

阻害剤による ^{111}In -DOTA-c(RGDfK)の 正常臓器への集積抑制の検討

松本 徳世

(指導教員：川井恵一 教授 吉本光喜 助教)

要旨 $\alpha_v\beta_3$ インテグリンは、血管新生や癌の浸潤、転移における細胞接着において重要である。これまでに我々は、 $\alpha_v\beta_3$ 特異的結合配列を有する ^{90}Y -DOTA-c(RGDfK)が内用照射治療薬剤として有用であることを明らかにした。しかし ^{90}Y -DOTA-c(RGDfK)は用量規制因子となり得る腎臓への集積が高い。本検討では、内用照射治療薬剤の腎臓集積抑制によく用いられている L-リジン、D-リジン、また、ペプチドトランスporter阻害剤であるアミノレブリン酸、グリシルサルコシンを用い、 ^{90}Y -DOTA-c(RGDfK)の腎臓をはじめとする正常臓器への集積抑制を試みた。

本検討では、 γ 線測定が可能な診断用核種である ^{111}In で標識した ^{111}In -DOTA-c(RGDfK)を用いて評価を行った。100~800mg/kg に調整した各阻害剤を ^{111}In -DOTA-c(RGDfK)と同時にマウス尾静脈より投与し、体内分布を調べた。その結果、 ^{111}In -DOTA-c(RGDfK)の集積は、投与 10 分後ではグリシルサルコシン負荷で腎臓をはじめ肝臓、脾臓、骨に対してわずかな低下がみられたが、顕著な阻害効果は確認できなかった。投与 1 時間後に L-リジン、D-リジン、投与 4 時間後ではグリシルサルコシン負荷で、腎臓を始め測定した血液、肝臓、脾臓、骨の全てで低下がみられた。以上のことから、顕著な被曝低減に繋がることは期待できないものの、L-リジン、D-リジンやグリシルサルコシン負荷による ^{111}In -DOTA-c(RGDfK)の正常臓器への集積抑制効果が確かめられた。

I. はじめに

インテグリンは α 鎖と β 鎖の 2 種類のサブユニットから成るヘテロダイマー蛋白質であり、細胞接着に大きく関与している¹⁾。なかでも、 $\alpha_v\beta_3$ インテグリンは、腫瘍内の血管内皮細胞で発現が亢進していることから、腫瘍血管新生に重要なインテグリン分子と考えられている。また、 $\alpha_v\beta_3$ は転移性黒色腫細胞などの悪性腫瘍にも発現しており、癌の浸潤、転移における細胞接着においても重要な役割を果たしている²⁾。 $\alpha_v\beta_3$ はアルギニン-グリシン-アスパラギン酸配列 (Arg-Gly-Asp 配列(RGD 配列))を認識し、ビトロネクチン、フェブロネクチンなどの細胞外基質と特異的に結合する³⁾。これまでに我々は、 $\alpha_v\beta_3$ に特異的に結合する環状アルギニン-グリシン-アスパラギン酸-D-フェニルアラニン-リジン(c(RGDfK))にキレート剤である DOTA を配位した DOTA-c(RGDfK)を合成し、治療用核種である ^{90}Y で標識した ^{90}Y -DOTA-c(RGDfK)が内用照射治療薬剤として有用であることを明らかにしてきた⁴⁾。しかし ^{90}Y -DOTA-c(RGDfK)は用量規制因子となり得る腎臓への集積が高い⁴⁾。本研究では、ペプチド受容体放射性核種療法 (PRRT) において腎集積抑制剤として使用されている L-リジン、D-リジン⁵⁾、また、ペプチドトランスporter阻害剤であるアミノレブリン酸、グリシルサルコシン⁶⁾を用い、 ^{90}Y -DOTA-c(RGDfK)の腎臓をはじめとする正常臓器への集積抑制を試みた。

II. ^{111}In -DOTA-c(RGDfK)と阻害剤を同時投与したマウスの体内分布実験

A)実験方法

本検討では、 γ 線測定が可能な診断用核種である ^{111}In で標識した ^{111}In -DOTA-c(RGDfK)を用いて評価を行った。標識は $^{111}\text{InCl}_3$ 200 μl (日本メジフィジックス)に 3M 酢酸緩衝液(pH6.0)を 40 μl 加えた後、室温で 5 分間放置した。この溶液を DOTA-c(RGDfK) 100 μg に加え、100 $^\circ\text{C}$ で 15 分間反応した後、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)により精製を行った。HPLC カラムには、Cosmosil 5C18-AR300 (4.6 \times 150mm,ナカライテスク)を用い、溶出溶媒には H_2O (1%TFA):Acetonitile (1%TFA)=9:1 の混合液を使用し、流速は 1 ml/min で行った。

マウス(Std:ddy, ♀, 5週齢)に ^{111}In -DOTA-c(RGDfK)と 100mg/kg, 400mg/kg, 800mg/kg の濃度⁷⁾に調整した各阻害剤(L-リジン(協和発酵), D-リジン(ナカライテスク), アミノレブリン酸(ナカライテスク), グリシルサルコシン(東京化成工業))をマウス尾静脈より同時投与した. 投与後 10 分, 1 時間, 4 時間に心臓採血した後, 各臓器摘出を行い, 血液と摘出した腎臓, 肝臓, 脾臓, 骨の湿重量と放射能を測定し, 組織集積率及び重量集積率を算出した.

B)結果と考察

^{111}In -DOTA-c(RGDfK)と阻害剤の同時投与 10 分後における腎集積の結果を Fig.1 に示す. コントロールに比べ, グリシルサルコシン負荷によりわずかな低下が認められた. Fig.2 にグリシルサルコシン負荷による血液, 肝臓, 脾臓, 骨への集積に対する影響を示す. グリシルサルコシンは肝臓において濃度依存的な集積低下が認められた.

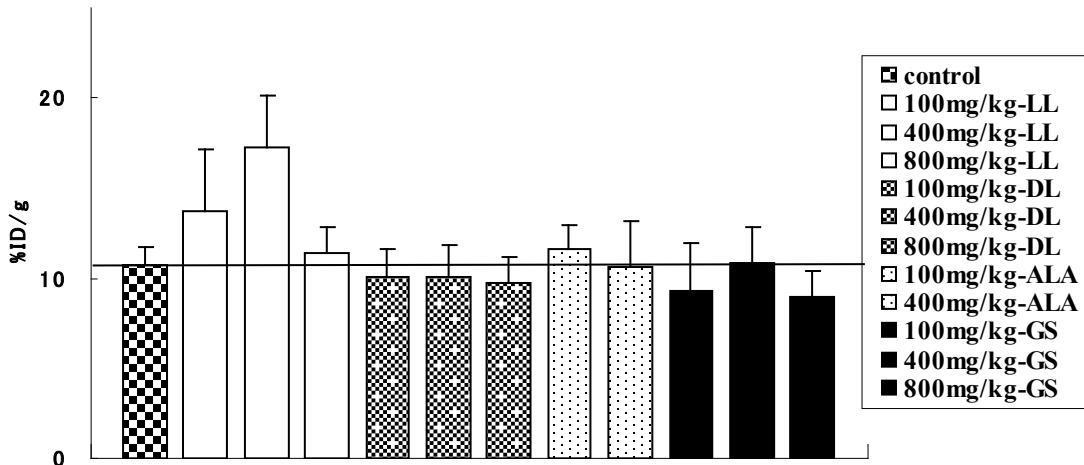


Fig.1 投与 10 分後における各阻害剤負荷による ^{111}In -DOTA-c(RGDfK)の腎集積に対する影響

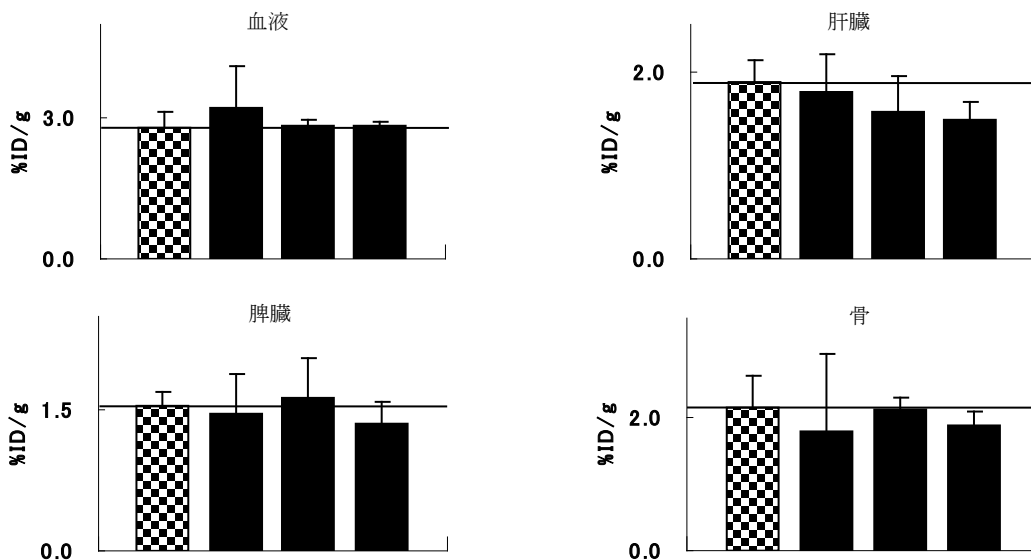


Fig.2 投与 10 分後におけるグリシルサルコシン負荷による ^{111}In -DOTA-c(RGDfK)の正常臓器への集積に対する影響

Fig.3 には同時投与 1 時間後における阻害剤の ^{111}In -DOTA-c(RGDfK) の体内分布への影響の結果を示す。L-リジン、D-リジン負荷により ^{111}In -DOTA-c(RGDfK) の腎集積の低下が確認された。L-リジン、D-リジンは、血液、肝臓、脾臓、骨においても ^{111}In -DOTA-c(RGDfK) の顕著な集積抑制効果を示した (Fig.4)。

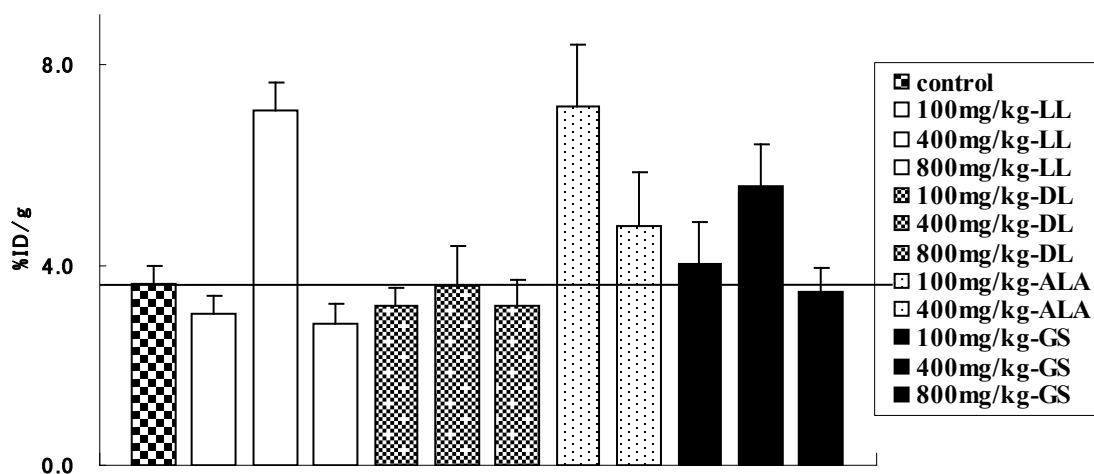


Fig.3 投与 1 時間後における各阻害剤負荷による ^{111}In -DOTA-c(RGDfK) の腎集積に対する影響

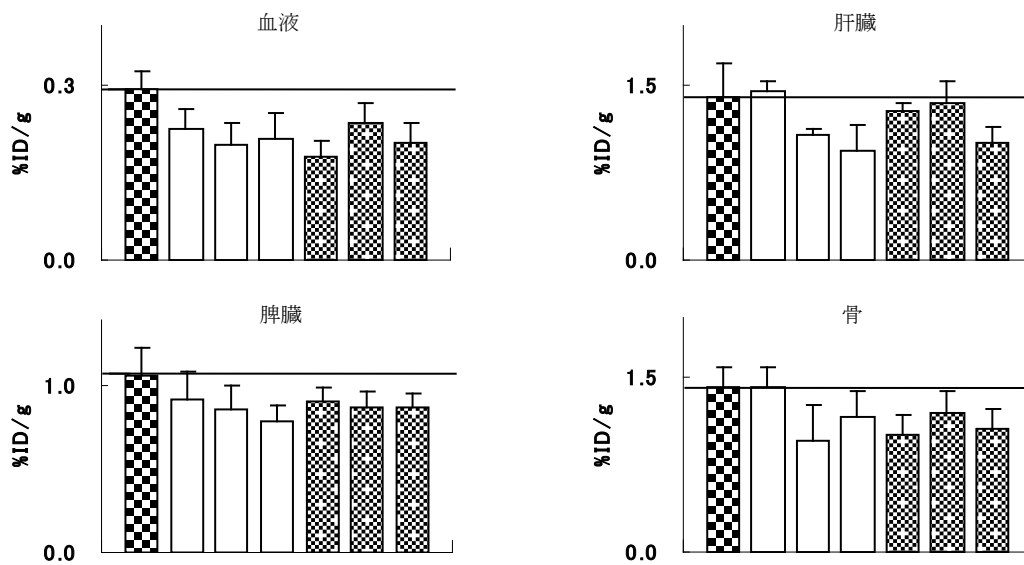


Fig.4 投与 1 時間後における L-リジン、D-リジン負荷による ^{111}In -DOTA-c(RGDfK) の正常臓器への集積に対する影響

^{111}In -DOTA-c(RGDfK) と阻害剤の同時投与 4 時間後の体内分布の結果を Fig.5 に示す。グリシルサルコシン負荷により ^{111}In -DOTA-c(RGDfK) の腎集積低下が確認された。Fig.6 にグリシルサルコシン負荷による血液、肝臓、脾臓、骨への ^{111}In -DOTA-c(RGDfK) 集積の影響を示す。血液や骨において、グリシルサルコシン負荷による集積低下が確認された。しかし、 ^{111}In -DOTA-c(RGDfK) の血液や骨からのクリアランスは非常に速やかであるため、投与 4 時間後におけるグリシルサルコシンによる集積抑制効果は、被曝の低減に大きく貢献するものでないと考えられた。

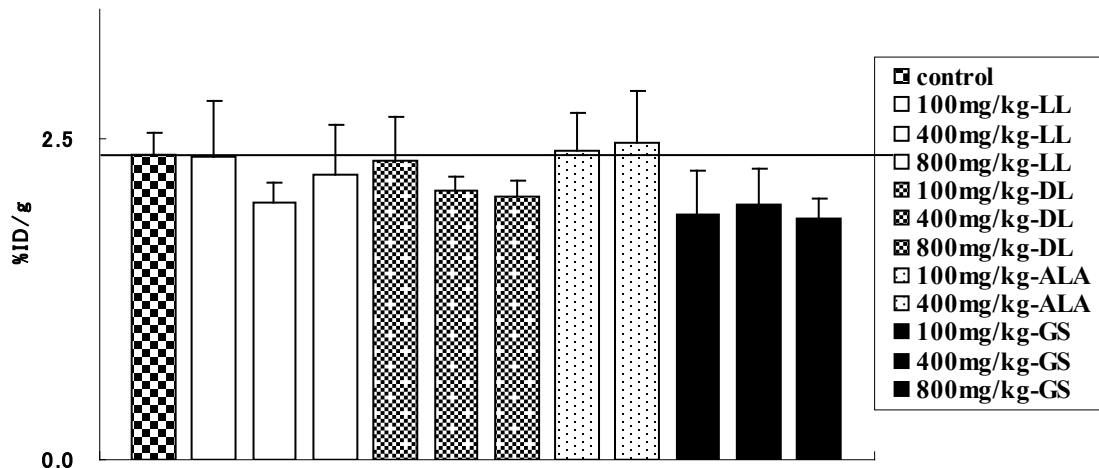


Fig.5 投与4時間後における各阻害剤負荷による¹¹¹In-DOTA-c(RGDfK)の腎集積に対する影響

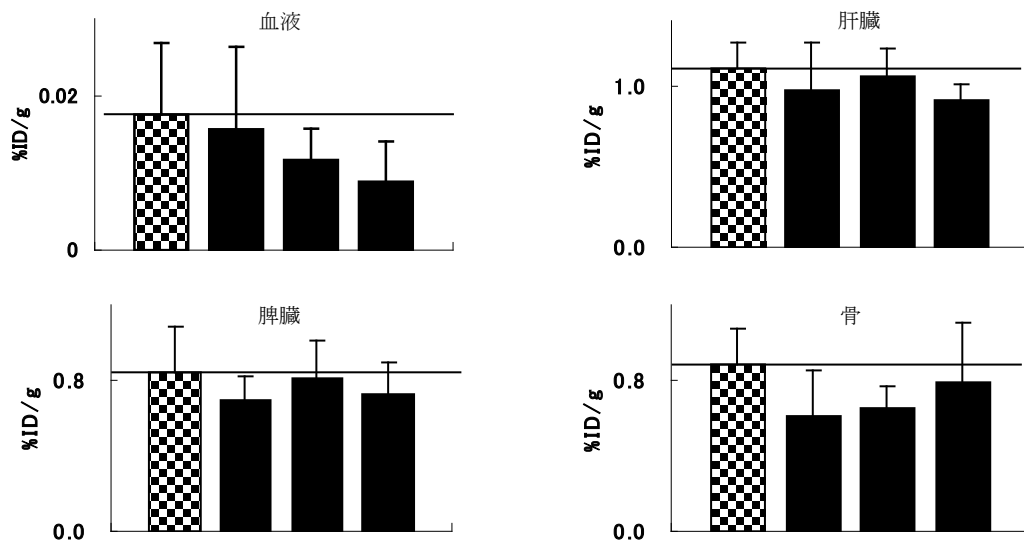


Fig.6 投与4時間後におけるグリシルサルコシン負荷による¹¹¹In-DOTA-c(RGDfK)の正常臓器への集積に対する影響

III. 結語

以上のことから、顕著な被曝低減は期待できないものの、L-リジン、D-リジンやグリシルサルコシン負荷により、¹¹¹In-DOTA-c(RGDfK)の腎臓を始めとする正常臓器への集積抑制効果が確かめられた。

IV. 謝辞

本稿を終えるにあたり、ご指導くださいました川井恵一教授、吉本光喜助教、ご協力くださいました本研究室の方々に心より御礼申し上げます。

V. 参考文献

- 1) Hynes RO. Integrins: versatility, modulation, and signaling in cell adhesion. *Cell*. 1992; 69: 11-25.
- 2) 室田誠逸, 佐藤靖史. 血管新生研究の新展開. 医薬ジャーナル社, 2000; pp.320-329.
- 3) 井上実. インテグリン $\alpha_v\beta_3$ 受容体を標的とした腫瘍イメージング. *細胞*. 2004; 36: 21-24.
- 4) Yoshimoto M, Ogawa K, Washiyama K, Shikano N, Mori H, Amano R, Kawai K. $\alpha_v\beta_3$ Integrin-targeting radionuclide therapy and imaging with monomeric RGD peptide. *Int J Cancer*. 2008; 123: 709-715.
- 5) Daniel H, Rubio-Aliaga I. An update on renal peptide transporters. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2003; 284: 885-892.
- 6) Ocheltree SM, Shen H, Hu Y, Xiang J, Keep RF, Smith DE. Role of PEPT2 in the choroid plexus uptake of glycylsarcosine and 5-aminolevulinic acid: studies in wild-type and null mice. *Pharm Res*. 2004; 21: 1680-1685.
- 7) Bernard BF, Krenning EP, Breeman WA, Rolleman EJ, Bakker WH, Visser TJ, Mäcke H, de Jong M. D-lysine reduction of indium-111 octreotide and yttrium-90 octreotide renal uptake. *J Nucl Med*. 1997; 38: 1929-1933.