

研究区分	一般共同研究	
研究課題	生体がん組織における MT1-MMP のインビボ機能解析のための核医学分子プローブ開発	
研究代表者	所属・職名・氏名	京都大学大学院薬学研究科・助教・天満敬
受入担当教員	職名・氏名	教授・佐藤博
【研究目的】	<p>近年、がんの早期診断を目的として、PET、SPECT を用いた核医学イメージング法が注目されている。PET、SPECT は用いる分子プローブが標的とする機能分子の非侵襲的画像化を可能とすることから、生体内機能分子のインビボ機能解析に有効な手段となる。</p> <p>がんの浸潤・転移において細胞外マトリクス (ECM) や基底膜の分解は必須のステップである。MT1-MMP は、広範囲の ECM 構成成分に対する分解活性をもつことに加え、その発現はがんの悪性度と相関することから、有望なイメージング標的である。しかし、生体がん組織における MT1-MMP の非侵襲的解析・診断を可能とする核医学分子プローブとして十分なものは未だ報告されていない。</p> <p>我々はこれまでに、抗 MT1-MMP 抗体あるいは抗 MT1-MMP 単鎖抗体を母体とした核医学分子プローブを開発し基礎的な有効性を示してきた。本研究ではこれを基盤としてさらに発展させ、抗体プローブよりも取り扱いが容易で比放射能の大幅な向上が期待できるペプチドを母体とする MT1-MMP 標的核医学分子プローブの開発を行った。</p>	
【研究内容・成果】	<p>本研究では、分子プローブの母体となるペプチドを選択し、化学合成・標識合成を経て、インビトロ評価・インビボ評価を行った。</p> <p>1. 分子プローブの設計・合成・親和性評価</p> <p>MT1-MMP への高い結合性が報告されているペプチド配列 (J Control Release 150:248:2011) を基に、SPECT 用核種である放射性ヨウ素 ($^{123/125}\text{I}$) を導入したペプチドプローブを設計した。放射性ヨウ素の導入部位としてペプチド配列中の 2 つの Lys 側鎖、あるいは N 末端に Cys を配し側鎖チオール基を介した導入を考案した。L 体アミノ酸から成るペプチドは生体内で速やかに分解を受けることが考えられたことから、D 体アミノ酸を用いたペプチドも併せて設計した。放射標識前駆体ペプチドは Fmoc 固相合成法により合成し質量分析法により合成を確認した。非放射性ヨウ素を用いた標品化合物については液相合成法を上記に続けて行い、質量分析法により合成を確認した。固相化 MT1-MMP タンパク質に対する結合親和性を調べたところ、N 末端標識体の有効性が示唆されたことから、N 末端標識体 (L 体、D 体) について以降の標識検討を行った。</p> <p>2. 分子プローブの標識合成・安定性評価</p> <p>放射標識は放射性ヨウ素導入試薬として有用な [$^{123/125}\text{I}$]iodophenyl maleimide ([$^{123/125}\text{I}$]IPM) を用いることとした。放射標識は室温 30 分の反応で速やかに進行し、逆相 HPLC 法で調べた放射化学的純度は 99% 以上であった。マウス血漿中でインキュベートしプローブの生体内安定性を調べたところ所期の通り D 体アミノ酸からなるペプチドプローブにおいて高い安定性が認められた。</p> <p>3. 担がんマウスを用いた体内分布実験</p> <p>皮下移植による担がんマウスを作製し、N 末端標識体 (L 体、D 体) を尾静脈内投与したのちの生体内分布について臓器摘出法により調べた。動物実験は京都大学動物実験委員会の承認を受けた後、関連法規・規則を遵守して行った。その結果、D 体 N 末端標識プローブにおいてイメージング指標である腫瘍筋肉放射能比の経時的な増加が認められた。以上のことから、新たに開発した D 体 N 末端標識プローブはがんにおける MT1-MMP の早期イメージングに有効である可能性が示された。</p>	
【成果等】	<p>【主な論文発表】 なし</p> <p>【学会発表】</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 近藤 直哉、天満 敬、佐治英郎、がんの in vivo 診断を目的とした MT1-MMP 標的核医学イメージングプローブの開発、第 72 回日本癌学会学術総会 (横浜)、2013 年 10 月 3 日 2. 天満 敬、佐治英郎、Molecular imaging probes for in vivo functional diagnosis of cancer、第 72 回日本癌学会学術総会 (横浜)、2013 年 10 月 4 日 <p>【その他特筆事項】 なし</p>	