

審査の結果の要旨

氏名 岩立 竜

本研究は、術中がんイメージング法の一つである蛍光イメージング法の実施において必要となる小分子蛍光プローブの論理的設計法を、有機光化学の観点から新たに確立し、その設計法を用いて開発した **activatable** プロテアーゼ活性検出プローブ群を用いて各種の新規がんイメージングに成功したものであり、下記の結果を得ている。

1. **Hydroxymethyl Rhodamine Green (HMRG)** を母核とするプロテアーゼプローブとの併用によるマルチカラーイメージングを実現するため、**HMRG** からの蛍光と区別可能になるような蛍光特性を持つ新規母核を設計した、具体的には、キサンテン環のアミノ基にアルキル鎖伸長を加えた新規スピロ環化ローダミン誘導体群の合成法を開発、有機合成した。
2. 分子内求核基を有するローダミン誘導体を示す、吸収・蛍光を有する開環体と無色・無蛍光の閉環体から成る分子内スピロ環化平衡を、ターゲットとするプロテアーゼによるアミド結合の切断により **pH** 依存性が変化し吸収・蛍光の **on/off** がおきるよう最適化した。分子内スピロ環化平衡の平衡定数 ( $pK_{\text{cycl}}$ ) を指標として、前項で合成したローダミン誘導体にハロゲン修飾を加えた新規スピロ環化ローダミン誘導体群を設計、有機合成した。
3. 合成した一連の新規ローダミン誘導体の中で最も蛍光量子収率が高く、長波長化した蛍光波長を持ち、適切な分子内スピロ環化平衡を示す **HMJCR** を母核として選択し、新規橙色 **GGT** 活性検出蛍光プローブ **gGlu-HMJCR** を設計、開発した。*In vitro* 酵素反応実験、三次元培養細胞スフェロイドイメージング、腹膜播種モデルマウスを用いた *in vivo* イメージングにて、**gGlu-HMJCR** が **GGT** 活性を特異的に検出できることが示された。
4. **gGlu-HMJCR** と既報の **HMRG** を母核とする各種プロテアーゼプローブを併用することで、マウス腹腔内において複数のプロテアーゼ活性を同時に多色で蛍光検出できることが示された。特に、カテプシン活性を検出する **Z-Phe-Arg-HMRG** との同時イメージングでは、直径 **1 mm** 以下の微小がんにおいてもプロテアーゼ活性パターンに応じてがんを弁別できることが世界で初めて示された。

5. 前項までで開発したローダミン誘導体の論理的設計法の拡張性を実証するため、ローダミンの10位元素をケイ素に置換したシリコンローダミン誘導体を母核とした新たな長波長化プローブの開発を行った。吸収・蛍光極大波長と分子内スピロ環化平衡の平衡定数 ( $pK_{cycl}$ ) を指標とし、新規シリコンローダミン誘導体を設計、有機合成したところ、最適化した蛍光特性とスピロ環化特性を持つ近赤外蛍光色素 HMJSiR の開発に成功した。
6. HMJSiR を母核として、新規近赤外 GGT 活性検出蛍光プローブ gGlu-HMJSiR を設計、開発した。 *In vitro* 酵素反応実験、生細胞イメージング、腹膜播種モデルマウスを用いた *in vivo* イメージングにて、gGlu-HMJSiR が GGT 活性を特異的に検出できることが示された。また、皮下腫瘍モデルマウスを用いた *in vivo* イメージングにて、皮下に存在する腫瘍の GGT 活性を蛍光検出できることも示された。
7. 蛍光イメージングと比べてより深部のイメージングが可能とされている、光音響イメージングへの応用を行った。前項までで開発したローダミン誘導体・シリコンローダミン誘導体の中から、体内に豊富に存在する内在性の光音響造影剤であるヘモグロビンの影響が少ないと考えられる波長領域に吸収を持ち、蛍光量子収率が低い誘導体を二種類選択し、それらを母核とした GGT 活性検出プローブ gGlu-HMDiMeR と gGlu-HMJSiR を用いた。
8. 上記二種の GGT 活性検出光音響プローブを用いて生細胞光音響イメージングを行い、いずれからも GGT 選択的で **activatable** な光音響シグナルが取得できることを示した。また、ヒト臨床検体への応用も行い、検体の一部から **activatable** な光音響シグナルが取得できることを示した。これらはがんの特徴の一つであるプロテアーゼ活性を直接的に光音響イメージングによって描出した、世界で初めての例である。

以上、本論文はスピロ環化平衡を示すローダミン・シリコンローダミン誘導体の論理的設計法を新規に確立することによって、任意の吸収・蛍光特性を持つプロテアーゼプローブ群の設計・開発を達成し、それらを用いて複数の新規がんイメージングに成功した。今後、蛍光や光音響を用いた術前・術中がんイメージング法の開発・発展において重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。