

課題番号	LS124
------	-------

**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 25 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) を利用した新規ペプチド探索法の開発を行うため、RI 標識チロシンランダムペプチドライブラリーから Her2 発現細胞と親和性を有するペプチドを一次選抜後、二次選抜として、RI 標識フェニルアラニン含有ランダムペプチドライブラリーから Her2 親和性ペプチド候補を絞る。次に、候補ペプチドの中から薬理作用を有するペプチドを選び出し、PET 用 RI 標識ペプチドを合成し、Her2 発現がん細胞株を移植したマウスにおける体内動態及び腫瘍集積性の評価を行い、Her2 を標的としたペプチド治療薬の開発システムとしての評価を行う。さらに、Her2 以外の標的分子に対しても同様の方法で実施し、本ペプチド創薬システムの汎用性を検討する。

2. 研究の実施状況

RI を利用して、がん細胞 (Her2) に集まるペプチドを $18^6 = 3400$ 万種類のペプチドライブラリー ($H-\gamma-(3-^{131}I^1-X^2-X^3-X^4-X^5-X^6-X^7-OH)$) から選抜するため、RI ペプチドスクリーニング手法の最適化に取り組んだ。

6 残基のランダムペプチドライブラリーの N 末端に RI 標識化アミノ酸を結合したペプチドライブラリーのうち、2、3 位を既知としたランダムペプチドライブラリー ($18^2 \times 2$ (D、L 体) 種類) の作製を終え、スクリーニングを開始した。4、5 位及び 6、7 位を既知とした $18^2 \times 2 \times 2$ 種類のライブラリーの作製については、ライブラリー作製の効率化を図るため、セグメント縮合を介した作製法の開発に取り組んだ。6 残基からなる Her2 親和性ペプチド配列を 3,4 位間でセグメント縮合した結果、目的物の他、エピメリ化に起因すると思われるジアステレオマーや副生成物が生成することが明らかになった。今後、反応条件と生成率についての詳細データを取得し、セグメント縮合による効率的なランダムペプチドライブラリーの作製について検討を進める。

一次スクリーニングにおいて、HER2 発現細胞だけではなく、HER2 未発現細胞に対しても高い結合を示すペプチドが多数存在した。Her2 のみからなる人工タンパク質を用いたスクリーニング系を構築するため、人工タンパク質溶液及び人工タンパク質結合ビーズとの結合実験を実施した。Her2 親和性ペプチドについてはどちらも有意な結合が認められなかったが、Her2 親和性抗体と人工タンパク質結合ビーズとの結合活性値は、Her2 発現細胞に比べ、5-10 倍高い結果となった。今後、Her2 親和性ペプチドの結合実験条件を最適化し、新たな評価法の開発を進める。

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 1 件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Yumi Sugo, Ichiro Sasaki, Shigeki Watanabe, Yasuhiro Ohshima, Noriko S. Ishioka, Synthesis and <i>in vitro</i> evaluation of ⁶⁴Cu-labeled peptide for tumor imaging, Peptide Science 2013 (The Japanese Peptide Society, K. Sugimura (Ed.)), 2014, 355-358. <p>(掲載済み一査読無し) 計 1 件</p> <ol style="list-style-type: none"> 2. Ichiro Sasaki, Keiichi Yamada, Shigeki Watanabe, Hirofumi Hanaoka, Yumi Sugo, Hiroyuki Oku, Noriko S. Ishioka, Synthesis of radiohalogen-labeled peptide with high affinity to HER2/neu receptor, JAEA-Review2013-059, JAEA Takasaki Annual Report 2012, 2014, 96. <p>(未掲載) 計 0 件</p>
<p>会議発表 計 7 件</p>	<p>専門家向け 計 7 件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Shigeki Watanabe, Recent advances of radiobromine chemistry, ISRS2013 (20th International Symposium on Radiopharmaceutical Science), May 12-17, 2013, Jeju, Korea. 2. Hirofumi Hanaoka, Shigeki Watanabe, Yasuhiro Ohshima, Yurika. Suzuki, Aiko Yamaguchi, Tomoya Uehara, Noriko S. Ishioka, Yoshito Tsushima, Keigo Endo, Yasushi Arano, Development of ⁷⁶Br-labeled α-methyl L-phenylalanine for imaging tumors, Society of Nuclear Medicine and Molecular Imaging, 2013 Annual Meeting, June 8-12, 2013, Vancouver, BC, Canada. 3. 石岡典子、量子ビームを活用したがんの精確な診断と治療に役立つ新規 RI 薬剤の開発、Asian Nuclear Medicine Graduate Program (ANMEG Program) キックオフシンポジウム、2013 年 9 月 13 日、前橋、群馬。 4. Yumi Sugo, Ichiro Sasaki, Shigeki Watanabe, Yasuhiro Ohshima, Noriko S. Ishioka, Synthesis of ⁶⁴Cu-labeled MARSGL peptide as an imaging probe for HER2/neu overexpressing tumors, APSORC'13 (5th Asia-Pacific Symposium on Radiochemistry), Sept. 22-27, 2013, Kanazawa, Japan. 5. 石岡典子、量子ビームを活用した核医学診断・治療のための RI-DDS の開発、第 56 回群馬県核医学研究会、2013 年 11 月 2 日、前橋、群馬。 6. Yumi Sugo, Ichiro Sasaki, Shigeki Watanabe, Yasuhiro Ohshima, Noriko S. Ishioka, Synthesis and <i>in vitro</i> evaluation of ⁶⁴Cu-labeled peptide for tumor imaging, APIPS 2013 (4th Asia-Pacific International Peptide Symposium), Nov. 6-8, 2013, Osaka, Japan. 7. 須郷由美、佐々木一郎、渡辺茂樹、大島康弘、石岡典子、腫瘍の PET イメージングに有用な ⁶⁴Cu 標識ペプチド化合物の合成、日本化学会関東支部群馬地区地域懇談会、2013 年 12 月 4 日、高崎、群馬。 <p>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</p> <p>(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.taka.jaea.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>	<ol style="list-style-type: none"> 1. 「第37回花と緑の見学会」、2013年4月7日、独立行政法人日本原子力研究開発機構高崎量子応用研究所、一般市民、来場者数約1120名、研究所で実施している放射線利用研究についての説明および「最先端・次世代研究開発支援プログラム」の研究内容について紹介するとともに、質問等に応じた。 2. 「群馬ちびっこ大学」、2013年8月9-12日、群馬大学第9回こども体験教室、一般市民、来場者数一日平均1464人、研究所で実施している放射線利用研究について紹介すると共に、放射線加工で強化した和紙を使ったうちわ作りを子供たちと一緒に実施した。 3. 「核医学検査技術学Ⅱ」、2013年10月8日、29日、群馬県立県民健康科学大学、診療放射線学部2年次生、約35名、「サイクロロンとPET薬剤」について、開発研究～臨床利用について講義した。

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25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せん

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	85,469,000	18,531,000	0	0
間接経費	31,200,000	25,640,700	5,559,300	0	0
合計	135,200,000	111,109,700	24,090,300	0	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	4,573,772	18,531,000	0	23,104,772	23,104,772	0	0
間接経費	0	5,559,300	0	5,559,300	5,559,300	0	0
合計	4,573,772	24,090,300	0	28,664,072	28,664,072	0	0

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	12,767,009	2-クロロトリチルクロライド樹脂購入費等
旅費	328,600	第20回放射線薬剤科学に関する国際会議(ISRS2003)への参加費等
謝金・人件費等	9,999,713	特定課題推進員及びテクニカルパートタイマー人件費
その他	9,450	ピペット修理費
直接経費計	23,104,772	
間接経費計	5,559,300	
合計	28,664,072	

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
2-クロロトリチルクロライド樹脂	渡辺化学工業製・200-400 mesh A00187 350g	1	595,035	595,035	2013/11/19	独立行政法人日本原子力研究開発機構
Fmoc-D-Ile-OH	AAPPTEC社製・AFI201・25g	2	587,790	1,175,580	2013/11/27	独立行政法人日本原子力研究開発機構