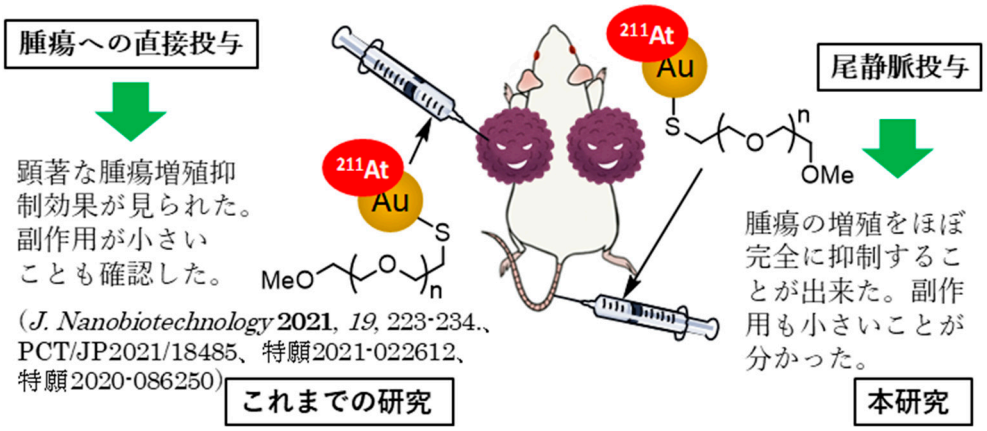
109　アスタチン-211標識薬剤の合成と抗腫瘍効果の評価	角永　悠一郎

【目的】我々は、α線放出核種アスタチン-211（^{211}At）標識金ナノ粒子の合成と抗腫瘍効果の評価を行った。核医学治療はRI内用療法とも呼ばれ、がん患者に対する身体的・精神的な負担が小さいため、新規がん治療法としての期待が大きい。特にα線は、既存の放射線治療に用いられるβ線やγ線よりもがん殺傷能力が高い。加えて、飛程がヒト細胞数個分と短いため、周辺の臓器や正常細胞への侵襲が少ない。よって、α線放出核種をがん細胞に選択的に取り込ませることにより、高い治療効果の獲得と副作用の抑制が期待できる。我々が着目している^{211}Atは、容易に入手可能なビスマス-209（^{209}Bi）から比較的容易に製造できる。加えて、適度に短い半減期（7.2時間）のため、通院による進行がんの治療が可能であり、がん患者の更なる生活の質（QOL）の向上が期待できる。一方でハロゲン族である^{211}Atは、ヨウ素と似た性質を持っているため、投与後速やかに甲状腺に集積する。この性質を打ち消すため、我々は^{211}Atを金ナノ粒子表面に固定化した。この^{211}At 標識金ナノ粒子を担がん動物に投与し、抗腫瘍効果の評価を行うこととした。
【方法】まずは、薬剤である^{211}At標識金ナノ粒子の合成を行った。金ナノ粒子は、生体内では凝集することが懸念される。そこで我々は、金ナノ粒子表面をメトキシポリエチレングリコール（mPEG）で修飾した。さらに、がん集積性や細胞透過性の向上を目的として、ペプチドでの表面修飾も行った。その後、得られた表面修飾金ナノ粒子に対し、^{211}At標識化を行った。合成した種々の^{211}At標識化金ナノ粒子をPANC-1移植マウスに投与した。その後、マウスを解剖し、各臓器の放射能を測定することにより、^{211}At標識金ナノ粒子の体内分布を評価した。この評価で最も腫瘍に集積した^{211}At標識金ナノ粒子を用いて、抗腫瘍効果の評価を行った。腫瘍は、定期的にサイズを測定し、数週間後に摘出した。副作用の有無を評価するため、体重の増減も定期的に測定した。
【結果】金ナノ粒子の表面修飾は、室温下、数時間攪拌を行うことにより簡単に進行した。合成した表面修飾金ナノ粒子は、遠心による精製中や生理食塩水条件下でも凝集などは見られず、安定であることが分かった。その後の^{211}At標識化も、室温で5分程度振とうするだけでほぼ定量的に進行した。合成した^{211}At標識金ナノ粒子をPANC-1移植マウスに投与した結果、mPEGのみで表面修飾を行った金ナノ粒子が、最も腫瘍へ集積することが分かった。表面修飾にペプチドを用いた金ナノ粒子は、肝臓へ多く集積した。そこで、mPEG修飾^{211}At標識金ナノ粒子を、PANC-1移植マウスに再び投与して抗腫瘍効果の評価を行った。その結果、腫瘍の成長をほぼ完全に抑制することに成功した。また、マウスの顕著な体重減少なども見られなかったことから、副作用も小さいことが分かった。

^{211}At標識金ナノ粒子の投与による抗腫瘍効果の評価



109. アスタチン-211 標識薬剤の合成と抗腫瘍効果の評価

角永　悠一郎

大阪大学 放射線科学基盤機構 放射線科学部門

Key words：金ナノ粒子，表面修飾，アスタチン-211，静脈投与，がん治療

緒　言

近年、α線放出核種アクチニウム-225 (^{225}Ac) を用いた製剤が、末期がん患者に劇的な治療効果を示したことから、α線核医学治療法が注目されている［1，2］。α線は、既存の放射線治療に用いられるβ線やγ線よりもがん殺傷能力が高い。加えて、飛程がヒト細胞数個分と短いため、周辺の臓器や正常細胞への侵襲が少ない。よって、α線放出核種をがん細胞に選択的に取り込ませることにより、高い治療効果の獲得と副作用の抑制が期待できる（図 1）。しかし、^{225}Ac の製造にはトリウムなどの核燃料物質を原料に用いるため、規制の厳しい国内では^{225}Ac の供給に問題を抱えている。

そこで国内では、^{211}At が注目されている。^{211}At は、容易に入手可能な^{209}Bi にα ビームを照射することにより製造できる。また^{211}At は、崩壊後速やかに毒性が少ない^{207}Bi や安定な^{207}Pb へと変化するため、副作用の心配が少ない。さらに、適度に短い半減期（7.2 時間）のため、通院による進行がんの治療が可能であり、がん患者の更なる生活の質（QOL）の向上が期待できる。半減期が 10 日の^{225}Ac は、長期間体内で放射線を放出し続けるため、がん治療に入院は必須であり、この点において^{211}At は優れた特徴を持っている。

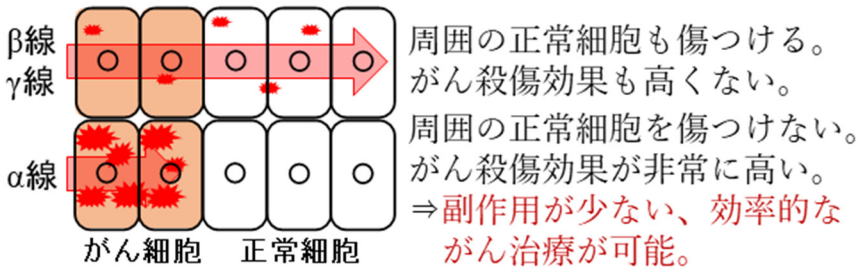


図 1. 各種放射線の特徴とがん治療への適応性

α線は、β線やγ線よりもがん殺傷能力が高く、かつ正常臓器への影響が少ない。

ハロゲン族である^{211}At は、ヨウ素と同じく投与後速やかに甲状腺に集積する。この性質を利用し、大阪大学の渡部・畑澤らの研究グループは、^{211}At-NaAt を用いた甲状腺がんの増殖抑制に成功している［3］。また最近、薬剤化へ向けて治験が開始された。^{131}I が放出するβ線よりもエネルギーが高いα線を放出する^{211}At は、新たな甲状腺がん治療薬として期待されている。

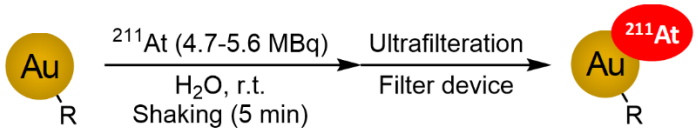
一方、その他のがんを殺傷する場合、^{211}At の甲状腺へ集積する性質を打ち消す必要がある。我々と大阪大学の加藤らは、^{211}At 標識金ナノ粒子を合成し、腫瘍へ直接投与した。これにより、腫瘍への高い治療効果と正常組織への照射の防止を両立できる。金ナノ粒子の^{211}At 標識化は、水溶媒中で混合・振とうするだけでほぼ定量的に進行した。本反応は、副生成物が生じないため精製が不要で、反応終了後、速やかに腫瘍へ投与できる。^{211}At 標識金ナノ粒子を担がんラットおよび担がんマウスの腫瘍に直接投与した結果、放射能が拡散せずにがん部位にのみ存在すること、α線によるラットやマウスへの副作用が見られなかったこと、高い腫瘍増殖抑制効果を示すことが分かった［4〜7］。

我々は、^{211}At 標識金ナノ粒子の高い抗腫瘍効果を示した。局所投与は、腫瘍に^{211}At 標識金ナノ粒子を直接投与できるため、乳がんや舌がんなどの治療に向いている。我々は次に、^{211}At 標識金ナノ粒子の静脈投与を計画した。これにより、原発巣だけでなく転移巣のがんも一挙に叩くことが可能であり、より効果的ながん治療への応用が可能であると考えた。

方法および結果

まずは、金ナノ粒子のサイズと表面修飾分子の検討を行った。金ナノ粒子は、EPR 効果（Enhanced permeability and retention effect）により、腫瘍に集積する性質を持つ。この EPR 効果が、より効果的に働く粒子径を見極めることとした。金ナノ粒子の表面修飾に関しては、生体内での安定性の担保や体内動態の向上が目的である。表面修飾分子には、親水性を向上させるメトキシポリエチレングリコール（mPEG）に加え、細胞透過性が高いポリヒスチジンペプチド（H16）[8]、腫瘍集積性を持つ RGD ペプチド（c[RGDfK(C)]）を採用した。

粒子径 5 nm および 30 nm の金ナノ粒子水溶液に mPEG-SH を加え、室温で数時間攪拌した。その後、限外ろ過もしくは遠心による沈殿により未反応の試薬を取り除き、mPEG 修飾金ナノ粒子を得た。同様に、粒子径 5 nm の金ナノ粒子の表面を H16-SH および RGD-SH で修飾した。透過電子顕微鏡（TEM）および動的光散乱方法（DLS）により、金ナノ粒子が mPEG、H16 ペプチド、RGD ペプチドによって修飾されていることを確認した。また、生理食塩水中でも粒子の凝集などが認められなかったことより、高い安定性を有していることも確認できた。合成した表面修飾金ナノ粒子に対し、^{211}At 標識化を行った。^{211}At 標識化は、水溶液中、室温で 5 分程度振とうすることにより、9 割以上の高い収率で進行した（図 2）。



Table

Entry	R	Size	RCY
1	mPEG	30 nm	Quant.
2	mPEG	5 nm	98%
3	H16/mPEG	5 nm	92%
4	H16/RGD/mPEG	5 nm	93%

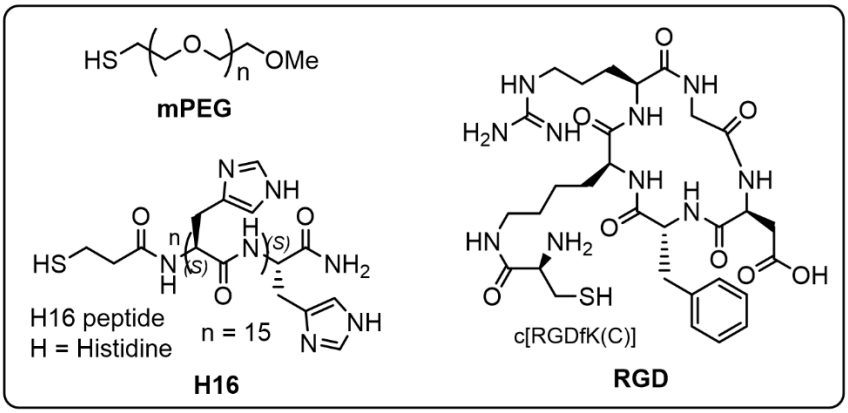


図 2. 表面修飾金ナノ粒子の^{211}At 標識化

mPEG やペプチドで修飾した金ナノ粒子の^{211}At 標識化は、ほぼ定量的に進行した。

得られた^{211}At 標識金ナノ粒子を PANC-1（ヒト膵がん）移植マウスに尾静脈投与し、薬剤の体内分布を評価した。5 nm と 30 nm の^{211}At 標識 mPEG 修飾金ナノ粒子（^{211}At-AuNP-S-mPEG）を比較したところ、若干ではあるが、5 nm のほうが腫瘍への集積性が高いことが分かった。その他の正常臓器への集積は、大きな違いは認められなかった。そこで、5 nm の^{211}At 標識 H16/mPEG 修飾金ナノ粒子（^{211}At-AuNP-S-H16/mPEG）および^{211}At 標識 H16/RGD/mPEG 修飾金ナノ粒子（^{211}At-AuNP-S-H16/RGD/mPEG）の体内分布を続けて評価した。その結果、予想外にも薬剤の多くが肝臓に集積してしまう結果となり、腫瘍への集積も減少する結果となった（投与 3 時間後）。

体内分布の結果より、5 nm の^{211}At-AuNP-S-mPEG が最も期待できる薬剤となりえることが分かった。そこで次に、抗腫瘍効果の評価を行った。薬剤（1 MBq、0.5 MBq）を PANC-1 移植マウスに尾静脈投与し、腫瘍サイズおよび体重変化の経過観察を行った。その結果、コントロール群の腫瘍は順調に成長を続けた一方で、薬剤投与群では、投与 28 日後でも腫瘍の増殖はほぼ見られなかった (図 3)。薬剤投与群の体重変化に関しては、投与後若干減少したものの、一週間から二週間後には元の体重に戻った。これにより、大きな副作用が無いことが伺えた。

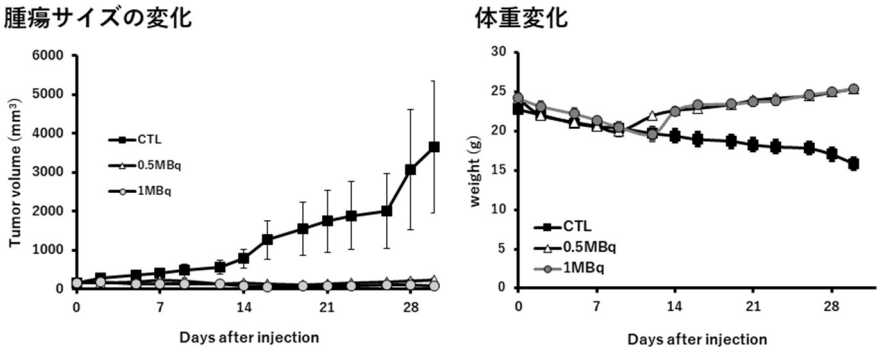


図 3. 抗腫瘍効果および体重変化の評価

5 nm^{211}At-AuNP-S-mPEG を尾静脈投与した結果、顕著な抗腫瘍効果が得られた。副作用も小さかった。

考　察

我々は、合成した 4 種類の^{211}At 標識金ナノ粒子を PANC-1 移植マウスに尾静脈投与し、薬剤の体内分布および抗腫瘍効果の評価を行った。金ナノ粒子は、肝臓に比較的多く集積する性質を持つ。そのため、H16 ペプチドや RGD ペプチドで表面修飾した金ナノ粒子は、肝臓に集積した後、細胞に積極的に取り込まれ、結果として金ナノ粒子の腫瘍への集積が下がったことが考えられる。一方で、今回用いた^{211}At 標識金ナノ粒子は、尿とともに体外へ排出されることが示唆された。金ナノ粒子は、生体内では代謝されないため、腫瘍を攻撃後、排出によって体内から消失することは、製剤化にとって優位な事象と言える。

一方で、最も腫瘍への集積性の高かった 5 nm の^{211}At-AuNP-S-mPEG でも、2% ID 程度である。すなわち、実際にがん細胞を攻撃した^{211}At は数十 kBq 程度であり、非常に少ない放射能で、極めて高い抗腫瘍効果が得られることが分かった。これは、薬剤が EPR 効果により腫瘍に集積した後、がん細胞内への取り込が起こっていることが示唆される。薬剤の細胞内在化により、DNA に対し至近距離から高エネルギーのα線を照射できるため、より効率的に DNA の破壊が起こり、腫瘍の成長を阻害したと考えた。投与後に大きな副作用も認められなかったことより、^{211}At 標識金ナノ粒子が、画期的な新規α線核医学治療薬剤になりうることを示した。

共同研究者・謝辞

本研究の共同研究者は、大阪大学大学院理学研究科・天然物有機化学研究室の深瀬浩一教授、樺山一哉准教授、下山敦史助教、大阪大学大学院理学研究科・フォアフロント研究センター医理連携教育研究プロジェクトの兼田加珠子教授、大阪大学大学院医学系研究科・放射線統合医学講座核医学の加藤弘樹准教授である。

文　献

1) Kratochwil, C.; Bruchertseifer, F.; Giesel1, F. L.; Weis, M.; Verb, F. A. ^{225}Ac-PSMA-617 for PSMA-Targeted a-Radiation Therapy of Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer. J. Nucl. Med. 2016, 57, 1941-1944. PMID: 27390158 DOI: 10.2967/jnumed.116.178673

2) Sathekge, M.; Bruchertseifer, F.; Knoesen, O.; Reyneke, F.; Lawal, I.; Lengana T.; Davis, C.; Mahapane, J.; Corbett, C.; Vorster, M.; Morgenstern, A. ^{225}Ac-PSMA-617 in chemotherapy-naive patients with advanced prostate cancer: a pilot study. Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging 2019, 46, 129-138. PMID: 30232539 DOI: 10.1007/s00259-018-4167-0

3) Watabe, T.; Kaneda-Nakashima, K.; Liu, Y.; Shirakami, Y.; Ooe, K.; Toyoshima, A.; Shimosegawa, E.; Fukuda, M.; Shinohara, A.; Hatazawa, J. Enhancement of ^{211}At Uptake via the Sodium Iodide Symporter by the Addition of Ascorbic Acid in Targeted α-Therapy of Thyroid Cancer. J. Nucl. Med. 2019, 60, 1301-1307. PMID: 30796173 DOI: 10.2967/jnumed.118.222638

4) Kato, H.; Huang, X.; Kadonaga, Y.; Katayama, D.; Ooe, K.; Shimoyama, A.; Kabayama, K.; Toyoshima, A.; Shinohara, A.; Hatazawa, J.; Fukase, K. Intratumoral administration of astatine-211-labeled gold nanoparticle for alpha therapy. J. Nanobiotechnology 2021, 19, 223-234. PMID: 34320997 DOI: 10.1186/s12951-021-00963-9

5) 発明の名称：金ナノ粒子含有医薬、特願 PCT/JP2021/18485、出願日：2021 年 5 月 14 日、発明者：加藤弘樹、深瀬浩一、樺山一哉、下山敦史、角永悠一郎、豊嶋厚史、篠原厚、金田安史、西川智之

6) 発明の名称：金ナノ粒子含有医薬、出願番号：特願 2021-022612、出願日：2021 年 2 月 16 日、発明者：加藤弘樹、深瀬浩一、樺山一哉、下山敦史、角永悠一郎、豊嶋厚史、篠原厚、金田安史、西川智之

7) 発明の名称：金ナノ粒子含有医薬、出願番号：特願 2020-086250、出願日：2020 年 5 月 15 日、発明者：加藤弘樹、深瀬浩一、樺山一哉、下山敦史、角永悠一郎、豊嶋厚史、篠原厚、金田安史、西川智之

8) Iwasaki, T.; Tokuda, Y.; Kotake, A.; Okada, H.; Takeda, S.; Kawano, T.; Nakayama, Y. Cellular uptake and in vivo distribution of polyhistidine peptides. J Control Release. 2015, 210, 115-124. PMID: 25980622 DOI: 10.1016/j.jconrel.2015.05.268