

氏 名	お の まさ ひろ 小 野 正 博
学位(専攻分野)	博 士 (薬 学)
学 位 記 番 号	薬 博 第 474 号
学位授与の日付	平成 13 年 3 月 23 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 医 療 薬 科 学 専 攻
学位論文題目	6-Hydrazinopyridine-3-carboxylic acid を二官能性キレート試薬として用いるテクネチウム- ^{99m}Tc 標識腫瘍診断用タンパク質放射性薬剤に関する研究
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

臨床核医学の分野において、抗腫瘍抗体などの腫瘍組織に親和性を有するタンパク質を母体とする腫瘍診断用放射性薬剤の開発が注目されている。特に、テクネチウム- ^{99m}Tc で標識された薬剤は臨床での汎用性に優れることから、その開発が強く望まれている。このような背景のもと、これまでに、腫瘍組織への親和性に関与する部位と ^{99m}Tc のキレート結合部位とを同一分子内に独立して有する分子設計に基づいて、キレート形成部位をタンパク質へ導入する試薬、すなわち二官能性キレート試薬を用いる ^{99m}Tc 標識体の開発が進められてきた。しかし、これまでに開発された二官能性キレート試薬を用いる ^{99m}Tc 標識タンパク質では、比放射能および放射化学的収率が低いこと、また腫瘍組織への集積性は示すものの、肝臓、腎臓、血液などからの放射能消失が遅いことなどが問題となっている。

そこで、著者は、新たに、高比放射能の ^{99m}Tc 標識体を高収率で得ることのできる 6-hydrazinopyridine-3-carboxylic acid (HYNIC) を二官能性キレート試薬として用い、肝臓、腎臓、血液などの非標的部位からの速やかな放射能の消失を示す、タンパク質の ^{99m}Tc 標識法の開発を計画した。

第 1 章 Tricine を coligand とする ^{99m}Tc 標識 HYNIC 結合タンパク質の生体内放射能挙動の検討

肝実質細胞に選択的に集積し、そこで代謝されるガラクトース結合アルブミン (NGA) をモデルタンパク質に用い、 ^{99m}Tc 標識 HYNIC 結合タンパク質の代謝組織における放射能挙動について検討した。HYNIC は単座配位子であり、coligand として tricine を用いた場合、 $\text{Tc}:\text{HYNIC}:\text{tricine}=1:1:2$ の混合配位子錯体を形成する。そこで、HYNIC を活性エステル化後、NGA に結合させ、これに $[\text{HYNIC}]\text{tricine}_2$ を加えて、 $[\text{HYNIC}]\text{tricine}_2$ を作製した。得られた ^{99m}Tc 標識体をマウスに投与したところ、速やかに肝臓に集積したが、24 時間後でも投与量の約 40% の放射能が肝臓に滞留していた。肝臓に残存する放射能は、サイズ排除 HPLC において幅広い分子量を示すピークとして検出されたが、Tc に対して強い配位能を有する triphenylphosphine-3-monosulfonic acid (TPPMS) の添加により高分子画分の放射能は低分子画分へと移行し、これは $[\text{HYNIC}]\text{tricine}_2$ (TPPMS) であることが逆相 HPLC により示された。この結果から、 ^{99m}Tc 標識 HYNIC 結合タンパク質の代謝組織における放射能滞留には、放射性代謝物である $[\text{HYNIC}]\text{tricine}_2$ の tricine 1 分子とリソソーム内分子との配位子交換が関与することが示唆された。

さらに、tricine を coligand として用いた ^{99m}Tc 標識 HYNIC 結合タンパク質の血液からの消失について、Fab フラグメントを用いて検討した結果、血液からの放射能消失は遅く、またマウス血漿とのインキュベーションにより、サイズ排除 HPLC にて高分子画分に放射能のピークを認めた。この血液中で高分子化についてさらに検討するために、より分析が容易な低分子ペプチド RC160 を用いて調べたところ、 $[\text{HYNIC}]\text{tricine}_2$ (RC160) はマウス血漿中で高分子化されたが、tricine 1 分子を nicotinic acid (NIC) で置換した $[\text{HYNIC}]\text{tricine}_2$ (NIC) では高分子画分の放射能は減少し、血液からも速やかに消失した。したがって、tricine を coligand とする ^{99m}Tc 標識 HYNIC 結合タンパク質では、Tc に配位する tricine 1 分子の血漿中の高分子化合物との配位子交換が血液クリアランスを遅くする原因であることが

示唆された。

以上の結果より、 ^{99m}Tc 標識 HYNIC 結合タンパク質の血液および代謝組織からの速やかな放射能消失には、生体内分子と配位子交換反応に対して不活性な錯体の設計が有効であると考えられた。

第2章 血液および代謝組織からの速やかな放射能消失を示す ^{99m}Tc 標識 HYNIC 結合タンパク質の開発

血液および代謝組織からの速やかな放射能消失を達成するために、生体内分子との配位子交換に不活性な ^{99m}Tc 標識 HYNIC 結合タンパク質の開発を目的として、Tc に対して単座配位子として強い配位能を有するピリジン誘導体を *tricine* とともに *coligand* として用いた Tc:HYNIC:*tricine*:ピリジン誘導体=1:1:1:1 の混合配位子錯体をキレート形成部位としてタンパク質へ導入することを計画した。そこで、数種のピリジン誘導体を *coligand* のひとつとして用いた ^{99m}Tc 標識 HYNIC 結合 NGA を作製し、マウスに投与後、肝臓で生成する放射性代謝物の動態を検討した。その結果、いずれの ^{99m}Tc 標識 HYNIC 結合 NGA も混合配位子錯体の構造を保持した [^{99m}Tc](HYNIC-lysine)(*tricine*)(ピリジン誘導体)にまで代謝されたが、これらはリソソーム内分子との配位子交換をほとんど起こさず、また肝臓からの消失は速やかであった。さらに、Fab にこれらの混合配位子錯体を導入した ^{99m}Tc 標識体のマウスでの体内挙動を検討したところ、血漿中の高分子化合物との結合は減少し、血液から速やかに消失した。

さらに、肝臓から最も速やかな放射能消失を示した 3-benzoylpyridine (BP) を用いた ^{99m}Tc 標識 HYNIC 結合 Fab, [^{99m}Tc](HYNIC-Fab)(*tricine*)(BP) について、骨肉腫腫瘍移植ヌードマウスにおける体内動態を検討したところ、*tricine* 2 分子を *coligand* とする ^{99m}Tc 標識体と比較して、血液および代謝組織に残留する放射能を有意に低減し、その結果、明瞭な腫瘍のイメージを得ることに成功した。

以上、著者は、血液からの放射能消失の遅延および代謝組織での放射能滞留を解消した、二官能性キレート試薬を用いるタンパク質の新規 ^{99m}Tc 標識法を開発した。これらの研究成果は、今後のタンパク質および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

臨床核医学の分野において、腫瘍への親和性に優れるタンパク質を母体とするテクネチウム- 99m (^{99m}Tc) 標識腫瘍診断用放射性薬剤の開発が望まれている。そのため、腫瘍組織への親和性に関与する部位と ^{99m}Tc のキレート結合部位とを同一分子内に独立して有する分子設計、すなわち、二官能性キレート試薬を用いる ^{99m}Tc 標識体の開発が進められてきた。しかし、これまでに開発された二官能性キレート試薬を用いる場合には、比放射能および放射化学的収率が低いこと、また腫瘍組織への集積性は示すものの、肝臓、腎臓、血液などからの放射能消失が遅いことなどが問題となっている。このような背景のもと、本論文は、これらの問題点を解決できる新しい二官能性キレート試薬を設計し、その有効性を検討したものである。

著者は、まず、6-hydrazinopyridine-3-carboxylic acid (HYNIC) を高比放射能の ^{99m}Tc 標識体を高収率で得ることのできる二官能性キレート試薬として設計し、それを用いて標識されたタンパク質の代謝組織における放射能挙動を、肝実質細胞で選択的に代謝され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検討した。HYNIC は単座配位子であり、安定な錯体を生成するには *coligand* を必要とする。そこで、*coligand* として *tricine* を用いて作製した [^{99m}Tc](HYNIC-NGA)(*tricine*)₂ をマウスに投与した結果、 ^{99m}Tc 標識体は速やかに肝臓に集積したが、長時間後もかなりの放射能が肝臓に滞留していることを認めた。更に、肝臓での放射能滞留について検討した結果、肝で生成する放射性代謝物 [^{99m}Tc](HYNIC-lysine)(*tricine*)₂ の *tricine* 1 分子とリソソーム内分子との配位子交換が滞留に関与することを見出した。更に、*tricine* を *coligand* として用いた ^{99m}Tc 標識 HYNIC 結合 Fab フラグメントについて、血液からの消失を検討した結果、Tc に配位する *tricine* 1 分子の血漿中の高分子化合物との配位子交換が血液消失を遅くする原因であることを認めた。以上の結果より、著者は、 ^{99m}Tc 標識 HYNIC 結合タンパク質の血液および代謝組織からの速やかな放射能消失には、生体内分子と配位子交換反応に対して不活性な錯体の設計が有効であると考えた。

そこで、血液および代謝組織からの速やかな放射能消失を達成するために、生体内分子との配位子交換に不活性な ^{99m}Tc 標識 HYNIC 結合タンパク質の開発を目的として、Tc に対して強い配位能を有する単座配位子であるピリジン誘導体を

tricine と共に coligand として用いることを考え、数種のピリジン誘導体について、 ^{99m}Tc 標識 HYNIC 結合 NGA を作製し、肝臓で生成する放射性代謝物の動態を検討した結果、いずれの ^{99m}Tc 標識 HYNIC 結合 NGA も $[\text{}^{99m}\text{Tc}](\text{HYNIC-lysine})(\text{tricine})(\text{ピリジン誘導体})$ にまで代謝されたが、これらはリソソーム内分子との配位子交換をほとんど起こさず、また肝臓からの消失は速やかであることを認めた。更に、Fab にこれらの混合配位子錯体を導入した ^{99m}Tc 標識体のマウスでの体内挙動を検討した結果、血漿中の高分子化合物との結合は減少し、血液から速やかに消失することを見出した。

更に、肝臓から最も速やかな放射能消失を示した 3-benzoylpyridine (BP) を用いた $[\text{}^{99m}\text{Tc}](\text{HYNIC-Fab})(\text{tricine})(\text{BP})$ について、骨肉腫腫瘍移植ヌードマウスでの体内動態を検討したところ、 $[\text{}^{99m}\text{Tc}](\text{HYNIC-Fab})(\text{tricine})_2$ と比較して血液および代謝組織に残留する放射能は有意に低減し、その結果、明瞭な腫瘍のイメージを得ることに成功した。

以上、本研究は、血液および代謝組織での放射能滞留を解消した、二官能性キレート試薬を用いるタンパク質の新規 ^{99m}Tc 標識法を開発したものであり、今後のタンパク質および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2月27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。