

令和 5 年 6 月 12 日現在

機関番号：34401

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K08008

研究課題名（和文）ミトコンドリア複合体 を標的としたがん幹細胞フマル酸呼吸イメージング薬剤の開発

研究課題名（英文）Development of fumarate respiration imaging agent for cancer stem cells targeting mitochondrial complex II

研究代表者

平田 雅彦（Hirata, Masahiko）

大阪医科薬科大学・薬学部・講師

研究者番号：00268301

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）：フマル酸呼吸（FR）は、がん細胞幹細胞でもその存在が示唆されており、ミトコンドリア呼吸鎖の複合体IIが重要な役割を果たしている。一部の難治性がんは、増殖に必要なエネルギーをFRで得ていることが明らかとなりつつある。がん幹細胞における解糖系のエネルギー産機構からFRへの切り替えを把握できれば、難治性がん診断や治療のモニタリングが可能となり、低酸素状態で生息するがん治療への展開が容易になる。そこで、FR能を複合体IIの画像化を介して把握可能な新規放射性プローブの開発を行った。本研究では新たな、ミトコンドリア呼吸鎖複合体IIをイメージングしうる新規プローブの合成に成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまでの難治性がんの診断・治療はがんの特性から非常に困難であり、これまでに多くの研究がなされてきた。本研究の成果は、難治性がんの診断・治療に新たな方向性をもたらすのもであり、フマル酸呼吸を標的とした新規抗がん剤や診断薬剤の開発に寄与するものと期待されるものであり、社会的意義を有するものである。また、学術的にもヒトには存在しないと考えられていたフマル酸呼吸の研究の進展にも寄与するものと期待される。

研究成果の概要（英文）：Fumarate respiration (FR) has also been implicated in cancer stem cells, with complex II of the mitochondrial respiratory chain playing a key role. It is becoming clear that some intractable cancers obtain the energy for proliferation from FR. Therefore, we developed a novel radioactive probe that enables FR activity to be ascertained via complex II imaging. In this study, we succeeded in synthesizing a new probe that can image mitochondrial respiratory chain complex II.

研究分野：放射薬品化学

キーワード：SPECT フマル酸呼吸 がん幹細胞 放射性ヨウ素 Flutolanil ミトコンドリア複合体II

## 1. 研究開始当初の背景

$^{18}\text{F}$ -FDG による PET 検査は、悪性腫瘍の診断に有用であり、FDG-PET は PET 診療の代名詞になっている。FDG-PET 検査は、がんの位置や大きさの同定、転移巣の検出などの診断のみならず、1. 病期診断、2. 治療効果予測、3. 治療効果判定、4. 予後推定の各段階で有効であり、形態画像診断とは異なる情報を提供することで、治療の個別化に寄与している。しかし、FDG-PET も万能ではなく、がん診断薬剤としてのいくつかの問題点も指摘され、 $^{18}\text{F}$ -FDG 陰性がんも存在する。したがって、核医学検査のさらなる充実には、上記の  $^{18}\text{F}$ -FDG の問題点を補う PET、SPECT 製剤、あるいは  $^{18}\text{F}$ -FDG とは異なった集積機序を持ち、新たな診断情報をもたらす「post-FDG」薬剤の開発が強く望まれてきたが、数十年来達成できていない。申請者は、これまでに分子標的薬の効果を実証可能ながんイメージングプローブの開発を種々行い、有効な新規プローブの開発に成功した。分子標的薬は奏功を示しても耐性がんの出現や再発を引き起こすことは広く知られている事実である。その際にごん幹細胞が重要な役割を果たすことが数多く指摘されており、これらを把握可能な診断プローブについて常々模索していた。フマル酸呼吸はがん細胞特異的な代謝経路であり、フマル酸呼吸をイメージングすることは、がんの幹細胞化の程度を知ることができるものと考えた。以上の点から、がん幹細胞の機能的診断が可能となれば「post-FDG」薬剤の開発に繋がるとともにがん治療におけるがんの再発防止に大きく寄与できるものと考え、フマル酸呼吸 - オートファジー ATP 産生系を指標とする新規がん幹細胞イメージングの構想に至った。

がん細胞が好気的環境下でも酸化的リン酸化よりむしろ解糖系依存的にエネルギー代謝を行う現象は Warburg 効果と呼ばれ、様々ながん種において観察されている。がん細胞によるグルコースの取り込み効率が高いことを利用した近年の PET 診断は、がんの代謝特性を利用した画期的ながん早期発見手法である。膵がんや大腸がんなど一部のがん種では血流が乏しく酸素およびグルコースの供給が不十分となり、がん細胞が栄養的に極めて劣悪な環境で生存・増殖していることが知られている。このようながんは早期発見が難しいばかりでなく、標準的な化学療法奏効率も低く再発の可能性が高い。解糖も酸化的リン酸化も制限された環境におけるがん細胞は、増殖に必要なエネルギーを嫌気的条件下でフマル酸呼吸により得ていることが明らかにされつつある。フマル酸呼吸では、低酸素状態により、ミトコンドリア呼吸鎖の各複合体の役割が変化し、好氣的代謝時(複合体 I-IV)から新たな呼吸鎖(複合体 I- )を形成する。この際、好氣的状態と嫌气的状態では複合体 のコンフォメーションが変化しており、代謝変化が起こる。すなわち、電子伝達系における電子の最終受容体として酸素分子の代わりにフマル酸を使いコハク酸を生成し、共役する複合体 の働きによりプロトンの勾配を生じさせ ATP 合成を行う反応である(以下嫌气的状態での複合体 を複合体 と略す)。通常酸化的リン酸化による ATP 合成に比べエネルギー効率は悪いが、無酸素下で ATP の合成が可能であるため、嫌気性微生物や寄生虫、ある種の二枚貝などにおいてはよく知られていたが、近年、哺乳類細胞、特にがん細胞においてもその存在が強く示唆されている (Biochimica et Biophysica Acta 1820 (2012) 643-651)。その際、ミトコンドリア呼吸鎖の複合体 が重要な役割を果たし、その制御を行っていることが考えられている。フマル酸呼吸に必要なフマル酸の供給はオートファジーによってもたらされ、フマル酸呼吸 オートファジーによる ATP 産生系が構築されていることが示唆されているが、詳細は明らかになっていない。がん細胞における解糖系のエネルギー産生機構からフマル酸呼吸へのスイッチングをイメージングできればがん幹細胞のエネルギー代謝機構を解明に寄与するだけでなく、がん幹細胞治療においてフマル酸呼吸阻害やオートファジー阻害による治療のモニタリングが可能となり、低酸素状態で生息するがんやがん幹細胞治療への展開が容易になる。また、フマル酸呼吸は正常細胞には存在せず、フマル酸呼吸を指標に難治性がん細胞を画像化することが期待される。そこで、フマル酸呼吸能を複合体 のイメージングを介して把握可能な手法の開発が有効だと考えた。

## 2. 研究の目的

フマル酸呼吸はがん幹細胞でその存在が強く示唆されており、その際、ミトコンドリア呼吸鎖の複合体 が重要な役割を果たしている。がん幹細胞における解糖系のエネルギー産生機構からフマル酸呼吸へのスイッチングを把握できれば、難治性がん診断や治療のモニタリングが可能となり、低酸素状態で生息するがん幹細胞治療への展開が容易になる。そこで、フマル酸呼吸を阻害するいくつかの駆虫薬に着目した。その中で Flutolanil 誘導体は、フマル酸呼吸による ATP 産生機構すなわちミトコンドリアの複合体 II を選択的に結合・阻害することでフマル酸呼吸を停止させ、ATP 枯渇により細胞死を誘導する。フマル酸呼吸システムは正常細胞には本来存在しない。特に複合体 はフマル酸呼吸特異的であり、複合体 への結合を介してがん幹細胞のみをイメージングすることが期待される。本研

究では、Flutolanil 誘導体の構造を基にフマル酸呼吸能を判定しうる新たな放射性イメージングプローブの開発を計画し、その合成と基礎的評価を行う。フマル酸呼吸能を把握可能な新規放射性プローブの開発を行う。駆虫薬の Flutolanil 誘導体はミトコンドリアの複合体を選択的に結合・阻害する。本研究では Flutolanil 誘導体の構造を基に、がん細胞のフマル酸呼吸能を把握しうる新たな放射性プローブを開発する。

### 3. 研究の方法

#### フマル酸呼吸イメージングプローブの設計

Flutolanil とその誘導体の構造活性相関に基づき、がん幹細胞におけるフマル酸呼吸はミトコンドリア呼吸鎖複合体のうちがん幹細胞に特異的な部位となる複合体 を標的とする新規放射性ヨウ素標識プローブをドラッグデザインした。

#### フマル酸呼吸イメージングプローブの合成

既報に従い、Flutolanil とその誘導体のならびに放射性ヨウ素標識前駆体の合成を行った。

#### 放射性ヨウ素標識フマル酸呼吸イメージングプローブの合成

誘導体のベンゼン環にピナコールボロノ基を導入し、放射性ヨウ素との交換反応を行った。種々の条件で標識を実施し、最適な条件を模索した。

#### インビボ評価

担がんモデルマウスを作成し、新規イメージングプローブを投与し、がんへの集積性を調べた。

### 4. 研究成果

Flutolanil 誘導体の構造を基にフマル酸呼吸能を判定しうる新たな放射性イメージングプローブの開発を計画し、その合成と基礎的評価を行った。これまでに、新規ヨウ素誘導体のドラッグデザイン・合成に成功した。合成した放射性ヨウ素誘導体の放射化学的純度や安定性について詳細に検討した。当初の合成法では反応収率や分取後の放射化学的純度が不安定であった。そこで、合成法ならびに精製法を再度見直したところ、安定した収率で高純度の放射性ヨウ素誘導体を得ることができた。得られた放射性新規化合物を用いて、MDA-MB - 231 担癌モデルマウスにおいて、がん集積性を調べたところ本化合物はがんの集積性を有したものの、その値は低いものであった。このことは用いたがん細胞ががん幹細胞でなかったことに由来するものであり、予想通りの結果となった。続いて、がん幹細胞である、panc-1 細胞での検討を計画し実行したが、細胞の成長が遅く、期間内に実験を終えることはできなかった。

以上、新たな がん細胞のフマル酸呼吸能を把握しうる新たな放射性プローブの合成に成功した。本化合物の前駆体はハウ素を含んでおり、本化合物の特性から中性子補足療法に用いる治療薬にも転用も可能と期待される。

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