

日本医療研究開発機構 医療分野研究成果展開事業
産学連携医療イノベーション創出プログラム セットアップスキーム (ACT-MS)
事後評価報告書

公開

I 基本情報

研究開発課題名: (日本語) 放射能動態の化学制御による高効率がんラジオセラノスティクス
(英語) Highly efficient cancer radiotheranostics by chemically controlling
radioactivity pharmacokinetics

研究開発実施期間: 令和元年8月1日～令和3年3月31日

研究開発代表者 氏名: (日本語) 小野 正博
(英語) Masahiro Ono

研究開発代表者 所属機関・部署・役職:
(日本語) 国立大学法人京都大学・大学院薬学研究科・教授
(英語) Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Kyoto University. Professor.

II 研究開発の概要

研究開発の成果およびその意義等

本研究では、炭酸脱水酵素-IX(CA-IX)、グルカゴン様ペプチド-1 受容体(GLP-1R)、前立腺特異的膜抗原(PSMA)を標的とした新規ハイブリッド型がんラジオセラノスティクス薬剤を開発すること、さらに、ハイブリッド型ラジオセラノスティクス用プラットフォームの基盤構築を最終目標とした。これらの目標を達成するため、同一分子中に標的認識部位、体内動態制御部位、金属錯体形成部位を導入した候補化合物の設計・合成、インビトロ標的親和性評価、腫瘍移植モデルマウスにおける体内放射能分布評価、陽電子断層撮像(PET)/単光子放出断層撮像(SPECT)イメージング評価、治療効果評価を実施した。

CA-IXは固形腫瘍における低酸素領域に高く発現することが知られており、がん細胞の増殖・転移に関わると考えられている。CA-IXを標的とした新規ハイブリッド型がんラジオセラノスティクス薬剤の開発を目的として、標的認識部位としてCA-IXリガンドであるイミダゾチアジアゾールスルホンアミド(IS)、体内動態制御部位としてアルブミンバインダー(ALB)であるヨードフェニルブチリル酸、金属錯体形成部位として金属配位子であるD02Aを導入したIS-D02A-ALB1を設計・合成した。また、ALBであるヨードフェニルブチリル酸におけるヨウ素を臭素、メチル、および水素に置換したIS-D02A-ALB2、3、および4を合わせて設計・合成した。各候補化合物をガンマ線放出核種である¹¹¹Inで標識したIS-[¹¹¹In]In-D02A-ALB1~4を作製し、CA-

IX 高発現細胞である HT-29 細胞および CA 阻害剤であるアセタゾラミドを用いた結合阻害実験を行った。IS および金属配位子である D03A を含むが ALB を含まない ^{111}In -D03A-IS1 と比較して、IS- ^{111}In -D02A-ALB1~4 はいずれも HT-29 細胞に対する同等以上な親和性を示し、ALB を導入しても標的に対する親和性が維持されたことを認めた。さらに、HT-29 腫瘍移植モデルマウスを用いた体内動態評価では、IS- ^{111}In -D02A-ALB1~4 の腫瘍集積は ^{111}In -D03A-IS1 から向上した一方、腎臓集積が顕著に低減した。IS- ^{111}In -D02A-ALB1 が最も高い腫瘍/腎臓集積比を示したが、血中滞留性が最も長かった。一方、IS- ^{111}In -D02A-ALB4 は最も低い腫瘍/腎臓集積比を示し、顕著な血中滞留性を示さなかった。また、IS- ^{111}In -D02A-ALB3 は最も高い腫瘍集積を示し、顕著に高い血中滞留性が認められた。以上より、ALB における置換基がプローブの体内動態に大きな影響を与えることが示唆された。モデルマウスの SPECT 撮像実験を行ったところ、 ^{111}In -D03A-IS1 では腫瘍と比較して腎臓が顕著に描出されたのに対し、IS- ^{111}In -D02A-ALB1 では腫瘍を明瞭に描出した一方で腎臓などの正常臓器からは顕著な放射能シグナルが認められなかった。そこで、 ^{111}In の代わりに治療用核種である ^{90}Y を導入した IS- ^{90}Y -D02A-ALB1 を作製し、腫瘍移植モデルマウスに投与したところ、IS- ^{90}Y -D02A-ALB1 の顕著な毒性が示唆された。IS- ^{111}In -D02A-ALB1 では放射線分解が特に認められなかったのに対し、IS- ^{90}Y -D02A-ALB1 では経時的な化合物の分解が認められた。よって、ベータ線放出核種により IS の化学構造が分解され、 ^{111}In 錯体とは異なる放射能動態を示したことにより、マウスに対する顕著な毒性が認められたと考えられた。そのため、標的リガンドを IS から変更した化合物の開発が必要であると考えられた。しかし、CA-IX を標的とした RI 内用療法についての報告例が少なく、CA-IX リガンドの放射線分解についての知見が乏しいため、放射線分解の可能性が低いと考えられる他の標的リガンドを基盤としたラジオセラノスティクス薬剤の開発に着手することとした。

GLP-1R はインスリンノーマにおける膵ベータ細胞に高く発現することが知られている。GLP-1R を標的とした新規ハイブリッド型がんラジオセラノスティクス薬剤の開発を目的として、GLP-1R リガンド、ALB、金属配位子を導入した化合物 A~D を設計・合成した。いずれの化合物も GLP-1R 高発現細胞である Ins-1 細胞に対する高い親和性を示した。Ins-1 腫瘍移植モデルマウスを用いた体内動態評価では、投与 1 時間後において、いずれの化合物も既存プローブを上回る腫瘍集積を示した。さらに、化合物 A~D は既存プローブを上回る腫瘍/腎臓集積比を示した。また、CA-IX プローブについての結果と同様に、ALB における置換基により腫瘍や腎臓集積が様々であり、置換基が GLP-1R 標的のプローブの体内動態に影響を与えることが示唆された。既存プローブを用いたモデルマウスの PET 撮像では腎臓からの顕著な放射能シグナルが確認された一方、 ^{111}In 標識化合物 A を用いた SPECT 撮像では腫瘍を明瞭に描出しつつ、腎臓などの正常臓器からは顕著な放射能シグナルが認められなかった。以上より、治療用放射性核種を用いた評価は未実施であるが、化合物 A が GLP-1R を標的とした新規ハイブリッド型がんラジオセラノスティクス薬剤として有用である可能性が示唆された。

PSMA は前立腺がんにおいて高く発現することが知られている。PSMA を標的とした新規ハイブリッド型がんラジオセラノスティクス薬剤の開発を目的として、PSMA リガンド、ALB、金属配位子を導入した化合物 E および F を設計・合成した。いずれの化合物も PSMA 高発現細胞である LNCaP 細胞に対する高い親和性を示した。また、LNCaP 腫瘍移植モデルマウスを用いた体内動態評価では、投与 1 時間後において、 ^{111}In 標識化合物 E および F は既存プローブと同等な腫瘍集積を示した。さらに、腫瘍/腎臓集積比について、 ^{111}In 標識化合物 E および F は既存プローブと同等以上の腫瘍/腎臓集積比を示した。投与 4 時間後以降では化合物 E が化合物 F を上回る腫瘍集積を示したことから、 ^{111}In 標識化合物 E を用いたモデルマウスの SPECT 撮像を行った。 ^{111}In 標識化合物 E により腫瘍を明瞭に描出できた一方、既存プローブを用いた PET 撮像と同様に、腎臓からの顕著な放射能シグナルが観測された。そこで、 ^{111}In 標識化合物 E の腎臓集積を低減させるため、化合物 E における ALB と金属配位子の間にリンカーを導入した化合物 G を設計・合成し、その有用性評価を行った。 ^{111}In 標識化合物 G は LNCaP 細胞に対する高い親和性を示し、モデルマウスを用いた体内動態評価では ^{111}In 標識化合物 E と比較して、腫瘍集積は同程度のまま腎臓集積を低減させることができた。そこで、診断

用放射性核種である ^{111}In の代わりに治療用のベータ線放出核種である ^{90}Y を導入した ^{90}Y 標識化合物 G を作製した。 ^{90}Y 標識化合物 G を LNCaP 腫瘍移植マウスに投与したところ、非治療群と比較して、腫瘍成長を有意に抑制する効果が認められた。しかし、マウスの体重が顕著に減少し、死亡したマウスも確認された。よって、 ^{90}Y 標識化合物 G の高い毒性が示唆された。化合物 E~G において導入した金属配位子では腎臓集積を十分に低減することが難しいと判断し、異なる金属配位子を基盤とした PSMA 標的ラジオセラノスティクス薬剤の開発に着手することとした。

PSMA を標的とした新規ハイブリッド型がんラジオセラノスティクス薬剤の開発を目的として、PSMA リガンド、ALB、化合物 E~G とは異なる金属配位子を導入した化合物 H を設計・合成した。 ^{111}In 標識化合物 H は LNCaP 細胞に対する高い親和性を示した。また、LNCaP 腫瘍移植モデルマウスを用いた体内動態評価では、投与 1 時間後において、 ^{111}In 標識化合物 H は既存プローブと同等な腫瘍集積を示した。さらに、腫瘍/腎臓集積比について、 ^{111}In 標識化合物 H は既存プローブを上回る腫瘍/腎臓集積比を示した。また、投与 48 時間後以降では腫瘍/腎臓集積比は 1 を超え、 ^{111}In 標識化合物 H は腫瘍特異的な集積性を示した。 ^{111}In 標識化合物 H を用いたモデルマウスの SPECT 撮像を行ったところ、腫瘍を明瞭に描出し、投与 48 時間後では腎臓などの正常臓器からの顕著な放射能シグナルが観測されなかった。 ^{111}In 標識化合物 H が良好な体内動態を示したことから、診断用放射性核種である ^{111}In の代わりに治療用のベータ線放出核種である ^{90}Y を導入した ^{90}Y 標識化合物 H、アルファ線放出核種である ^{225}Ac を導入した ^{225}Ac 標識化合物 H を作製した。 ^{90}Y 標識化合物 H を LNCaP 腫瘍移植マウスに投与したところ、非治療群と比較して、腫瘍成長を有意に抑制する効果が認められた。投与初期に ^{90}Y 由来と考えられる副作用がわずかに認められたが、マウスの体重は投与 2 週間後には非治療群と同程度まで回復した。 ^{225}Ac 標識化合物 H を LNCaP 腫瘍移植マウスに投与したところ、腫瘍の成長がほとんど観測されず、アルファ線放出核種を基盤とした治療による顕著な抗腫瘍効果が認められた。さらに、 ^{225}Ac 標識化合物 H は顕著な副作用を示さず、マウスの体重は投与 3 週間後以降では非治療群を上回り、がん治療によりマウスの健康状態が改善したことが示唆された。以上より、化合物 H が PSMA を標的としたがんラジオセラノスティクス薬剤として有用であることが示された。

ハイブリッド型がんラジオセラノスティクス薬剤を簡便に調製できるプラットフォームの構築を目的として、クリック反応部位、ALB、金属配位子を導入した化合物 I を設計・合成した。化合物 I にモデルとして PSMA リガンドを導入した化合物 J を合成し、細胞結合実験を行ったところ、LNCaP 細胞に対する高い親和性を示した。LNCaP 腫瘍移植モデルマウスを用いた体内動態評価では、 ^{111}In 標識化合物 J は投与 1 時間後において既存プローブより低い腫瘍/腎臓集積比を示したが、投与 24 および 48 時間後には高い腫瘍集積を示した。 ^{111}In 標識化合物 J はモデルマウスを用いた SPECT において、腎臓への集積が認められたものの、腫瘍を明瞭に描出した。よって、化合物 J がラジオセラノスティクス用プラットフォームとして機能し得ることが示唆された。

以上より、本研究での最終目標である新規ハイブリッド型がんラジオセラノスティクス薬剤の開発(化合物 A)およびハイブリッド型ラジオセラノスティクス用プラットフォーム(化合物 I)の基盤構築を達成した。

The purpose of this study is to develop a radiometallic complex with three functional units: a “target-recognizing unit”, “biodistribution-controlling unit”, and “radiation-emitting unit”, as a cancer radiotheranostic agent targeting a specific biologic molecule (carbonic anhydrase-IX (CA-IX), glucagon-like peptide-1 receptor (GLP-1R), or prostate-specific membrane antigen (PSMA)) with the aim of decreasing renal accumulation. In addition, we aimed to develop a radiotheranostic platform with functional units, which can simply be changed using click chemistry, promoting the discovery of useful cancer radiotheranostic agents.

The expression of CA-IX in tumors can lead to a poor prognosis; thus, CA-IX has attracted much attention as a target molecule for cancer diagnosis and treatment. We designed and synthesized IS-D02A-ALB1 including imidazothiadiazole sulfonamide (IS), iodophenyl butyric acid derivative, and D02A as a CA-IX ligand, albumin binder (ALB), and metal chelator, respectively. In addition, we designed and synthesized IS-D02A-ALB2, 3, and 4, in which iodide in an ALB moiety of IS-D02A-ALB1 was replaced with bromide, methyl, and hydrogen, respectively. IS- ^{111}In In-D02A-ALB1-4 showed greater tumor/kidney ratios than a previously reported CA-IX imaging probe in a biodistribution study. Single-photon emission computed tomography (SPECT) imaging with IS- ^{111}In In-D02A-ALB1 facilitated clear tumor imaging, and no strong signals were observed in the normal organs. However, β -emitter-based therapy with IS- ^{90}Y Y-D02A-ALB1 showed unfavorable radiotoxicities on model mice. Radiolysis of IS structure by ^{90}Y was suggested; thus, IS should be replaced with another targeting ligand.

The frequent overexpression of GLP-1R in human insulinomas has been reported, suggesting that GLP-1R-targeting probes are useful for the treatment of such tumors. We designed and synthesized compounds A-D, including a GLP-1R ligand, ALB, and metal chelator. ^{111}In -labeled compounds A-D showed greater tumor/kidney ratios than a previously reported GLP-1R imaging probe in a biodistribution study. SPECT imaging with ^{111}In -labeled compound A gave clear tumor imaging, and no strong signals were observed in the normal organs. These results indicate that compound A may serve as a useful radiotheranostic agent targeting GLP-1R.

PSMA is a transmembrane glycoprotein, which is frequently overexpressed in prostate cancer, while its expression is limited in healthy tissues. We designed and synthesized novel radiotheranostic candidate compounds including a PSMA ligand, ALB, and metal chelator (compounds E-H). ^{111}In -labeled compounds E-H showed greater tumor/kidney ratios than a previously reported PSMA imaging probe in a biodistribution study. In mice, SPECT with ^{111}In -labeled compound E produced clear tumor images, and β -emitter or α -emitter-based therapy with ^{90}Y - or ^{225}Ac -labeled compound E inhibited tumor growth. In particular, no marked tumor growth was observed when ^{225}Ac -labeled compound E was used to treat tumors in mouse model. These results indicate that compound E may be a useful PSMA-targeting radiotheranostic agent.

To develop a radiotheranostic platform with functional units, we designed and synthesized compound I, which can be easily conjugated with a targeting ligand through click chemistry. Compound I was conjugated with a PSMA ligand as a model, which showed fundamental biological utilities as a PSMA-targeting imaging probe. Therefore, compound I may be a useful radiotheranostic platform.

The abovementioned results indicate that we developed a radiometallic complex with three functional units as a cancer radiotheranostic agent with the aim of decreasing renal accumulation, and a radiotheranostic platform with functional units, which can promote the discovery of useful cancer radiotheranostic agents.

III 事後評価総合所見

複数の標的に対して、計画を上回る数十種類の候補化合物の設計・合成に成功し、その親和性及び腫瘍への集積性と、マウス実験での副作用・治療効果の評価、画像化など全ての項目に関して計画を上回る結果を出した。

さらに、知財に関しても京都大学・日本メジフィジックス株式会社共同での特許を出願しており、高く評価できる。

一方で、診断と治療に活用できる放射性標識プローブの開発は、他の機関や企業においても研究開発と実用化が進められており、本技術の迅速な実用化に加えて、優位性の確保、事業化体制の構築が不可欠である。新たな放射性標識プローブの実用化は、研究開発にとどまる事例が散見され、実用化までには開発薬剤の安全性をはじめ種々の課題があることは自明である。今後は、日本メジフィジックス株式会社と連携して、ニーズの高い薬効領域を目指し、是非とも実用化を実現することを期待する。