

氏名	あき ざわ ひろ みち 秋 澤 宏 行
学位(専攻分野)	博士(薬学)
学位記番号	論薬博第650号
学位授与の日付	平成13年7月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文題目	インジウム-111標識ペプチド放射性薬剤におけるキレート形成部位の新規導入法の開発と腎臓での放射能挙動の制御に関する研究
論文調査委員	(主査) 教授 佐治英郎 教授 橋田 充 教授 高倉喜信

論文内容の要旨

腫瘍などで生理活性ペプチドの受容体の異常な発現がしばしば認められていることから、腫瘍などの診断、治療を目的として、ペプチドを母体とした放射性薬剤の臨床核医学分野への幅広い応用性が期待されている。なかでも、インジウム-111 (^{111}In) で標識されたペプチド放射性薬剤は、 ^{111}In が核医学画像診断および内部照射治療に対して適した放射線を放出する核種であることから、その開発が強く望まれている。ペプチドの ^{111}In 標識については、その受容体との親和性を損なわずに直接ペプチドと ^{111}In とを安定に結合させることが難しいことから、受容体との親和性に関与する部位とは独立して ^{111}In と安定にキレートを形成する部位を新たに分子内に導入する方法が検討された。これまでに、diethylenetriaminepentaacetic dianhydride (cDTPA) をペプチドと反応させることによって、キレート形成部位として DTPA をペプチドに導入する方法が開発されているが、この場合、DTPA 結合ペプチドの合成収率が低いことが問題となっている。また、 ^{111}In -DTPA 結合ペプチドでは、標的組織だけでなく非標的組織である腎臓にも高い放射能が集積、滞留するため、診断精度の低下や不要な放射線被曝を引き起こすことが問題となっている。

そこで著者は、消化管ホルモン産生腫瘍などの腫瘍に高密度に発現するソマトスタチン受容体に高い親和性を持つペプチド、D-Phe-Cys-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Thr(ol)(octreotide) を対象として、DTPA 結合ペプチドの高収率な合成法、および ^{111}In -DTPA 結合ペプチドの腎臓での非特異的な放射能集積を低減する方法の開発を計画した。

cDTPA はペプチドと結合可能な部位を二つ有するため、cDTPA を用いた DTPA 結合ペプチドの合成では分子間架橋結合を形成し、これが低収率の大きな原因となっている。そこで、収率よく DTPA 結合ペプチドを合成するには、ペプチドと結合可能な部位を一つだけ有する DTPA 誘導体を用いることが有効であると考えた。そのため、DTPA の五個のカルボキシル基のうち、一個のカルボキシル基を遊離の状態とし、残りの四つのカルボキシル基を *tert*-butyl ($t\text{Bu}$) 基で保護した DTPA 誘導体 (mDTPA) を合成した。得られた mDTPA と固相法で構築した側鎖保護 octreotide 樹脂とを縮合試薬を用いて結合させた後、トリフルオロ酢酸処理で mDTPA の $t\text{Bu}$ 基と octreotide の側鎖保護基の脱離、および樹脂からの DTPA-octreotide 前駆体の遊離を行うことにより、N 末端の D-Phe との結合を介して効率よく DTPA を octreotide に導入することができ、DTPA-Octreotide の合成収率を cDTPA を用いる方法に比べ6倍以上に向上させることに成功した。

次いで、得られた ^{111}In -DTPA-octreotide について、マウスに投与後の腎臓における放射能挙動を検討した。経時的に腎臓での放射能を分析したところ、放射性代謝物として最終的に ^{111}In -DTPA と N 末端アミノ酸との結合体である ^{111}In -DTPA-D-Phe を生成すること、投与24時間後においても代謝が完了していないことが明らかとなった。また、これらの代謝物はリソソーム画分に存在したことから、 ^{111}In -DTPA-octreotide の腎臓での放射能滞留には、腎臓での代謝が遅いこと、放射性代謝物である ^{111}In -DTPA-D-Phe のリソソーム滞留性が高いことが関与している可能性が示された。

最近、マクロサイクリックキレート試薬 1,4,7-triazacyclononane-N,N',N''-triacetic acid (NOTA) をキレート形成部位として導入したタンパク質のガリウム-67 (^{67}Ga) 標識体において、NOTA をタンパク質中の L-Met と結合させた場合に、 ^{67}Ga -NOTA-L-Met として放射能が腎臓から速やかに消失することが示された。また、D-アミノ酸を含むペプチド結

合よりも L-アミノ酸を含むペプチド結合の方が生体内で分解されやすい。そこで、腎臓での放射能の低減を目的として、octreotide の N 末端の D-Phe を L-Met あるいは L-Phe に置換した ^{111}In -DTPA-octreotide 誘導体 (L-Met 体, L-Phe 体) を合成し、生成する放射性代謝物のリソソーム滞留性および腎臓での代謝速度をマウスを用いて D-Phe 体と比較検討した。その結果、腎臓において、L-Met 体, L-Phe 体はそれぞれ ^{111}In -DTPA-L-Met, ^{111}In -DTPA-L-Phe へと代謝され、その代謝速度は D-Phe 体と比べて速かったが、腎臓に滞留する放射能は D-Phe 体とほぼ同等であった。このことから、 ^{111}In -DTPA-octreotide 誘導体において、腎臓での放射能滞留には腎臓での代謝速度は影響せず、代謝により生成する ^{111}In -DTPA と N 末端アミノ酸との結合体の高いリソソーム滞留性が関与することが示された。

これまでの結果を基に、 ^{111}In -DTPA-octreotide の腎臓での放射能の低減には、その腎尿細管細胞への取り込みを抑制することが有効であると考えた。そこで、腎尿細管からの再吸収にペプチドの正電荷と刷子縁膜の負電荷との相互作用が関与しているとの報告に着目して、N 末端を酸性アミノ酸にすることにより ^{111}In -DTPA-octreotide に負電荷を付与し、腎尿細管細胞への ^{111}In -DTPA-octreotide の取り込みを低減することを計画した。そのため、N 末端を L-Asp に置換した誘導体 (L-Asp 体) を合成し、マウスに投与後の腎臓での放射能挙動を、L-Met 体, L-Phe 体および塩基性アミノ酸である L-Lys に置換することにより正電荷を付与した誘導体 (L-Lys 体) と比較検討した。その結果、L-Asp 体の腎臓での放射能集積量は、所期の通り、L-Met 体, L-Phe 体の約 1/2 以下、L-Lys 体の約 1/4 以下となり、N 末端を酸性アミノ酸に置換してペプチドに負電荷を付与することにより、腎臓での放射能集積量を低減することに成功した。

以上、著者は、 ^{111}In -DTPA-Octreotide において、キレート形成部位である DTPA の効率良い導入方法を開発するとともに、腎臓での非特異的な放射能集積を低減させる方法を見いだした。これらの研究成果は、今後のペプチド放射性薬剤の開発に有用な知見を与えるものと考えられる。

論文審査の結果の要旨

腫瘍などで生理活性ペプチドの受容体の異常な発現がしばしば認められている。そこで、その核医学画像診断および内部照射治療を目的として、これに適した放射線を放出するインジウム-111 (^{111}In) で標識された、ペプチドを母体とする放射性薬剤の開発が期待されている。しかし、ペプチドの ^{111}In 標識に関しては、その受容体との親和性を損なわずに直接ペプチドと ^{111}In とを安定に結合させることが難しいことから、受容体との親和性に関与する部位とは独立して ^{111}In と安定にキレートを形成する部位を新たに分子内に導入する方法が検討され、これまでに、diethylenetriaminepentaacetic dianhydride (cDTPA) をペプチドと反応させることによって、キレート形成部位として DTPA をペプチドに導入する方法が開発されている。しかし、この場合、DTPA 結合ペプチドの低い合成収率、 ^{111}In -DTPA 結合ペプチドの腎臓での非特異的な放射能集積などの問題点が指摘されている。このような背景のもと、本論文は、消化器系の多くの腫瘍に高密度に発現するソマトスタチン受容体に高い親和性を有するペプチド octreotide を対象として、これらのペプチド放射性薬剤のもつ問題点を解決する方法を考案し、その有効性を検討したものである。

著者は、まず、cDTPA はペプチドと結合可能な部位を二つ有するため、ペプチドとの結合反応において分子間架橋結合を形成することが低収率の原因となっていると考え、ペプチドと結合可能な部位を一つだけ有する DTPA 誘導体、即ち、DTPA の五個のカルボキシル基のうち、一個のカルボキシル基を遊離の状態とし、残りの四つのカルボキシル基を tert-butyl (^tBu) 基で保護した DTPA 誘導体 (mDTPA) を合成した。これを octreotide に導入することにより、cDTPA を用いる方法に比べ、合成収率を数倍向上させることに成功した。

次いで、得られた ^{111}In -DTPA-octreotide について、マウスに投与後の腎臓における放射能挙動を検討した。その結果、放射性代謝物として最終的に ^{111}In -DTPA と N 末端アミノ酸との結合体である ^{111}In -DTPA-D-Phe を生成すること、その代謝物はリソソーム画分に存在すること、投与 24 時間後においてもこの代謝が完了していないことを認めた。これらの結果から、 ^{111}In -DTPA-octreotide の腎臓での放射能の滞留には、腎臓での代謝が遅いこと、放射性代謝物である ^{111}In -DTPA-D-Phe のリソソーム滞留性が高いことが関与している可能性が示された。

そこで、腎臓での放射能集積を低減する目的で、腎尿細管細胞での代謝速度の促進、および尿管細胞への取り込み抑制の二つの方法について検討した。そのため、octreotide の N 末端の D-Phe を、代謝速度が速くなることが期待される L-

Phe, L-Met に置換した誘導体, および腎尿細管からの再吸収にはペプチドの電荷が関与していることに着目して酸性アミノ酸である L-Asp に置換した誘導体をそれぞれ合成し, 腎臓での集積動態を検討した。その結果, 腎尿細管細胞での代謝速度の促進は腎臓での放射能の滞留を低減せず, N 末端の酸性アミノ酸残基への置換によりペプチドに負電荷を付与して腎尿細管への取り込みを抑制することが放射能集積量を低減させるために有効であることを見いだした。

以上, 本研究は, ^{111}In -DTPA-octreotide において, キレート形成部位である DTPA の効率良い導入方法を開発するとともに, 腎臓での非特異的な放射能集積を低減させる方法を見いだしたものであり, 今後のペプチド放射性薬剤の開発に有用な知見を与え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13年6月29日論文内容とそれに関連した口答試問を行った結果合格と認めた。