

**先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム)
実施状況報告書(平成 23 年度)**

本様式の内容は一般に公表されます

| | |
|----------------|------------------------------------------|
| 研究課題名 | 新規ペプチド探索法と分子イメージングの融合による革新的ペプチド創薬システムの構築 |
| 研究機関・ 部局・職名 | 独立行政法人日本原子力研究開発機構・量子ビーム応用研究部門・研究主幹 |
| 氏名 | 石岡 典子 |

1. 当該年度の研究目的

放射性同位元素(RI)を活用して生体内で安定なペプチド薬剤の効率的な開発を可能とする革新的なペプチド創薬システムの構築を目指し、本研究課題を遂行する上で基盤技術となる(1)放射性同位元素(RI)標識ペプチドライブラリーの作製、(2)バインディングアッセイ、(3)細胞障害性評価の開発を目的とする。さらに、RI を利用した新しいペプチド探索法の開発として、Her2 親和性既知ペプチドを利用したスクリーニング条件を最適化し、RI を指標とする本ペプチドスクリーニング法の成立確認及び二次スクリーニング法の開発として、既知の Her2 阻害剤を用いた Her2 発現細胞に対する薬理効果の評価法の決定を目的とする。

2. 研究の実施状況

本研究課題を遂行する上で基盤技術となる RI 標識ペプチドライブラリーを确实・効率的に作製するため、ペプチド自動合成装置の整備及び当該装置を用いた放射性臭素の標識が可能なペプチド前駆体を合成するための基礎的検討を進めた。

RI 標識した Her2 親和性既知ペプチドを用いて細胞親和性及び選抜条件を検討するために、フェニルアラニン(Phe)の側鎖に有機スズを導入したスズ化ペプチド標識前駆体の合成に取り組んだ。合成装置による Fmoc 固相合成での利用及びスズ-臭素交換反応による放射性臭素の導入を視野に入れて前年度着手した Fmoc-スズ-Phe 誘導体の合成では、スズの導入過程で加熱による Fmoc 基の脱離が課題となっていたことから、より温和な条件でスズ化反応が進行する触媒を検討し、これまでに確立している Boc-Phe(I)-OMe を用いた反応で検討した結果、40°C、2時間の反応で50%程度の収率でスズ体が得られることが分かった。現在、本法を用いて Fmoc-スズ-Phe 誘導体の合成が可能かどうか検証中である。また、スズ化ペプチド標識前駆体の合成過程においてスズの安定性を確保するため、伸長、樹脂からの切出し、脱保護に必要な試薬の最適化を図った。放射線を指標とする選抜では、入手が容易なヨウ素-131 標識 Her2 親和性抗体を合成し、Her2 未発現及び発現細胞を対象に非特異的及び特異的吸着量を把握した。今後、放射性ヨウ素標識 Her2 親和性既知ペプチドを用いた選抜に取り組む予定である。

Her2 過剰発現細胞株の樹立では、Her2 配列を導入したプラスミドを構築し、MCF7 細胞に対して遺伝子導入を実施し、Her2 の mRNA 発現量の増加及び Her2 cDNA 配列のゲノム DNA 中への組込を確認したが、Her2 タンパク質発現の増加は不十分であった。引き続き検討を進め、Her2 の高発現細胞株を樹立し、薬理効果評価系を構築する。

様式19 別紙1

3. 研究発表等

| | |
|------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p>雑誌論文 計 2 件</p> | <p>(掲載済み一査読有り) 計 2 件 (1) Yasuhiro Ohshima, Hirofumi Hanaoka, Shigeki Watanabe, Yumi Sugo, Satoshi Watanabe, Hideyuki Tominaga, Noburu Oriuchi, Keigo Endo, and Noriko S. Ishioka, Preparation and biological evaluation of 3-[⁷⁶Br]bromo-[alpha]-methyl-L-tyrosine, a novel tyrosine analog for positron emission tomography imaging of tumors, Nuclear Medical Bioogy, 2011, 38, 6, 857-865, [DOI: 10.1016/j.nucmedbio.2011.02.001] (2) Keiichi Yamada, Shigeki Watanabe, Yasuhiro Ohshima, Hirofumi Hanaoka, Narutaka Tsukui, Chikako Takano, Aiko Yamaguchi, Hiroyuki Oku and Noriko S. Ishioka, Synthesis and <i>in vivo</i> evaluation of radiohalogen-labeled antitumor cyclic peptides, Peptide Science 2011, K. Sakaguchi (Ed.), The Japanese Peptide Society, 287-290. (掲載済み一査読無し) 計 0 件 (未掲載) 計 0 件</p> |
| <p>会議発表 計 8 件</p> | <p>専門家向け 計 8 件 (1) 大島康宏, 花岡宏史, 富永英之, 渡邊茂樹, 織内昇, 遠藤啓吾, 石岡典子, 3-[¹⁸F]Fluoro-α-methyl-D-tyrosineの腫瘍イメージング薬剤としての評価, 日本分子イメージング学会第6回学術総会・学術集会(2011年5月26-27日, 神戸) (2) 渡邊茂樹, 津久井匠隆, 花岡宏史, 山田圭一, 大島康宏, 飯田靖彦, 遠藤啓吾, 石岡典子, RI放射性ハロゲン標識環状ペプチド¹²⁵I-Sansalvamide A の合成と評価, 第48回アイソトープ・放射線研究発表会(2011年7月6-8日, 東京) (3) 山田圭一, 渡邊茂樹, 大島康宏, 花岡宏史, 津久井匠隆, 高野智香子, 山口藍子, 奥浩之, 石岡典子, 「放射性ハロゲンで標識化した抗腫瘍活性ペプチドの合成と<i>in vivo</i>動態評価」, 第48回ペプチド討論会(2011年9月27-29日, 札幌) (4) 大島康宏, 花岡宏史, 渡邊茂樹, 織内昇, 遠藤啓吾, 石岡典子, PET imaging of renal and bladder tumor with 3-[¹⁸F]fluoro-α-methyl-D-tyrosine (D-[¹⁸F]FAMT), 第70回日本癌学会学術総会(2011年10月3-5日, 名古屋) (5) 大島康宏, 花岡宏史, 富永英之, 渡邊茂樹, 須郷由美, 渡辺智, 織内昇, 遠藤啓吾, 石岡典子, 腫瘍PETイメージングのための新規チロシン誘導體, 3-[⁷⁶Br]bromo-α-methy-L-tyrosineの合成と生物学的評価, 第6回高崎量子応用研究シンポジウム(2011年10月13-14日, 高崎) (6) 大島康宏, 花岡宏史, 富永英之, 渡邊茂樹, 織内昇, 遠藤啓吾, 石岡典子, D体アミノ酸トレーサー 3-[¹⁸F]fluoro-α-methyl-D-tyrosine(D-[¹⁸F]FAMT) の腎集積性に関する検討, 第51回日本核医学会学術総会(2011年10月27-29日, つくば) (7) 渡邊茂樹, 山田圭一, 大島康宏, 花岡宏史, 津久井匠隆, 高野智香子, 山口藍子, 奥浩之, 飯田靖彦, 遠藤啓吾, 石岡典子「¹²⁵I標識環状ペプチドSansalvamide A誘導體の合成と評価」, 第11回放射性医薬品・画像診断薬研究会(2011年12月3日, 京都) (8) 山田景子, 山田圭一, 渡邊茂樹, 奥浩之, 石岡典子, 「生物活性ペプチドの標識合成に関する基礎的検討」, 日本化学会関東支部群馬地区地域懇談会(2011年12月10日, 群馬) 一般向け 計 0 件</p> |
| <p>図書 計 0 件</p> | |
| <p>産業財産権 出願・取得状況 計 0 件</p> | <p>(取得済み) 計 0 件 (出願中) 計 0 件</p> |
| <p>Webページ (URL)</p> | <p>独立行政法人日本原子力研究開発機構、医療・バイオ応用量子ビーム技術研究ユニット/RI 医療応用研究グループ、http://www.takajaea.go.jp/rab_div/mra/index_j.html</p> |
| <p>国民との科学・技術対話の実施状況</p> | <p>茨城県高等学校文化連盟「自然科学部会」冬季合同天体観測合宿、2011年12月22日、茨城県行方市(レイクエコー)、高校生・教員、約55名、合宿内にて、①講演ワークショップ:「癌診断薬・治療薬の開発」について紹介、②QTIME:対面方式にて生徒と一緒に「研究/研究者って?」について議論した。</p> |

様式19 別紙1

| | |
|-----------------------|--|
| 新聞・一般雑 誌等掲載 計0件 | |
| その他 | |

4. その他特記事項

実施状況報告書(平成23年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されます

1. 助成金の受領状況(累計) (単位:円)

| | ①交付決定額 | ②既受領額 (前年度迄の 累計) | ③当該年度受 領額 | ④(=①-②- ③)未受領額 | 既返還額(前 年度迄の累 計) |
|------|-------------|------------------------|--------------|-------------------|-----------------------|
| 直接経費 | 104,000,000 | 66,028,000 | 0 | 37,972,000 | 0 |
| 間接経費 | 31,200,000 | 19,808,400 | 0 | 11,391,600 | 0 |
| 合計 | 135,200,000 | 85,836,400 | 0 | 49,363,600 | 0 |

2. 当該年度の収支状況 (単位:円)

| | ①前年度未執 行額 | ②当該年度受 領額 | ③当該年度受 取利息等額 (未収利息を 除く) | ④(=①+②+ ③)当該年度 合計収入 | ⑤当該年度執 行額 | ⑥(=④-⑤) 当該年度未執 行額 | 当該年度返還 額 |
|------|--------------|--------------|----------------------------------|---------------------------|--------------|-------------------------|-------------|
| 直接経費 | 65,927,000 | 0 | 0 | 65,927,000 | 58,160,820 | 7,766,180 | 0 |
| 間接経費 | 19,808,400 | 0 | 0 | 19,808,400 | 19,808,400 | 0 | 0 |
| 合計 | 85,735,400 | 0 | 0 | 85,735,400 | 77,969,220 | 7,766,180 | 0 |

3. 当該年度の執行額内訳 (単位:円)

| | 金額 | 備考 |
|---------|------------|--------------------|
| 物品費 | 57,097,643 | ライブラリーマルチペプチド合成装置等 |
| 旅費 | 211,680 | 学会参加費等 |
| 謝金・人件費等 | 323,279 | 特定課題推進員人件費 |
| その他 | 528,218 | 成果報告Webサイト制作費等 |
| 直接経費計 | 58,160,820 | |
| 間接経費計 | 19,808,400 | |
| 合計 | 77,969,220 | |

4. 当該年度の主な購入物品(1品又は1組若しくは1式の価格が50万円以上のもの)

| 物品名 | 仕様・型・性能 等 | 数量 | 単価 (単位:円) | 金額 (単位:円) | 納入 年月日 | 設置研究機関 名 |
|-------------------------------|------------------------------------------------------------------|----|--------------|--------------|------------|---------------------------|
| ライブラリーマルチ ペプチド合成装置 | 米国アップテック 社製・タイタン357 | 1 | 20,286,000 | 20,286,000 | 2011/10/3 | 独立行政法人日 本原子力研究開 発機構 |
| ハイコンテツスク リーニングシステ ム | 米国Molecular Devices社製・ ImageXpressMicr o | 1 | 29,880,900 | 29,880,900 | 2011/10/24 | 独立行政法人日 本原子力研究開 発機構 |
| 浮遊細胞保持用手 動マニピュレーショ ンセット | ライカ マイクロシ ステムズ(株)製・ MON-202D | 1 | 815,971 | 815,971 | 2012/1/30 | 独立行政法人日 本原子力研究開 発機構 |
| 安定同位体 | Isoflex社製・se- 76 濃縮度99.6% 形状Elemental Powder ・2000mg | 1 | 1,246,350 | 1,246,350 | 2012/3/7 | 独立行政法人日 本原子力研究開 発機構 |