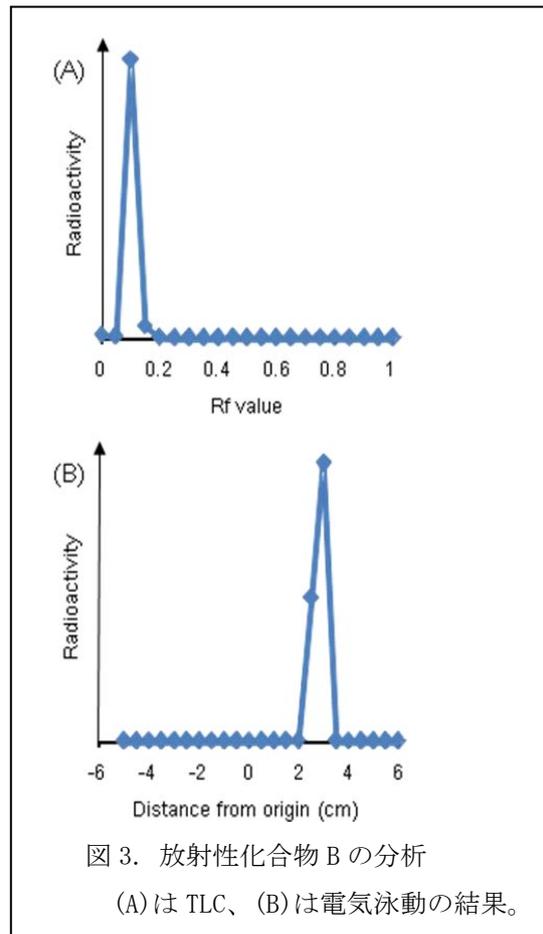
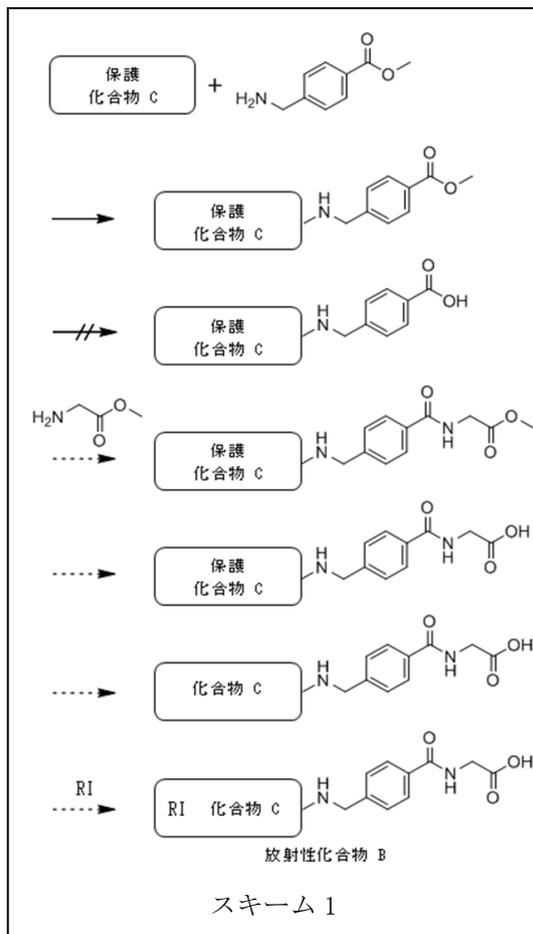
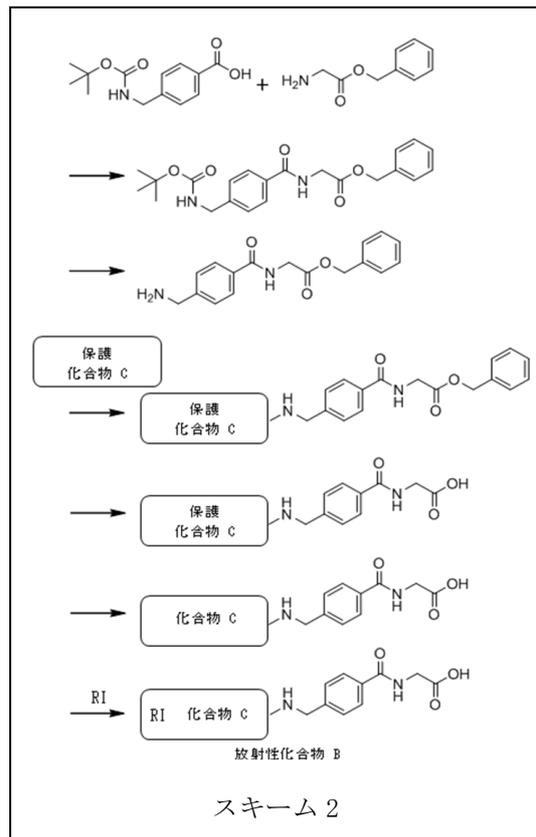


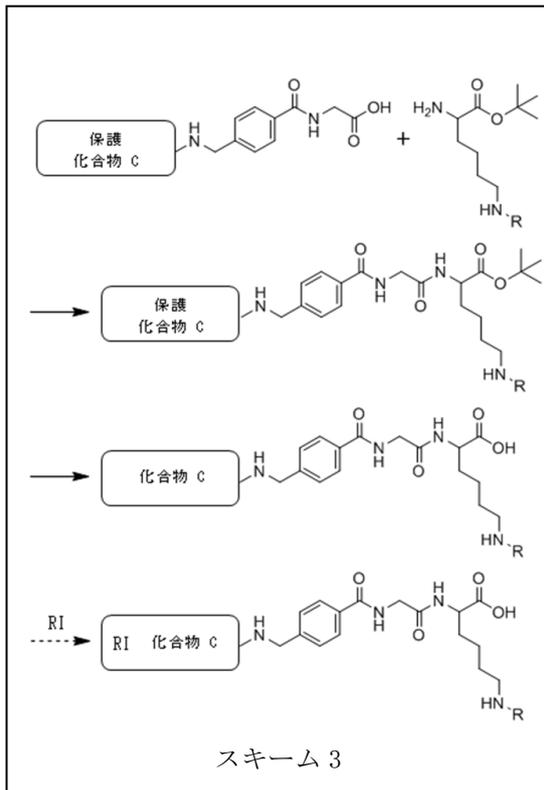
リジン、または、チロシンとペプチド結合で結合させた構造をもつ RI 標識 octreotide は、腎放射能集積を低減できる可能性が高いものと考えられる。この知見は、今後の研究を進めていく上で非常に有用と考えられる。

(2) 遊離させるべき尿排泄性放射性代謝物に相当するものとして、放射性化合物 A に類似した放射性化合物 B の合成を検討した。

まず、スキーム 1 に示す経路で目的物の合成を試みた。保護した RI 導入用化合物（化合物 C）を別途合成し、その保護した化合物 C と 4-アミノメチル安息香酸メチルエステルとを縮合した後、メチル基の脱離を試みたが、目的とする反応は進まなかった。

そこで次に、スキーム 2 に示す合成経路で目的物の合成を試みた。4-(Boc-アミノメチル)安息香酸とグリシンベンジルエステルとを縮合させた後、Boc 基を脱離した。得られた化合物を、保護した化合物 C と結合させ、ベンジル基を脱離した後、残る保護基を全て脱離することにより、全合成収率 15%で標識前駆体を得た。ついで、放射性標識を行い、放射性化合物 B を得た。TLC および電気泳動による分析の結果、97%以上の標識収率と放射化学的純度で放射性化合物 B が得られたことを確認できた（図 3）。





(3) 尿排泄性が高いと考えられる放射性化合物 B と側鎖保護リジンとの結合体について、腎刷子縁膜酵素による開裂性を検討することを目的とし、まず、その結合体の合成を行った(スキーム 3)。スキーム 2 の合成経路において 4 工程目に得られた化合物と側鎖および  $\alpha$ -カルボキシル基保護リジンとを結合させた後、リジン側鎖以外の保護基を脱離させることにより、標識前駆体を合成できることを確認した。

(4) 速やかに尿排泄性放射性化合物を遊離するペプチド配列を導入した RI 標識 octreotide 誘導体の合成まで、検討を進めるには至らなかった。

(5) がんのアイソトープ治療薬剤の開発を目的に様々なペプチドの探索が進められている。しかし、全ての RI 標識ペプチドで腎集積が認められ、実際の治療では、高い治療効果があるにも関わらず、腎毒性のために治療を継続できない例が多く見られる。したがって、安全で有効な治療薬剤の開発には、腎臓への集積の解消が必須である。本研究は、この腎集積の解消のため、申請者らが世界に先駆けて独自に開発した薬剤設計をペプチドへ展開するところに大きな特徴があり、非常に高い意義を有すると考えられる。助成期間中に得られた知見を活用しながら、今後も本研究を継続して行うことにより、難治性のがんの治療に新たな可能性を与えられるも

のと考える。

## 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)

[学会発表] (計 1 件)

①宮本 怜、秋澤宏行、上原知也、東佑翼、二木史朗、花岡宏史、飯田靖彦、遠藤啓吾、荒野泰、抗体のオクタアルギニン修飾が細胞への結合性に及ぼす影響、日本薬学会第 129 年会、2009 年 3 月 27 日、京都

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

秋澤 宏行 (AKIZAWA HIROMICHI)  
北海道医療大学・薬学部・准教授  
研究者番号：90311795