

博士論文（要約）

アミノペプチダーゼ活性を標的とした新規高集積型がん
SPECT プローブの開発

阿部 篤生

論文題目 アミノペプチダーゼ活性を標的とした新規高集積型がん SPECT プローブの開発

氏名 阿部 篤生

これまで当研究室においては、がん組織特異的に活性が亢進している加水分解酵素、特にアミノペプチダーゼの活性を検出可能な **activatable** 型蛍光プローブを開発し、術中迅速がん蛍光イメージングなどに応用してきた。しかし、蛍光イメージングは時空間分解能に優れ、システムが簡便であるという利点があるものの、光の乏しい生体透過性により生体深部の観察には適さないという課題がある。そこで本研究では、生体深部の検出に優れた核医学イメージングに着目し、がん特異的加水分解酵素活性の検出を可能にする核医学プローブの開発を目指した。

ここでは、概念実証として、複数のがん種において活性の亢進が認められる γ -glutamyltranspeptidase (GGT) を標的とした SPECT プローブ **gGlu-4¹²⁵I-FMA** の開発を行った。組織からの速やかな **washout** を受けやすい小分子核医学プローブを腫瘍組織に留める工夫として、「GGT による **metabolic trapping**」を起こすような分子設計を行った。具体的には、酵素反応基質の *o* 位に **fluoromethyl** 基を有することで、GGT との反応後に **F⁻** を放出してアザキノンメチド中間体を生成するような構造とした。生成したアザキノンメチド中間体は高い求電子性を有し、タンパク質のチオール基などの求核剤と反応して共有結合を形成するために、GGT と反応後のプローブを細胞内に滞留させることができると予想した。

このように設計した **gGlu-4¹²⁵I-FMA** を合成・放射性標識し、UPLC-MS や HPLC による *in vitro* での酵素反応解析により、GGT との反応後にアザキノンメチド中間体が生成していることを支持する結果を得た。さらに、GGT 高活性あるいは低活性の細胞および GGT 阻害剤を用いた実験により、GGT 活性依存的に細胞内に放射性核種が取り込まれ、さらにそれらは細胞内に滞留する性質を持つことが明らかになり、「GGT による **metabolic trapping**」が起こっていることが示唆された。

これらの結果を受けて、**gGlu-4¹²⁵I-FMA** を *in vivo* での SPECT/CT イメージングへと応用した。皮下腫瘍モデルマウスの腫瘍内に直接プローブを投与した実験では、GGT 活性に依存して腫瘍内にプローブが残存することが明らかになり、生体イメージングへの応用可能性が示された。さらに、より臨床関連性の高いモデルとして、腹膜播種モデルマウスのイメージングへと応用した。GGT 高活性細胞を用いて作成した腹膜播種モデルマウスおよび腫瘍を持たない非担癌マウスに対して **gGlu-4¹²⁵I-FMA** を腹腔内投与して SPECT/CT イメージングを行ったところ、投与 24 時間後において、腹膜播種モデルマウスでは非担癌マウ

スと比較して腹腔内により多くのシグナルが残存していることが明らかになった。SPECT/CT 撮像後にマウスを解剖し、腸間膜のオートラジオグラフィ撮影や各臓器の放射能測定を行った結果と比較したところ、本プローブが腹膜播種巣を描出できていることが示唆された。

まとめると、gGlu-4¹²⁵I-FMA は生体深部の GGT 活性を描出できていると考えられ、がん核医学プローブとしての応用可能性が示された。また、進行性の腹膜播種の核医学プローブといった臨床的に需要の高いプローブの候補を開発したことは注目に値する。今後の展望としては、本研究では腹腔内投与による腹膜播種のイメージングを行ったが、これは比較的局所投与によるイメージングであるため、経静脈投与によるがんイメージングを行えるプローブの開発を目指す。まずは現在のプローブを経静脈投与した際の体内動態の精査から始め、その結果を受けてどのような改良が見込めるかを検討する。さらに、GGT 以外の加水分解酵素へのターゲットの拡張を目指す。本プローブは合成が比較的容易であり、同様の骨格を保ったままアミノ酸配列を変更するだけで新たなアミノペプチダーゼを標的としたプローブを合成することが可能になるという利点があるため、別の酵素を標的にしたプローブの開発にも取り組む予定である。また、¹²⁵I で標識した部分を ¹³¹I や ²¹¹At といった治療用核種で標識することによって、放射性核種内用療法薬の開発が可能になるかもしれない。これらを開発することで、核医学診断と治療を組み合わせたラジオセラノスティクスのペアを開発することが可能であり、今後治療用核種で標識した治療薬の合成および治療効果の評価を行っていく予定である。