

平成28年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

- 事業名： (日本語) 次世代がん医療創生研究事業
(英語) Project for Cancer Research and Therapeutic Evolution
- 研究開発課題名： (日本語) 新規カルボキシペプチダーゼ蛍光プローブラリーの構築と臨床検体への適用による新がん診断技術の創製
(英語) Creation of a novel fluorescence probe library for carboxypeptidases and its application to clinical specimens for establishing a novel cancer diagnostic technology
- 研究開発担当者 (日本語) 国立大学法人東京大学 大学院薬学系研究科・医学系研究科
教授 浦野泰照
- 所属 役職 氏名： (英語) Graduate School of Pharmaceutical Sciences and Graduate School of Medicine, The University of Tokyo, Professor, Yasuteru Urano
- 実施期間： 平成28年5月25日 ～ 平成29年3月31日
- 分担研究 (日本語) カルボキシペプチダーゼ活性検出蛍光プローブラリーの構築
開発課題名： (英語) Creation of a novel fluorescence probe library for carboxypeptidases
- 研究開発代表者 (日本語) 国立大学法人東京大学 大学院薬学系研究科・医学系研究科
教授 浦野泰照
- 所属 役職 氏名： (英語) Graduate School of Pharmaceutical Sciences and Graduate School of Medicine, The University of Tokyo, Professor, Yasuteru Urano
- 分担研究 (日本語) プローブラリーの臨床検体への適用によるバイオマーカー酵素活性の発見と診断技法の確立
開発課題名： (英語) Establishment of biomarker enzymatic activities and diagnostic technology for cancer by applying a probe library to clinical specimens

研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人東京大学 大学院医学系研究科 講師 神谷 真子
所属 役職 氏名: (英語) Graduate School of Medicine, The University of Tokyo, Lecturer,
Mako Kamiya

II. 成果の概要 (総括研究報告)

本研究課題では、研究代表者グループは新規カルボキシペプチダーゼ蛍光プローブの設計とその液相・固相合成法の確立を目指す。さらに開発したプローブを神谷真子講師(東京大学大学院医学系研究科)らのグループとともに臨床検体へと適用することで、がんの迅速イメージングを達成する最適なバイオマーカーとしてのカルボキシペプチダーゼ活性を発見し、最終的には新規がん診断技術の創製を目指す。

平成28年度はこれまでに開発報告例のない可視光励起で機能するカルボキシペプチダーゼ活性検出蛍光プローブを、分子内スピロ環化平衡を原理とする分子設計法に則って開発した。この際、化合物構造解析の精度とスピードを向上させるために、平成28年度に400 MHz 核磁気共鳴装置と液体窒素蒸発抑制装置を購入した。最終的には、各種カルボキシペプチダーゼ活性を検出可能な複数の蛍光プローブの開発に成功し、*in vitro*系での確かに目的の機能を発揮することを確認した。また臨床検体由来サンプルでのスクリーニングを目指して、特に未だ良好なバイオマーカー酵素活性が見いだされていないがん種(前立腺がん、肺がん、大腸がん)の新鮮臨床検体の収集を開始した。一部を検体のまま、一部はライセートにして冷凍保管し、プローブライブラリーが完成し次第すぐにスクリーニングを始めることができる体制を整えた。

The primary purpose of this research is to develop novel scaffolds for activatable fluorescence probes based on liquid- and solid-phase syntheses, which are capable of detecting carboxypeptidase activities. The final goal is to find out specific biomarkers for cancer by applying fluorogenic probes to fresh clinical specimens resected from human patients, and to develop novel rapid and sensitive diagnostic technology for cancer during surgical operations. The former project will be carried out by the project leader's group, and the latter by Dr. Mako Kamiya's group in graduate school of medicine, the University of Tokyo.

In this fiscal year, we have developed novel fluorogenic probes for carboxypeptidases which work by visible light irradiation based on the intramolecular spirocyclization mechanism. For achieving this goal, syntheses of many pilot compounds were needed, therefore, we introduced a 400MHz NMR instrument and a liquid nitrogen generator for characterization of these pilot compounds. We have succeeded to develop a few fluorogenic probes for carboxypeptidases, and their function was proved in *in vitro* experiments.

For realizing screening experiments with clinical samples, we started to collect clinical specimens of prostate, lung, and colon cancers whose efficient biomarkers for realizing rapid intraoperative detection were not found so far. Clinical specimens were collected, and they and their lysate were stored in deep freezer for screening experiments.

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 0 件、国際誌 0 件）
なし

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. 新規 **Activatable** 型カルボキシペプチダーゼ活性検出蛍光プローブの開発とその応用、栗木優五、神谷真子、小松徹、上野匡、山下俊、國土典宏、浦野泰照、日本薬学会第 137 年会、2017/3/25、国内
2. “Novel fluorogenic small molecule probes for live imaging-based diagnosis”, Yasuteru Urano, 2016 Northeastern Asian Conference on Molecular Imaging-based Precision Medicine (Invited), China (Hangzhou), Nov. 12, 2016. 国外
3. “In Vivo Rapid Cancer Imaging Using Small Molecule-based Fluorogenic Probes”, Yasuteru Urano, The International Society for Fluorescence Guided Surgery (Invited), USA (Boca Raton Resort, FL), Feb. 15, 2017. 国外

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み
なし

(4) 特許出願
なし