

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 5 年 6 月 6 日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K07991

研究課題名（和文）受容体を標的とした新規固形がんイメージング剤と抗がん剤の開発

研究課題名（英文）Development of Novel Solid Tumor Imaging Agents Targeting the sigma Receptor

研究代表者

小阪 孝史（Kozaka, Takashi）

金沢大学・疾患モデル総合研究センター・助教

研究者番号：50579836

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：増殖期の固形腫瘍細胞の重要なバイオマーカーである σ -2受容体のイメージング剤の開発研究を行った。有機化学合成とin vitroスクリーニングを経て開発した[125I]MILVが、in vitroにおいてヒト悪性黒色腫A375細胞の σ -2受容体に高い親和性と選択性を示すことを明らかにした。次にin vivoにおいて、[125I]MILVが投与後1時間でA375腫瘍に高く集積することが分かった。さらにSPECT/CT撮像実験を行い、腫瘍イメージングを検討した。以上より、 σ -2受容体イメージング剤として高い可能性を有する[123I]MILVを開発した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、受診者（受検者）の精神的・肉体的に負担が少ない、固形がん細胞の早期発見・早期治療が可能になり、がん検診やがん進行予測、治療方針の決定、放射線療法など有力な手段を提案できることで、高齢化社会が進行している日本社会に重要な貢献をできると考えている。また新規 σ 受容体リガンドの抗がん作用を確認できれば、分子イメージング剤による画像診断で陽性だった場合（即ち、 σ 受容体が過剰発現しているがんが発見された場合）、分子イメージング剤と化学構造が全く同じ σ 受容体アンタゴニストを治療薬剤として臨床応用することが可能になり、より治療効果の高い化学療法を早期から行うことが可能となる。

研究成果の概要（英文）：We conducted research on the development of imaging agents for the σ -2 receptor, an important biomarker of proliferating solid tumor cells. We found that [125I]MILV, which was developed through organic chemical synthesis and in vitro screening, showed high affinity and selectivity for the σ -2 receptor of human malignant melanoma A375 cells in vitro. Next, in vivo, [125I]MILV was found to accumulate highly in A375 tumors at 1 hour after administration. We further investigated tumor imaging by SPECT/CT imaging experiments. In conclusion, we developed [123I]MILV, which has high potential as a σ -2 receptor imaging agent.

研究分野：放射線科学

キーワード： σ -2受容体 イメージング

1. 研究開始当初の背景

現在、がん(悪性腫瘍)は日本で死因の約3割を占めており、2006年から2008年にがんと診断された人の5年相対生存率は、男女計で62.1%(男性59.1%、女性66.0%)である[国立がん研究センターがん登録・統計]。早期にがん治療にとりかかることで生存率は有意に上昇することから、高齢化が急速に進む我が国において、がんの早期診断法の発展は社会的ニーズの高い喫緊の課題である。そして発見能力増強や普及拡大、受診者(受検者)への精神的・肉体的・経済的な負担減少など、がん診断については様々なアプローチが必要である。PET(Positron Emission Tomography)やSPECT(Single Photon Emission Computed Tomography)に代表される核医学画像診断法は、全身のどこに固形がんがあるかを一回の検査で客観的に評価することができる診断法として、がん診断の中で重要な位置を占めておられる。現在、PET検査で最も良く使われている放射性薬剤は、グルコースにポジトロン核種 ^{18}F で標識されたFDG(フルオロデオキシグルコース)であるが、ごく早期のがんや糖を消費しないがん細胞は検出が困難であり、また脳や心臓、肝臓など、糖の消費・排出に関する器官・臓器の検査は行えない。また胃潰瘍などの炎症部位にも ^{18}F FDGの集積が見られ、誤診に繋がるリスクもある。他にも血糖値が高い場合は診断不可などの使用上の制約があり、 ^{18}F FDGに替わる、もしくは補完する新たな放射性医薬品の開発は重要な課題となっている。

2. 研究の目的

本研究では増殖期の固形腫瘍細胞の重要なバイオマーカーであるシグマ-2(σ_2)受容体に着目し、 σ_2 受容体が高い親和性と選択性をもつ放射性核種標識イメージング剤の開発及びその治療法への応用の可能性を検討する。シグマ(σ)受容体は、 σ_1 と σ_2 の二つのサブタイプが確認されており、種々の癌細胞において過剰発現していることが報告されている。それらの機構はまだ不明な点が多いが、 σ_1 、 σ_2 両受容体とも固形がんの増殖を亢進することが明らかになっており、またそれらのアンタゴニストが抗がん作用を示すことも報告されている。即ち、 σ_1 、 σ_2 両受容体はPETやSPECTによる生体イメージングの標的部として魅力的なだけでなく、これらのアンタゴニストは抗がん剤となり得る可能性を有している。これまでの研究で受容体と小胞アセチルコリントランスポーター(VAChT)に親和性を有する化合物 vesamicol に着目し、 σ_1 受容体が高い親和性と選択性を有する *o*-iodo-5-membered ring-vesamicol (OI5V)や σ_2 受容体に対して高い親和性と選択性を示す *p*-iodo-*trans*-decalinvesamicol (PIDV)の合成に成功し、その放射性ヨウ素標識や動物実験、SPECT/CT撮像実験により、これらのイメージング剤としての評価を行ってきた。また、limonene骨格を持つ vesamicol 類縁体(LV)が高い σ_2 受容体親和性及び選択性を有することも明らかにしている。本研究は、有機合成化学や放射性核種での標識や動物実験など、申請者の多岐にわたる専門知識・技術を生かして、これらの vesamicol 類縁体をリード化合物として、生体内で σ_2 受容体が高い親和性と選択性をもつ新規化合物を合成し、様々な生物学的評価を行い、がんの画像診断(σ_2 受容体イメージング)の手法の開発を目指すとともに、治療への応用の可能性を探るものである。

3. 研究の方法

がんの画像診断に応用可能な σ_2 受容体イメージング剤を開発するにあたり、本研究で合成した新規化合物が以下の4つの性質を全て満たしている必要がある。

-) 分子内をSPECTもしくはPET用放射性核種で標識可能
-) σ_2 受容体への高い親和性と選択性
-) 固形腫瘍細胞への高い集積
-) 画像診断に適した腫瘍細胞内の滞留時間とクリアランス

受容体は、 σ_1 と σ_2 の二つのサブタイプが確認されており、種々の癌細胞において過剰発現していることが報告されている。本研究では、*in vitro*において σ_2 受容体が高い親和性および選択性を有することを見出している新規 vesamicol 類縁体 LV をリード化合物に設定し、以下の工程で σ_2 受容体イメージング剤の開発研究を進める計画を立てた。

- 1) LVをリード化合物として σ_2 受容体イメージング剤を開発する為には、放射性核種による分子内標識が必要となる。本研究では、LVの化学的構造を維持したままベンゼン環上にSPECT用核種 ^{125}I による標識することを想定し、最適な導入位置を検討する。
- 2) 上記の新規化合物群を*in vitro*薬物阻害実験によりスクリーニングし、より選択性の高い σ_2 受容体リガンドを絞り込んでいく。
- 3) 得られた高選択的 σ_2 受容体リガンドの放射性核種 ^{125}I による標識を行う。
- 4) σ_2 受容体の過剰発現が知られているヒト悪性黒色腫A375細胞を用いて、*in vitro*薬物腫瘍細胞内取り込み実験を行う。
- 5) A375担癌マウスに ^{125}I 標識体を投与し、生体内での腫瘍細胞への集積や体内動態を明らかに

する。

- 6) SPECT 用核種^[123I]による標識を行う。
- 7) 担癌マウスに^[123I]標識体を投与し、標識体が増殖期の固形腫瘍細胞に特異的に集積するかを SPECT/CT 撮像実験で明らかにする。

上記 1～7 を行うことにより、増殖期の固形腫瘍細胞の画像診断を可能にし、がんの効果的な治療法を新たに開発する。

4. 研究成果

- 1) SPECT 用核種^[123I]による標識を想定し、ベンゼン環上のオルト位、メタ位、パラ位へのヨウ素(後に放射性ヨウ素への変換が可能)導入位置を検討した。ベンゼン環上のオルト位、メタ位、パラ位にプロモ基(ヨウ素と同じハロゲン族元素)を持つ各 4-phenylpiperidine 体と (+)-limonene oxide (mixture of *cis* and *trans*)のマイクロウェーブ合成装置(Initiator+™、Biotage 社)で加熱してカップリング反応を行った。生成物をカラムクロマトグラフィにより精製し、オルト位、メタ位もしくはパラ位にプロモ基を有する LV をそれぞれ新規に合成した。
- 2) Vesamicol は、受容体(-1 受容体、-2 受容体)と小胞アセチルコリントランスポーター(VAChT)の3つに親和性を示す為、in vitro 薬物阻害実験により、合成した新規 vesamicol 類縁化合物群についてスクリーニングを行った。実験に使用した組織およびラジオリガンドは、-1 受容体親和性が評価対象の場合はラット脳ホモジネートと^[3H](+)-pentazocine、-2 受容体の場合はラット肝ホモジネートと^[3H]DTG(-1 受容体のマスキングに(+)-pentazocine を加えた)、また VAChT の場合ではラット脳ホモジネートと^[3H](-)-vesamicol(受容体のマスキングに DTG を加えた)を用いた。それぞれの試薬・組織と阻害剤(試験化合物)10 濃度を試験管にとり、37 でインキュベーションした(受容体: 90 分間、VAChT: 60 分間)。その結果、メタ位をプロモ置換した LV (MBLV)は、-2 受容体に対して vesamicol の 1.6 倍程度の親和性を示す一方、-1 受容体親和性は低く、-2 受容体選択性は 14 倍以上あることが分かった。そこでメタ位のプロモをヨードに変換した LV(MILV)を合成し、同様に in vitro 薬物阻害実験によりスクリーニング行ったところ、MILV は MBLV とほぼ同じ性質を有することが分かった。
- 3) MBLV をトリメチルスズ体に誘導した後、スズ-ヨウ素交換反応により放射性ヨウ素^[125I]標識体^[125I]MILV の合成および HPLC による精製に成功した。
- 4) 受容体を高発現していることが知られているヒト悪性黒色腫 A375 細胞を用い、^[125I]MILV の in vitro 薬物細胞内取り込み実験(反応時間 30、60、120、240 分)を行った。その結果、control 群で 30 分後に^[125I]MILV 細胞内取込量が最大値を示し、MILV(非標識体)阻害群の 2 倍以上となった。また 受容体阻害剤 haloperidol がその取込を強く阻害する一方、-1 受容体阻害剤(+)-pentazocine の阻害効果はほぼ見られないことを明らかにした。このことは即ち、^[125I]MILV が A375 細胞の -2 受容体に選択的に集積したことを意味する。
- 5) A375 細胞をヌードマウスの右肩に移植し、担癌マウスを作製した。その担癌マウスに^[125I]MILV (185 kBq/匹)を静脈内投与し、in vivo 体内分布実験(10 分、1、12、24 時間)を行った。その結果、投与後 1 時間で腫瘍(A375 細胞)に最大値 6.1%ID/g が集積し、12 時間後には 0.5%ID/g と速やかなクリアランスが見られた。また、-2 受容体を選択的に高発現していることが知られているヒト乳腺癌細胞 MCF-7 を用いて作製した担癌マウスに同様の in vivo 体内分布実験(10 分、1、12 時間)を行った結果、投与後 1 時間で腫瘍(MCF-7 細胞)に 11.7%ID/g が集積することが分かった。
- 6) 3)と同様にして、SPECT 用放射性ヨウ素標識体^[123I]MILV を合成および精製した。
- 7) A375 担癌マウスに^[123I]MILV を投与し、小動物用 SPECT/CT(VECTor+/CT、MILabs B.V.)で SPECT/CT 撮像を行い、^[123I]MILV の腫瘍 -2 受容体イメージング剤としての評価を行った。その結果、A375 腫瘍への集積は認められたものの、画像診断が可能なほどの明瞭なイメージングには至らなかった。

以上の研究結果より、本研究で新規に開発した放射性ヨウ素標識した MILV は、in vitro および in vivo において、-2 受容体選択的イメージング剤として高い可能性を有することを確認したが、SPECT/CT イメージング実験においては実験手法の改善など、改善の余地があることも分かった。固形腫瘍細胞の画像診断を可能にし、がんの効果的な治療に繋げることは、社会においてニーズの高いテーマであり、今後、MILV に更なる応用研究を行う価値を見出したと考えている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Miwa Daisuke, Kitamura Yoji, Kozaka Takashi, Shigeno Taiki, Ogawa Kazuma, Taki Junichi, Kinuya Seigo, Shiba Kazuhiro	4. 巻 74
2. 論文標題 (-) o [11C]methyl trans decalinvesamicol ((-) [11C]OMDV) as a PET ligand for the vesicular acetylcholine transporter	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Synapse	6. 最初と最後の頁 e22176
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/syn.22176	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 Shigeno Taiki, Kozaka Takashi, Kitamura Yoji, Ogawa Kazuma, Taki Junichi, Kinuya Seigo, Shiba Kazuhiro	4. 巻 35
2. 論文標題 In vitro and in vivo evaluation of [125/123I]-2-[4-(2-iodophenyl)piperidino]cyclopentanol ([125/123I]-015V) as a potential sigma-1 receptor ligand for	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Annals of Nuclear Medicine	6. 最初と最後の頁 167 ~ 175
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12149-020-01552-w	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 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 小阪孝史、北村陽二、柴和弘
2. 発表標題 Development of PET / SPECT probes for Vesicular acetylcholine transporter (VACHT) imaging
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 Hiroshi Wakabayashi, Junichi Taki, Hiroshi Mori, Tomo Hiromasa, Norihito Akatani, Anri Inaki, Takashi Kozaka, Yoji Kitamura, Kazuma Ogawa, Seigo Kinuya
2. 発表標題 125I-Labeled 2-[4-(2-iodophenyl)piperidino]cyclopentanol (015V) imaging Visualized Augmented Sigma-1 Receptor Expression by Depending on the Severity of Myocardial Ischemia
3. 学会等名 第13回世界核医学会（国際学会）
4. 発表年 2022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
--	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------