

平成 27 年度 全体研究開発報告書

1. 研究開発領域： 疾患における代謝産物の解析および代謝制御に基づく革新的医療基盤技術の創出
2. 研究開発課題名： 臨床検体を用いた疾患部位特異的な代謝活性のライブイメージング探索技法の確立と創薬への応用
3. 研究開発代表者： 浦野 泰照（東京大学大学院薬学系研究科）
4. 研究開発の成果

1. 蛍光プローブライブラリーの開発

本研究開発課題の遂行に必須となる化学蛍光プローブライブラリーの構築に向けて、昨年度に確立した固相合成法の欠点が明らかとなったため、本年度はまず合成ルートを再考し、効率のよい固相合成法を確立した。本方法に則り、アミノペプチダーゼプローブと一部のエンドペプチダーゼプローブを合わせて、総計 300 種類程度のライブラリーの構築に成功した。さらにより長波長光で機能する赤色蛍光プローブの開発も開始し、液相合成にて gGlu 体、XP 体など既に HMRG でがんイメージング実績のあるプローブ類を 10 種類程度合成した。合成したプローブは、生細胞イメージングと臨床検体でのがんイメージングへの適用を開始し、一部の臨床検体では HMRG と遜色のない結果を得ることに成功した。今後、赤色プローブの固相合成法の確立も目指していく。

開発したプローブライブラリーは、順次瀬戸、斎藤、保科 G に供給し、大崎 G の開発するパターンニングデバイスを活用した臨床新鮮検体でのイメージング実験を遂行した。その結果、胃がん、肺がん、下咽頭がんなどで候補活性の同定に成功し、一部に関してはゲル分離と質量分析による方法で責任酵素の同定にも成功した。

大崎 G の開発するパターンニングデバイスに関しては、本年度から多種類のプローブ試薬のパターンニングへの拡張を目指し、多色化が可能なスタンプ台の研究開発を行った。試作デバイスとして、最終的に 1 cm² 当たり 16 ウェルおよび 32 ウェルのスタンプ・スタンプ台デバイスを作製し、モデル試料（鶏ササミ肉）に対して多種類のプローブ試薬をパターンニングする実験を行った。種々検討の結果、プローブ試薬をモデル試料上にパターンニングし、再現良く蛍光輝度の変化を観測できることが確認された。

瀬戸 G では前年度に引き続き、ヒト食道癌検体（内視鏡生検材料：114 例、ESD 検体：43 例、手術検体：86 例）を用いて、DPPIV 活性検出プローブの有用性を検討した。内視鏡生検材料を用いた検討では、現在までに集積したデータを統計学的に解析したところ、散布 5 分後で感度 98.3%、特異度 74.5%、正診率 85.2%と、現在臨床の現場で用いられているヨード染色法や NBI 法にも劣らない結果が得られた。

斎藤 G では引き続き胃がん ESD 検体におけるプローブスクリーニングを、浦野 G から派遣された学生と共に行い、早期胃癌の内視鏡切除検体を用いた検討で、特徴的な反応性を見せるプローブの発見に成功した。

保科 G では、臨床検体の動脈硬化病変及び瘤化病変に対して、蛍光プローブライブラリーを網羅的に適用する実験を開始し、瘤壁でより強い蛍光応答を示す候補プローブが見いだされた。