

(論文内容の要旨)

核医学イメージング診断法および核磁気共鳴画像診断法(MRI)は、代表的なインビボ臨床画像診断法であり、前者は高感度かつ一度に広範囲のイメージングが可能であることから病変の高感度で高速な全身検索に適し、後者は優れた空間解像力を活かした局所病変の精密検査に適している。したがって、両者を併用すれば高効率で高精度の腫瘍診断が可能となる。さらに、治療方針の決定、治療効果判定には、悪性度に関わる腫瘍の質的診断が不可欠であることから、腫瘍の悪性度に関わる生体内分子をイメージングの標的とする核医学イメージング診断用放射性薬剤およびMRI用造影剤の開発が、臨床画像診断の分野から強く求められている。一方、近年、膜結合型マトリックスメタロプロテアーゼ-1(MT1-MMP)が細胞外基質の分解に直接的に関与するマトリックスメタロプロテアーゼ-2の活性化因子として同定され、それは腫瘍形成の早期より発現し、その発現量が悪性度と相関することが報告されている。そこで本研究では、腫瘍の質的診断を目的として、MT1-MMPを標的分子とする核医学イメージング診断およびMRI用画像診断薬の開発を計画した。

第1章 膜結合型マトリックスメタロプロテアーゼ-1結合性放射性薬剤の開発

MT1-MMPを標的分子とする核医学イメージング用放射性薬剤として、二官能性キレート分子の概念に基づき、核医学イメージングに適した線質・エネルギーを有する ^{99m}Tc を、抗MT1-MMP抗体の抗原認識部位とは異なる部位に、Hydrazino-nicotinic acid(HYNIC)を介して安定に結合させた ^{99m}Tc 標識抗MT1-MMP抗体を作製した。次に乳がん移植動物を作製し、摘出した腫瘍組織におけるMT1-MMPタンパク質の発現を確認した後、その動物に ^{99m}Tc 標識抗MT1-MMP抗体を投与して経時的な生体内放射能分布変化を臓器摘出法により調べた。その結果、腫瘍への放射能集積量および腫瘍における血液に対する放射能集積比(T/B比)は経時的に増加し、それらの値は ^{99m}Tc 標識ネガティブコントロール抗体を投与した対照実験と比べて有意に高かった。以上の結果より、 ^{99m}Tc 標識抗MT1-MMP抗体が、MT1-MMPの特異的検出に適した放射性薬剤となり得る可能性が示された。しかしながら、 ^{99m}Tc 標識抗MT1-MMP抗体は非標的組織からの放射能消失が遅く、腫瘍をイメージングするためには投与後48時間以上の長時間を要することを認め、放射性核種の半減期から、より早期でのイメージングを可能とする方法の開発が求められた。

そこで、放射性薬剤の投与後早期に腫瘍のイメージングを可能とするために、ストレプトアビジン(SAv)とビオチン(Bt)の高い親和性・特異性を利用して、まず担がんマウスにSAv結合抗MT1-MMP抗体を投与し、それが腫瘍のMT1-MMPに結合した後に、低分子のため非標的組織からの速やかな消失が期待される ^{123}I 標識Bt(^{123}I -3-iodobenzoyl)

norbiotinamide ($^{123}\text{I-IBB}$) を投与して、これを生体内で腫瘍の MT1-MMP に結合させるという、プレターゲティング法を考えた。SAv 結合抗 MT1-MMP 抗体および $^{125}\text{I-IBB}$ を作製し、SAv 結合抗 MT1-MMP 抗体の投与 72 時間後に $^{125}\text{I-IBB}$ を投与した結果、腫瘍部位へ集積した放射能は長時間保持された一方で、血中放射能は速やかに消失したことから、T/B 比はプローブ投与後早期より $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 標識抗 MT1-MMP 抗体と比べて有意に高い値を示した。また、 $^{125}\text{I-IBB}$ を単独で投与した場合、腫瘍部位への放射能集積は認められなかったことから、プレターゲティング法で認められた腫瘍部位への放射能集積は前投与した SAv 結合抗体によることが示され、プレターゲティング法の有効性が示された。さらに、プレターゲティング法を用いて、担がんマウスでの核医学イメージング実験を行った結果、 $^{123}\text{I-IBB}$ 投与後早期における明瞭な腫瘍部位のイメージングに成功した。以上より、SAv 結合抗 MT1-MMP 抗体と $^{123}\text{I-IBB}$ を用いるプレターゲティング法は、投与後早期における MT1-MMP を標的とする腫瘍の核医学イメージングに有効である可能性を明らかとした。

第 2 章 膜結合型マトリックスメタロプロテアーゼ-1 結合性核磁気共鳴画像診断用造影剤の開発

生体内で特定の分子の分布、挙動をイメージングするのに MRI を用いるためには、造影のために用いるガドリニウム (Gd) に対する感度の低さが問題となる。そこで、高分子量ナノキャリアによる Gd 錯体の分子運動抑制が周囲水分子との相互作用を亢進し、MR 信号の高感度化に有効であると考え、 dendrimer をナノキャリアとして用いたプレターゲティング法に基づく MRI 用造影剤の開発を計画した。分子表面に 64 のアミノ基を有する第 4 世代ポリアミドアミン dendrimer (PAMAM) を用い、その表面アミノ基に Bt と Gd-diethylenetriamine pentaacetic acid (Gd-DTPA) を複数導入した Bt-PAMAM-DTPA(Gd) を合成した。得られた Bt-PAMAM-DTPA(Gd) の水溶液でのプロトン緩和能を測定したところ、それは現在臨床で形態診断に汎用される Gd-DTPA と比較して有意に高く、 dendrimer による高感度化の可能性を認めた。さらに、担がんマウスに SAv 結合抗 MT1-MMP 抗体を投与して、その 72 時間後に、Bt-PAMAM-DTPA(Gd) を投与し、経時的に MR 撮像したところ、Bt-PAMAM-DTPA(Gd) を単独投与した対照実験と比較して、有意に高い腫瘍部位での MR 信号、および、筋肉に対する腫瘍部位での MR 信号比が得られた。以上より、Bt-PAMAM-DTPA(Gd) による高感度化とプレターゲティング法の組合せは、MRI による、MT1-MMP を標的とした腫瘍の質的画像診断に有効である可能性を示した。

以上、本研究は、MT1-MMP を標的とした核医学イメージングおよび MRI に有効な腫瘍の質的診断のための画像診断薬の開発に基礎的な成果を収めたものであり、これらの知見は、今後の腫瘍の質的画像診断の実現に有益な情報を提供するものと考えられる。

(論文審査の結果の要旨)

高精度の腫瘍診断、治療方針の決定、治療効果判定のために、腫瘍の悪性度に関わる生体内分子をイメージングの標的とする核医学イメージング診断用放射性薬剤および MRI 用造影剤の開発が、臨床画像診断の分野から強く求められている。そこで本論文は、膜結合型マトリックスメタロプロテアーゼ-1 (MT1-MMP) が腫瘍形成の早期より発現し、その発現量が悪性度と相関していることが報告されていることに着目して、MT1-MMP を標的分子とする核医学イメージング診断および MRI 用画像診断薬の開発を計画したものである。

著者は、先ず、膜結合型 MT1-MMP 結合性放射性薬剤の開発を目的として、二官能性キレート分子の概念に基づき、核医学イメージングに適した線質・エネルギーを有する ^{99m}Tc を、抗 MT1-MMP 抗体の抗原認識部位とは異なる部位に、Hydrazino-nicotinic acid を介して安定に結合させた ^{99m}Tc 標識抗 MT1-MMP 抗体を作製した。そして、MT1-MMP タンパク質の発現を確認した乳がん移植動物に本化合物を投与して体内分布を検討した結果、腫瘍への放射能集積量および腫瘍における血液に対する放射能集積比 (T/B 比) は経時的に増加し、それらの値は ^{99m}Tc 標識ネガティブコントロール抗体を投与した対照実験と比べて有意に高いことを認めた。しかし、一方で、本化合物は非標的組織からの放射能消失が遅く、腫瘍をイメージングするためには投与後長時間を要することも認めた。

そこで著者は、放射性核種の短い半減期を考慮して、放射性薬剤の投与後早期の腫瘍イメージングを可能とするために、ストレプトアビジン (SAv) とビオチン (Bt) の高い親和性・特異性を利用して、まず担がんマウスに SAv 結合抗 MT1-MMP 抗体を投与し、それが腫瘍の MT1-MMP に結合した後に、低分子のため非標的組織からの速やかな消失が期待される ^{123}I 標識 Bt (^{123}I -IBB) を投与して、これを生体内で腫瘍の MT1-MMP に結合させるという、プレターゲティング法を考案した。その結果、腫瘍部位へ集積した放射能は長時間保持された一方で、血中放射能は速やかに消失し、T/B 比は ^{123}I -IBB 投与後早期より ^{99m}Tc 直接結合抗 MT1-MMP 抗体と比べて有意に高い値を示すことを認め、また、担がんマウスでの核医学イメージング実験において、 ^{123}I -IBB 投与後早期に明瞭な腫瘍部位のイメージングに成功し、プレターゲティング法の有効性を明らかにした。

また著者は、膜結合型マトリックスメタロプロテアーゼ-1 結合性磁気共鳴画像診断用造影剤の開発を目的として、MRI の問題点であるガドリニウム (Gd) に対する感度の低さを克服するために、高分子量ナノキャリアで Gd 錯体の分子運動を抑制することによって周囲水分子との相互作用を亢進して MR 信号を高感度化することを考え、 dendrimer をナノキャリアとして用いたプレターゲティング法に基づく MRI 用造影剤の開発を計画した。そして、第 4 世代

ポリアミドアミンデンドリマー (PAMAM) を用い、その表面アミノ基に Bt と Gd-diethylenetriamine pentaacetic acid (Gd-DTPA) を複数導入した Bt-PAMAM-DTPA(Gd) を合成し、得られた Bt-PAMAM-DTPA(Gd) の水溶液でのプロトン緩和能を測定した結果、それは現在臨床で形態診断に汎用される Gd-DTPA と比較して有意に高いことを認めた。さらに、担がんマウスに SA_v 結合抗 MT1-MMP 抗体を投与長時間後に Bt-PAMAM-DTPA(Gd) を投与して MR 撮像した結果、Bt-PAMAM-DTPA(Gd) を単独投与した対照実験と比較して、有意に高い腫瘍部位での MR 信号、および、筋肉に対する腫瘍部位での MR 信号比が得ることに成功した。

以上、本研究は、MT1-MMP を標的とした核医学イメージングおよび MRI に有効な腫瘍の質的診断のための画像診断薬の開発に基礎的な成果を収めたものであり、これらの知見は、今後の腫瘍の質的画像診断の実現に有益な情報を提供するものと評価される。

よって、本論文は博士(薬学)の論文として価値あるものと認める。

更に、平成21年2月26日論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果合格と認めた。