

放射性ヨウ素標識シグマリガンドの評価

坂口 美喜¹⁾ 小野口昌久¹⁾ 小川 数馬²⁾
柴 和弘²⁾ 森 厚文²⁾

1) 金沢大学大学院医学系研究科保健学専攻医療科学領域量子診療技術学分野

2) 金沢大学学際科学実験センター

Investigation of Radioiodinated Sigma Receptor Ligand

Miki SAKAGUCHI¹⁾, Masahisa ONOGUCHI¹⁾, Kazuma OGAWA²⁾,
Kazuhiro SHIBA²⁾ and Hirofumi MORI²⁾

1) Department of Quantum Medical Technology, Graduate School of Medical Science, Kanazawa University

2) Advanced Science Research Center, Kanazawa University

(article received : November 4, 2008)

Key words : Radiopharmaceuticals, Sigma receptor ligand, Therapeutic agents

要 旨

シグマ受容体は、分子機能は未だ完全には明らかにはなっていないが、種々の癌において高密度に発現し、悪性度に関与していることが報告されている。一方、ベサミコール誘導体である (+)-*p*-iodovesamicol (*p*IV) がシグマ受容体に対して非常に高い親和性を持つことが報告されている。本研究の目的は、放射性ヨウ素標識 *p*IV を作製し、この薬剤の診断薬としての可能性を基礎的に検討することにある。まず、前駆体である (+)-*p*-iodovesamicol を放射性ヨウ素スズ交換反応により ¹²⁵I 標識を行い、HPLC にて精製することにより、^[125I] *p*IV を作製した。次に、シグマ受容体が過剰発現している癌細胞 DU-145 を移植した担癌マウスに、^[125I] *p*IV を静脈内投与し、体内動態を評価した。また、過剰量のシグマリガンドを同時投与することによる Blocking Study を行った。その結果、^[125I] *p*IV は腫瘍への集積が高く、血液と筋肉への集積は低値を示したため、高い腫瘍/血液、腫瘍/筋肉放射能集積比を達成した。この腫瘍への取り込みは過剰量のシグマリガンドの同時投与により低減したことから、シグマ受容体を介したものであることが示唆された。

しかし、肝臓や腎臓など非標的組織に高い集積を示した。今回の実験より、^[125I] *p*IV は、シグマ受容体を過剰発現している癌に対して十分な放射能集積が期待できるが、非標的組織の集積が高いことより、診断薬としては改善が必要であると考えられた。

緒 言

シグマ受容体は、ドーパミン受容体の1つで、2つのサブタイプ（シグマ1・シグマ2）が存在している。そして、これらシグマ受容体は種々の癌において高密度に発現しており、また、癌の悪性度に関与していると報告されている^{1~4)}。このことから、シグマ受容体を体外から非侵襲的にイメージングすることができれば、診断や治療効果予測が可能となることが期待できる。

これまでに、シグマ受容体が高い親和性を持つ vesamicol (Fig. 1) のベンゼン環のパラ位にヨウ素を導入した (+)-*p*-iodovesamicol (*p*IV) がシグ

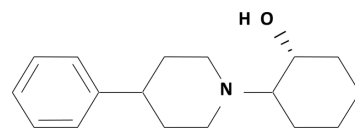


Fig. 1 Vesamicol

Table 1 シグマ受容体への親和性

	Sigma-1	Sigma-2
(+)-Vesamicol	31.8±11.4	359±39
(-)-Vesamicol	74.9±18.6	421±69
(+)- <i>o</i> IV	14.6±1.7	198±93
(-)- <i>o</i> IV	62.2±12.0	554±137
(+)- <i>m</i> IV	2.5±0.5	40.0±14.7
(-)- <i>m</i> IV	4.5±0.5	42.9±15.0
(+)- <i>p</i> IV	1.3±0.5	20.4±2.0
(-)- <i>p</i> IV	3.4±0.5	28.1±3.9
Haloperidol	13.5±2.0	110±4

Ki values derived from IC₅₀ values according to the equation, $K_i = IC_{50} (1 + C/K_d)$. Data are expressed as Ki (nM) (mean±SEM).

マ受容体に対して特に高い親和性を示すことが明らかとなっている (Table 1)^{1, 2)}.

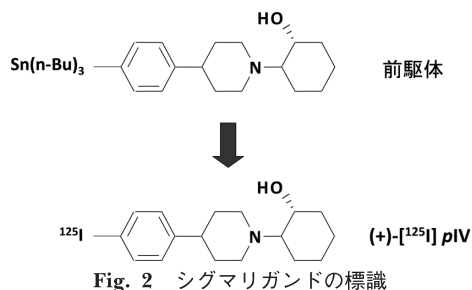
今回, このシグマ受容体をターゲットとした腫瘍イメージングの基礎的検討として, シグマリガンである *p*IV を 125 ヨウ素で標識し, この化合物の担癌マウスにおける体内動態を評価した. さらに, シグマ受容体への特異的な集積を評価する Blocking Study を行ったので報告する.

1. 方 法

1-1. シグマリガン드의標識

導入するヨウ素の位置がトリブチルスズ基である化合物との, 有機スズ・放射性ヨウ素交換反応により 125 ヨウ素標識を行い, HPLC [High Performance Liquid Chromatography (LC-10 system SHIMADZU)] で精製することにより, 放射化学的収率 87%, 放射化学的純度 99% 以上で, 125 ヨウ素標識 *p*IV ([¹²⁵I] *p*IV) を得た (Fig. 2).

なお, 今回は SPECT 用核種である 123 ヨウ素の代わりに, 半減期が長く, 取扱いが容易な 125 ヨウ素を用いた.



1-2. 担癌マウスの作製

オス 4 週齢のヌードマウス [体重 17 g, BALB/c-nu/nu (日本エルエスシー株式会社)] に, シグマ受容体が過剰発現していることが報告されている DU-145 ヒト前立腺癌細胞を, 1 匹あたりおよそ 6×10^6 個/100 μ l ずつ皮下に移植した.

1-3. 投与薬剤の調整

体内分布実験では, [¹²⁵I] *p*IV 溶液がマウス 1 匹あたり 37 kBq となるように調整し, Blocking Study は, この溶液にシグマリガンである Haloperidol, SA4503 および *p*IV を阻害剤として最終濃度が 10 μ mol になるように混合した.

1-4. 体内分布実験

DU-145 ヒト前立腺癌細胞移植からおおよそ 14 日後, マウスに薬剤を静脈内投与し, 体内分布実験においては 1, 24, 48 および 72 時間後に, Blocking Study では 1 時間後に屠殺した. その後, 血液, 腫瘍, 肝臓, 腎臓, 腸, 脾臓, 肺, 心臓, 胃, 脳, 骨および筋肉を摘出し, 重量と放射能を測定した. 放射能測定にはウェル型シンチレーションカウンタ [ARC-380 型 (アロカ社)] を使用した. 検定には, 多重比較検定 (Bonferroni/Dunn) を使用し, 危険率 5% 未満を有意とした.

2. 結 果

2-1. DU-145 モデルマウス体内分布実験

Figure 3 に DU-145 モデルマウスの血液, 腫瘍, 胃, 筋肉への放射能集積の経時的変化を示す. 今回, マウスに対してエサの制限を行っていないため, 胃 (Stomach*) は % Dose で示した.

[¹²⁵I] *p*IV の腫瘍への集積は, 24 時間後が最も高く, 48 時間にかけてはクリアランスも遅い傾向を示した. また, どの時間においても, 血液, 胃, 筋肉に比し, 腫瘍で集積が高値となった. このことより, 高い腫瘍/血液と腫瘍/筋肉放射能集積比を達成できた.

Figure 4 に, 血液, 胃, 筋肉以外の臓器の放射能集積の経時的変化を示す.

[¹²⁵I] *p*IV は, 特に腹部の非標的組織である肝臓, 腎臓などに高く取り込まれ, 経時的にクリアランスはされたものの, その速度は遅い傾向を示した.

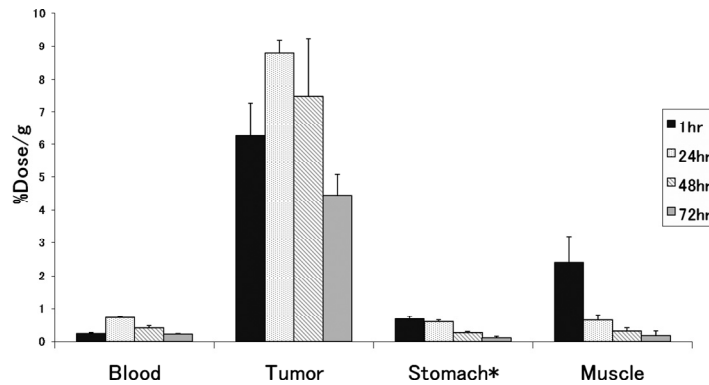


Fig. 3 DU-145 モデルマウス体内分布 (血液・腫瘍・胃・筋肉)

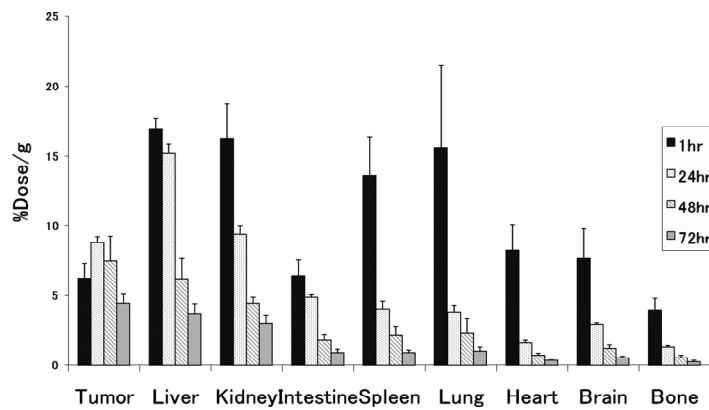


Fig. 4 DU-145 モデルマウス体内分布実験

2-2. DU-145 モデルマウス阻害実験 (Blocking Study)

Figure 5 に Blocking Study の結果を示す。

[¹²⁵I] pIV 単独投与時の 1 時間後の腫瘍への取り込みをコントロールとし、各阻害剤投与時の腫瘍への集積の低下をそれぞれ比較した。いずれも

阻害剤として投与したシグマリグンドの過剰投与により、腫瘍への集積は有意に低下した。このことより、[¹²⁵I] pIV は、シグマ受容体を介して集積していることが示唆された。

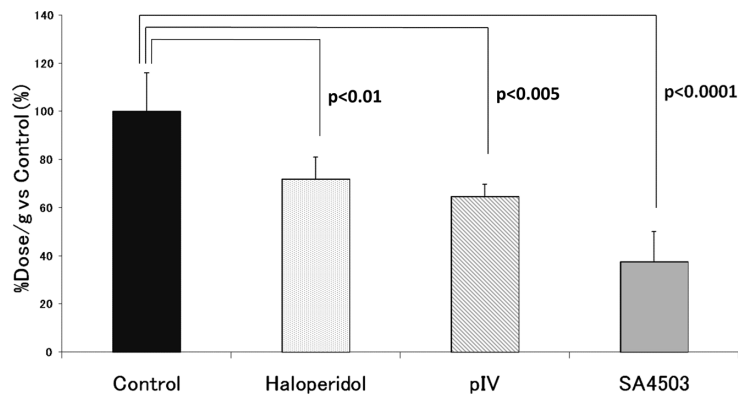


Fig. 5 DU-145 モデルマウス阻害実験 (Blocking Study)

3. 考 察

Figure 3 より, $[^{125}\text{I}] \text{ } \rho\text{IV}$ は血液と筋肉への放射能集積は低値となった. このことより, バックグラウンドを低くイメージできることが期待できる. また, 胃への集積も低い値を示したことから, $[^{125}\text{I}] \text{ } \rho\text{IV}$ が投与後に脱ヨウ素化を起こしていない, すなわち生体内で安定であることが示唆された. これらのことはいずれもイメージング剤として非常に有効な要素であると考ええる.

一方で, Figure 4 に示すように, $[^{125}\text{I}] \text{ } \rho\text{IV}$ は肝臓や腎臓などの非標的組織への取り込みも大きく, クリアランスも遅いことから, 腫瘍と非標的組織間で高い放射能集積比を得ることができなかった. 肝臓や腎臓は代謝・排泄臓器ということもあり, 最もクリアランスされにくいことが予想される. したがって, これらの臓器への集積の程度やクリアランスの速さがイメージングを検討する際に重要となる. 腹部臓器への高い集積は $[^{125}\text{I}] \text{ } \rho\text{IV}$ の高い脂溶性によるものと考えられるが, 改善法としては, 親和性に影響が出にくいとされているベンゼン環に水酸基を導入するなどして, シグマ受容体への親和性を保ったまま化合物の水溶性を高めるような薬剤設計を行うことなどが挙げられる.

4. 結 語

$[^{125}\text{I}] \text{ } \rho\text{IV}$ はシグマ受容体を介した腫瘍への高

い取り込みを示し, 腫瘍/血液, 腫瘍/筋肉放射能集積比は高値を達成できた. しかし, 非標的組織への取り込みが高く, クリアランスがかなり遅いため, 臨床応用に十分な腫瘍/非標的組織放射能集積比を得るためにはかなりの時間が必要であると考えられる. したがって, このままでは $[^{125}\text{I}] \text{ } \rho\text{IV}$ の腫瘍診断薬としての使用は難しいと考えられる. 今後の課題として, 腹部の放射能レベルを低減させる検討が必要である.

参考文献

- 1) Shiba K, Ogawa K, Mori H, et al: In vivo characterization of radioiodinated (+)-2-[4-(4-iodophenyl) piperidino] cyclohexanol [(+)- ρIV] as a sigma-1 receptor ligand. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **13**: 1095-1099, 2005
- 2) Shiba K, Yano T, Sato W, et al: Characterization of radioiodinated (-)-ortho-iodovesamicol binding in rat brain preparations. *Life science*, **71**: 1591-1598, 2002
- 3) Jhon CS, Vilner BJ, Geyer BC, et al: Targeting Sigma Receptor-binding Benzamides as in vivo Diagnostic and Therapeutic Agents for Human Prostate Tumor. *CANCER RESEARCH*, **59**: 4578-4583, 1999
- 4) Hashimoto K and Ishiwata K: Sigma Receptor Ligands: Possible Application as Therapeutic Drugs and as Radiopharmaceuticals. *Current Pharmaceutical Design*, **12**: 3857-3876, 2006