

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 12 日現在

機関番号：30110

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24791329

研究課題名(和文)腎毒性を軽減する安全で効果的ながん治療用ラジオアイソトープ標識ペプチドの開発

研究課題名(英文)Development of a new radioisotope-labeled peptide with accomplished low nephrotoxicity and effectiveness in cancer therapy

研究代表者

大島 伸宏 (OSHIMA, Nobuhiro)

北海道医療大学・薬学部・助教

研究者番号：80508648

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)：がん治療の1つとして、放射性核種(RI)で標識した低分子量ペプチドの利用が研究されているが、高い腎放射能集積が臨床応用への障害となっている。これまでに我々は、ペプチドへの負電荷導入が腎集積低減に有用であることを示し、導入法の違いが、がんへの集積性を変化させることを明らかにした。本研究では、がん集積性の維持と腎集積低減を両立する「安全で効果的ながん治療用RI標識ペプチドの開発」を目指した。種々のペプチドを培養がん細胞および担がんマウスを用いて評価したところ、腎集積低減に加え、がんへの集積を数倍に増大する化合物を見出した。今後、がん治療用放射性薬剤としての有用性を評価する予定である。

研究成果の概要(英文)：Radioisotope (RI)-labeled peptides have been studied as agents for cancer radiotherapy. However, their clinical application is difficult because of the high accumulation in the kidney, which results in unnecessary radiation exposure. Our previous study revealed that introducing negative charge into RI-labeled peptide could reduce the accumulation of renal radioactivity. In addition, to maintain the residence time of peptide in tumor cells, it is important to introduce negative charge into a suitable position on the molecule. The present study aimed to develop RI-labeled peptides both reducing radioactivity levels in kidney and maintaining the accumulation in tumor by the introduction of negative charge. As a result, I synthesized a new RI-labeled peptide derivative, achieving not only the reduction of renal radioactivity but also augmented tumor radioactivity. An application for radiotherapy using this RI-labeled peptide will be evaluated in tumor-bearing animals in the near future.

研究分野：放射線科学

キーワード：がん アイソトープ内用療法 オクトレオチド 薬物体内動態制御 放射性医薬品 腎臓 ペプチド
インジウム-111

1. 研究開始当初の背景

近年、ラジオアイソトープ (RI) で標識した抗体を用いる「がんのアイソトープ治療」が注目されており、盛んに研究がなされている。その一方で低分子量ペプチドは抗体に比べて化学合成が容易で、投与後の血液クリアランスが速やかであるなどの利点から、様々な RI 標識ペプチドについて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に高い放射能の滞留を示し、高頻度で発現する腎毒性が臨床応用への大きな障害となっている。

この腎集積を低減させることは、ペプチドを母体として用いるがんのアイソトープ治療の成否の鍵を握ることから、これまでに再吸収阻害剤や大量の塩基性アミノ酸の前投与や同時投与などの腎集積低減法が検討されてきたが、十分な成果が得られているとは言い難い。そのような中、我々は、欧米で臨床使用されている RI 標識オクトレオチド (^{111}In -DTPA-オクトレオチド) を対象に、医薬品の構造に化学修飾を施すことで腎集積を低減させる方法を検討してきた。その結果、母体化合物へ負電荷を付与することで、腎臓の放射能を半減できることを見出した (図 1)。

しかし、負電荷を付与した ^{111}In -DTPA-オクトレオチドのがん細胞への親和性は、負電荷の導入位置や方法により大きく低下してしまうことが明らかとなった (図 2)。

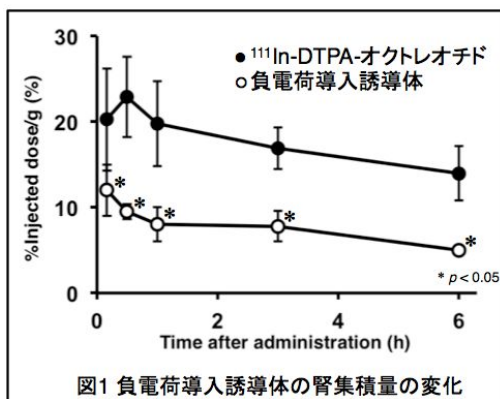


図1 負電荷導入誘導体の腎集積量の変化

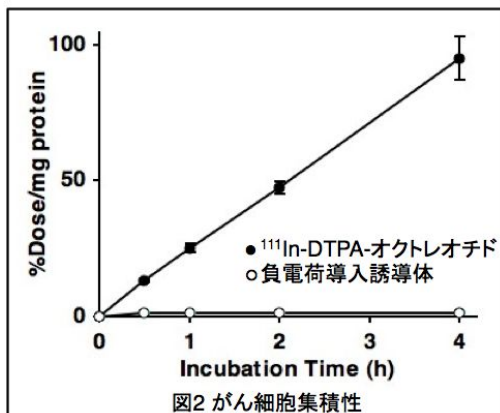


図2 がん細胞集積性

2. 研究の目的

本研究では「腎毒性を軽減する安全で効果的ながん治療用ラジオアイソトープ標識ペプチド」の開発を目指し、 ^{111}In -DTPA-オクトレオチドをモデル化合物として選定し、がん細胞への集積性を維持できる負電荷導入位置および方法を見出し、負電荷導入による腎集積低減とを両立する RI 標識オクトレオチド誘導体の開発を目的とした。

3. 研究の方法

(1) 化学構造中に酸性アミノ酸を導入した標識前駆体オクトレオチド誘導体を固相法により合成する。

(2) (1) で合成した標識前駆体を放射性金属核種である ^{111}In で標識し、得られた ^{111}In 標識オクトレオチド誘導体の電気的性質を電気泳動法で評価する。

(3) 負電荷の付与が認められた誘導体について正常マウスを用いて体内動態を評価し、腎集積が低減した化合物について、培養がん細胞およびがん細胞移植マウス (担がんマウス) を用いて、がんへの集積性を評価する。

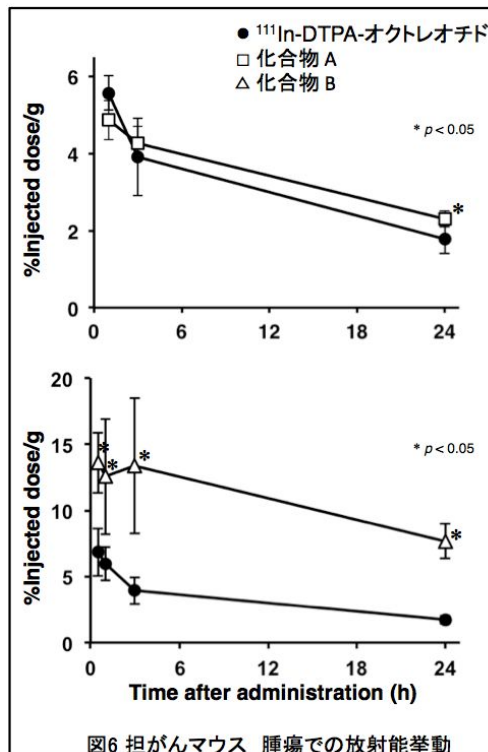
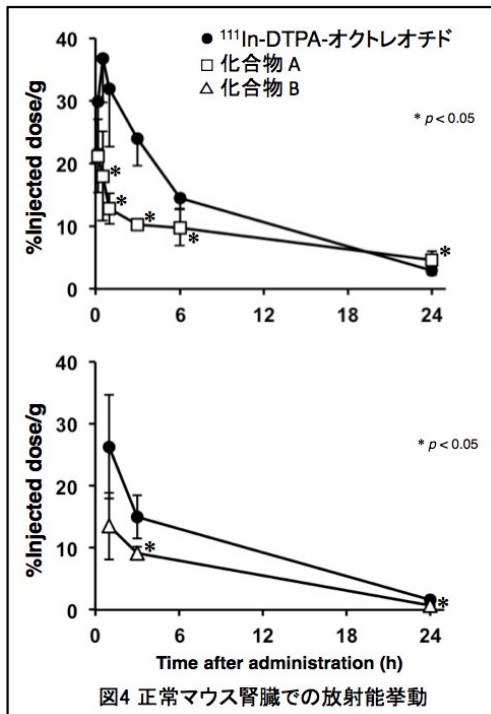
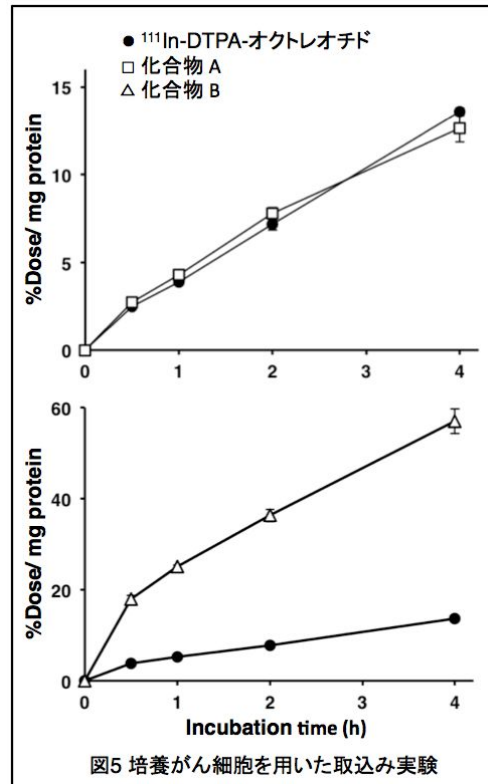
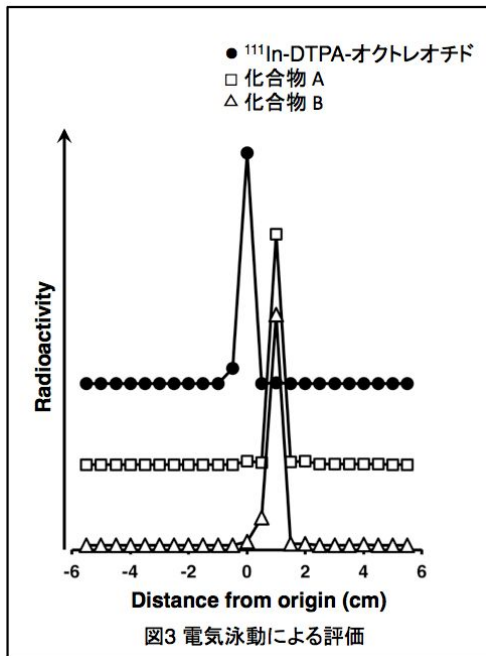
(4) (3) で良好な結果を示した誘導体を、がんのアイソトープ内用療法薬剤へと応用する。内用療法に用いられる放射性核種である ^{90}Y と安定に配位する錯形成部位を有する誘導体を合成し、評価する。

4. 研究成果

(1) DTPA-オクトレオチドおよび化学構造中に酸性アミノ酸を有する標識前駆体を、2-クロロトリチル樹脂を担体とする Fmoc 固相合成法により 30% 程度の収率で合成した。

(2) (1) で得られた標識前駆体を常法に従い ^{111}In で標識したところ、放射化学的純度 95% 以上で目的とする ^{111}In 標識オクトレオチド誘導体を得られた。得られた ^{111}In 標識ペプチドの電気的性質を ^{111}In -DTPA-オクトレオチドと比較するため、電気泳動法で評価したところ、酸性アミノ酸を構造中に含有する誘導体は、より陽極側への移動度が大きく、 ^{111}In -DTPA-オクトレオチドと比較して負に帯電していることが確認できた (図 3)

(3) 負電荷が付与された 2 種の誘導体、化合物 A および B について、正常マウスを用いて体内動態を評価した。A は、投与後早期の腎集積を低減したものの、24 時間後に ^{111}In -DTPA-オクトレオチドの腎集積を上回った。それに対して B は、投与早期の腎集積の低減に加えて 24 時間後の腎集積も有意に低減した (図 4)。



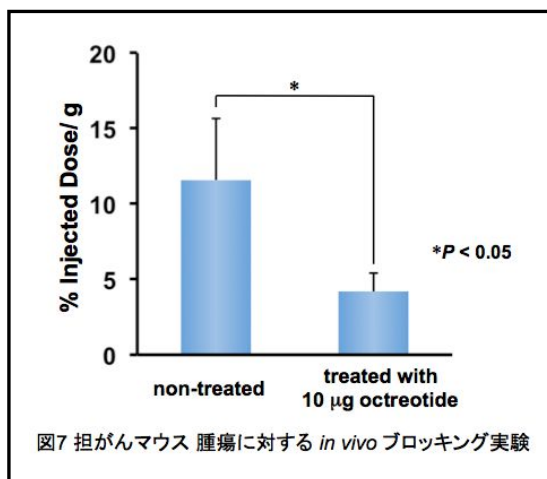
化合物 A および B のがん細胞への集積性を標的受容体を高密度に発現する培養がん細胞を用いた取込み実験により評価した。A の取込みは、¹¹¹In-DTPA-オクトレオチドと同等であったのに対し、B の取込みは¹¹¹In-DTPA-オクトレオチドの最大 4.7 倍に昇り、がん細胞への集積の増大が認められた(図 5)。

化合物 A および B を担がんマウスへ投与し、*in vivo* がん集積性を含めた体内動態を評価した。

A の腎集積は、正常マウスでの検討時と同様、投与後早期の低減を認めたが、24 時間後には¹¹¹In-DTPA-オクトレオチドを上回った。また、化合物 A のがんへの集積は、24 時間後に¹¹¹In-DTPA-オクトレオチドを上回ったが、全体として培養細胞を用いた実験時と同様、¹¹¹In-DTPA-オクトレオチドと同様の挙動が認められた。

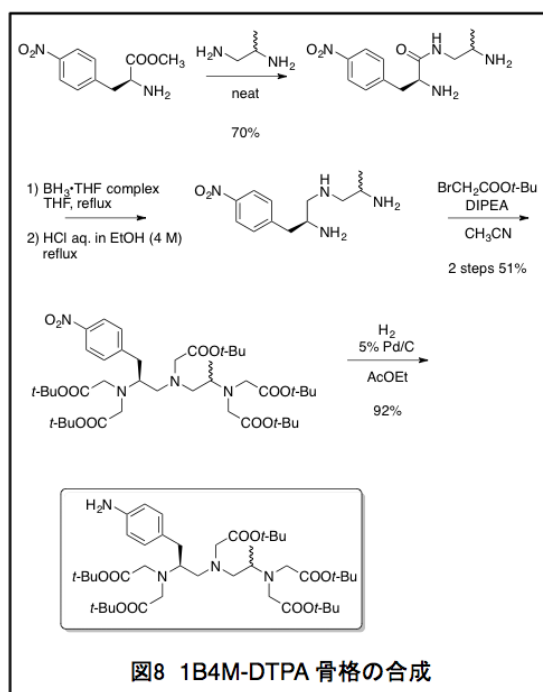
化合物 B の腎集積は、正常マウスでの検

討時と同様、24 時間経過後においても ^{111}In -DTPA-オクトレオチドを下回り、検討した全ての時間点で腎集積を有意に低減した。化合物 B のがんへの集積は、培養細胞を用いた実験時と同様、最大で 4.4 倍に増大した (図 6)。また、この集積はソマトスタチン受容体に対する競合阻害剤としてオクトレオチドを同時投与した際に、その集積が有意に低減したことから、がん表面に存在する標的受容体との特異的結合に基づいていることが明らかとなった (図 7)。



(4) (3) までの研究成果をアイソトープ内用療法薬剤へ発展させるため、内用療法に用いられる放射性核種 ^{90}Y と安定な錯体を形成できるペプチド誘導体の合成に着手した。

^{90}Y と安定な錯体を形成することが知られている 1B4M-DTPA 骨格を図 7 に示す経路で合成した。



1B4M-DTPA 骨格が結合した標識前駆体ペプチドの合成に至らなかったため、その後の検討は実施できなかった。

(5) 今後、本研究の中で見出された化合物 B に 1B4M-DTPA 骨格を導入したペプチド誘導体の合成と評価を通して、腎集積低減に加えて腫瘍集積を増大した「腎毒性を軽減する安全で効果的ながん治療用ラジオアイソトープ標識ペプチドの開発」を達成できるものとする。

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)

〔雑誌論文〕(計 1 件)

N. Oshima, H. Akizawa, S. Zhao, Y. Zhao, K. Nishijima, Y. Kitamura, Y. Arano, Y. Kuge, K. Ohkura, Design, synthesis and biological evaluation of negatively charged ^{111}In -DTPA-octreotide derivatives, *Bioorg. Med. Chem.* (査読有り), 22, (2014), 1377-1382.

DOI: 10.1016/j.bmc.2013.12.063

〔学会発表〕(計 3 件)

大島伸宏、秋澤宏行、河嶋秀和、趙松吉、趙莞、西嶋剣一、北村陽二、荒野泰、久下裕司、大倉一枝、 ^{111}In -DTPA-D-Phe¹-Asp⁰-D-Phe¹-オクトレオチドの体内動態評価: 放射能の腎集積性低減と腫瘍集積性の向上、日本薬学会第 135 年会、2015 年 3 月 28 日、神戸学院大学 (兵庫県神戸市)

大倉一枝、秋澤宏行、菅生辰之、大島伸宏、関興一、テガフルとメトキシナフタレンとの光反応による新規付加体の生成、日本薬学会第 134 年会、2014 年 3 月 29 日、熊本市総合体育館 (熊本県熊本市)

大島伸宏、秋澤宏行、大倉一枝、 ^{90}Y 標識のための 2-(p-aminobenzyl)-6-methyl-DTPA 結合オクトレオチド誘導体の合成、日本薬学会第 133 年会、2013 年 3 月 30 日、パシフィコ横浜 (神奈川県横浜市)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 1 件)

名称: オクトレオチド類似体及びそれを用いた放射性画像診断剤

発明者: 大島伸宏、秋澤宏行、大倉一枝、久下裕司、趙松吉、西嶋剣一、松本博樹

権利者: 同上

種類: 特許

番号：特願 2013-194032
出願年月日：平成 25 年 9 月 19 日
国内外の別： 国内

○取得状況（計 0 件）

〔その他〕
ホームページ等
該当するホームページは無い

6 . 研究組織
(1)研究代表者
大島 伸宏 (OSHIMA, Nobuhiro)
北海道医療大学・薬学部・助教
研究者番号：80508648