

厚生労働科学研究費補助金

医療機器開発推進研究事業

がんの超早期診断・治療のための高感度分子イメージングプローブの開発  
に関する研究

平成19年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 佐治 英郎

平成20（2008）年 4月

## 目 次

I. 総括研究報告		
がんの超早期診断・治療のための高感度分子イメージングプローブの開発に関する研究		
佐治 英郎	-----	1
II. 分担研究報告		
1. 製剤学的アプローチによる高感度分子プローブの開発に関する研究		
久下 裕司	-----	15
2. 病態生理学的アプローチによる高感度分子プローブの開発に関する研究		
平岡 眞寛・近藤 科江	-----	18
3. PETイメージングに関する研究	-----	26
福山 秀直		
4. PETイメージングに関する研究	-----	28
中本 裕士		
5. PETイメージングに関する研究・近接撮像型フレキシブル分子イメージング装置の開発に関する研究	-----	32
村山 秀雄		
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	-----	37
IV. 研究成果の刊行物・別刷	-----	41
V. NEDO報告（参考）		
近接撮像型フレキシブル分子イメージング装置の開発		
株式会社島津製作所	-----	259
清水 公治・小関 英一・北村 圭司・小田 一郎		
河野 理 ・熊澤 良彦・伏見 良治・山原 亮		
齋木 秀和・原 功 ・矢嶋 敦 ・樋爪 健太郎		

厚生労働科学研究費補助金（医療機器開発推進研究事業）

総括研究報告書

がんの超早期診断・治療のための高感度分子イメージングプローブの開発に関する研究

主任研究者 佐治 英郎 京都大学薬学研究科 教授

研究要旨：がんの発生、転移の分子機構を標的として、病態生理学的観点と製剤学的観点の両面を統合したアプローチにより、微小がんを超高感度で検出する分子イメージングプローブの開発を計画し、①病態生理学的観点からがんの発生・転移・浸潤に密接に関わる分子としてHypoxia-inducible factor 1 (HIF-1) を選択し、これを標的とする分子イメージングプローブ (PTD-CasS-ODD-SAV: PCOS) の設計、②製剤学的な観点からプローブ内に複数の放射性同位元素 (RI) を導入するシグナル増幅法とプレターゲティング法の設計を行い、プローブの高感度化を目指した。HIF-1存在領域を標的とする分子プローブの開発では、インビボ核医学イメージング用のRI標識ビオチン誘導体を開発するとともに、昨年度有効性を明らかにしたプレターゲティング法を利用したインビボ核医学イメージングを行い、小動物用高解像度・高感度PET装置による投与早期からの腫瘍の明瞭な描出に成功した。さらにPCOSの腫瘍内局在を詳細に検討したところ、低酸素マーカーであるピモニダゾールの局在する領域およびその近傍にPCOSが集積することを認めた。またPCOS類似の酸素依存的分解タンパク質と蛍光色素を用いる光イメージングに対してもプレターゲティング法を応用し、投与早期の時点で微小がんの光イメージングに成功した。また、プローブの放出シグナル増強に関しては、ポジトロン標識 dendrimer の開発を行い、dendrimer の腫瘍集積性およびイメージング用抗体との結合性を確認し、高感度化につながる技術を開発した。これらの結果は、HIF-1存在領域を標的とする高感度分子イメージング法の実現を示すものであり、NEDO側を中心に開発する高解像力・高感度の近接撮像型フレキシブル分子イメージング装置と組み合わせることにより、がんの超早期診断・治療のための高感度分子イメージングが可能となりうる。

分担研究者：

久下 裕司 北海道大学・教授

福山 秀直 京都大学・教授

平岡 眞寛 京都大学・教授

中本 裕士 京都大学・助教

近藤 科江 京都大学・特任助教授

村山 秀雄 放射線医学総合研究所

・チームリーダー

分担研究者（株式会社島津製作所）：

清水 公治 部長  
小関 英一 主幹研究員  
北村 圭司 主査  
小田 一郎 主任研究員  
河野 理 主任  
熊澤 良彦 主任研究員

伏見 良治 主任  
山原 亮 副主任  
齊木 秀和 研究員  
原 功 副主任  
矢嶋 敦 研究員  
樋爪 健太郎 研究員

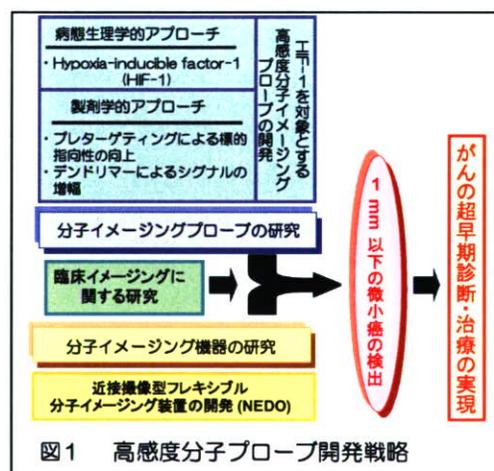
## A. 研究目的

微小がんをより早期に、高感度で特異的に検出することができれば、外科的手術・放射線等による治療の適応対象拡大や治療の最適化が可能となり、患者に優しいがん治療を実現するとともに、医療経済効果をあげることができる。しかし、現在の診断技術では、直径数mmあるいはそれ以下の微小がんの検出は困難である。

そこで、本研究では、がんの発生、転移の超早期から腫瘍細胞特異的に発生あるいは存在する分子をイメージングの標的とする病態生理学的観点と、標的に出来るだけ多くの放射能を集積させる製剤学的観点との両面を統合したアプローチにより、微小がんを超高感度で検出する分子イメージングプローブの開発を行い、がんの超早期診断・治療に資することを計画した。さらに、本研究では、開発した分子プローブを、NEDO側を中心に開発する高解像力、高感度の近接撮像型フレキシブル分子イメージング装置と組み合わせることにより従来の100倍以上の感度を達成し、1 mm以下の腫瘍の検出、診断を可能とすることを目指す。

本研究の具体的な概要を図1に示す。病態生理学的観点から、微小環境因子として、がんの発生、転移の超早期から形成される低酸素環境に密接に関連するHypoxia-inducible factor-1 (HIF-1) を選択

し、製剤学的観点から、プレターゲティング法による標的指向性の向上と、 dendritary markerを用いてプローブ内に複数の放射性同位元素 (RI) を導入するシグナル増幅法による高感度化を試みる。



これまでに達成したプローブ開発に係る成果は、①HIF-1 $\alpha$ の酸素依存的分解に関与する配列を母体とし、低酸素環境においてHIF-1 $\alpha$ と同じメカニズムで安定化される融合たんぱく質プローブPCOSを設計・構築したこと、②PCOSが低酸素細胞で安定化されることを確認したこと、③インビボでのPCOSの腫瘍集積性を確認し、プレターゲティング法による撮像時間の短縮・コントラストの向上を臓器摘出法を用いて確認したこと、④PCOSと同様に酸素依存的に分解さ

れる光イメージング用プローブを開発し、それを用いて担がんマウスでの腫瘍低酸素領域のインビボ光イメージングに成功したこと、⑤デンドリマーに化学的修飾・RI標識を行い、その体内動態の検討を行ったことであり、本研究の鍵となる「HIF-1を対象とするプローブ」「プレターゲット法」「デンドリマー」それぞれに必要な要素技術開発はほぼ完了している。

そこで今年度は、本研究の最終目標である「がんの超早期診断・治療のための高感度分子イメージングプローブの開発」を達成するため、それぞれの技術を組み合わせた運用およびその最適化に関する検討を行った。具体的には、インビボ核医学イメージング用のRI標識ビオチン誘導体の開発、それを用いたインビボ核医学イメージング、PCOSの腫瘍内局在の詳細検討、プレターゲット法の光イメージングへの応用、ポジロン標識デンドリマーの開発とその腫瘍移行性に関する検討、である。さらに、これらのプローブ開発研究に加え、微小がんの検出を目指して、臨床イメージングに関する研究、及び近接撮像型フレキシブル分子イメージング装置の開発に関する検討を行った。以下に、これらの研究成果の概要を述べる。

## B. 研究方法

### (I) 酸素依存的分解プローブPCOSを用いたインビボ核医学イメージング

Hypoxia-inducible factor 1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ )は、がんの発生、転移の超早期から形成される低酸素環境において、腫瘍の増殖や転移に関与する様々な遺伝子の発現を増加させる分子で、低酸素状態では安定であるが、正常酸素領域では分解される。そこで、

HIF-1 $\alpha$ と同様に酸素依存的分解を受ける化合物は正常酸素領域では酸素依存的分解を受けるが低酸素部位では分解を受けず安定に滞留すると考えられることから、この化合物を分子プローブとして用いることにより、低酸素状態の検出を介して、発生、転移の超早期の微小がんのイメージングを行うことを計画した。

その目的を達成するため、HIF-1分子内の酸素依存的分解に関与するペプチド(ODDドメイン)を母体とし、これに細胞膜透過性に有効な部位(塩基性ペプチド配列部位;PTD)と放射性プローブ結合部位(放射性ビオチンが結合できるストレプトアビジン部位)を導入した融合タンパク質PCOSを開発し、これまでに、ビオチン誘導体との結合性やインビボでの腫瘍集積性など、イメージングを行う上で要求される性質を満たしていることを確認済みである。

さらに本研究では、検出の感度を高めるために、図2に示すようなプレターゲット法の概念に基づくイメージングを行う。

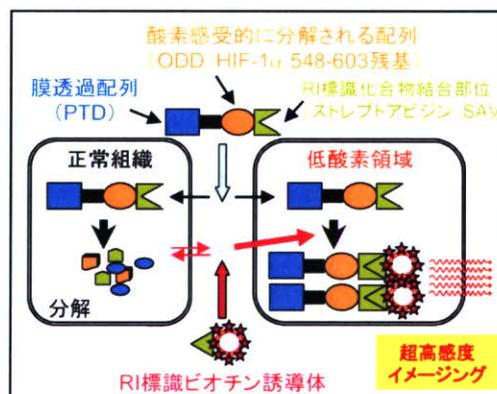


図2 プレターゲット法によるHIF-1イメージングプローブの開発

すなわち、まず低酸素状態でのみ安定に存在するPCOSを腫瘍部位に分布させるとともに、正常酸素領域である非標的部位で本化合物が分解された後、この化合物に特異

的に結合するRI標識ビオチン誘導体を投与することによって腫瘍をイメージングするという方法である。

基礎検討用のRI標識ビオチン誘導体は初年度においてすでに開発済みであるが、今年度の検討では、それをインビボ核医学イメージング用に発展させ、 $^{18}\text{F}$ あるいは $^{124}\text{I}$ を導入したビオチン誘導体を設計・合成し、その評価を行った。 $^{124}\text{I}$ に関しては入手の問題から、同じくイメージングが可能な $^{123}\text{I}$ で代用して評価した。そして、開発したビオチン誘導体とPCOSのプレターゲティング法を組み合わせ、腫瘍低酸素領域のインビボ核医学イメージングに関する検討を行った。

#### (1) インビボ核医学イメージング用

##### RI標識ビオチン誘導体の開発

RI標識ビオチン誘導体として、 $^{18}\text{F}$ FBBおよび $^{123/124}\text{I}$ IBBを設計した。どちらの化合物も安息香酸の活性エステル体を $^{18}\text{F}$ 、あるいは $^{123}\text{I}$ で標識し、トリエチルアミン存在下 (pH 9)、ノルビオチナミンと反応させ、逆相HPLCにて精製することで得た。 $^{18}\text{F}$ FBBに関して、PCOSとの結合性、マウス血漿中での安定性をインビトロで評価した。

#### (2) PCOSとRI標識ビオチン誘導体による インビボ核医学イメージングの検討

FM3A乳がん細胞移植マウスにPCOSあるいは溶媒のみを投与し、24時間経過後に $^{18}\text{F}$ FBBを投与して、0.5、1、3、6時間後に屠殺、腫瘍を含む関心臓器に集積した放射能をガンマカウンタで測定した。次に、PCOS投与24時間後に $^{18}\text{F}$ FBBあるいは $^{123}\text{I}$ IBBを投与し、同じタイムポイント ( $^{123}\text{I}$ IBBに関しては24時間後も追加) で

インビボ核医学イメージングを行った。

#### (II) PCOS の腫瘍内局在の詳細検討

$^{125}\text{I}$ IBBと結合させたPCOSを投与後、低酸素マーカーであるピモニダゾールを投与したMDA-MB-231乳がん細胞移植マウスから腫瘍を摘出して20  $\mu\text{m}$ 厚の切片を作製し、オートラジオグラムを得るとともに同一切片でピモニダゾールに対する免疫染色、HE染色を行った。

#### (III) 酸素依存的分解蛍光標識タンパク質 を使用したインビボ光イメージング

PCOSと同様、ODDを母体とし、酸素依存的に分解される融合タンパク質を担がんマウスに前投与し、後からそれに結合する蛍光色素を投与するプレターゲティング法を利用するインビボ光イメージングの検討を行った。

#### (IV) 高感度分子プローブの開発

プローブ分子中に多くの放射性同位元素 (RI) を導入することによって、イメージングの高感度化を目指し、これまでの検討において、PAMAM dendrimerに化学修飾を加えたビオチン化 dendrimer および DTPA (金属キレート部位) 導入 dendrimer を開発した。また、ビオチン化 dendrimer の表面 DTPA の  $^{111}\text{In}$  標識を行ってその体内動態を基礎的に検討したところ、血液クリアランスが速やかで、イメージングの妨げにならないことを見出した。

そこで本年度は、dendrimer を PET イメージングに展開するため、dendrimer のポジトロン放出核種による標識、担がんマウスでの体内動態の検討、および、がん中存在する標的分子を認識する抗体と dendrimer との複合体の合成を行った。

## (V) 既存PETプローブとの比較研究

既存PETプローブに関する知見を得るため、がん患者を対象に臨床PETイメージングを行った。頭頸部がん患者にFDG-PETを施行し、MR画像と融合させることで診断精度が向上するかどうかの検討を行った。

それ以外の比較対照用プローブとして、既存の低酸素イメージング剤である $[^{18}\text{F}]\text{FMISO}$ 、および核酸合成イメージング剤である $[^{11}\text{C}]\text{5FU}$ の合成検討を行い、担がん動物でのイメージングの検討を行った。

さらに、PCOSを含め、これらのPET用プローブの比較検討の精度向上を目的として、 $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ のラット脳画像をモデルに選択し、個々の画像を解剖学的に標準化して同一の標準画像上で評価する方法の開発について基礎的に検討した。

## (VI) 近接撮像型フレキシブル分子イメージング装置の開発に関する検討

高感度かつ高解像度を達成するためのPET装置用検出器であるDOI (Depth of interaction) 検出器に関して、低価格化の可能性を検討するため、 $2 \times 2$  受光素子を用い、ライトガイドの代わりに薄い反射材を結晶と受光素子の間に挿入する方法を考案し、その評価を行った。

### (倫理面への配慮)

臨床研究は、医学研究科・医の倫理委員会の承認を得て行った。被験者に研究内容を口頭及び文書、又は文書にて十分に説明し、同意を得て、検査を施行した。

組換えDNAを使用する実験は「組換えDNA実験指針」に基づき、本学で承認されているPIレベルの実験室で行った。

動物実験は事前に所属施設の動物実験委員会の承認を受け、当該施設の動物実験指

針を遵守して行った。

## C. 研究結果

### (I) 酸素依存的分解プローブPCOS を用いたインビボ核医学イメージング

#### (1) インビボ核医学イメージング用 RI標識ビオチン誘導体の開発

$[^{18}\text{F}]\text{FBB}$ は放射化学的収率23%、放射化学的純度95%以上で得られた。 $[^{123}\text{I}]\text{IBB}$ は放射化学的収率29%、放射化学的純度95%以上で得られた。合成した $[^{18}\text{F}]\text{FBB}$ は、PBS(-)もしくはマウス血漿と6時間インキュベートしても、90%以上が未変化体のまま存在していた。また、 $[^{18}\text{F}]\text{FBB}$ をPCOSとインキュベートし、限外ろ過法により分析したところ、高分子量画分に90%以上の放射能が認められた。この結合は過剰量のD-ビオチンの添加により20%以下に消失した。

#### (2) PCOSとRI標識ビオチン誘導体によるインビボ核医学イメージングの検討

PCOSを前投与していない担癌マウスに $[^{18}\text{F}]\text{FBB}$ を投与しその体内分布を調べたところ、 $[^{18}\text{F}]\text{FBB}$ 投与3時間後で放射能の腫瘍集積量は0.34% ID/gとなり、腫瘍への特異的な集積は認められなかった。一方、PCOSを24時間前に前投与したマウスでは、 $[^{18}\text{F}]\text{FBB}$ 投与3時間後で放射能の腫瘍集積量は4.9% ID/gとなり、腫瘍への顕著な放射能集積が認められた。また、PCOSを前投与したマウスに、ビオチン投与後、 $[^{18}\text{F}]\text{FBB}$ を投与した場合、腫瘍集積量は57%以上有意に抑制されたことから、生体内でも $[^{18}\text{F}]\text{FBB}$ はPCOSのストレプトアビジン部位に結合して集積していることが示された。また、PETを用いてイメージングを行ったところ、 $[^{18}\text{F}]\text{FBB}$ 投与3時間後で明瞭に腫

瘍を描出することができた。同様に $^{123}\text{I}$ IBBを用いた検討でも、 $^{123}\text{I}$ IBB投与6時間後で腫瘍の描出に成功した。腫瘍および反対側の肢に関心領域を設定して放射能の集積量を測定したところ、両化合物とも、反対側の肢に比べて腫瘍に2倍以上高い集積を認めた。

#### (II) PCOS の腫瘍内局在の詳細検討

$^{125}\text{I}$ IBB-PCOSの集積と低酸素マーカーの局在を組織学的に検討したところ、ピモニダゾール染色の認められる領域、すなわち低酸素領域の近傍に放射能集積が認められた。また、HE染色の結果と比較したところ、ネクロシス領域にはPCOSの集積は認められなかった。

#### (III) 酸素依存的分解蛍光標識タンパク質を使用したインビボ光イメージング

昨年度、融合タンパク質と蛍光色素を結合させて行った検討では、投与1日後では腫瘍でのみ選択的に蛍光が観察された。今年度は改良を加えた融合タンパク質を用いてプレターゲティング法を行ったところ、融合タンパク質を投与して1時間後に蛍光色素を投与し、その2時間後に腫瘍への特異的な色素集積が認められた。

#### (IV) 高感度分子プローブの開発

$^{18}\text{F}$ デンドリマーは放射化学的収率87%で得た。担がんマウスにおいて $^{18}\text{F}$ デンドリマーは血中から速やかに消失し、腫瘍へ高く集積したことから、イメージングの指標となる腫瘍血液比は45と高い値を示した。また、サイズ排除クロマトグラフィー法およびSDS-PAGE法により、抗体デンドリマー複合体の生成が確認できた。

#### (V) 既存PETプローブとの比較研究

MR画像にPET画像を融合させることの臨床的意義について検討を行ったところ、術前病期診断では、MR画像のみの場合とMR+PET融合画像の場合で診断に差は認められなかった。一方、再発診断については、MR単独では感度67%であったが、融合画像診断では92%で、8病変は融合画像によってのみ再発病変を指摘できた。

その他の比較対照用プローブとして、 $^{11}\text{C}$ 5FUの標識合成法を確立した。さらに担がんラットに $^{18}\text{F}$ FMISOを投与して体内分布を検討したところ、腎臓、肝臓のほか、脳、腫瘍に比較的高い集積を示し、かつ腫瘍内の分布は不均一であった。また、 $^{18}\text{F}$ FMISOの腫瘍集積は腫瘍重量の増大とともに増加した。

解剖学的標準化の検討では、まず同一ラットの $^{18}\text{F}$ FDG PET画像とT2 MRI画像を重ね合わせた後、MRI画像をPaxios space に標準化されたラット脳テンプレートにnon rigidにて標準化し、得られたパラメーターを用いて $^{18}\text{F}$ FDG PET画像の標準化を行ったところ、細部にいたるまでの重ね合わせが可能となった。

#### (VI) 近接撮像型フレキシブル分子イメージング装置の開発に関する検討

ライトガイドを用いた光分配制御法は、ガンマカメラの研究によりほぼ確立された技術であるが、薄い反射材を結晶と受光素子の間に挿入することにより、ライトガイドと同様の光分配制御が可能であることを実証した。

#### D. 考察

インビボ核医学イメージング用のRI標識ビオチン誘導体として、 $[^{18}\text{F}]\text{FBB}$ および $[^{123}\text{I}]\text{IBB}$ を設計した。両化合物ともイメージングに十分な放射能・純度での合成が可能であった。またインビトロで血漿とインキュベートしても90%以上が未変化体として存在していたことから、ビオチンダーゼによる分解を受けにくい安定な化合物であることが確認できた。さらに、PCOSとの結合性を有し、その結合が過剰のD-ビオチンによって阻害されたことから、PCOSのストレプトアビジン部分に結合していることが示された。

インビトロにおいて、RI標識ビオチン誘導体の安定性、PCOSとの結合性が確認できたため、実際にインビボ核医学イメージングを行った。PCOSを担がんマウスに前投与し、24時間後に $[^{18}\text{F}]\text{FBB}$ および $[^{123}\text{I}]\text{IBB}$ を投与してイメージングを行ったところ、両化合物とも投与早期から腫瘍へ集積し、高コントラストでイメージングが可能であった。 $[^{123}\text{I}]\text{IBB}$ よりも $[^{18}\text{F}]\text{FBB}$ の方がより投与早期でのイメージングが可能であったが、これはヨウ素よりもフッ素の方が脂溶性が低いため、非標的臓器からのクリアランスが早かったためと考えられた。これらの結果から、撮像時間の短縮・コントラストの向上が可能となるプレターゲティング法が、イメージングにおいても有効であることが確認できた。また、PCOS投与後にビオチンを投与してから $[^{18}\text{F}]\text{FBB}$ を投与したところ、腫瘍への放射能集積が有意に抑制されたことから、インビボにおいてもPCOSとの結合性が確認でき、これらの放射能集積がPCOSの分布を反映したものであることが明らかとなった。

PCOSの腫瘍集積性が確認でき、イメージ

ングにも成功したため、その局在が低酸素領域に一致するかどうか検討を行った。低酸素マーカーとしてピモニダゾールを選択し、免疫染色法で検出したピモニダゾールのシグナルとPCOSの放射能集積を比較したところ、ピモニダゾールシグナルの近傍に放射能集積が認められた。ピモニダゾールとHIF-1の局在を比較した文献では、両者は完全には一致せず、HIF-1はピモニダゾールポジティブな領域を含むより広範な部位で存在が確認されている。今回、放射能集積はピモニダゾールポジティブ領域とその近傍で認められたことから、PCOSが所期の通りHIF-1存在領域に集積したことが示唆された。

次に、プレターゲティング法のインビボ光イメージングへの応用を検討した。PCOSと同様、ODDを母体として酸素依存的に分解される融合タンパク質を担がんマウスに投与し、1時間後に蛍光色素を投与してインビボ光イメージングを行ったところ、蛍光色素投与2時間後で腫瘍の描出に成功した。この結果により、インビボ光イメージングにおいてもプレターゲティング法が有効であることが明らかとなった。さらに、ODDを母体とするタンパク質が腫瘍低酸素領域で安定に存在し、検出器に応じてRIや蛍光といった標識分子を変えることで、マルチモダリティプローブとして高い汎用性に繋がる可能性が示された。

また、高感度プローブの開発では、 $^{18}\text{F}$ -デンドリマーの高収率合成に成功し、本標識体がEPR効果に由来すると考えられる腫瘍への高い集積を示すことを見出した。また、がん中存在する生体分子を認識する抗体との複合体の合成に成功したことから、本デンドリマー誘導体は微小がんの超高感度イメージング実現に向け

て有効な手法を提供すると考えられた。

他方、臨床イメージングに関する研究では、MR画像にPET画像を融合させることにより、再発診断において病変の検出能が向上に寄与する可能性が考えられた。また、PCOSの比較対照となる数種のイメージング用プローブの標識合成法を確立することができた。中でも $[^{18}\text{F}]\text{FMISO}$ に関しては、腫瘍内の集積が不均一であり、低酸素領域イメージングのコントロールとして使用可能であると考えられた。また、解剖学的標準化においては、 $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$  PET画像をMRIテンプレート画像に直接重ね合わせる従来法に替わる手法として、同一個体のPET画像とMRI画像をまず重ね合わせた上で、MRI画像をそのテンプレートに標準化し、その時に得られたパラメーターを用いてPET画像の標準化を行う新手法を提案し、本法の有用性を明らかにした。この手法を用いることで、プローブの集積部位の同定、集積の差の比較がより高精度に達成できると考えられる。

近接撮像型フレキシブル分子イメージング装置の開発では、NEDO側との協力で反射材による光分配方式の実現可能性が実証された。この光分配の技術を用いることで、ライトガイドによる光の損失を改善できるため、位置、エネルギー、時間特性の向上が期待できる。さらにライトガイドが不要となるため、低価格な検出器の実現につながる有益な研究成果である。これらの結果は、高感度分子プローブの開発における有用な基礎的情報を提供するとともに、プローブと装置の組み合わせによる腫瘍の高感度検出のための基盤的技術となる。

## E. 結論

本年度の研究成果概要を図3に示した。本年度の検討により、PCOSがHIF-1の存在領域に集積し、PCOSのプレターゲティングとインビボ核医学イメージング用のRI標識ビオチン誘導体を用いることで、小動物用高解像度・高感度PET装置による腫瘍の明瞭な描出が投与早期から可能であることが明らかとなった。さらに、PCOS類似の酸素依存的分解タンパク質と蛍光色素を用いる光イメージングに対してもプレターゲティング法を応用し、投与早期の時点で微小がんの光イメージングに成功した。また、プローブの放出シグナル増強に関しては、ポジロン標識 dendrimer の開発を行い、dendrimer の腫瘍集積性およびイメージング用抗体との結合性を確認し、高感度化につながる技術を開発した。

これらの結果は、HIF-1存在領域を標的とする高感度分子イメージング法の実現を示すものであり、微小がんを超高感度で検出する分子イメージングプローブの開発が達成されたといえる。今後、NEDO側を中心に開発する高解像力・高感度の近接撮像型フレキシブル分子イメージング装置と組み合わせることにより、従来の100倍以上の感度を達成し、1 mm以下の腫瘍の検出、診断が可能となりうる。

## F. 健康危険情報

臨床研究において、本研究に起因すると思われる副作用を経験していない。

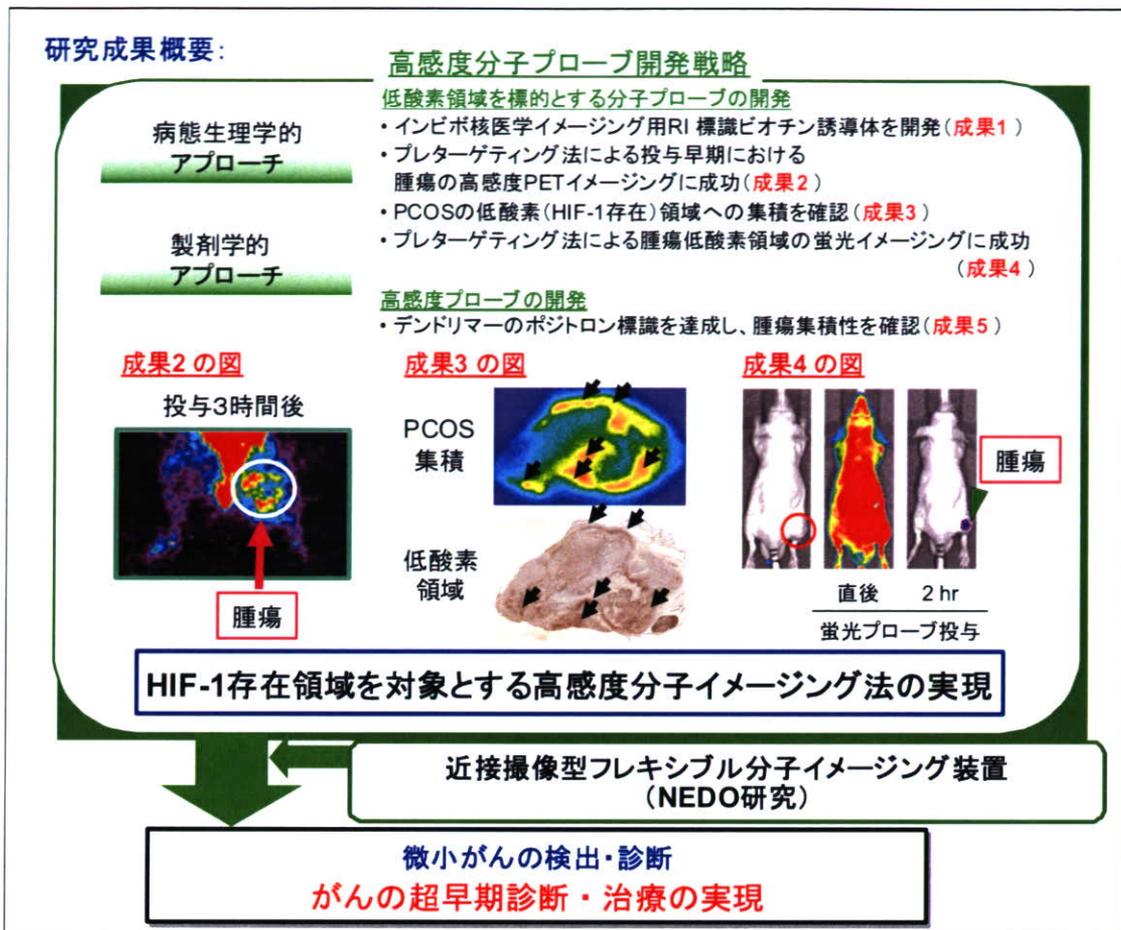


図3 本年度の研究成果の概要

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- ・「生体内バリアを回避する低酸素応答性人口たんぱく質の開発」血管医学 印刷中
- ・「ナノメディスンの基礎と最先端(仮題)」(編集) 宇理須恒雄 オーム社、印刷中
- ・「放射線治療を指向したPET/SPECTプローブの開発 ~低酸素イメージングを中心に~」癌の臨床 54(2): 105-108, 2008
- ・「新しいナノキャリア“ペプトソーム”次世代DDSへの期待」化学と生物 45(11): 779-784, 2007
- ・「『環境標的』としてのがんの微小環境」Medical Bio 4(7): 24-29, 2007
- ・「日進月歩のイメージング技術のがん診断への応用」実験医学 25(17): 2770-2777, 2007
- ・「腫瘍の悪性度を可視化する低酸素イメージング」実験医学 25(17): 2805-2812, 2007
- ・「環境標的としての低酸素細胞の光イメージング」実験医学 25(14): 2144-2150, 2007

- ・「分子イメージングへ応用するナノキャリアの開発」化学 62: 34-37, 2007
- ・「HIF-1を利用した腫瘍内低酸素がん細胞のイメージング」放射線生物研究 42(2): 162-173, 2007
- ・「低酸素イメージング、発光イメージング」病理と臨床 25(6): 539-545, 2007
- ・「HIF-1を利用した低酸素がん細胞のイメージング・ターゲティング」第23回日本疾患モデル学会シンポジウム講演記録 23: 43-50, 2007
- ・「新しい分子イメージングの活用 1.新しい治療法評価への分子イメージングの応用 2.放射線治療の分子イメージング」遺伝子医学MOOK 9: 279-283, 2007
- ・“Chemical design of a radiolabeled gelatinase inhibitor peptide for the imaging of gelatinase activity in tumors.” Nucl Med Biol. 2007 Jul;34(5):503-10.
- ・“Usefulness of <sup>11</sup>C-Methionine for Differentiating Tumors from Granulomas in Experimental Rat Models: A Comparison with <sup>18</sup>F-FDG and <sup>18</sup>F-FLT.” J Nucl Med. 2008; 49(1): 135-141.
- ・“Extensive <sup>18</sup>F-FDG Uptake and Its Modification with Corticosteroid in a Granuloma Rat Model: An Experimental Study for Differentiating Granuloma from Tumors.” Eur J Nucl Med Mol Imaging. 2007; 34(12): 2096-105.
- ・“Comparison of MET-PET and FDG-PET for differentiation between benign lesions and lung cancer in pneumoconiosis.” Ann Nucl Med. 2007;21(6): 331-337.
- ・“A novel and efficient synthesis of [2-<sup>11</sup>C]5-fluorouracil for prognosis of cancer chemotherapy.” J Pharm Pharmaceut Sci. 2007; 10(2): 181-185.
- ・“n-propyl gallate activates hypoxia-inducible factor 1 by modulating intracellular oxygen-sensing systems.” Biochemical J. *in press*.
- ・“Near-Infrared Fluorescent Labeled Peptosome for Application to Cancer Imaging.” Bioconjug Chem. 19(1):109-117, 2008.
- ・“Emission under hypoxia: one-electron reduction and fluorescence characteristics of an indolequinone-coumarin conjugate.” Chembiochem, 9(3): 426-432, 2008.
- ・“Significance of HIF-1-active cells in angiogenesis and radioresistance.” Oncogene, 26(54):7508-16, 2007.
- ・“The combination of hypoxia-response enhancers and an oxygen-dependent proteolytic motif enables real-time imaging of absolute HIF-1 activity in tumor xenografts.” Biochemical and Biophysical Research Communications, 360(4):791-796, 2007.
- ・“Adenovirus-mediated hypoxia-targeting cytosine deaminase gene therapy enhances radiotherapy in tumour xenografts.” Br J Cancer, 96(12): 1871-1878, 2007.
- ・“HIF-1 influences sensitivity to Paclitaxel of human lung cancer cell lines under normoxic conditions.” Cancer Science, 98(9):1394-1401, 2007.
- ・“Hypoxia and Hypoxia-inducible factor-1 expression enhance osteolytic bone metastases of breast cancer.” Cancer Res., 67(9): 4157-4163, 2007.
- ・“The lack of expression of the peripheral benzodiazepine receptor characterises

- microglial response in anaplastic astrocytomas.”  
J Neurooncol. 2007; 85(1): 95-103.
- “Evaluation of static physics performance of the jPET-D4 with Monte Carlo simulations.”  
Phys. Med. Biol. 52, (1), pp. 213-230, 2007.
  - “Inter-crystal identification for a depth-sensitive detector using support vector machine for small animal PET.”  
Nucl. Instrum. & Methods A, 571, pp.243-246, 2007.
  - “Detector normalization and scatter correction for the jPET-D4: A 4-layer depth-of-interaction PET scanner.”  
Nucl. Instrum. & Methods A, 571, pp.231-234, 2007.
  - “Annihilation photon acollinearity in PET : volunteer and phantom FDG studies.”  
Phys. Med. Biol., 52, (1), pp.5249-5261, 2007.
  - “Application of accelerators for the research and development of scintillators.”  
Rev. Sci. Instr., 78, pp.083303 1-7, 2007.
  - “Spatial resolution evaluation with a pair of two four-layer DOI detectors for small animal PET scanner: jPET-RD.”  
Nucl. Instrum. & Methods A, 584, pp.212-218, 2008.
  - “Performance evaluation for 120 four-layer DOI block detectors of the jPET-D4.”  
Radiol. Phys. Technol., 1, pp.75-82, 2007.
  - “A proposal of an open PET geometry.”  
Phys. Med. Biol., *in press*.
  - “Simplified simulation of four-layer depth of interaction detector for PET.”  
Radiol. Phys. Technol., 1, pp.106-114, 2007.
2. 学会発表
- 「低酸素特異的安定化タンパク質を用いた担癌マウスでのイメージングの検討；担癌マウスにおける体内挙動の評価」  
(日本分子イメージング学会第2回総会・学術集会、2007年6月、福井)
  - 「細胞の増殖能の評価及び腫瘍と肉芽腫の鑑別診断における<sup>11</sup>C-メチオニンの有用性：<sup>18</sup>F-FDGとの比較」  
(日本分子イメージング学会第2回総会・学術集会、2007年6月、福井)
  - 「<sup>3</sup>H-FLTによる癌の分子標的療法の早期治療効果評価：担がんマウスにおける投与量依存性の検討」  
(第47回日本核医学会総会、2007年11月、仙台)
  - 「細胞の増殖能評価、腫瘍－肉芽腫の鑑別診断における<sup>11</sup>C-methionineと<sup>18</sup>F-FDGの比較」  
(第47回日本核医学会総会、2007年11月、仙台)
  - 「塵肺合併肺癌の検出におけるFDG－PET後期追加の意義の検討」  
(第47回日本核医学会総会、2007年11月、仙台)
  - 「酸素依存的分解タンパク質を利用した低酸素イメージング剤の開発；担癌マウスでのプレターゲット法の評価」  
(第47回日本核医学会総会、2007年11月、仙台)
  - 「酸素依存的分解タンパク質を母体とする腫瘍低酸素領域の核医学イメージング剤の開発」  
(第5回がんとハイポキシア研究会、2007年12月、柏)

- ・「光イメージングを用いた生体応答の可視化と治療薬・診断薬の開発」  
 (第24回日本毒性病理学会総会「画像イメージングと毒性病理学の接点」、  
 2008年2月、名古屋)
- ・「腫瘍内低酸素がん細胞のイメージング・ターゲティング」  
 (日本癌学会シンポジウム「がんの光イメージング」、2007年10月、横浜)
- ・“A new strategy to target HIF-1.”  
 (13<sup>th</sup> International congress of Radiation Research, July, 2007, San Francisco)
- ・“<sup>18</sup>F-FLT but not <sup>18</sup>F-FDG can early and dose-dependently detect antiproliferative responses of human tumor xenograft to epidermal growth factor receptor targeting with a tyrosine kinase inhibitor, gefitinib.”  
 (54th Annual Meeting of the Society of Nuclear Medicine. Jun., 2007, Washington DC)
- ・“Complementary role of methionine-PET and FDG-PET for differentiation between benign lesions and lung cancer in patients with pneumoconiosis.”  
 (54th Annual Meeting of the Society of Nuclear Medicine. Jun., 2007, Washington DC)
- ・“Usefulness of <sup>11</sup>C-methionine in evaluating cellular proliferation and differential diagnosis of tumor and granuloma: An experimental study in comparison with <sup>18</sup>F-FDG.”  
 (54th Annual Meeting of the Society of Nuclear Medicine. Jun., 2007, Washington DC)
- ・“Development of a hypoxia-targeting probe based on the mechanism of oxygen-dependent degradation of hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$ .”  
 (54th Annual Meeting of the Society of Nuclear Medicine. Jun., 2007, Washington DC)
- ・“Membrane type-1 matrix metalloproteinase (MT1-MMP), a potential target for radioimmuno-detection and therapy of malignant tumors: Evaluation in experimental rat models.”  
 (Joint Molecular Imaging Conference. Sep., 2007, Providence)
- ・“Development of radiolabeled hypoxia imaging agent based on the mechanism of oxygen-dependent degradation of hypoxia-inducible factor-1 alpha.”  
 (Seventh Japan-China Joint Seminar on Radio-pharmaceutical Chemistry. Sep., 2007, Kyoto)
- ・“Development of hypoxia imaging probe utilizing oxygen-dependent degradation domain of hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$ .”  
 (The Hypoxia Workshop in Hokkaido. Nov., 2007, Sapporo)
- ・“Clinical value of image fusion of MR with PET images in patients with head and neck cancer.”  
 (54th Annual Meeting of the Society of Nuclear Medicine. Jun., 2007, Washington DC)
- ・“Implementation of 3D image reconstruction with a pre-computed system matrix for the jPET-D4.”  
 (Proc. 9th Intern. Meeting on Fully Three-Dimensional Image Reconst. in Radiol. and Nucl. med., July 8-13, 2007, Lindau, Germany)
- ・“3D PET image reconstructin with on-the-fly system matrix generation accelerated by

- utilizing shift and symmetry properties.”  
(Proc. 9th Intern. Meeting on Fully Three-Dimensional Image Reconst. in Radiol. and Nucl. med., July 8-13, 2007, Lindau, Germany)
- “Improvement of PET image quality using DOI and TOF information.”  
(Proc. 9th Intern. Meeting on Fully Three-Dimensional Image Reconst. in Radiol. and Nucl. med., July 8-13, 2007, Lindau, Germany)
  - “Novel Front-End Pulse Processing Scheme for PET System Based on Pulse Width Modulation and Pulse Train Method.”  
(2007 IEEE Nuc. Sci. Sympto. & Med. Imag. Conf. Record., NM2-7, 2007)
  - “A DOI-Dependent Extended Energy Window Method to Control Balance of Scatter and True Events.”  
(2007 IEEE Nuc. Sci. Sympto. & Med. Imag. Conf. Record., M03-8)
  - “DOI Encoding on the PET Detector Using 2 X 2 PMT Array.”  
(2007 IEEE Nuc. Sci. Sympto. & Med. Imag. Conf. Record., M13-157)
  - “Parallel Implementation of 3-D Dynamic Iterative Reconstruction with Intra-node Image Update for the jPET-D4.”  
(2007 IEEE Nuc. Sci. Sympto. & Med. Imag. Conf. Record., M13-221)
  - “Preliminary Study of a DOI-PET Detector with Optical Imaging Capability.”  
(2007 IEEE Nuc. Sci. Sympto. & Med. Imag. Conf. Record., M18-22)
  - “System Modeling of Small Bore DOI-PET Scanners for Fast and Accurate 3D Image Reconstruction.”  
(2007 IEEE Nuc. Sci. Sympto. & Med. Imag. Conf. Record., M18-242)
  - “Timing Resolution Improved by DOI Information in a Four-Layer LYSO PET Detector.”  
(2007 IEEE Nuc. Sci. Sympto. & Med. Imag. Conf. Record., M19-7)
  - “Four-Layer DOI Detector with a Multi Pixel APD by Light Sharing Method for Small Animal PET.”  
(2007 IEEE Nuc. Sci. Sympto. & Med. Imag. Conf. Record., M19-11)
  - “A Proposal of Open PET Geometries.”  
(2007 IEEE Nuc. Sci. & Med. Imag. Conf. Record., M19-19)
- H. 知的財産権の出願・登録状況
1. 特許出願
- オーストラリア2002304163  
Polypeptide unstablizing protein in cells under aerobic conditions and DNA encoding the same.  
発明者：平岡真寛・近藤科江・原田 浩  
登録日：2007年8月30日  
出願人：平岡真寛・近藤科江・ポーラ化成工業株式会社
  - Shibuya, K., Tsuda, T., Nishikido, F., Inadama, N., Yoshida, E., Yamaya, T., Murayama, H. : Positron emission tomography scanner and radiation detector, January 31, 2007. 出願番号 PCT/JP2006/326357. (米国特許庁)
  - 長谷川智之, 村山秀雄, 山谷泰賀: 被験体の3次元的位置及び向き測定装置, 平成19年3月6日出願、出願番号 特願2007-55044号
  - 佐藤泰, 村山秀雄, 山田崇裕: 放射能絶対測定方法、放射線検出器集合体の検出効

率決定方法、及び、放射線測定装置の校正方法、平成19年3月29日出願、出願番号特願2007-87317号

- ・山谷泰賀, 村山秀雄, 吉田英治: 断層撮影装置の画像再構成方法、故障診断方法、断層撮影装置、及び、システムマトリクスの管理プログラム、平成19年3月29日出願、出願番号 特願2007-87480号
- ・山谷泰賀, 村山秀雄, 吉田英治: 断層撮影装置の画像再構成方法、故障診断方法、断層撮影装置、及び、システムマトリクスの管理プログラム、平成19年3月30日国際出願、国際出願番号 PCT/JP2007/057229
- ・山谷泰賀, 村山秀雄, 蓑原伸一: PET装置、及び、その画像再構成方法、平成19年4月17日国際出願、国際出願番号 PCT/JP2007/058361
- ・吉田英治, 澁谷憲悟, 山谷泰賀, 村山秀雄: エネルギーと位置情報を利用した放射線検出方法及び装置、平成19年4月23日出願、出願番号 特願2007-112925号
- ・稲玉直子, 村山秀雄, 澁谷憲悟, 錦戸文彦, 大井淳一, 津田倫明: 放射線位置検出器、平成19年8月28日出願、出願番号 特願2007-221441号

## 2. 特許登録

- ・山本誠一, 村山秀雄: 強磁場内作動型放射線位置検出器、平成19年5月11日登録、特許第3950964号

厚生労働科学研究費補助金（医療機器開発推進研究事業）  
分担研究報告書

製剤学的アプローチによる高感度分子プローブの開発に関する研究

分担研究者 久下 裕司 北海道大学大学院医学研究科 教授

研究要旨：プローブ分子中に多くの放射性同位元素(RI)を導入することによって、イメージングの高感度化を目指した。第4世代PAMAM dendroliマーのF-18標識に成功し、担がんマウスにおいて良好な体内動態を示した。また、抗体 dendroliマー複合体の合成にも成功したことから、本 dendroliマー誘導体による超高感度イメージング実現の可能性が示された。

#### A. 研究目的

本研究では、プローブ1分子中に多くの放射性同位元素(RI)を導入することによって、標的に高く放射能を集積させるという観点から、微小がんを超高感度で検出する分子イメージングプローブの開発を計画した。昨年度までに、多数のRIを結合できるピオチン化 dendroliマーを作製し、正常マウスにおける体内動態検討を行うことで、RI標識 dendroliマーによる高感度化の可能性を示してきた。そこで本年度は、 dendroliマーのポジトロン放出核種による標識、担がんマウスでの体内動態の検討、および、がん中存在する標的分子を認識する抗体と dendroliマーとの複合体の合成を行った。また、この新規高感度プローブとの対比を行うため、既存の低酸素イメージングプローブ ( $^{18}\text{F}$ -FMISO)、核酸プローブ ( $^{11}\text{C}$ -5FU) に関する合成検討・腫瘍イメージングに関する基礎的検討を実施した。

#### B. 研究方法

##### (1) F-18標識 dendroliマーに関する検討

第4世代PAMAM dendroliマー表面アミノ基のF-18標識は、京都大学医学部附属病院設置のサイクロトロンにより合成した  $^{18}\text{F}$ -SFB を用い、0.05M ほう酸バッファー (pH8.5) 中、室温で30分間反応することで行った。 $^{18}\text{F}$ - dendroliマーはスピンカラム法により精製

し、FM3A乳がん細胞移植マウスを用いて投与5時間後の体内放射能分布を調べた。

第4世代PAMAM dendroliマーの表面アミノ基に架橋試薬を用いてチオール基を導入した。抗体のリジン残基に架橋試薬を用いてマレイミド基を導入した後、 dendroliマーと室温で反応させることで、抗体 dendroliマー複合体を得た。反応物の生成はサイズ排除クロマトグラフィー法および SDS-PAGE法により確認した。

##### (2) 既存プローブに関する合成検討：

$^{18}\text{F}$ -FMISOの合成は、前駆体として1-(2-nitro-1'-imidazolyl)-2-O-tetrahydro-pyran-3-O-toluen-sulfonyl-propandiol (NITTP) を用い、これに  $^{18}\text{F}$ -フッ化物イオンを反応させて行った。その後、逆相HPLCにより精製し、肝がん細胞移植ラットを用いて体内放射能分布を調べた。

$^{11}\text{C}$ -5FU は(E)-beta-benzoylamino-alfa-fluoroacrylamideと  $^{11}\text{C}$ -phosgene (照射条件：10  $\mu\text{A}$ 、10 min) の環化付加反応により合成した。

##### (倫理面への配慮)

動物実験は事前に所属施設の動物実験委員会の承認を受け、当該施設の動物実験指針を遵守して行った。

## C. 研究結果

### (1) F-18標識 dendrogram に関する検討

<sup>18</sup>F-dendrogram は放射化学的収率87%で得た。担がんマウスにおいて<sup>18</sup>F-dendrogram は血中から速やかに消失し、腫瘍へ高く集積したことから、イメージングの指標となる腫瘍血液比は45と高い値を示した。

抗体 dendrogram 複合体は、分子量相当の保持時間およびバンド域で検出できたことから、その生成が確認できた。

### (2) 既存プローブに関する検討

<sup>18</sup>F-FMISO は放射化学的収率99%以上で得た。ラットにおいて<sup>18</sup>F-FMISO は、腎臓、肝臓のほか、脳、腫瘍に比較的高い集積を示した。<sup>18</sup>F-FMISO は腫瘍内で不均一な分布を示した。また、<sup>18</sup>F-FMISO の腫瘍集積は腫瘍重量の増大とともに増加した。

<sup>11</sup>C-5FU の合成は照射終了後、17分で完了し、放射化学的収量、収率はそれぞれ0.4GBq、25%であった。

## D. 考察

<sup>18</sup>F-dendrogram の高収率合成に成功し、本標識体がEPR効果に由来すると考えられる腫瘍への高い集積を示すことを見出した。また、がん中存在する生体分子を認識する抗体との複合体の合成に成功したことから、本 dendrogram 誘導体は微小がんの超高感度イメージング実現に向けて有効な手法を提供すると考えられる。

他方、既存プローブに関する検討では、昨年度までに合成に成功した<sup>18</sup>F-FMISO のラット体内動態、腫瘍移行性を調べた結果、腫瘍内で不均一な分布を示し、低酸素領域に高く集積するものと考えられた。また、核酸プローブとして、<sup>11</sup>C-5FU の合成に成功した。今後、本研究プロジェクトで開発した高感度分子プローブの腫瘍集積性等を、これら既存プローブの場合と比較検討し、高感度分子プローブの最適化に繋げていく予定である。

## E. 結論

第4世代PAMAM dendrogram のF-18標識に成功し、担がんマウスにおいて良好な体内動態を示した。また、抗体 dendrogram 複合体の合成にも成功したことから、本 dendrogram 誘導体による超高感度イメージング実現の可能性が示された。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

・“Usefulness of <sup>11</sup>C-Methionine for Differentiating Tumors from Granulomas in Experimental Rat Models: A Comparison with <sup>18</sup>F-FDG and <sup>18</sup>F-FLT.”

J Nucl Med. 2008; 49(1): 135-141.

・“Extensive <sup>18</sup>F-FDG Uptake and Its Modification with Corticosteroid in a Granuloma Rat Model: An Experimental Study for Differentiating Granuloma from Tumors.”

Eur J Nucl Med Mol Imaging. 2007; 34(12): 2096-105.

・“Comparison of MET-PET and FDG-PET for differentiation between benign lesions and lung cancer in pneumoconiosis.”

Ann Nucl Med. 2007;21(6): 331-337.

・“A novel and efficient synthesis of [2-<sup>11</sup>C] 5-fluorouracil for prognosis of cancer chemotherapy.”

J Pharm Pharmaceut Sci. 2007; 10(2): 181-185.

### 2. 学会発表

・“<sup>18</sup>F-FLT but not <sup>18</sup>F-FDG can early and dose-dependently detect antiproliferative responses of human tumor xenograft to epidermal growth factor receptor targeting with a tyrosine kinase inhibitor, gefitinib.”

(54th Annual Meeting of the Society of Nuclear Medicine. Jun., 2007, Washington D C)

・“Complementary role of methionine-PET and FDG-PET for differentiation between benign lesions and lung cancer in patients with pneumoconiosis.”

(54th Annual Meeting of the Society of Nuclear Medicine. Jun., 2007, Washington DC)

・“Usefulness of  $^{11}\text{C}$ -methionine in evaluating cellular proliferation and differential diagnosis of tumor and granuloma: An experimental study in comparison with  $^{18}\text{F}$ -FDG.”

(54th Annual Meeting of the Society of Nuclear Medicine. Jun., 2007, Washington DC)

・“Development of a hypoxia-targeting probe based on the mechanism of oxygen-dependent degradation of hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$ .”

(54th Annual Meeting of the Society of Nuclear Medicine. Jun., 2007, Washington DC)

・“Membrane type-1 matrix metalloproteinase (MT1-MMP), a potential target for radioimmuno-detection and therapy of malignant tumors: Evaluation in experimental rat models.”

(Joint Molecular Imaging Conference. Sep., 2007, Providence.)

・“Development of radiolabeled hypoxia imaging agent based on the mechanism of oxygen-dependent degradation of hypoxia-inducible factor-1  $\alpha$ .”

(Seventh Japan-China Joint Seminar on Radiopharmaceutical Chemistry. Sep., 2007, Kyoto)

・“Development of hypoxia imaging probe utilizing oxygen-dependent degradation domain of hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$ .”

(The Hypoxia Workshop in Hokkaido. Nov., 2007, Sapporo)

・「低酸素特異的安定化タンパク質を用いた担癌マウスでのイメージングの検討；担癌マウスにおける体内挙動の評価」

(日本分子イメージング学会第2回総会・学術集会、2007年6月、福井)

・「細胞の増殖能の評価及び腫瘍と肉芽腫の鑑別診断における $^{11}\text{C}$ -メチオニンの有用性： $^{18}\text{F}$ -FDGとの比較」

(日本分子イメージング学会第2回総会・学術集会、2007年6月、福井)

・「 $^3\text{H}$ -FLTによる癌の分子標的療法の早期治療効果評価：担がんマウスにおける投与量依存性の検討」

(第47回日本核医学会総会、2007年11月、仙台)

・「細胞の増殖能評価、腫瘍－肉芽腫の鑑別診断における $^{11}\text{C}$ -methionineと $^{18}\text{F}$ -FDGの比較」

(第47回日本核医学会総会、2007年11月、仙台)

・「塵肺合併肺癌の検出におけるFDG－PET後期追加の意義の検討」

(第47回日本核医学会総会、2007年11月、仙台)

・「酸素依存的分解タンパク質を利用した低酸素イメージング剤の開発；担癌マウスでのプレターゲット法の評価」

(第47回日本核医学会総会、2007年11月、仙台)

・「酸素依存的分解タンパク質を母体とする腫瘍低酸素領域の核医学イメージング剤の開発」

(第5回がんとハイポキシア研究会、2007年12月、柏)

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし

病態生理学的アプローチによる高感度分子プローブの開発

分担研究者 平岡真寛 京都大学医学研究科腫瘍放射線科学 教授

分担研究者 近藤科江 京都大学医学研究科腫瘍放射線科学 准教授

研究要旨：本研究は、膜透過性、酸素依存的安定性を有するポリペプチド (PTD-ODD) を利用して、固形腫瘍で HIF-1 活性を有する低酸素がん細胞内に特異的に安定化するイメージングプローブを開発する事を目的としている。これまで、腫瘍細胞内部により効率よくデリバリーすることが可能な PTD の設計・構築・デリバリー能の検証を行い、効率よく脳血管関門を通過し、脳にまでデリバリーされる PTD を構築し、さらに、HIF-1 活性を有する細胞内で特異的に安定化する ODD 融合たんぱく質の機能を亢進させ、より特異性の高いイメージングプローブの構築を試みてきた。本年度は、最終年度の総括として、担がんマウスを用いて生体光イメージング装置で、プローブの腫瘍特異的局在を示すとともに、プレターゲットイング法を用いたより腫瘍内低酸素領域特異的イメージングの実現をめざした。

A. 研究目的

非常に小さな癌 (1 ミリ以下) でも通常ではありえないような低酸素状態が存在する。癌の由来組織や細胞の種類により多少の差はあるものの、癌の微小環境は、正常組織には存在しない異常な低酸素・低 pH・低グルコースによって特徴づけられる。そのような環境にある細胞は、栄養や酸素が不足しているため、増殖を停止したり、解糖系代謝を行ったりして、周辺で活発に増殖している有酸素状態の癌細胞に比べると「死ぬべき運命にある弱った癌細胞」である。しかしながら、この「死ぬべき運命にある弱った癌細胞」が、実は癌全体の悪性度を高める「悪質な癌細胞集団」であるこ

とが最近の研究から分かってきたのである。これらの癌細胞 (HIF-1 活性を有する低酸素がん細胞) は、癌治療に対して抵抗性であるばかりでなく、再発や転移・浸潤といった悪性化の原因となることが報告されている。従って、低酸素がん細胞を感度良くイメージングすることができれば、悪性度の高いがんに対する治療方針を決める上で、有用な情報を提供する事ができる。我々は、これまで HIF-1 活性を有する低酸素がん細胞内に特異的に安定化する PTD-ODD 融合タンパク質を用いて、腫瘍内低酸素領域を特異的にターゲティングする融合タンパク質の構築に成功し、抗がん作用を報告してきた (図 1)。本研究では、低酸素がん細胞