

RGD ペプチドを利用した腫瘍イメージング

金沢大学大学院医学系研究科

吉本光喜

1 はじめに

血管新生は既存の血管から新しい血管を形成する現象である。生理的な血管新生として、胎生期における血管形成、子宮内膜や黄体形成、創傷治癒などに関与している。一方、病的血管新生として、固形腫瘍の増殖や転移、糖尿病性網膜症、関節リウマチなどの慢性炎症などに深く関与することが知られている。なかでも、腫瘍血管新生に関する研究は精力的に進められている。腫瘍径が1-2 mmの腫瘍では既存の血管からの拡散により酸素や栄養素を受け取ることができるが、さらに増殖するためには血管新生が必須となる¹⁾。健常成人における血管新生は非常に限られた部位でしか見られないため、腫瘍血管新生を標的にした治療薬やイメージング剤は、腫瘍特異的かつ普遍的な薬剤になることが期待されている。

細胞-細胞間、細胞-細胞マトリックス間の相互作用は、腫瘍血管新生や転移において重要な一役を担う。細胞接着分子であるインテグリンは、この相互作用に中心的な役割を果たす。インテグリンには α 鎖と β 鎖から成るヘテロ2量体タンパク質であり、いくつかのサブタイプが知られている。 $\alpha_v\beta_3$ インテグリンは、血管新生中の内皮細胞や一部の腫瘍細胞に高発現しており、通常の内皮細胞や正常細胞にはほとんど発現していない²⁾。 $\alpha_v\beta_3$ インテグリンは、アルギニン-グリシン-アスパラギン酸の配列からなるペプチド(RGD)を認識する。RGD配列を基にして、種々のRGD類似化合物やRGD含有ペプチドが $\alpha_v\beta_3$ インテグリン阻害剤として開発されている。本稿では、 $\alpha_v\beta_3$ インテグリンを標的にした腫瘍イメージング剤について紹介する。

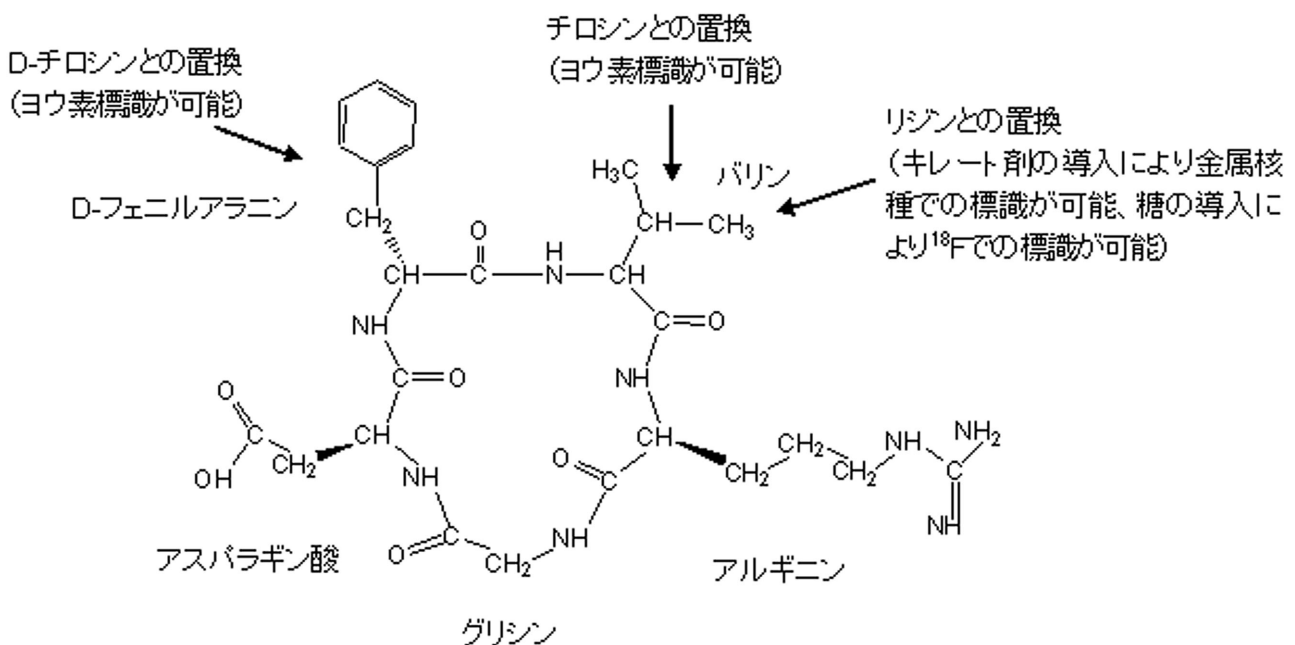


図1 環状RGDIV構造

2 イメージング剤の開発

2.1 Monomeric RGD peptide

血管新生のイメージングを目的として、 $\alpha_v\beta_3$ インテグリンを標的にした様々なイメージング剤の開発研究が進められている。多くのイメージング剤がミュンヘン工科大学のKesslerらによって開発された環状ペプチドc(RGDfV)³⁾をリード化合物としている。D-フェニルアラニンやバリンの代わりに放射性ヨウ素での標識が可能なチロシンや、金属核種の標識を可能にするキレート剤を配位させることができるリジンを導入した化合物が大多数を占める(図1)。1999年にミュンヘン工科大学のHaubnerらは、チロシンを導入した¹²⁵I-c(RGDyV)と¹²⁵I-c(RGDfY)についてMelanoma M21, Osteosarcoma, Mammary cacrinomaを移植した担癌モデルマウスを用いて評価した⁴⁾。¹²⁵I-c(RGDyV)は $\alpha_v\beta_3$ インテグリン特異的な腫瘍集積と速やかな血液クリアランスを示したが、肝臓への高い集積を示すことが問題点であった。肝臓への非特異的集積を改善するために、疎水性アミノ酸であるバリンの代わりに塩基性アミノ酸であるリジンを導入したc(RGDyK)^{5,6)}やc(RGDfK)⁷⁾が開発された。また、ペプチドに糖修飾を行うことによ

り親水性を上昇させたgalacto-c(RGDfK)が開発された⁸⁾。糖の導入はアミノメチル基への¹⁸F標識を可能にし、薬物動態の改善とPETトレーサーへの応用に導いた。しかしながら、リジンの導入は肝臓への非特異的集積を改善する一方で、腎臓への非特異的集積が新たに観察された(図2)。これは、リジンの導入により正に荷電したペプチドが、負に荷電した腎近位尿細管細胞表面との静電的な相互作用をすることにより集積していると考えられている。

2.2 Multimeric RGD peptide

近年では、腫瘍への集積性と滞留性の向上を目的として、ペプチドを多量化させる試みがなされている。Janssenらは、^{99m}Tc-HYNIC-E[c(RGDfK)]₂が^{99m}Tc-HYNIC-Ec(RGDfK)よりも $\alpha_v\beta_3$ インテグリンに対して10倍の親和性を示し、さらに腫瘍への集積性と滞留性の向上を報告している⁷⁾。¹⁸F-FB-E[c(RGDyK)]₂と¹⁸F-FB-c(RGDyK)の比較からも同様の結果が報告されている⁹⁾。さらに、c(RGDfK)の4量体である⁶⁴Cu-DOTA-E[E[c(RGDfK)]₂]₂が報告され¹⁰⁾、RGDペプチドを用いた腫瘍ターゲティングの戦略としてペプチドの多量化が有効であることが示されている。一方、

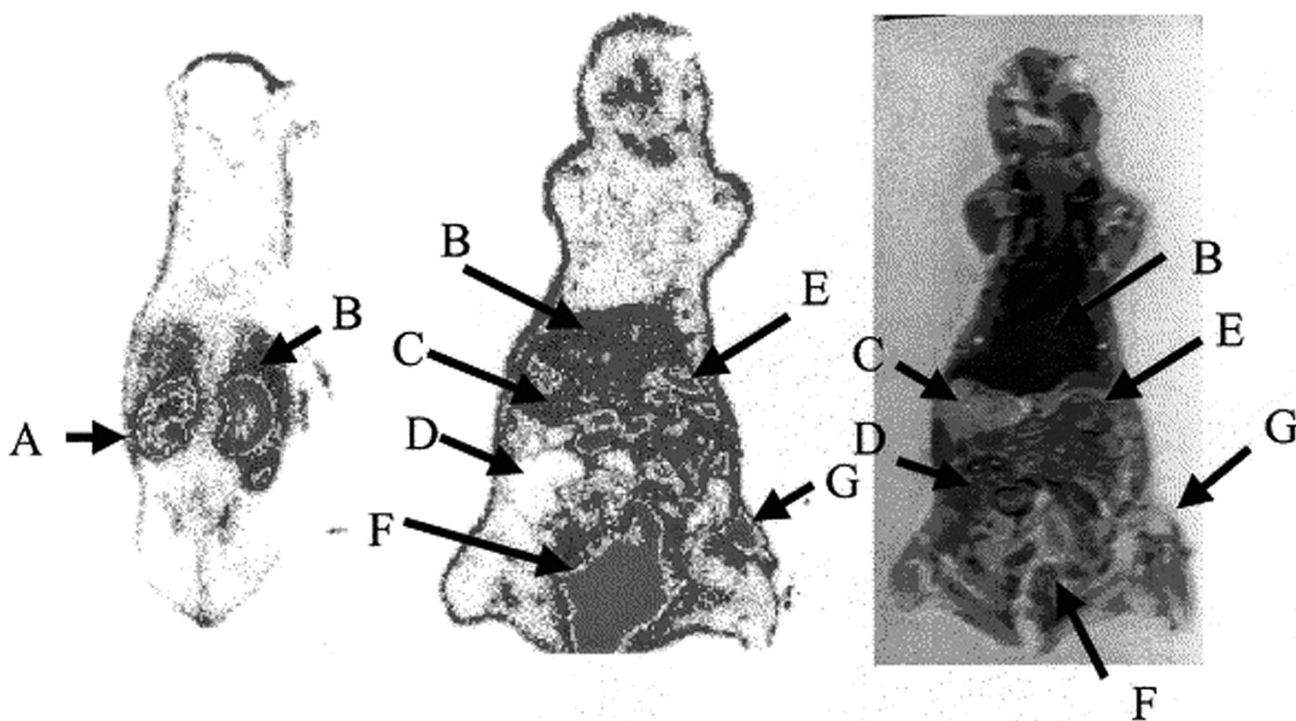


図2 U87MG 担癌モデルマウスにおける¹²⁵I-c(RGDyK)のオートラジオグラフィー⁶⁾
A, 腎臓; B, 肝臓; C, 胃; D, 大腸; E, 小腸; F, 膀胱; G, 腫瘍

ペプチドの多量化は腫瘍への親和性を向上させるが、非特異的組織である腎臓への集積も同様に増加する。

3 $[^{18}\text{F}]$ Galacto-c (RGDfK) による臨床評価

担癌モデルマウスを用いて様々なRGDペプチドの開発が行われているが、臨床研究では $[^{18}\text{F}]$ Galacto-c (RGDfK) が最も進んでいる。Haubnerらは9名の患者(悪性黒色腫5名, 肉腫2名, 骨転移癌1名, 絨毛結節性滑膜炎1名)に185 MBqの $[^{18}\text{F}]$ Galacto-c (RGDfK) を投与した(図3)¹¹⁾。 $[^{18}\text{F}]$ Galacto-c (RGDfK) は腎臓に最も高い集積を示し、動物実験から得られた知見によく一致した結果が得られた。また、抗 $\alpha_v\beta_3$ 抗体を用いた免疫組織染色から、採取した腫瘍組織において、腫瘍血管と腫瘍細胞に $\alpha_v\beta_3$ インテグリンの発現が確認された。したがって、 $[^{18}\text{F}]$ Galacto-c (RGDfK) を用いたPET診断は、 $\alpha_v\beta_3$ インテグリン阻害剤を用いた治療計画を立てる上で有用であることが期待される。

4 血管新生イメージング剤としての可能性

$\alpha_v\beta_3$ インテグリンは血管新生に関係していることから、RGDペプチドは血管新生イメージング剤としても注目されている。 $\alpha_v\beta_3$ インテグリンを発現して

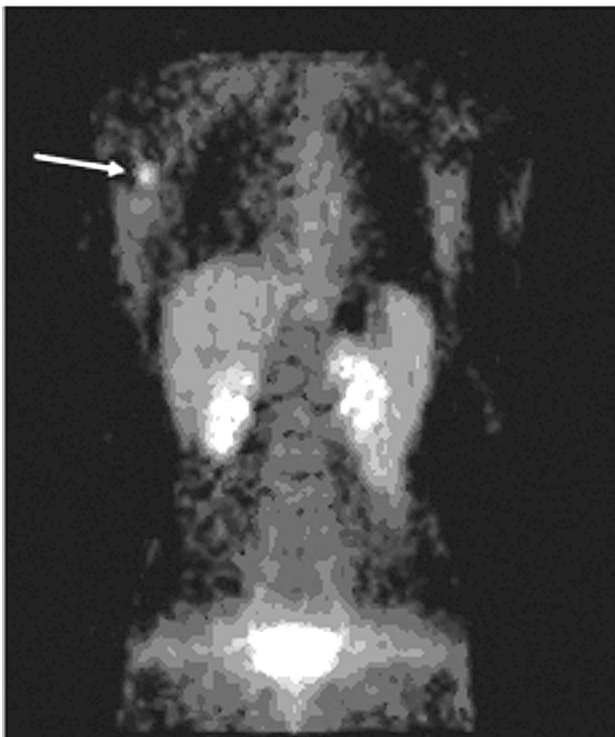


図3 $[^{18}\text{F}]$ galacto-c (RGDfK) による悪性黒色腫のイメージング¹¹⁾

いないA431細胞(human squamous cell carcinoma)を用いた検討から、 $[^{18}\text{F}]$ Galacto-c (RGDfK) は腫瘍組織内の血管内皮細胞に発現している $\alpha_v\beta_3$ インテグリンを画像化することができた(図4)¹⁰⁾。この結果は、 $[^{18}\text{F}]$ Galacto-c (RGDfK) に血管新生イメージング剤としての可能性を示唆するものである。一方で、 $\alpha_v\beta_3$ インテグリンのネガティブコントロールとしてM21-L細胞(human melanoma)が用いられるが、この細胞には $[^{18}\text{F}]$ Galacto-c (RGDfK) の集積は見られない⁸⁾。血管新生は固形化腫瘍に見られる共通の現象であることから、 $\alpha_v\beta_3$ インテグリンを発現していない細胞間で、なぜこのような集積性の違いが起きるのかは明らかではない。また、得られたイメージから腫瘍細胞と血管内皮細胞由来の集積を区別することは不可能である。したがって、RGDペプチドを血管新生イメージング剤として位置づけるのは現時点では難しいように感じる。

5 おわりに

これまでの基礎的および臨床研究から、RGDペプチドを用いた腫瘍イメージングは非常に有用であることが十分に示唆されてきた。個別化医療が進む現在では、RGDペプチドを用いた診断技術は $\alpha_v\beta_3$ インテグリンを標的にした治療に適した患者のスクリーニングや治療計画に役立つことが期待される。

参考文献

- 1) J. Folkman: The role of angiogenesis in tumor growth, *Semin. Cancer Biol.*, **3**, 65-71 (1992)
- 2) P.C. Brooks: Role of integrins in angiogenesis, *Eur. J. Cancer*, **32A**, 2423-2429 (1996)
- 3) M. Aumailley, M. Gurrath, G. Muller, et al.: Arg-Gly-Asp constrained within cyclic pentapeptides. Strong and selective inhibitors of cell adhesion to vitronectin and laminin fragment P1, *FEBS Lett.*, **291**, 50-54 (1991)
- 4) R. Haubner, H. Wester, U. Reuning, et al.: Radiolabeled $\alpha_v\beta_3$ integrin antagonists: a new class of tracers for tumor targeting, *J. Nucl. Med.*, **40**, 1061-1071 (1999)
- 5) X. Chen, R. Park, M. Tohme, et al.: MicroPET and autoradiographic imaging of breast cancer α_v -integrin expression using ^{18}F - and ^{64}Cu -labeled RGD peptide, *Bioconjug. Chem.*, **15**, 41-49 (2004)
- 6) X. Chen, R. Park, A.H. Shahinian, et al.: Pharmacokinetics and tumor retention of ^{125}I -

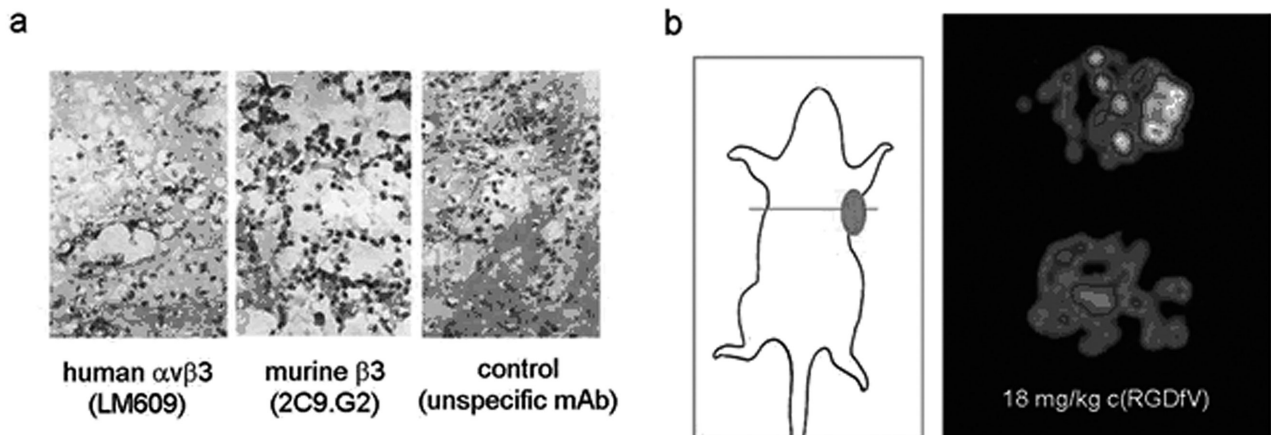


図4 A431 担癌モデルマウスにおける $\alpha_v\beta_3$ インテグリンの発現と $[^{18}\text{F}]$ galacto-c (RGDfK) によるイメージング¹¹⁾
 (a) 抗 $\alpha_v\beta_3$ インテグリン抗体と抗マウス β_3 抗体を用いた免疫染色の結果から、腫瘍血管にのみ $\alpha_v\beta_3$ インテグリンが発現していることが示されている。
 (b) $[^{18}\text{F}]$ galacto-c (RGDfK) が $\alpha_v\beta_3$ インテグリン特異的な腫瘍集積を示したことにより、この集積は血管内皮細胞由来の集積であることが示唆された。

labeled RGD peptide are improved by PEGylation, *Nucl. Med. Biol.*, **31**, 11-19 (2004)

- 7) M. Janssen, W.J. Oyen, L.F. Massuger, et al.: Comparison of a monomeric and dimeric radiolabeled RGD-peptide for tumor targeting, *Cancer Biother. Radiopharm.*, **17**, 641-646 (2002)
- 8) R. Haubner, H.J. Wester, W.A. Weber, et al.: Noninvasive imaging of $\alpha_v\beta_3$ integrin expression using ^{18}F -labeled RGD-containing glycopeptide and positron emission tomography, *Cancer Res.*, **61**, 1781-1785 (2001)

- 9) X. Chen, M. Tohme, R. Park, et al.: Micro-PET imaging of $\alpha_v\beta_3$ -integrin expression with ^{18}F -labeled dimeric RGD peptide, *Mol. Imaging*, **3**, 96-104 (2004)
- 10) Y. Wu, X. Zhang, Z. Xiong, et al.: microPET imaging of glioma integrin $\alpha_v\beta_3$ expression using ^{64}Cu -labeled tetrameric RGD peptide, *J. Nucl. Med.*, **46**, 1707-1718 (2005)
- 11) R. Haubner, W.A. Weber, A. J. Beer, et al.: Noninvasive visualization of the activated $\alpha_v\beta_3$ integrin in cancer patients by positron emission tomography and $[^{18}\text{F}]$ Galacto-RGD, *PLoS Med.*, **2**, e70 (2005)