

先進的ながん診断・治療を実現するRI-DDS開発研究

(受託者)独立行政法人日本原子力研究開発機構

(研究代表者)橋本和幸 量子ビーム応用研究部門

(再委託先)株式会社千代田テクノル、国立大学法人東京大学、国立大学法人京都大学、
国立大学法人千葉大学、国立大学法人群馬大学

(研究開発期間)平成20年度～22年度

1. 研究開発の背景とねらい

放射性同位元素 (RI) を用いたがんの内用放射線治療は、RI 標識薬剤を体内に投与してがん細胞に特異的に集積させ、その RI から出る飛程の短い放射線 (β 線、 α 線など) で病巣の組織や細胞を照射することによって、正常な身体組織や細胞への放射線の影響を低く抑えながら、目的とする病巣の組織や細胞を破壊して疾患を治療する方法であり、副作用が少なく、患者の生活の質の向上に寄与する有望な手法である。加えて、その RI が体外からの非侵襲的な画像診断に適した γ 線を放出する場合には、治療レベルの高線量での投与の前に、全く同じ調製法によって低い線量で生体内分布を確認することができ、最適な放射性薬剤の投与量の決定に寄与できる。

そこで本事業では、がん治療に適したエネルギーの β 線及び核医学イメージングに適した γ 線を同時に放出するなど優れた特性を持つレニウム-186, 188 ($^{186,188}\text{Re}$) 及びルテチウム-177 (^{177}Lu) を用いたドラッグデリバリーシステム (RI-DDS) の基盤技術開発を、産学官が連携体制を組み (図1) 実施した。

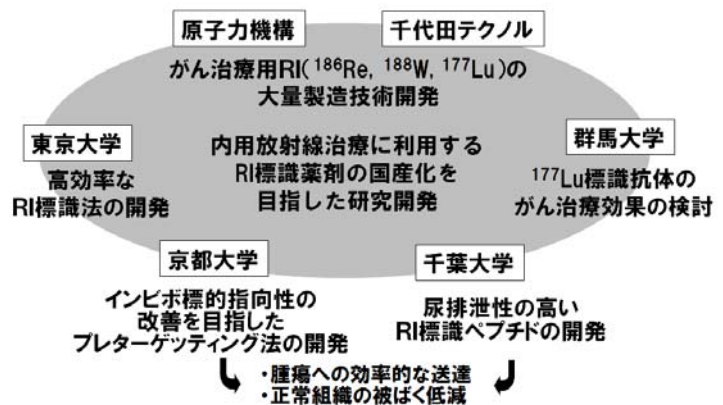


図1 研究体制と研究課題

2. 研究開発成果

(1) がん治療用高比放射能 RI の製造技術の開発

① ^{186}Re , ^{188}W 大量製造技術の開発

$^{185}\text{Re}(n, \gamma)$ 反応により製造する ^{186}Re (半減期 3.72 日) 及び $^{186}\text{W}(n, \gamma)$ $^{187}\text{W}(n, \gamma)$ 反応により製造するタングステン-188 (^{188}W (半減期 69.4 日、 ^{188}Re の親核種)) の大量製造技術基盤・体制を構築し、8~10 GBq の ^{186}Re 、250~1000 MBq の ^{188}W の定常製造を可能にした。製造した ^{186}Re , ^{188}W は、各大学へ提供し、研究の進展に寄与した。また、製造装置の検討を実施し、大量製造工程における操作性・安全性の向上を考慮した ^{186}Re 製造装置改良型の概念設計を実施した。以上により、安定的に、且つ高収率で製造を実施できる道筋を今後展開することが可能になった。

② PZC を利用した $^{188}\text{W}/^{188}\text{Re}$ 新規ジェネレータの開発

^{188}Re (半減期 17 時間) は、親核種である ^{188}W (半減期 69.4 日) の β^- 崩壊により生成する娘核種であるために高比放射能 (無担体) であり、数ヶ月間繰り返し入手することが可能である。しかしながら、 ^{188}W は ^{186}W の二重中性子捕獲反応 ($^{186}\text{W}(n, \gamma)$ $^{187}\text{W}(n, \gamma)$ ^{188}W) により製造するため、比放射能が低く、従来から使用されているアルミナジェネレータではカラム容積が大きくなる。そこで、小型の新規 $^{188}\text{W}/^{188}\text{Re}$ ジェネレータの開発をタングステンの吸着容量がアルミナ

の数十倍以上もあるジルコニウム系無機高分子 PZC を用いて実施した。

PZC への ^{188}W の吸着条件を精査した結果、PZC の製造方法の違いにより、PZC への ^{188}W の吸着率及び PZC からの ^{188}Re の溶離率に違いが見られ、 ^{188}W 吸着率及び ^{188}Re 溶離率が高い PZC を選別することができた。そこで、実際に動物実験が可能な 200 MBq 超の ^{188}W を使用して、ジェネレータを調製した結果、PZC への ^{188}W の吸着率は 88%以上、PZC からの ^{188}Re の溶離率は 75%以上を示し、小型の新規 $^{188}\text{W}/^{188}\text{Re}$ ジェネレータとして優れた特性を有することを確認した。

③ 高純度無担体 ^{177}Lu の大量製造法の開発

^{177}Lu (半減期 6.73 日) は、通常 $^{176}\text{Lu}(n, \gamma)^{177}\text{Lu}$ 反応を利用して製造されるが、無担体の ^{177}Lu を製造するためには、イッテルビウム-176 (^{176}Yb) をターゲットとする $^{176}\text{Yb}(n, \gamma)^{177}\text{Yb}$ (半減期 1.91 時間) \rightarrow ^{177}Lu 反応を利用し、ターゲット物質である Yb からの ^{177}Lu 分離技術の確立が必要である。しかし、Lu と Yb の化学的性質の類似性から、大量の Yb 存在下において単独の分離方法により無担体 ^{177}Lu を効率よく完全分離するのは難しい。そこで、逆相シリカゲルカラム法と固相抽出分離カラム法を組み合わせた大量製造技術の開発を行った。

まず、抗体標識が可能な高純度無担体 ^{177}Lu の製造研究を実施した。Yb と Lu の基本分離法である逆相シリカゲルカラム法で分離した無担体 ^{177}Lu を用いて、抗体標識を実施したところ、標識率が 5%以下と低く、不純物元素除去の必要性が明らかになった。そこで、イオン交換法による精製法を逆相シリカゲルカラム分離法と組み合わせた改良型分離・精製法を開発し、Ca, Fe, Zn 等不純物元素を当初の 85~95%以上除去することに成功し、抗体標識率 80%以上を実現した。さらに、実際に JRR-3 で 14 日間照射した ^{176}Yb ターゲット (2 mg Yb_2O_3) を用いて製造実験を実施した。その結果、 ^{177}Lu 全回収率は 85%以上であり、製造終了時に、200-300 MBq 以上の無担体 ^{177}Lu を得ることができ、動物実験が可能な放射能レベルの製造技術を確立した。

次に、無担体 ^{177}Lu の大量製造法の開発として、ターゲット量 10 mg Yb_2O_3 (14 日間の照射終了後、7 日経過時に 3.2 GBq の ^{177}Lu が生成するターゲット量)を用い、固相抽出分離カラム (粗分離) と逆相シリカゲルカラム (精密分離) による Yb/Lu の分離プロセス及びイオン交換法による精製プロセスをすべて通して行った。その結果、全回収率 80%以上で、無担体 ^{177}Lu を得ることに成功した。さらに、本 ^{177}Lu 試料は、抗体標識が十分可能な純度を有していることを確認し、GBq オーダーの無担体 ^{177}Lu の基本的製造技術を確立した。

(2) 放射性レニウム標識化合物の実用的調製法の開発

放射性レニウム標識化合物をがん治療に利用する場合、治療現場で標識し易いように、合成法は穏和でかつ簡便であることが望ましい。そこで、本研究では、骨に集積するために、がん性骨疼痛緩和作用が期待されているジメルカプトコハク酸 (DMSA)、及びがん集積性を持つ生理活性物質 (抗体等) へ放射性レニウムを導入するために有用な中間体と考えられている MAG3 などの放射性レニウム標識化合物の合成条件を精査し、高収率で得られる条件を探索した。

DMSA の場合、95%以上の標識率で合成できる最適条件を決定した。また、そのレニウム標識 DMSA 化合物の構造については、従来標識条件の違いにより異なることが示唆されていたが、本研究の結果、合成時の pH に依らず、 $\text{Re}(\text{DMSA})_2$ であることが示唆された。また、 $^{186,188}\text{Re}$ -MAG3 の合成条件は、核医学診断用薬剤として使用されているテクネチウム-99m ($^{99\text{m}}\text{Tc}$) -MAG3 の合成条件に比べて、還元剤である塩化第一スズの量を多く必要とし、加熱時間も 90°C で 25 分以上

を要することがわかった。最終的に、90%以上の収率で標識体が得られるキットを作製し、保管条件の検討など実用化のためのデータを取得した。

(3) 体内動態の化学的・生物学的制御による RI-DDS を基盤としたレニウム標識抗体製剤の開発

放射免疫療法は、腫瘍細胞に発現する抗原を標的とし、RI で標識した抗体を投与することで腫瘍に放射線を照射する内用放射線治療の一つである。しかし、高分子である抗体の血中クリアランスが一般的に遅いため、放射線感受性の高い骨髄における被曝量の増大が問題となっている。そこで本研究では、プレターゲット法に基づき、ビオチン-ストレプトアビジンの特異的 2 分子間相互作用を利用した新規レニウム標識 RI-DDS 内用放射線治療薬剤の開発を行った。すなわち、I. 腫瘍細胞膜上の特異的抗原を標的とする抗体にストレプトアビジンを結合させた「ストレプトアビジン化抗体」を投与する。II. 抗原抗体反応により、ストレプトアビジン化抗体が腫瘍抗原に結合する。III. 血中からのストレプトアビジン化抗体の消失を待った後、「 $^{186,188}\text{Re}$ 標識ビオチン」を投与する。IV. ビオチン-ストレプトアビジン複合体の形成を介し、放射性レニウムが腫瘍細胞に集積する。以上の工程から、骨髄被曝の低減と腫瘍選択的な放射線照射の実現を目指すものである。

まず、ストレプトアビジンとの結合性の保存を考慮した $^{186,188}\text{Re}$ 標識ビオチンを新規に設計・合成し、安定性とストレプトアビジンに対する結合性をインビトロで確認した。次に、本化合物のみを動物に投与し、その生体内挙動を測定した結果、速やかな血中クリアランスと尿排泄性を有することを認めた。一方、ストレプトアビジン化抗体をあらかじめ投与しておいた場合には、 $^{186,188}\text{Re}$ 標識ビオチンは腫瘍へ集積し、血液中からは速やかに消失することを確認した。そこで、新たに構築したプレターゲット法に基づいて、担がんマウスに対して内用放射線治療を行ったところ、投与放射能に依存した腫瘍増殖抑制効果を認めた。一方、白血球数と血小板数は何れも一過性に減少したが、治療開始 3 週間後には全個体で回復し、重篤な骨髄抑制は確認されなかった。また、体内分布実験で腫瘍以外に放射能集積を認めた肝臓と腎臓について、治療実験後に摘出し、組織学的評価を行ったところ、放射線に起因する組織傷害は観察されなかった。以上の結果、新規開発した放射性レニウム標識抗体製剤が、プレターゲット法に基づく腫瘍の内用放射免疫治療薬剤として有用であることを認めた。

(4) RI-DDS に適したレニウム標識ペプチドの開発

数個のアミノ酸から構成される合成ソマトスタチンや環状 RGD ペプチドは、速やかな腫瘍への集積と血液クリアランスから RI-DDS における RI の運搬体として、その利用が進められている。しかし RI 標識ペプチドを生体内に投与すると、投与早期から腎臓へ長時間に渡り滞留するため、診断精度の低下や治療時の副作用を招き、臨床使用の大きな障害となっている。そこで本研究では、レニウム標識ペプチドの腫瘍への集積を損なうことなく、腎臓への集積を低減する標識薬剤の開発を進めた。

安息香酸が腎臓で代謝されて尿中に排出される化合物である馬尿酸に構造が類似した種々のレニウム化合物を検討した。まず、放射性レニウムと低濃度においても定量的な収率で安定な化合物を生成する二官能性キレート試薬（配位子）の開発・評価を実施した。その結果、イソニコチン酸を母体とするトリアミン誘導体が、低配位子濃度においても放射性レニウム及び $^{99\text{m}}\text{Tc}$ と安定な錯体を形成することを認めた。さらにこれらの錯体は、過剰の配位子を除去した場合でも血漿中で安定に存在することを確認した。次に、本化合物に化学修飾を施し、その放射性レニウム

及び ^{99m}Tc 錯体を投与した際に、速やかに腎臓から尿中へと排泄を受ける化合物 ($^{186,188}\text{Re-GPG}$) を選出した。次いで、腎臓の刷子縁膜酵素の作用で $^{186,188}\text{Re-GPG}$ を遊離するペプチド配列の探索を行った。 ^{99m}Tc を用いた実験から、 $^{99m}\text{Tc-GPG}$ に L-リジンを結合させた場合、リジンとグリシンとの結合が腎刷子縁膜酵素により開列して、 $^{99m}\text{Tc-GPG}$ を遊離することを認めた。このように、低配位子濃度においても生体内で安定であり、かつ尿排泄性の ^{99m}Tc 及び $^{186,188}\text{Re}$ 錯体を与える配位子を新たに開発し、本薬剤設計が目的とする $^{186,188}\text{Re}$ 標識薬剤の開発に有用であることを明らかにした。

(5) ^{177}Lu 標識抗体の合成及び特性評価研究

放射免疫療法薬剤として実用化されているイットリウム-90 (^{90}Y (半減期 2.67 日)) 標識抗体は、悪性リンパ腫に対して高い治療効果を示している。しかし、放射免疫療法の適用拡大を図るためには、さらなる研究が必要であり、本研究では、半減期が比較的長く (6.73 日)、 β 線のほか γ 線も放出するため治療と同時に診断も行える利点を有する ^{177}Lu に着目し、 ^{177}Lu 標識抗体を用いた放射免疫療法薬剤の開発を試みた。

まず、キレート剤として SCN-Bz-DTPA を用いて、高い標識率、比放射能で ^{177}Lu 標識抗体を作製する方法を確立した。次いで、3 種類の標的分子を選択し、それぞれを高発現したがん細胞を移植した担がんマウスにおける腫瘍集積性、体内分布を検討した。その結果、 ^{177}Lu 標識抗体は、高い腫瘍集積性と滞留性を示した。このことから ^{177}Lu 標識抗体による治療が有望であると考えられた。至適な投与放射線量の検討を行ったところ、抗体-担がんマウスの組み合わせにより異なり、14.8 MBq、もしくは 11.1 MBq が至適投与量であることが明らかとなった。治療実験を行ったところ、3 種類全ての ^{177}Lu 標識抗体を用いた検討において腫瘍の増殖抑制効果が認められ、一部では腫瘍の消失例も確認できた。また同担がんマウスを用いて ^{177}Lu の代わりに ^{90}Y で標識した抗体による治療実験と比較したところ、増殖が遅い腫瘍においては ^{177}Lu 標識抗体の方が高い治療効果が期待できることが示唆された。

3. まとめと今後の展望

研究炉及びホットラボを活用した先進的な RI 標識薬剤開発について、原子力機構、千代田テクノル、東京大学、京都大学、千葉大学及び群馬大学が連携体制を構築することにより、国産技術として、高純度無担体 RI の大量製造から放射性薬剤特性評価までを統合的に進められる可能性を示すことができた。今後の RI 標識薬剤開発の国産化とこれに関する研究開発を進める上で、放射化学研究と医療研究を一体化した開発モデルを構築できたことが全体としての大きな成果であると考えられる。また、研究炉及びホットラボの医学分野への新たな利用の活路を開いたという点も成果として重要と考える。具体的な成果においても、がん治療に有用な ^{186}Re , $^{188}\text{W}/^{188}\text{Re}$ 及び ^{177}Lu の大量製造技術を確立するとともに、技術移転・人材育成を図り、RI 製造・供給体制を強化することができた。さらに、新規 RI 薬剤を設計・合成することに成功し、その新規 RI 薬剤に治療効果があることを実証した。本成果は放射性薬剤研究を推進する基盤技術を確立すると共に、腫瘍の種類に応じたテーラーメイド治療の可能性を示す事ができ、将来のがん治療の幅を広げる道を開くものである。今後、本プログラムの実施により構築した「RI 標識薬剤の純国産技術としての開発モデル」を実際の薬剤開発に近いレベルへ展開することが重要であり、臨床応用を視野に入れた体制を再構築して、当該研究を推進して行きたい。