

氏名	わき 脇	さか 坂	こう 孝	じ 治
学位(専攻分野)	博士(薬学)			
学位記番号	薬博第395号			
学位授与の日付	平成9年3月24日			
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当			
研究科・専攻	薬学研究科製薬化学専攻			
学位論文題目	癌の核医学診断, 治療を目的とする放射性ヨウ素結合抗体の体内放射能動態の化学制御に関する研究			
論文調査委員	(主査) 教授 佐治英郎 教授 橋田 充 教授 市川 厚			

### 論文内容の要旨

抗腫瘍抗体を放射能の運搬体とする癌の核医学診断, 治療のための放射性薬剤の開発研究は単クローン抗体の開発を契機に急速に進展し, 現在その一部は米国で臨床使用されている。しかし放射性核種 (RI) 結合抗体の投与では, 長時間にわたる肝臓での非特異的な放射能滞留が観察され, これが診断精度の低下や治療時の副作用の原因となっている。この解消を目的として, 抗体と RI との生体内での結合安定性の向上を中心とする様々な検討がなされてきたが, 十分な成果が得られていない。一方, RI 結合タンパク質の体内動態に関する最近の検討から, RI 標識抗体の肝臓での放射能滞留は代謝により生成する放射性代謝物の細胞内滞留によることが示唆された。そこで著者は, RI 結合抗体の肝臓での放射能滞留の解消には, 肝臓の代謝で生成する放射性代謝物の細胞内動態を考慮した RI 結合試薬が有効と考え, 肝臓で選択的かつ速やかに代謝して母体抗体から尿排泄性の放射性化合物を生成する RI 結合試薬の開発を計画した。なお本研究では抗体の標識 RI として, 核医学診断, 治療にそれぞれ適した同位体を有する放射性ヨウ素を選択した。

#### 第1章 エステル結合の開裂によりメタヨード馬尿酸を遊離する放射性ヨウ素結合抗体

メタヨード馬尿酸の高い生体内安定性と尿排泄性に注目して, これを肝臓で生成する放射性代謝物として抗体から遊離させることを考えた。カルボン酸を有する薬物をそのタンパク質結合体から選択的に遊離させるのにエステル結合が有効な化学結合であることを考慮して, 抗体とメタヨード馬尿酸とをエステル結合を介して結合した放射性ヨウ素結合抗体の作製を計画した。この際, エステル結合を介してタンパク質にメタヨード馬尿酸を選択的に結合することは困難であるため, タンパク質との結合にマレイミド基を用いることを考え, これとメタヨード馬尿酸とをエステル結合で架橋した maleimidoethyl 3-iodohippurate (MIH) を考案した。まず MIH の有効性を基礎的に評価するため, 肝実質細胞への選択的な移行が知られているガラクトース結合アルブミン (NGA) をモデルタンパク質として用い, [<sup>131</sup>I]MIH-NGA

の肝臓での代謝で生成する放射性代謝物の体内挙動を検討した。その結果,  $[^{131}\text{I}]\text{MIH-NGA}$  は肝臓での代謝により, メタヨード馬尿酸を選択的に遊離すること, また生成した本代謝物は速やかに尿排泄されることを認めた。次いで, 骨肉腫細胞に対する単クローン抗体 (OST7,  $\text{IgG}_1$ ) をモデル抗体として用い  $[^{131}\text{I}]\text{MIH-OST7}$  を作製し, その体内放射能動態を検討した。 $[^{131}\text{I}]\text{MIH-OST7}$  は他の RI 結合 OST7 と比較して, 肝臓に残留する放射能を有意に低減し, その結果, 腫瘍と肝臓との放射能集積比を大きく向上した。以上の検討から, RI 結合抗体の肝臓での放射能滞留は RI 結合試薬に由来する放射性代謝物の細胞内挙動が大きな影響を及ぼすこと, また肝臓の代謝で RI 結合抗体から尿排泄性の高い放射性代謝物を選択的に遊離する RI 結合試薬は, 肝臓での放射能滞留の低減に有効であることが明らかとなった。しかし MIH のエステル結合は肝臓以外の部位, とりわけ血液中でも容易に代謝されるため, 標的組織への放射能集積の低減も観察され, 核医学診断, 治療への応用には, 血液中では代謝を受けず肝臓では抗体からメタヨード馬尿酸を選択的に遊離する RI 結合試薬の開発が必要とされた。

## 第2章 ペプチド結合の代謝を利用した抗体の放射性ヨウ素結合試薬の開発とその核医学診断, 治療への応用性の評価

これまでの検討から, タンパク質のリジン  $\epsilon$  アミノ基に RI 標識化合物を結合した場合, 肝臓での代謝により RI 標識化合物とリジンとの結合体を最終代謝物として生成することが示されている。この結果は, タンパク質分子内のリジンの  $\epsilon$  アミド結合はリソソーム代謝に対して安定であるが,  $\alpha$  アミド結合はリソソーム代謝で速やかに開裂することを示す。そこで, L-リジンの  $\epsilon$  アミノ基をタンパク質との結合が可能なマレイミド基に変換し,  $\alpha$  アミノ基にメタヨード馬尿酸を結合した 3'-iodohippuryl N- $\epsilon$ -maleoyl-L-lysine (HML) を設計, 合成した。ヒト血清中において  $[^{125}\text{I}]\text{MIH-NGA}$ , -OST7 は, そのエステル結合の開裂により放射能を遊離するのに対して,  $[^{131}\text{I}]\text{HML}$  結合体はタンパク質から放射能の遊離を示さないことから, HML のペプチド結合は血液中で安定であることが認められた。また  $[^{131}\text{I}]\text{HML-NGA}$  は肝臓へ集積した後,  $[^{125}\text{I}]\text{MIH-NGA}$  と同様に速やかにメタヨード馬尿酸を唯一の放射性代謝物として遊離することを認めた。以上より, HML は血液中での代謝に安定であり, かつ肝臓での代謝で母体タンパク質から選択的かつ速やかにメタヨード馬尿酸を遊離するタンパク質の放射性ヨウ素結合試薬であることが明らかとなった, さらに OST7 を用いた検討において,  $[^{131}\text{I}]\text{HML-OST7}$  は腫瘍への放射能集積を低減することなく, 従来汎用されてきたインジウム-111 結合抗体の 5 倍高い腫瘍と肝臓との放射能集積比を与え, 核医学診断, 治療に対する HML の有用性が示された。

以上, 著者は, 肝臓での代謝で生成する放射性代謝物の化学制御を基盤とする放射性ヨウ素試薬の設計を行い, 標的組織への放射能集積を維持し, かつ肝臓での放射能滞留を解消した放射性ヨウ素結合抗体を得ることに成功した。これらの研究成果は, 放射性ヨウ素のみならず, 広くテクネチウム-99m, インジウム-111 等の金属 RI を用いる抗体, さらにペプチドを基礎とする放射性薬剤の設計に有用な基礎的指針を与えるものと考えられる。

## 論文審査の結果の要旨

最近、抗腫瘍抗体を放射能 (RI) の運搬体とする癌の核医学診断, 治療のための放射性薬剤の開発研究が急速に進展し, 抗体が内在化しない固形癌を主な対象として, その一部は臨床利用されるに至っている。しかし, この臨床での検討結果から, RI 結合抗体においては, 肝臓で長時間にわたり非特異的に放射能が滞留することが観察され, これが診断における精度の低下や治療での副作用を招く原因となっていることが指摘されている。このような背景のもとに, 本論文は, 肝臓での代謝により RI 結合タンパク質から生成する放射性代謝物の挙動に着目して, 肝臓において尿排泄性の高い放射性代謝物を抗体から選択的かつ速やかに遊離する, RI 結合試薬の設計, 開発を行い, その核医学診断, 治療への応用性を評価したものである。

著者は, まず, メタヨード馬尿酸が高い生体内安定性と尿排泄性を示すことに注目して, この化合物を肝臓において RI 標識抗体から生成する放射性代謝物として選択した。次いで, 肝臓で本化合物をその結合タンパク質から選択的に遊離させるためにはエステル結合が有効であると考え, メタヨード馬尿酸を抗体分子とエステル結合を介して結合可能な maleimidoethyl 3-iodohippurate (MIH) を設計, 合成した。さらに, この化合物の有効性について, 抗体の非特異的な集積がおこる肝実質細胞への選択的な移行が知られているガラクトース結合アルブミン (NGA), さらに骨肉腫細胞に対する単クローン抗体 (OST7, IgG<sub>1</sub>) を用いて検討した結果, これらの放射性ヨウ素標識 MIH 結合タンパク質は肝臓での代謝によりメタヨード馬尿酸を選択的かつ速やかに遊離し肝臓に残留する放射能を有意に低減すること, また生成した放射性代謝物は速やかに尿中へ排泄されることを認め, 腫瘍と肝臓との放射能集積比を大きく向上することを明らかとした。しかし, MIH を用いて放射性ヨウ素標識された抗体は, 血液中で容易に代謝されるため, 標的組織への集積放射能の絶対量が低下し, この点を改善した RI 結合試薬の開発がさらに求められた。

そこで, 著者は, 新たなリジン  $\epsilon$  アミノ基に RI 標識化合物を結合したタンパク質が肝臓での代謝により RI 標識化合物とリジンとの結合体を最終代謝物として生成することに着目して, L-リジンの  $\epsilon$  アミノ基をタンパク質との結合が可能なマレイミド基に変換し,  $\alpha$  アミノ基にメタヨード馬尿酸を結合した 3'-iodohippuryl N- $\epsilon$ -maleoyl-L-lysine (HML) を設計, 合成した。この化合物について NGA, OST7 を用いて検討した結果, これらの RI 標識タンパク質は血液中での高い安定性を有すること, 肝臓での代謝によりメタヨード馬尿酸を唯一の放射性代謝物として母体タンパク質から速やかに遊離すること, その結果腫瘍への放射能集積を低減することなく肝臓から速やかに放射能を排泄することを認め, 本化合物が癌の核医学診断, 治療用抗体の放射性ヨウ素結合試薬として有効であることを明らかとした。

以上, 本論文は, 肝臓での代謝で生成する放射性代謝物の化学制御の観点から, 核医学診断, 治療に有効な RI 標識抗体を得るための放射性ヨウ素結合試薬の開発を行い, 有用な成果を修めたものであり, この分野に新しい研究の方向性を示したものと評価される。

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 9 年 2 月 21 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。