

23-C-4 EGFR-TK 阻害剤の治療効果予測及び
早期治療効果判定を可能にする分子イメージング剤の開発

独立行政法人国立がん研究センター・研究所・発がんシステム研究分野 吉本 光喜

研究の分類・属性

基礎系

研究の概要

現在、様々な上皮成長因子受容体チロシンキナーゼ (EGFR-TK) 阻害剤が開発され、臨床利用されている。副作用や患者の QOL、医療経済効果の観点から、EGFR 遺伝子変異検査による治療効果予測が行われているが、薬物動態 (バイオアベイラビリティ) の個人差など遺伝子変異以外の要因は考慮されないため、決して十分ではない。放射性イメージング剤を用いる PET・SPECT 画像診断は、「生きたまま」薬物の体内動態を定量的に可視化できるため、薬物動態学的な観点から治療効果予測又は早期治療効果判定が可能である。これまで、治療効果予測を目的に、ゲフィチニブを基本骨格とした EGFR-TK イメージング剤が報告されているが、イメージング剤としては不十分であり、ドラッグデザインの最適化が求められている。本研究では、正常組織への非特異的集積低減を目指した新規 EGFR-TK イメージング剤を開発し、治療効果予測又は早期治療効果判定の可能性について検討する。EGFR-TK イメージング剤は、ゲフィチニブを含む EGFR-TK 阻害剤の腫瘍組織への集積性を予測することが可能である。また、EGFR-TK 阻害剤の投薬後に EGFR-TK イメージングを行うことにより、腫瘍組織内における EGFR-TK 阻害剤の占有率やクリアランスを評価することができるため、早期治療効果判定に加え、治療薬の投与設計への貢献が期待できる。

研究経費

2,500 千円

研究班の組織

吉本 光喜	研究所発がんシステム研究分野・主任研究員	研究項目全般 (主任研究者)
藤井 博史	臨床開発センター機能診断開発部・部長	相談役・標識体の合成・イメージング実験
栗原 宏明	中央病院放射線診断科・医員	標識体の合成・イメージング実験

研究の目的と到達目標及び実績要点

全期間

(目的と到達目標) :

本研究では正常組織への非特異的集積低減の観点から、ピリミジンを基本骨格とした種々の新規 EGFR-TK イメージング剤を開発し、治療効果予測又は早期治療効果判定の可能性を検討することを目的とする。

第1年次

(到達目標)

- 1 EGFR-TK 阻害剤として報告されているピリミジン化合物を母体化合物とし、種々のヨウ素及びフッ素誘導体を合成し、放射性同位元素で標識する。
- 2 新規化合物について、MTS アッセイやキナーゼアッセイ、リン酸化阻害能を測定し、EGFR-TK 阻害剤としての評価を行うことにより、スクリーニングを行う。
- 3 スクリーニングで良好な結果が得られた化合物について、正常マウスにおける体内分布実験を行い、正常組織への集積やクリアランスについて検討を行う。

(年次評価時点の実績要点)

EGFR-TK 阻害活性を有する7種類の新規化合物を合成した。そのうち AY002 について、放射性ヨウ素 (^{125}I) による標識を行った。 ^{125}I -AY002 の正常組織への集積は非常に低く、また、クリアランスも速やかであり、当初の目的となる性質を示すことが明らかとなった。

研究成果と考察

第1年次評価時点

新規化合物の EGFR-TK 阻害活性などに関する検討

新規化合物の A431 に対する 50%増殖阻害濃度を MTS アッセイにより検討した結果を表 1 (中央) に示す。AY002 と AY004 は 50%増殖阻害濃度が $0.03 \mu\text{M}$ 、 $0.02 \mu\text{M}$ と母体化合物 ($0.13 \mu\text{M}$) に比べ著しく低くなり、顕著な増殖阻害効果を示した。一方、AY001 と AY003 は母体化合物に比べ、50%増殖阻害濃度が約 10 倍高くなった。しかしながら、すべての化合物においてゲフィチニブと同等もしくはそれ以上の増殖阻害効果を示した。ヨウ素やフッ素を導入したことによる著しい阻害活性の低下は認められなかったが、ヨウ素はフッ素に比べて原子半径が大きいことから、ヨウ素誘導体 (AY001~AY003) はヨウ素の導入部位により結合に大きく影響を及ぼすことが示唆された。

新規化合物の EGFR-TK 阻害活性を測定した結果を表 1 (右) に示す。50%EGFR-TK リン酸化阻害濃度は、ゲフィチニブに比べてわずかに劣るものの、すべての新規化合物は EGFR-TK 阻害剤として十分な EGFR-TK 阻害活性を示した。

しかし、50%EGFR-TK リン酸化阻害濃度と 50%増殖阻害濃度の間には相関関係が見られず、EGFR-TK 阻害以外の要素が増殖阻害に影響していることが示された。この原因として、脂溶性などの物理的性質や血清タンパクとの結合性の違いが考えられる。つまり、各化合物の EGFR-TK 阻害活性に大きな差はないが、細胞膜透過性が異なるため、細胞膜を透過しやすい化合物が、優れた増殖阻害活性を示したと考えられる。今後、結合親和性 (Kd 値) や脂溶性 (logP 値) などの測定を行うことにより、より詳細な結合特性を明らかにしていく予定である。

表 1. A431 に対する 50%増殖阻害濃度 (μM) 及び 50%EGFR-TK リン酸化阻害濃度 (μM)

化合物名	50%増殖阻害濃度 (μM)	50%EGFR-TK リン酸化阻害濃度 (μM)
ゲフィチニブ	0.89	0.37 ± 0.15
母体化合物	0.13	1.57 ± 0.69
AY001	1.05	検討中
AY002	0.03	1.32 ± 0.14
AY003	1.12	検討中
AY004	0.02	1.09 ± 0.31

AY005	0.12	2.87 ± 0.29
AY006	0.04	2.75 ± 0.55
AY007	0.10	3.12 ± 0.65

¹²⁵I-AY002 の合成

有機スズ-ヨウ素交換反応により放射性ヨウ素標識を行い、HPLCによる精製を行った結果、非常に短時間で目的物である¹²⁵I-AY002を放射化学的純度99%以上で得ることができた。また、比放射能は19.2 MBq/nmolと非常に高く、臨床応用可能なレベルの標識方法を確立することができた。

¹²⁵I-AY002 のマウス体内動態に関する検討

¹²⁵I-AY002の正常組織への集積は非常に低くまた、クリアランスも速やかであった(図4)。特に、良好な画像コントラストを得る上で重要になる血液、筋肉、肺への集積は投与1時間後において0.6%以下であり、ピリミジンを基本骨格とした新規化合物にイメージング剤としての可能性が十分に示された。一方、投与1時間後において肝臓への集積が比較的低いのに対し、既に腸への集積が顕著に高いことから、¹²⁵I-AY002は速やかに胆汁排泄されることが示唆された。また、時間経過に伴い甲状腺への集積が観察されたことから、わずかではあるが脱ヨウ素されていることが認められた。今後は、担癌マウスを用いた体内分布や体内安定性の検討を進めていく。

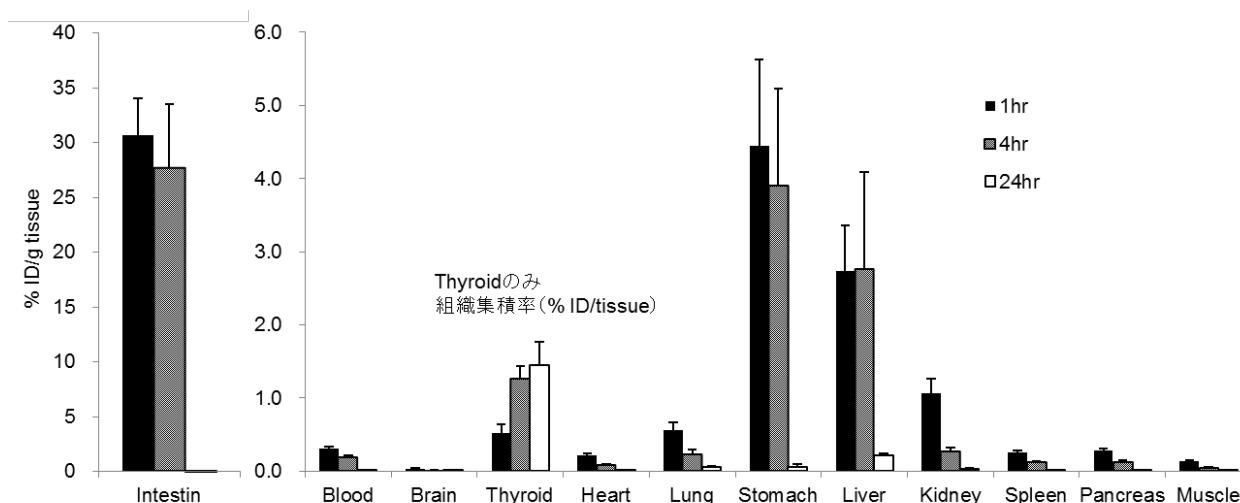


図4. ¹²⁵I-AY002 のマウス体内分布

倫理面への配慮

特になし

本研究に関連する、本研究期間中の主な発表論文等

(雑誌論文)

第1年次評価時点

1. Umeda IO, Tani K, Tsuda K, Kobayashi M, Ogata M, Kimura S, Yoshimoto M, Kojima S, Moribe K, Yamamoto K, Moriyama N, Fujii H. High resolution SPECT imaging for visualization of intratumoral heterogeneity using a SPECT/CT scanner dedicated for small animal imaging. Ann. Nucl. Med., accepted.
2. Hirata M, Kanai Y, Naka S, Matsumuro K, Kagawa S, Yoshimoto M, Ohmomo Y. Evaluation of radioiodinated quinazoline derivative as a new ligand for EGF receptor tyrosine kinase activity using SPECT. Ann. Nucl. Med., 25(2):117-24, 2011.

(学会発表)

第1年次評価時点

1. 大桃善朗, 平田雅彦, 吉本光喜, 小川美香子, 間賀田泰寛. 放射性ヨウ素標識 PYK-SPECT 画像より得られる癌

特性情報に関する基礎的検討. 第 51 回日本核医学会総会. 2011, 10, 筑波.

2. 平田雅彦, 広沢信英, 吉本光喜, 小川美香子, 間賀田泰寛, 大桃善朗. 新規[99mTc]標識 EGFR 受容体チロシンキナーゼ活性診断薬剤の合成と基礎的検討. 第 51 回日本核医学会総会. 2011, 10, 筑波.