

内照射治療薬剤開発のための内照射標的と放射線の関係の解明

福井大学
高エネルギー医学研究センター
清野 泰

【背景】

癌は1981年より日本人の死因の第1位であり、最近では総死亡の約3割を占めるに至っている。国内外の製薬企業が多額の研究開発費を投じて新薬の開発を行っているにもかかわらず死亡率が増加している現状を考えると、抗癌剤とは全く異なる視点で開発された薬剤の重要性がこれから増してくると考えられる。その中で、抗癌剤と比較するとこれまであまり研究がされていないが、特定の癌に対して非常に効果的な内照射治療は魅力的な治療法の1つである。内照射治療とは、放射性同位元素 (RI) を導入した薬剤を体内に投与し、その放射線により癌細胞を殺傷する治療法である。 β 線を放出する I-131 による甲状腺癌治療 (Thyroid 2009;19:1381-91) や I-131 標識 MIBG による神経内分泌腫瘍の治療 (Semin Nucl Med 2010;40:153-63) が広く行われている。さらに最近、Y-90 標識ゼヴァリンが CD20 陽性の再発または難治性の低悪性度 B 細胞性非ホジキンリンパ腫やマントル細胞リンパ腫の新しい治療法として保険適用され、大きな成果を出しつつある (Ann Oncol 2009;20:709-14)。しかし、内照射治療用薬剤が未だに数種類しか開発されていないことが、内照射治療の普及が遅れている一因となっている。その大きな要因として、内照射用薬剤を細胞の何処に到達させ、どのような放射線で標的部位を攻撃するのかに関して総合的な研究がなされていないことが考えられる。

内照射治療を考えたときには、放射線の中でも物質との相互作用の大きい荷電粒子線を利用するのが妥当である。荷電粒子線は、それを放出する RI によって様々な飛程 (元素から飛び出してきた電子などの粒子が物質中で到達できる距離) を持っており、その幅は数 nm から数 mm である。例えば、飛程が数 nm の RI を核酸誘導体に導入すれば、その核酸誘導体に取り込まれた細胞の DNA だけを破壊することが可能であり、増殖能の高いがん細胞を選択的に攻撃することが可能となる。また、飛程が数 mm の RI を導入した薬剤の標的を細胞実質のタンパクに設定すれば、そのタンパク自身と周囲の細胞も破壊することが可能となる。一方で、周囲に正常な細胞が存在すれば、正常細胞にも損傷を与えてしまい副作用という問題が発生する。このような標的と放射線との関係について総合的な研究は行われていない。

そこで本研究では、先に述べた標的と放射線の関係について解明していく第一歩として、10 nm 程度の非常に短い飛程をもつオージェ電子を放出する RI を導入した放射性薬剤を合成し、分子イメージング分野で培ってきた分子プローブを特定の標的に送達する技術を用いて、腫瘍細胞の特定の標的をオージェ電子で攻撃したときの殺細胞効果を検討する。放射性薬剤の攻撃対象としては、細胞機能を維持するためには核酸および細胞膜が重要であると考え、核と細胞膜の2カ所を標的とした。

【薬剤設計】

内照射治療法の研究が進められているオージェ電子放出核種には、I-125 や In-111 などが挙げられる。しかし I-125 は、半減期が 60 日と長く副作用が発生したときの対処が困難であり、生体内で脱ヨウ素が起りやすい、また、In-111 は、金属元素のため薬剤設計が難しく、ターゲットとの親和性が低下しやすいといった問題が存在する。そこで本研究では半減期が 57 時間と短く、ヨウ素よりも安定な化学結合を有する臭素の放射性同位体 Br-77 を用いることによって、これらの問題が解決できるのではないかと考えた。

核を標的とする薬剤としては、チミジン誘導体である 5-[⁷⁷Br]bromo-4'-thio-2'-deoxyuridine (⁷⁷Br-BTdU) を設計した。細胞膜を標的とする薬剤としては、ノルエピネフリン・トランスポータ (NET) に結合する(2S, αS)-2-(α-(2-[⁷⁷Br]bromophenoxy)benzyl)morpholine ((SS)-⁷⁷Br-BPBM) を設計した。

【核を標的とする内照射プローブの検討】

放射性臭素標識法の確立

⁷⁷Br-BTdU の標識合成は、スズ前駆体を合成し、クロラミン T 法により行った (図 1)。HPLC による精製を行い、放射化学的純度 42 ± 7%、放射化学的収率 99%以上(n = 12)で ⁷⁷Br-BTdU を得た。

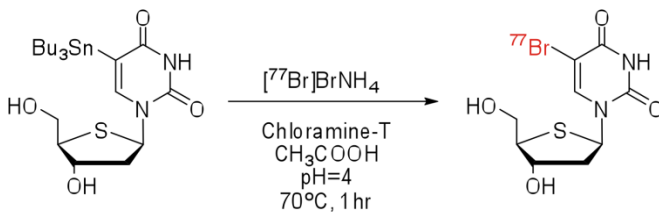


図 1. ⁷⁷Br-BTdU の標識合成

培養細胞を用いた検討

LL/2 細胞用いて ⁷⁷Br-BTdU の細胞取込実験を行い、⁷⁷Br-BTdU の集積部位の確認を行った。まず ⁷⁷Br-BTdU の内照射効果の有無を、様々な放射エネルギーの ⁷⁷Br-BTdU および ⁷⁷Br、非放射性の BTdU を LL/2 細胞に添加し、細胞の生死判定実験を行うことにより検討した。

⁷⁷Br-BTdU は細胞の DNA 画分に、添加 15 分後で 70% 以上、60 分後で 80% 以上集積し、Auger 電子を利用した内照射治療薬剤として適した集積特性を示した (図 2)。

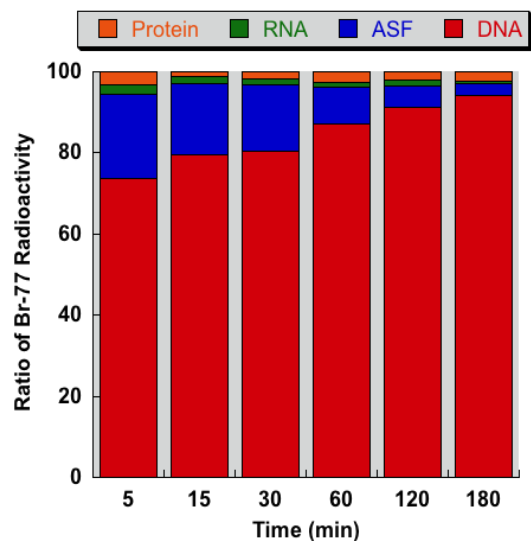


図 2. ⁷⁷Br-BTdU の細胞内局在

^{77}Br -BTdUは放射エネルギー依存的に細胞増殖を抑制する効果があり、1850 Bq/well以上の放射能で細胞数の有意な減少が認められた(図3)。

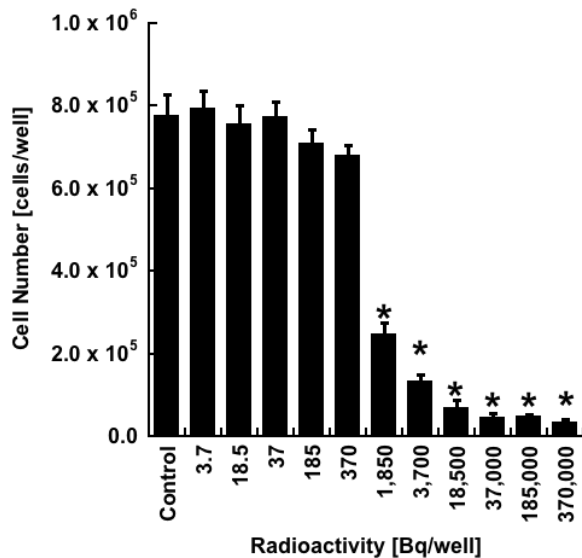


図3. 様々な放射能の ^{77}Br -BTdUを添加した時の細胞数の変化

DNAに組み込まれない ^{77}Br では、用量依存的な効果は観察されず、 ^{77}Br -BTdUはDNAに組み込まれることにより効果が出ていることを確認できた。非放射性BTdU添加でも、細胞増殖抑制は観察されたが、 ^{77}Br -BTdUの方が約1000倍低い物質質量から効果が出ていることが確認できた。以上の検討により、 ^{77}Br -BTdUの細胞増殖抑制効果は、DNAに取り込まれた ^{77}Br -BTdUから放出されるAuger電子による内照射効果が主作用であることが示唆された。

担癌マウスを用いた検討

ヌードマウスの右肩にLL/2細胞を移植し10日間飼育した後に内照射治療実験を行った。治療群には ^{77}Br -BTdU(370 kBqと3700 kBq)を尾静脈より1回投与し、腫瘍体積の変化を観察した。その結果、3700 kBq投与群では4日後にコントロールの61.2%まで、370 kBq投与群では3日後にコントロール群の64.1%まで、増殖を抑制していることが示された。これらの結果より、 ^{77}Br -BTdUが増殖能の高い腫瘍を標的とする内照射治療用薬剤としての可能性を十分有していることが示された。

【細胞膜を標的とする内照射プローブの検討】

放射性臭素標識法の確立

(SS)- ^{77}Br -BPBMの標識合成は、ヨウ素前駆体である(SS)-IPBMを用いたヨウ素-放射性臭素交換反応にて達成した(図4)。HPLCによる精製を行い、放射化学的純度 $45 \pm 5\%$ 、放射化学的収率99%以上(n=6)で(SS)- ^{77}Br -BPBMを得た。

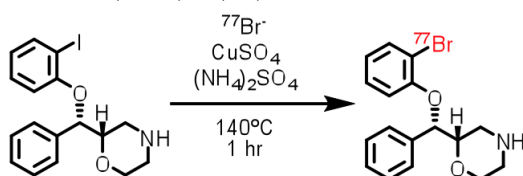


図4. (SS)- ^{77}Br -BPBMの標識合成

結合阻害実験

(SS)-⁷⁷Br-BPBM の NET に対する結合能力を検討するために、ラット脳粗シナプス膜画分を用いた結合阻害実験を行った。その結果、(SS)-BPBM は NET に対して高い親和性および選択性を示した (図5)。

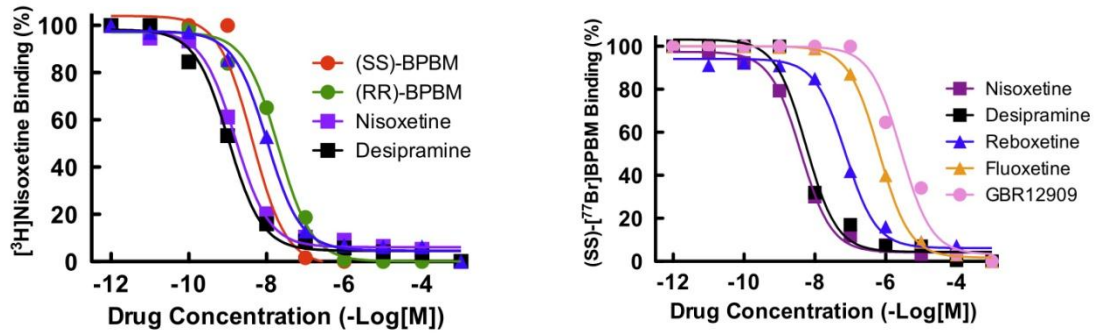


図5. 親和性および選択性の検討結果

培養細胞を用いた検討

3次元培養を行った PC-12 細胞に、(SS)-⁷⁷Br-BPBM を添加したところ、185 Bq/well からコントロール群に比べて有意な生細胞数の減少が観察された。また、死細胞数は、18,500 および 37,000 Bq/well で有意に増加していた (図6)。

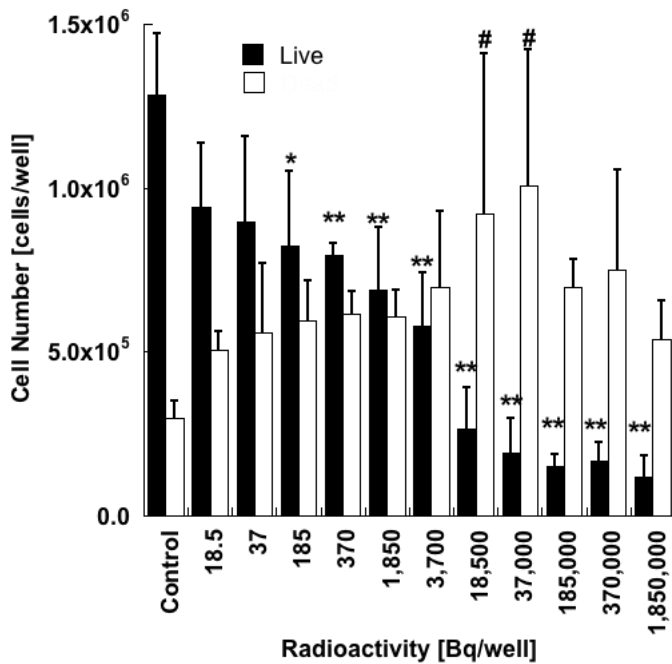


図6. 様々な放射能の(SS)-⁷⁷Br-BPBM を添加した時の細胞数の変化

この結果は、オージェ電子によって細胞膜を標的とする治療が可能であることを示唆しており、これまで核を標的とする薬剤設計が主流を占めているオージェ電子内照射治療薬剤の開発に、新しいコンセプトを提供できると考える。

【謝辞】

本研究を行うにあたり、多大なるご支援をいただきました公益財団法人医用原子力技術振興財団に対し、心より御礼申し上げます。

【発表】

清野 泰「放射性臭素標識プローブの開発：診断から治療へ」 震災復興分子イメージング化学シンポジウム 2012年3月 仙台