

総括研究報告書

1. 研究開発課題名：「分子イメージング技術」(Theranostics を実現する ^{89}Zr 標識による新規抗体・DDS キャリアの開発)
2. 研究開発代表者： 松浦 栄次 (国立大学法人岡山大学 大学院医歯薬学総合研究科)
3. 研究開発の成果

本研究の目的は、 ^{89}Zr 標識ヒト低分子抗体によるがん病巣の PET 診断法を確立するとともに、抗体の標的性を付与した DDS キャリアによる Theranostics 技術 (診断・治療同時施行法) を確立することにある。この目的を達成するため、Theranostics 製剤を構成する以下の要素技術について検討・高度化を行った。すなわち、①多様ながん細胞に高発現するメソセリン (MSLN) に対する scFv 抗体の新規開発およびその ^{89}Zr 標識による PET イメージング薬剤化、DDS キャリアとして用いるラクトソームについて、②新規基材設計、③RNAi 製剤化、④抗体修飾・ ^{89}Zr 標識化による Theranostics 製剤化を行った。

①ヒト抗体ファージライブラリーを作製し、これより MSLN への親和性の高い抗 MSLN-scFv 抗体 6 種を取得した。これらの抗体からフローサイトメトリーを用いて MSLN 陽性がん細胞への反応特異性の高い抗体 3 種を選抜した。PET イメージング薬剤としての有用性を検証するため、各抗体に対して ^{89}Zr を標識した後、MSLN 陽性および陰性がん細胞を移植した担がんマウスに投与し、PET イメージングにより生体内分布を比較・検討した。その結果、2 種の抗体において投与後迅速な MSLN 陽性腫瘍への高い集積を認め、PET イメージング薬剤としての有用性が期待される抗体が選抜された。

②従来、 ^{89}Zr のキレート剤として DFO が用いられてきたが、DFO の Zr に対するキレート能は必ずしも高くはない。一方、フェリクロームは強力な鉄イオンキレート剤として知られ、その構造は側鎖にヒドロキシサム酸を結合した Orn の環状 3 量体である。そこで、側鎖にヒドロキシサム酸を結合した線状 3 量体を新たなキレート剤の骨格に選定し、Zr イオンは 4 価であることから、3 個のヒドロキシサム酸と 1 個のカルボキシル基をもつ構造とした。側鎖にヒドロキシサム酸を結合した Orn 誘導体を、C 末端をコハク酸イミドエステルとした 2 量体と、活性化エステル法にて縮合する経路を検討した。既に、2 量体の合成において同様の活性化エステル法を適用し、この縮合方法は確立していることから、同様の反応条件を適用して、目的物が得られると期待される。また、新規ラクトソーム基材 (A₃B) の臨界凝集濃度を評価したところ、80 nM 程度であることが分かった。PET イメージングでは、より低い濃度での癌部位の描出が要求されることから、臨界凝集濃度をさらに下げる分子設計を行った。すなわち、A₃B 型ラクトソーム基材において三本の poly(sarcosine) 鎖のポリ乳酸ブロックへ結合させるエステル結合をエーテル結合に変換する合成経路を考えた。保護基に Boc 基と Fmoc 基とを用いることで、選択的脱離反応を可能としている。実際に合成手順を最適化し、これらの合成経路を確立した。

③細胞内侵入性を高めるための cell-penetrating peptide (CPP)、および光応答エンドソーム脱出能を付与するための光増感剤を修飾したラクトソーム基材をアSEMBルし、DDS キャリアを作製した。また、siRNA をラクトソームに融合させるための疎水性修飾を試みた。CPP による細胞内侵入効率を評価した結果、7 種類の CPP から最も高効率な細胞内侵入に寄与するものが選択された。in vitro の実験系で siRNA の送達を確認され、その担癌マウス投与後の蛍光イメージングにより腫瘍集積性が確認された。

④ラクトソームへの ^{89}Zr 標識化プロセスの効率化を目的として、その組成および調製方法について検討を行った結果、粒子径が 28-35 nm 程度で標識効率 80%程度にて ^{89}Zr 標識ラクトソームが得られる条件を見出した。また、ラクトソームへ抗 MSLN-scFv 抗体を修飾した結果、MSLN 陽性培養がん細胞への取込が有意に向上した。さらに、 ^{89}Zr 標識・抗体修飾ラクトソームの担がんマウス投与後の生体内分布を PET イメージングにより調べた結果、抗体の修飾により MSLN 陽性腫瘍への集積性が向上することを示唆する結果が得られた。