

「疾患における代謝産物の解析および代謝制御に基づく革新的医療基盤
技術の創出」

H26 年度
実績報告書

平成26年度採択研究代表者

浦野 泰照

東京大学大学院薬学系研究科
教授

臨床検体を用いた疾患部位特異的な代謝活性の
ライブイメージング探索技法の確立と創薬への応用

§ 1. 研究実施体制

(1)「浦野」グループ

- ① 研究代表者:浦野 泰照 (東京大学大学院薬学系・医学系研究科、教授)
- ② 研究項目
 - ・各種加水分解酵素、酸化還元酵素活性検出蛍光プローブライブラリーの開発
 - ・蛍光プローブライブラリーの臨床検体への適用による特異的代謝活性スクリーニング
 - ・疾患特異的酵素活性の活用によるプロドラッグ型治療薬の開発

(2)「大崎」グループ

- ① 主たる共同研究者:大崎 寿久 (公益財団法人神奈川科学技術アカデミー 人工細胞膜システムグループ、サブリーダー)
- ② 研究項目
 - ・プローブ試薬のマイクロパターンニング技術の確立

(3)「瀬戸」グループ

- ① 主たる共同研究者:瀬戸 泰之(東京大学大学院医学系研究科消化管外科学講座、教授)
- ② 研究項目
 - ・蛍光プローブライブラリーのヒト臨床検体(胃癌・食道癌)への適用

(4)「斎藤」グループ

- ① 主たる共同研究者:斎藤 豊 (国立がんセンター内視鏡科、科長)
- ② 研究項目

・蛍光プローブライブラリーを活用した消化管腫瘍 on site 蛍光イメージング技法の開発研究

(5)「重松」グループ

- ① 主たる共同研究者:重松 邦広 (東京大学医学部血管外科、講師)
- ② 研究項目
 - ・代謝反応活性に基づいた血管疾患病変の性状解析

§ 2. 研究実施の概要

本研究課題の目標は、ヒト患者体内に存在する疾患部位・細胞が有する代謝反応面での特徴を、患者由来の新鮮臨床検体を対象とする網羅的ライブ蛍光イメージングによって明らかにし、この情報を活用して診断と治療の一体化を実現する革新的な新医療技術を、論理的かつ高い効率で開発することである。具体的には、外科手術や内視鏡手術時に患部に散布することで、超早期診断や精確な診断を可能とさせる蛍光プローブを開発する。さらには得られた疾患部位特異的な代謝活性を活用して、全く新たな抗がん剤などの創薬の実現も目指す。

本年度浦野 G では、がん細胞中の糖鎖分解酵素活性が高いことを活用したがん迅速検出蛍光試薬を開発した。具体的には生細胞中の β -ガラクトシダーゼ活性を極めて高感度に検出可能な新規蛍光プローブを開発し、これをさまざまな種類の卵巣がん細胞を腹腔内へと転移させたモデルマウスに投与した結果、これまでに開発した γ -グルタミルトランスぺプチダーゼ活性を標的とする試薬では可視化できなかったがん種の迅速検出も、一部可能であることが明らかとなった。特に卵巣がんでは検出成功率が高く、GGT プローブでは検出できなかったものを含め、全てのがん細胞の可視化に成功し、散布から数分程度で 0.1 mm 程度の微小がんを *in vivo* で検出可能であることが明らかとなった(図 1)。

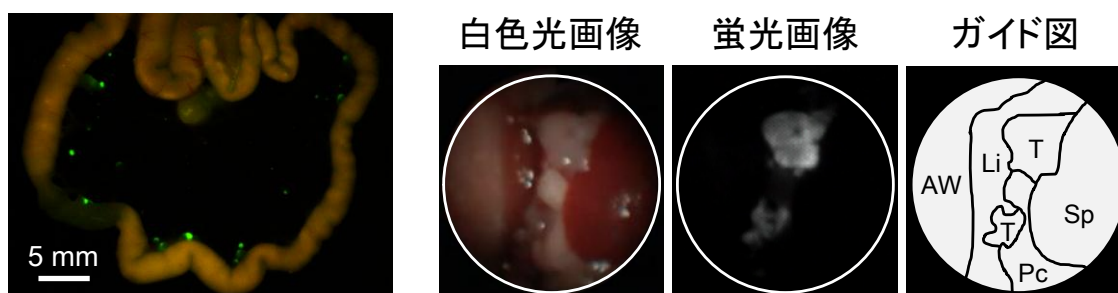


図 1 : (左) 開発した蛍光プローブにより緑色に光るがん。モデルマウスの腸間膜上にある 1 mm 以下のがんまで肉眼でも容易に識別可能である。(右) 蛍光内視鏡によるがんの検出。生きている状態のがんモデルマウス腹腔内にあるがんを容易に識別可能であった。ガイド図 : AW、腹壁 ; Li、肝臓 ; T、がん ; Pc、膵臓 ; Sp、脾臓

さらに、タンパク質分解酵素活性プローブライブラリーの構築に向けた固相合成法の確立に向けた検討を開始し、90%以上の高い純度での合成を達成するルートの確立に成功し、100 種類弱のアミノペプチダーゼ蛍光プローブの開発に成功した。

大崎 G の研究課題である多種類のプローブ試薬スクリーニングデバイスの開発については、テスト型スタンプデバイスの設計および試作とその評価を行った。デバイスは柔軟で微細なスタンプ形状であり、このデバイスを検体に押し当ててインクとなるプローブ試薬を転写し、スクリーニングを行う。本年度は、臨床検体モデルに対する蛍光試薬の転写試験を、設計・試作したデバイスを使って行い、最終目的とするスクリーニングデバイス開発のための基礎的なデータを収集した。

瀬戸 G、斎藤 G では倫理委員会の承認を経て、それぞれ食道がん、胃・大腸がん臨床新鮮検体を用いたプローブスクリーニングが可能な体制を調べ、実際に上述したプローブライブラリーの

適用を開始した。食道がんでは特に、特定のジペプチジルペプチダーゼ活性に着目し、生検検体、外科手術、内視鏡 ESD 検体へとプローブを適用し、本蛍光プローブによる迅速がん検出効率を精査した。

重松 G では、動脈硬化性疾患の病変部において、脆弱な粥腫もしくは石灰化成分の多い粥腫かなどの性状解析を有機小分子蛍光プローブを利用して可視化することを目的に、当該機関において臨床研究としての倫理委員会の承認を受け、病変部位へのプローブ適用を開始した。

本年度の代表的な原著論文：

1. Asanuma D, Sakabe M, Kamiya M, Yamamoto K, Hiratake J, Ogawa M, Kosaka N, Choyke PL, Nagano T, Kobayashi H, **Urano Y**, Sensitive β -Galactosidase-Targeting Fluorescence Probe for Visualizing Small Peritoneal Metastatic Tumors In Vivo. *Nat. Commun.*, **6**, 6463, 2015. [doi:10.1038/ncomms7463](https://doi.org/10.1038/ncomms7463)
 2. Myochin T, Hanaoka K, Iwaki S, Ueno T, Komatsu T, Terai T, Nagano T, **Urano Y**, Development of a Series of Near-infrared Dark Quenchers Based on Si-rhodamines and Their Application to Fluorescent Probes. *J. Am. Chem. Soc.*, *in press*. [doi:10.1021/jacs.5b00246](https://doi.org/10.1021/jacs.5b00246)
 3. Takakura H, Kojima R, Kamiya M, Kobayashi E, Komatsu T, Ueno T, Terai T, Hanaoka K, Nagano T, **Urano Y**, New Class of Bioluminogenic Probe Based on Bioluminescent Enzyme-induced Electron Transfer: BioLeT. *J. Am. Chem. Soc.*, *in press*. [doi:10.1021/ja511014w](https://doi.org/10.1021/ja511014w)
-