


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	上田 真史 檜垣 佑輔 宇井 貴士 吹野 佑太 松野 彩	准教授 特任助教 大学院生 大学院生 学部生	研究統括 SPECT撮像 インビボ評価 ペプチド合成 インビトロ評価	有	有
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	榎本 秀一 
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. ③ 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	膵管がん早期診断のための放射性分子イメージングプローブの開発研究				
研究計画	<p>本研究では、<u>早期診断が困難で5年生存率が極めて低い膵管がんを早期に検出し得る放射性分子イメージングプローブを開発すること</u>を目的とする。</p> <p>膵管がんは自覚症状に乏しく、膵臓が体深部に存在するために超音波検査等で描出が難しいため、早期発見が非常に困難であり、8割以上がステージが最も進行した状態で発見される。薬物療法に対しても抵抗性を示すことが知られており、完治させるためには早期発見による外科的切除がもっとも有効である。近年、インテグリン$\alpha_v\beta_6$サブタイプが膵管がんの早期段階から高発現する一方、正常組織での発現は低いことが報告されたことから、本研究では$\alpha_v\beta_6$インテグリンを標的とするプローブ開発を行う。</p> <p>申請者(上田)はこれまでに$\alpha_v\beta_6$インテグリンに結合性を有する^{123}I標識ペプチドプローブ(^{123}I-IFMDV2)を開発済みであり、それを用いた$\alpha_v\beta_6$インテグリン発現膵管がんのインビボイメージングに成功している(業績1,2)。本研究ではその成果を基盤として、標識核種として新たに^{67}Gaを選択してプローブ開発を行う。^{67}Ga標識$\alpha_v\beta_6$インテグリンイメージングプローブはこれまでに開発されていない。^{67}Gaは金属RIであるため、ペプチドに直接結合させることができないことから、^{67}Gaと安定な錯体を形成する配位子を$\alpha_v\beta_6$インテグリン結合ペプチドに導入する必要がある。</p> <p>昨年度の本事業では、プローブの母体ペプチドとしてA20FMDV2配列を選択し、N末端にガリウム標識用の配位子を導入したプローブを設計・合成した。配位子とペプチド配列間の距離を変化させたプローブを複数合成し、$\alpha_v\beta_6$インテグリンへの結合親和性を評価したところ、その中の1種類のプローブのK_i値が1.46 nMとインビボでの特異的結合が期待できる値となった。そこで$\alpha_v\beta_6$インテグリン陽性であるAsPC-1細胞と$\alpha_v\beta_6$インテグリン陰性であるMIAPaca-2細胞を移植して作製した担がんマウスで体内分布実験を行ったところ、AsPC-1腫瘍における放射能集積はMIAPaca-2腫瘍の約2~3倍と有意に高い値を示した。さらに、本プローブを投与する前にA20FMDV2ペプチドを投与してインビボ阻害実験を行ったところ、阻害群のAsPC-1腫瘍における放射能集積は有意に低下し、本プローブのインビボ腫瘍集積は$\alpha_v\beta_6$インテグリン特異的である明らかとなった。一方で、本プローブは筋肉への集積が高く、イメージングの際のコントラストに難がある問題点も明らかとなった。</p> <p>そこで今年度の検討では、ペプチドと配位子の間のリンカーにPEG鎖を使用することで、プローブの水溶性を増加させ、筋肉への非特異的集積を低減させる検討を行う。さらに、A20FMDV2とは異なるペプチド配列を母体とするイメージングプローブ開発も行う。それらのプローブの中から、$\alpha_v\beta_6$インテグリン発現/非発現細胞を用いた結合親和性評価、担がんマウスを用いた腫瘍集積性・生体内安定性評価を行って、最も有効なプローブを見出し、$\alpha_v\beta_6$インテグリン発</p>				

	<p>現/非発現細胞を移植して作製した担がんマウスでインビボイメージングを行う。</p> <p>本研究を遂行するため、分子イメージング研究に関する豊富な経験と実績を有する上田を研究統括とし、岡山大学産学官連携センターにて小動物 SPECT イメージング研究に従事してきた檜垣助教を加えた研究組織を構築した。さらに、その組織に大学院生および大学院進学予定の学部生も加えることで、分子イメージング研究遂行のための実践的教育も同時に行う予定である。</p>
<p>期待される効果</p>	<p>膵管がんは、過去 30 年間にわたり 5 年生存率が 5% 程度を推移している、代表的な予後不良のがんである。外科切除適応となる膵管がんの頻度は低く、抗がん剤治療の効果も乏しい。本研究により開発されるプローブで早期診断が可能となれば、ステージ早期で発見されるがんが増え、外科切除の適応増加や抗がん剤の奏効率向上が期待できる。これは生存率の改善に直結すると考えられ、<u>本研究で開発されるプローブは膵管がん治療にパラダイムシフトをもたらし得る。</u></p> <p>さらに、⁶⁷Ga の同位体である ⁶⁸Ga は ⁶⁸Ge-⁶⁸Ga ジェネレータで産生可能な PET 核種であり、その製造にサイクロトロンを必要としないことから、安価かつ簡便に入手できる PET 核種として近年非常に注目を集めている。本研究で見出されるプローブは、⁶⁷Ga のみならず ⁶⁸Ga でも同様に標識可能であることから、<u>サイクロトロン不要の PET プローブとしても応用ができ、高い汎用性が期待できる。</u></p>
<p>本プロジェクトに関連した過去の研究業績、受賞等</p>	<p>論文発表</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. <u>Ueda M</u>, Temma T, Saji H. Radionuclide Imaging of Integrins. In: Nuclear Oncology, 2nd edition, Cumali Aktolun and Stanley J. Goldsmith (Ed.). Philadelphia; Wolters Kluwer Health; in press. 2. <u>Ueda M</u>, Fukushima T, Ogawa K, Kimura H, Ono M, Yamaguchi T, Ikehara Y, Saji H. Synthesis and evaluation of a radioiodinated peptide probe targeting $\alpha\beta6$ integrin for the detection of pancreatic ductal adenocarcinoma. <i>Biochem Biophys Res Commun.</i> 445(3): 661-6 (2014). 3. Ogawa K, Ohtsuki K, Shibata T, Aoki M, Nakayama M, Kitamura Y, Ono M, <u>Ueda M</u>, Doue T, Onoguchi M, Shiba K, Odani A. Development and evaluation of a novel ^{99m}Tc-labeled annexin A5 for early detection of response to chemotherapy. <i>PLoS One.</i> 8(12): e81191 (2013). 4. <u>Ueda M</u>, Ogawa K, Miyano A, Ono M, Kizaka-Kondoh S, Saji H. Development of an Oxygen-Sensitive Degradable Peptide Probe for the Imaging of Hypoxia-Inducible Factor-1-Active Regions in Tumors. <i>Mol Imaging Biol.</i> 15(6): 713-21 (2013). 5. <u>Ueda M</u>, Saji H. Visualization and Treatment of the HIF-1-Active Microenvironments in Tumors: Drug Design and Application of Oxygen-dependent Degradable Probes for Molecular Imaging of HIF-1-active Microenvironments. In: Hypoxia: Causes, Types and Management, Dirk Vordermark (Ed.). New York; Nova Science Publishers, Inc.; 223-236 (2013). 6. Fujii H, Yamaguchi M, Inoue K, Mutou Y, <u>Ueda M</u>, Saji H, Kizaka-Kondoh S, Moriyama N, Umeda IO. In vivo visualization of heterogeneous intratumoral distribution of hypoxia-inducible factor-1α activity by the fusion of high-resolution SPECT and morphological imaging tests. <i>J Biomed Biotechnol.</i> 2012(262741): 1-6 (2012). 7. Nakase I, Konishi Y, <u>Ueda M</u>, Saji H, Futaki S. Accumulation of arginine-rich cell-penetrating peptides in tumors and the potential for anticancer drug delivery in vivo. <i>J Control Release.</i> 159(2): 181-188 (2012) 8. <u>Ueda M</u>, Saji H. Imaging of Hypoxia-Inducible Factor-1-Active Regions in Tumors Using a POS and ¹²³I-IBB Method. In: Tumors of the Central Nervous System, Volume 5: Astrocytomas, Hemangioblastomas, and Gangliogliomas, M.A.Hayat (Ed.). New York; Springer; 129-134 (2012). 9. <u>Ueda M</u>, Kudo T, Mutou Y, Umeda IO, Miyano A, Ogawa K, Ono M, Fujii H, Kizaka-Kondoh S, Hiraoka M, Saji H. Evaluation of [¹²⁵I]IPOS as a molecular imaging probe for hypoxia-inducible factor-1-active regions in a tumor: Comparison among single-photon emission computed tomography/X-ray computed tomography imaging, autoradiography, and immunohistochemistry. <i>Cancer Sci.</i> 102(11): 2090-2096 (2011). 10. Kudo T, <u>Ueda M</u>, Konishi H, Kawashima H, Kuge Y, Mukai T, Miyano A, Tanaka S, Kizaka-Kondoh S, Hiraoka M, Saji H. PET imaging of hypoxia-inducible factor-1-active tumor cells with pretargeted oxygen-dependent degradable streptavidin and a novel ¹⁸F-labeled-biotin derivative. <i>Mol Imaging Biol.</i> 13(5): 1003-10 (2011). 11. <u>Ueda M</u>, Kudo T, Kuge Y, Mukai T, Tanaka S, Konishi H, Miyano A, Ono M, Kizaka-Kondoh S, Hiraoka M, Saji H. Rapid detection of hypoxia-inducible factor-1-active tumors: Pretargeted molecular imaging with a protein degrading in a similar mechanism to hypoxia-inducible factor-1α. <i>Eur J Nucl Med Mol Imaging.</i> 37(8): 1566-74 (2010).
<p>研究費の概算</p>	<p>消耗品</p> <ul style="list-style-type: none"> ・アミノ酸： 0.5万円×40 = 20万円 ・SCIDマウス： 0.5万円×60 = 30万円 ・HPLCカラム： 20万円×1 = 20万円 <p>その他</p> <ul style="list-style-type: none"> ・SPECT使用料： 5万円×6 = 30万円 <p style="text-align: center;">(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けてください。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お送りください。