

## 平成26年度 特別経費(プロジェクト分) 概算要求事業 学内公募申請書

「分子イメージング・マイクロドーズ(第0相)臨床試験体制を擁する分子標的治療研究・教育拠点の構築」事業

	研究者名簿(大学院生をなるべく含むこと)	役職	役割	PET使用経験	分子イメージング講義シリーズの受講の有無
研究組織	竹中文章 松浦栄次	助教 教授	研究全般 研究統括	RI 有・無	PET 有・無
区分	1. 機器開発, [2]. がん, [3]. 炎症 ・再生, 4. 脳機能, 5. その他	登録(該当区分に○)	[1]. 分子イメージングコース 2. それ以外の分野	主任教授氏名 研究許諾印	松浦栄次 
区分 (該当区分に○)	Phase 0 : 実現可能かどうかの提案、研究相談のみが目的。 Phase I : Phaseゼロの具体性が出た準備研究。研究期間：1年～2年。PET使用含まず。 Phase II : Phase Iを終え、成果の出始めた実現性の高いもの。PETなどの専門家の共同研究体制が確立している。研究期間：1年～2年。PET/SPECTの使用1～2回程度。 Phase III : Phase IIレベルを終え、具体的な合成行程を含めて完成度が高く、本格的研究に入っているもの。研究期間：1年～3年 PET/SPECT使用3回以上。				
プロジェクト名	プレターゲッティング法によるPETイメージング診断				
研究計画	<p>本申請課題研究では、血中残存放射能に対してがんおよび動脈硬化巣へ高い集積を示すPETイメージング法の実現を目的として、プレターゲッティング手法の応用可能性の検証を行う。がんおよび動脈硬化巣特異的抗体として、それぞれ申請者らが開発した抗メソセリン抗体および抗酸化LDL (oxLDL) /<math>\beta_2</math>-グリコプロテインI (<math>\beta_2</math>GPI) 複合体抗体、プレターゲッティングの機構として Tetrazine (Tz) /trans-Cyclooctene (TCO) によるDiels-Alder反応機構、標識核種として<sup>18</sup>F、<sup>67</sup>Ga、<sup>89</sup>Zr、または<sup>111</sup>Inをそれぞれ用いる。詳細な研究計画は以下に示す通りである。</p> <ol style="list-style-type: none"> <li><b>Tz修飾キレーターの合成</b> 3-(p-Benzylamino)-1,2,4,5-tetrazine (Tz-NH<sub>2</sub>) は4-(Aminomethyl)benzonitrile、Formamidine、Hydrazineを出発原料として合成により入手する。得られた Tz-NH<sub>2</sub>に対して適当なキレーターをNHS-アミン反応によりカップリングすることで、目的とするTz修飾キレーターを得る。<sup>18</sup>F、<sup>67</sup>Ga、及び<sup>111</sup>Inに対するキレーターとして1,4,7-triazacyclononane-1,4,7-triacetic acid (NOTA) を、また<sup>89</sup>Zrに対するキレーターとしてDeferoxamine (DFO) を用いる。</li> <li><b>TCO修飾抗体の作製</b> TCO-NHSは合成、または購入により入手する。各IgG抗体に対し、TCO-NHSを NHS-アミン反応によりカップリングを行う。また、対照として直接キレーター修飾したIgGまたは低分子化抗体を同様に作製する。得られたTCO修飾抗体、及びキレーター修飾抗体の同定はMALDI-TOF-MSを用いて行う。</li> <li><b>PET、SPECT/CTイメージング</b> 安価に購入可能なSPECT核種である<sup>111</sup>In、または<sup>67</sup>Gaを用いてSPECT/CTにより、標識条件、投与量、撮像時間について条件検討を行う。最も良好な体内動態を示した条件を基に、PETで撮像可能な<sup>89</sup>Zr、または<sup>18</sup>Fのいずれか一方を選択し、同様にPETイメージングを行う。PET撮像により得られた画像、またはオートラジオグラフィを用いて標的病変部に集積した放射能を定量し、病理解析結果との相関を検討することで、従来法と比較した本手法の有用性を検証する。一連の動物実験には、腫瘍モデルマウスおよび動脈硬化モデルマウスを用いる。</li> </ol>				
期待される効果	申請者らはこれまでに、がんおよび動脈硬化に特異的に結合する抗体を用いて、PETイメージングによる非侵襲的な診断法の確立を目的に検討を行ってきた。これらのPETイメージング診断は、高い病巣/血中残存放射能比を得ることにより可能となる。このことから、我々は血中半減期の極めて短い低分子化抗体を用いてPETによるがんおよび動脈硬化層の可視化に成功している。しかしながら、迅速に血中からクリアランスされる低分子化抗体の抗原結合能は全長抗体 (IgG) に比べ低くなる傾向にあり、一方でIgGは高い抗原結合能を持つが血中半減期が長い。本申請課題の目的はこれら抗体特有の問題点を解決することで、より高精度なPET診断を可能にすることにある。				

	<p>本申請課題においては、Diels-Alder反応機構によるクリックケミストリーを用いたプレターゲッティング法により、目的の達成を目指す。これまで分子イメージングや標的治療を目的としてプレターゲッティング法を用いた例は多く報告されているが、用いられる抗体は遺伝子工学的に生成する必要があり、それに伴う免疫原性の発現、または標的抗原・ハプテンへの結合能が低いことが知られる。一方、本研究で採用するDiels-Alder反応機構においては、抗体に低分子化合物を化学的に修飾するのみであり、上記のような影響を伴わない。従って、プレターゲッティング法によるPETイメージング診断において最も実用化に近い手法として期待される。</p>
	<p>図 1 TCO/Tz 反応による抗体と RI の結合</p>
本プロジェクトに関連した過去の研究業績、受賞等	<p><b>【論文発表】</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>Matsuura E, Hughes GR, Khamashta MA. Oxidation of LDL and its clinical implication. <i>Autoimmun Rev.</i> 2008; 7: 558-66.</li> <li>Matsuura E, Lopez LR, Shoenfeld Y, Ames PR. <math>\beta 2</math>-glycoprotein I and oxidative inflammation in early atherogenesis: A progression from innate to adaptive immunity? <i>Autoimmun Rev.</i> 2012; 12: 241-9.</li> <li>Li W, Wang D, Chi Y, Wang R, Zhang F, Ma G, Chen Z, Li J, Liu Z, Matsuura E, Liu Q. 7-Ketocholesteryl-9-carboxynonanoate enhances the expression of ATP-binding cassette transporter A1 via CD36. <i>Atherosclerosis.</i> 2013; 226: 102-9.</li> <li>Toyota T, Hanafusa T, Oda T, Koumura I, Sasaki T, Matsuura E, Kumon H, Yano T, Ono T. A purification system for <math>^{64}\text{Cu}</math> produced by a biomedical cyclotron for antibody PET imaging. <i>J Radioanalyt Nucl Chem.</i> 2012; 1-6. DOI 10.1007/s10967-012-2340-7.</li> <li>Matsuura E, Lopez LR. Anti-<math>\beta 2</math>-glycoprotein I antibodies. <i>Autoantibodies</i> (Third edition). Shoenfled Y, Gershwin ME, eds. Elsevier, Amsterdam, The Netherland. In press.</li> </ol> <p><b>【関連特許】</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>松浦栄次、片平智禎、小池隆夫. 酸化リポタンパク質の測定法及びその用途. 米国特許 5900359 号、日本特許 3370334 号</li> <li>松浦栄次、小林和子. <math>\beta 2</math>-グリコプロテイン I に対するリガンド及びその用途. 米国特許 7160733 号、日本特許 4272518 号.</li> <li>松浦栄次. 生体内の酸化 LDL-<math>\beta 2</math>-グリコプロテイン I 複合体の測定方法. 日本特許 3898680 号、米国特許 7455976 号、欧州特許(英・独・仏) EP1548436 号.</li> <li>松浦栄次. 酸化 LDL-CRP 複合体の測定方法及び測定キット. 日本特許 3898680 号、米国特許 7422864 号、欧州(英・独・仏) EP1596198 号.</li> <li>松浦栄次、小島和夫. 酸化 LDL/<math>\beta 2\text{GPI}</math> 複合体に対する抗体及びその用途. PCT/JP2009/054473 号. 米国、カナダ、欧州、インド審査中.</li> <li>松浦栄次、公文裕巳、小島和夫. 石灰化小球に対する抗体及びその用途. PCT/JP2009/054475 号. 米国特許 13/000, 325 号、日本審査請求中.</li> <li>松浦栄次、公文裕巳、岸義郎、藤井康宏. メンセリン (MSLN) に対する抗体及びその用途. 特願 2009-287506、日本、米国、カナダ、欧州、中国、韩国、インド審査請求中.</li> </ol> <p><b>【受賞等】</b></p> <p>平成5年度日本リウマチ学会・学会奨励賞、平成8年度秋山記念生命科学研究助成、平成8年度内藤医学研究振興財団研究助成、平成8年度日本リウマチ財団研究助成、平成14年度三共生命科学研究振興財団研究助成、平成21年度両備櫻園記念財団研究助成。</p>
研究費の概算	<p>消耗品</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>SPECT核種 : 2万円×5=10万円</li> <li>動物購入・飼育費 : 30万円</li> <li>試薬 : 1万円×10=10万円</li> </ul> <p>旅費</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>研究調査旅費 : 10万円×1=10万円</li> </ul> <p>その他</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>PET/SPECT使用料 : 20万円×2=40万円</li> </ul> <p style="text-align: right;">(合計) 100万円</p>

※ 研究業績については、論文名・著書名・著者名・学会誌名・巻(号)・最初と最後の頁・発表年(西暦)の各項目を記入してください。共同、共著の場合は全員を掲載順に記入し、研究組織メンバーに下線を付してください。In press となったもの以上を記入してください。

※ 研究費の概算については、「項目・単価×数=金額」を記入し、一番下の行に合計金額を記入してください。

※ この様式に収まらない場合、体裁を変更せず2ページ目までに収まるよう行を追加して記入してください。

※ 申請に際しては、指導教授印のあるものの pdf ファイル及び word データファイルをメールで同時に送りください。