

平成 22 年 4 月 1 日現在

研究種目：基盤研究(A)

研究期間：平成 19 年度～平成 22 年度

課題番号：19205021

研究課題名（和文）励起緩和過程の精密制御に基づく、抗がん機能性医療分子の創製

研究課題名（英文）Development of functional anti-cancer molecules based on precise control of excitation and relaxation pathways

研究代表者

浦野 泰照 (URANO YASUTERU)

東京大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：20292956

研究代表者の専門分野：ケミカルバイオロジー

科研費の分科・細目：複合化学・生体関連化学

キーワード：蛍光プローブ、分子イメージング、がん、光誘起電子移動、エンドサイトーシス、リソソーム、ペプチダーゼ、光線力学的治療

1. 研究計画の概要

がんの克服は、現在の科学に課せられた 1 つの大きな命題である。本研究課題は、従来のがん診断プローブ、化学療法剤では不可能だった、がんの高選択的診断、治療を可能とする機能性医療分子の創製を目指すものである。すなわち従来の化学ベースの抗がん医療性分子は、がん細胞に集積した分子も未集積の分子も同じ機能を発揮してしまうため、診断においては高いバックグラウンドシグナルを発生することにより早期がんの発見を困難とし、またがん以外の部位に非特異的に取り込まれた抗がん剤は重篤な副作用を引き起こしてしまうことが、大きな問題点であった。本研究課題ではこの問題点を「励起状態分子」の「緩和過程の精密制御」によって克服し、がん細胞に取り込まれて初めて機能する高度な条件判断能を持った抗がん機能性医療分子の創製を目指す。具体的には、がん細胞外ではほぼ無蛍光であり、これががん細胞に選択的に取り込まれることで強蛍光性へと変化するがん診断分子や、がん細胞に取り込まれて初めて光増感能を発揮する高機能性 PDT 薬剤の開発を行う。光機能性の ON/OFF は、申請者がこれまでに構築してきた光誘起電子移動を原理とする設計法に基づき行い、これをがん選択的な取り込みを実現する抗体や糖タンパクと結合させることで、がん細胞のみを光らせる、あるいは殺傷する機能性医療分子を開発していく。さらに、蛍光内視鏡の最適化や超音波励起法と組み合わせるなどして、最終的には *in vivo* での診断、治療を実現し、化学的なアプローチに

よる抗がん分野の飛躍的進展を狙っていく。

2. 研究の進捗状況

(1) 生きているがん細胞の特性を利用した蛍光診断プローブの開発

本研究の中心的な課題である高選択的ながんの *in vivo* イメージングを実現する蛍光プローブとして、リソソーム内の低 pH 環境を認識して発蛍光性を示す蛍光プローブ、グリコシダーゼ（糖鎖加水分解酵素）活性を鋭敏に検出可能な蛍光プローブ、ペプチダーゼ活性を検出する蛍光プローブをそれぞれ複数開発することに成功した。この過程で、研究代表者が従来から精力的に研究を行ってきた光誘起電子移動に基づく分子設計法の拡充が達成されただけでなく、全く新たな分子設計法である分子内閉環・開環平衡に基づく手法の確立に成功し、各種加水分解酵素や ROS など幅広いターゲットに対する蛍光プローブの開発が可能となった。これらのプローブの機能は、*in vitro* 試験管内、培養細胞で確認されただけでなく、最終目標である担がんモデル動物での高感度・高選択的 *in vivo* がんイメージングも、本基盤研究で購入した蛍光イメージャーを活用して、複数既に達成された。本手法に基づくイメージングは、プローブに由来するバックグラウンド蛍光が非常に少なく、がん部位のみを選択的に客観性を持って診断できることから、今後のがん医療、特に内視鏡下診断・処置やがん外科手術において大きな役割を果たすものと期待している。

(2) がん細胞中でのみ増感能を発揮する増感治療プローブの開発とその超音波励起の可能性の追求

本基盤研究においてこれまでに、ローダミン類が Type I 型の増感剤として機能し、可視光照射による生細胞の効果的な殺傷が可能であることが明らかとなった。また一般に細胞殺傷用としてよく用いられている Type II 型の増感剤の機能を制御して、増感プローブを開発する原理の確立にも成功した。具体的には光誘起電子移動を動作原理とすることで、特定の酵素活性を有する細胞のみを殺傷可能な増感剤の開発が可能であることが明らかとなった。さらに分子内閉環・開環平衡に基づくプローブも一部開発に成功し、これら Type I・Type II 型プローブによるがん細胞の選択的光殺傷を現在鋭意検討中である。

3. 現在までの達成度

当初の計画以上に進展している。

理由：がん細胞の特徴を見分けて、これを選択的に検出する診断法として、がん抗体などのがん細胞特異的に取り込まれる蛋白質をベースとする手法だけでなく、がん細胞の持つ生物学的特徴を検知してこれを発見する蛍光プローブの開発にも成功するなど、当初計画していた以上に診断法の開発に関しては進展している。また光線力学的治療プローブに関しても、開発原理の確立と実際のプローブ開発、その機能検証まで完了しており、計画は十分に達成されつつある。当初掲げた研究計画の中で唯一、超音波励起プローブの開発がまだ達成されていないが、これは生物試料へと安定して超音波を照射可能な装置の開発がなかなか難しいためであり、装置の完成にはしばらく時間を要すると考えている。そこで現在では、本基盤研究終了までに、化学プローブ側の開発に関しては完全な目標達成を狙い、適切な装置が開発され次第すぐにプローブを活用したがん治療効果の検討が可能な状態にすることを目標としている。

4. 今後の研究の推進方策

診断手法に関しては、開発に成功した各種プローブの組み合わせによる、より高感度かつ客観性あるがん検出手法の確立を目指して研究を継続する。治療法の確立に関しては、表層がんにも有効である光照射によるがん殺傷法を中心に行い、担がんマウスを用いた in vivo での機能検証を最終年度の中心課題として研究を行う。

5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計13件)

Urano Y*, Asanuma D, Hama Y, Koyama Y, Barrett T, Kamiya M, Nagano T, Watanabe T, Hasegawa A, Choyke PL, Kobayashi H*: Selective molecular imaging of viable cancer cells with pH-activatable fluorescence probes. Nat. Med. 15: 104-109, 2009. (査読あり)

Kamiya M, Kobayashi H*, Hama Y, Koyama Y, Bernardo M, Nagano T, Choyke PL, Urano Y*: An enzymatically activated fluorescence probe for targeted tumor imaging. J. Am. Chem. Soc. 129: 3918-3929, 2007. (査読あり)

[学会発表](計54件)

Yasuteru Urano, Highly Selective Live Cancer Cell Imaging with Novel pH Activatable Fluorescence Probes, Gordon Research Conference, Lasers in Medicine & Biology (Invited), Jul. 24, 2008, Holderness School, Plymouth, NH, USA

浦野 泰照, In vivo cancer optical imaging with rationally and precisely designed fluorescence probes, 第68回日本癌学会学術集会 International Session (招待講演) 2009年10月2日、パシフィコ横浜、神奈川

[図書](計4件)

[産業財産権]

出願状況(計1件)

名称：がん診断薬

発明者：浦野泰照、長野哲雄、坂部雅世

権利者：国立大学法人東京大学

種類：特願

番号：2010-004794

出願年月日：2010/1/13

国内外の別：国内