

平成 30 年度～令和 2 年度

文部科学省 私立大学研究ブランディング事業

## 研究成果報告書

---

---

受容体特異的画像化技術を基盤とする  
がん放射線内用療法(radio-theranostics)  
研究拠点の形成

---

---

令和 3 年 8 月 京都薬科大学

## 目 次

ご挨拶	1
はじめに；本事業の紹介	2
<b>事業計画・事業報告</b>	
事業計画書	4
進捗状況報告書・成果報告書	17
最終評価報告書	27
<b>研究活動成果</b>	
がんラジオセラノスティクスを目指した化合物創製とイメージング研究	28
セラノスティクス研究の推進に向けたイメージング技術の基盤形成	44
Notch 受容体を標的とする内用療法に基づく難治性腫瘍治療法の開拓	52
生体イメージング技術と iPS 細胞技術の融合によるパーキンソン病の 病態解明と新規診断・治療法の開発	60
ブランディング活動	78
本事業を振り返って	287
論文・著書	290



## ご挨拶

### がん放射線内用療法研究拠点の形成を目指したブランディング事業

京都薬科大学 学長 後藤直正

京都薬科大学は 1884 年の創立以来 130 有余年にわたって 22,000 人を超える卒業生を社会に輩出してきました。同時に優れた薬学研究者の育成にも努め、多くの本学卒業生や大学院修了生がアカデミアや企業で活躍しています。このような京都薬科大学の長い伝統に基づく研究基盤と大学運営体制が評価され、『受容体特異的画像化技術を基盤とするがん放射線内用療法（radio-theranostics）研究拠点の形成』事業が平成 30 年度「私立大学研究ブランディング事業」【タイプ B（世界展開型）】に採択されました。ブランディング事業の意義は「研究を研究者個人の学術的な側面だけに留まらず、大学の組織的な取組へと昇華させ、全学的な看板となる研究を推進し、その成果をもって、大学の目指す将来展望に向けて独自色や魅力を発信する取組である」とされています。本事業では、まさにこの意義にのっとり、京都薬科大学における特徴的な研究課題の一つである“がん放射線内用療法 radio-theranostics [therapeutics（治療）+diagnostics（診断）]”を全学的支援の下に飛躍的に発展させ本学独自の次世代がん研究のブランドとして世界に発信することを目的としました。

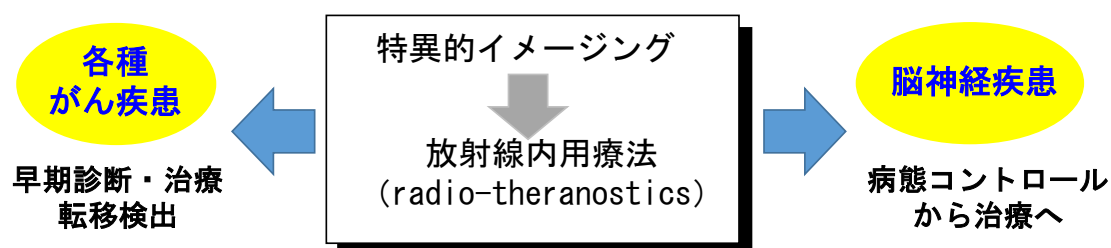
本報告書に詳述されておりますように、この目的を達成するためこれまで本学が整備してきた放射性同位元素研究センターを一層拡充するとともに、最新鋭イメージング機器の導入を行いました。本事業によってこれらの積極的方策が有機的に連携され、放射性同位元素を活用する研究手法が様々な分野の研究者にとって身近なものになりました。その結果、難治性がんや脳神経疾患の原因分子を画像化し疾患の早期診断や治療に応用することが手の届く研究目標となりました。

本事業は、従来までの個別の研究プロジェクトへの支援ではなく、学長のリーダーシップのもとに全学的な「ブランディング」に係る取組として支援される事業です。このような全学的事業の実施により、「先端的な研究に支えられた薬学のプロフェッショナルの育成を追究する大学」としての国内“京薬ブランド”を一層強化し世界に発信することができました。本事業で集中的に取り組んだ難治性のがんや脳疾患の診断と治療は今後も喫緊の課題であり続けると考えられます。本事業報告書を通じて本学における活発な研究活動の進展をご理解いただき、将来の共同研究体制構築に引き続きご支援賜りますようお願いいたします。

## はじめに；本事業の紹介

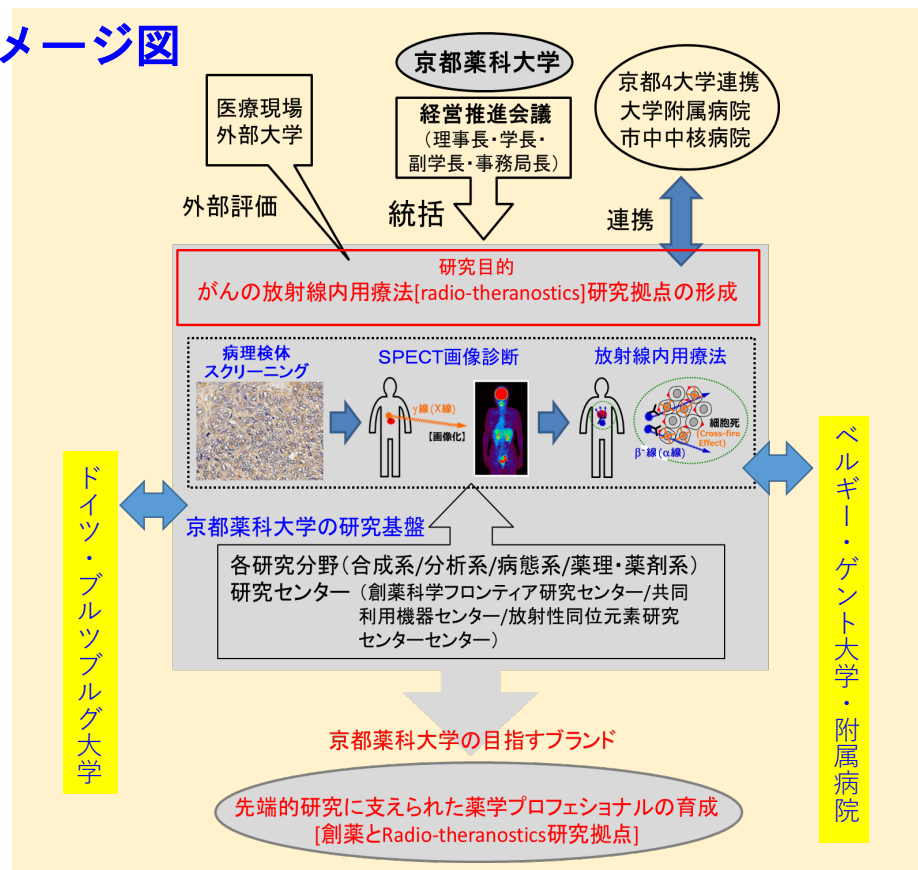
京都薬科大学 副学長 赤路健一

平成30年度に採択された京都薬科大学「私立大学研究ブランディング事業」に選定されました『受容体特異的画像化技術を基盤とするがん放射線内用療法（radio-theranostics）研究拠点の形成』事業の概要を紹介いたします。ブランディング事業の意義は「研究を研究者個人の学術的な側面だけに留まらず、大学の組織的な取組へと昇華させ、全学的な看板となる研究を推進し、その成果をもって、大学の目指す将来展望に向けて独自色や魅力を発信する取組である」とされています。本事業では、まさにこの意義にのっとり、京都薬科大学における特徴的な研究課題の一つである“がん放射線内用療法”を全学的支援の下に飛躍的に発展させ本学独自の研究成果として発信することを目的としました。本事業概要をまとめると、『京都薬科大学が持つ優れた研究基盤をもとに放射線内用療法 radio-theranostics [therapeutics（治療）+diagnostics（診断）] 研究拠点を構築・機能させ、本学の次世代がん研究のブランドとすることである。これらの成果を突破口として、「先端的な研究に支えられた薬学のプロフェッショナルの育成を追究する大学」としての国内“京薬ブランド”を世界に発信する』となります。この目的を達成するため、これまで本学が整備してきた放射性同位元素研究センターの拡充と最新鋭イメージング手法を有機的に連携させ、がんや脳神経疾患の原因分子を画像化し、疾患の早期診断や治療に応用することが具体的な目標となります。この内容を示すのが下記に示すイメージ図になります。



本事業は、従来までの個別の研究プロジェクトへの支援ではなく、学長のリーダーシップの下で推進される研究を通じた全学的な「ブランディング」に係る取組として支援される事業です。18歳人口の急激な減少や地域社会の衰退への懸念が高まる中、京都薬科大学が持つ強み・独自性をより一層強化しグローバル社会における本学の存在を強く発信する一助となる事業であります。本学での事業概要詳細については、以下に記載させていただいておりますが、事業体制全体を次のページに示します。本学における活発な研究活動の進展をご理解いただき、将来の共同研究体制構築にご協力賜ります様どうぞよろしくお願いいたします。

## 事業イメージ図

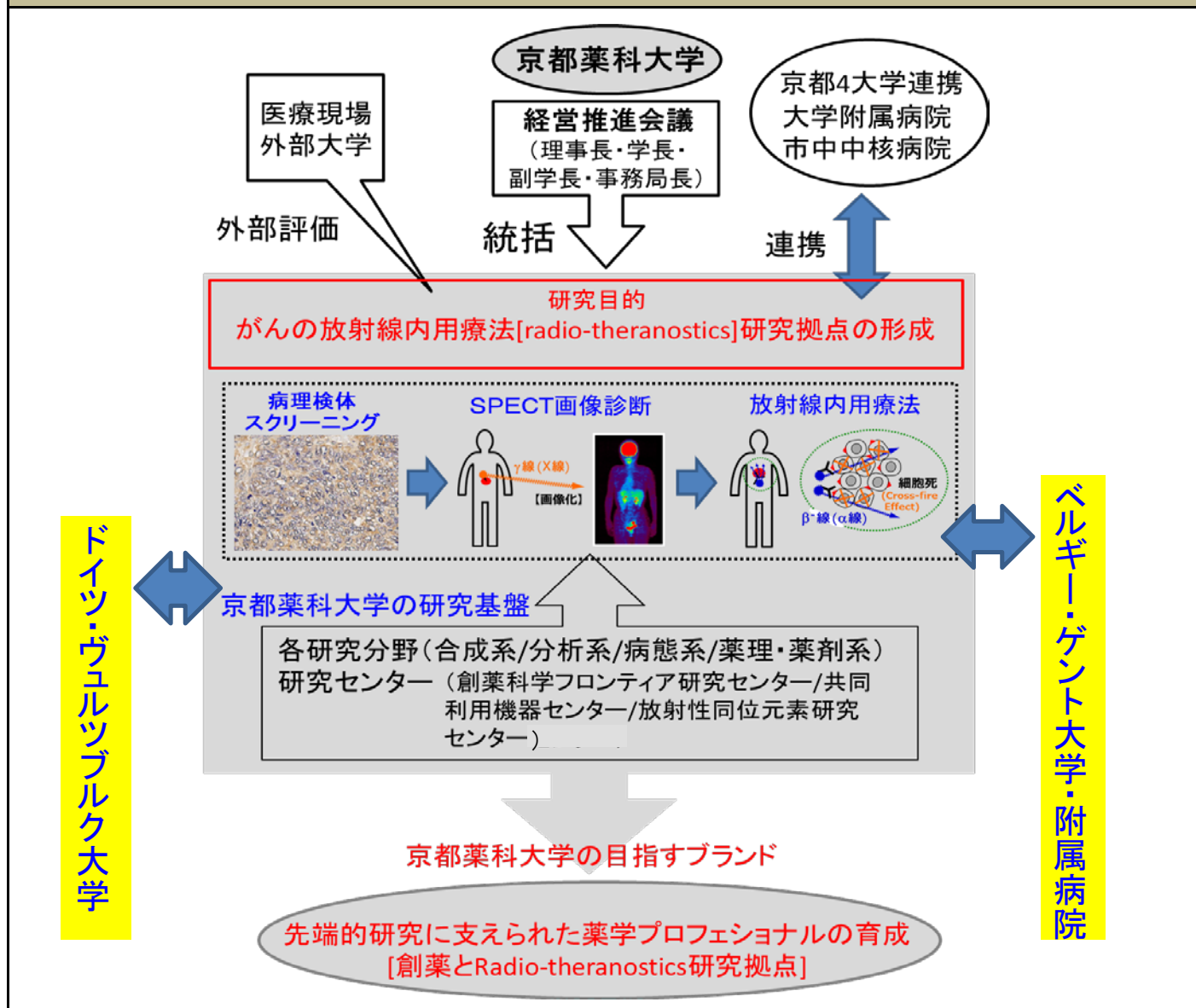


# 事業計画・事業報告

## 平成30年度私立大学研究ブランディング事業計画書

## 1. 概要（1ページ以内）

学校法人番号	261006	学校法人名	京都薬科大学			
大学名	京都薬科大学					
主たる所在地	京都市山科区御陵中内町5					
事業名	受容体特異的画像化技術を基盤とするがん放射線内用療法 (radio-theranostics) 研究拠点の形成					
申請タイプ	タイプB	支援期間	5年	収容定員	2160人	
参画組織	薬学部・放射性同位元素研究センター・創薬科学フロンティア研究センター・共同利用機器センター					
審査希望分野	人文・社会系		理工・情報系		生物・医歯系	○
事業概要	本事業の目的は、京都薬科大学が持つ優れた研究基盤をもとに放射線内用療法に基づく radio-theranostics [therapeutics (治療) + diagnostics (診断)] 研究拠点を構築・機能させ、本学の次世代がん研究のブランドとすることである。本事業成果を突破口として、「先端的な研究に支えられた薬学のプロフェショナルの育成を追究する大学」としての国内“京薬ブランド”を世界に発信する。					
イメージ図						



## 2. 事業内容（2 ページ以内）

### （1）事業目的

#### ■事業目的

本事業の目的は、アカデミアとしての京都薬科大学が持つ研究基盤を活用することで放射線内用療法に基づくradio-theranostics [theranostics=therapeutics(治療)+diagnostics(診断)] 研究拠点を構築し、京都薬科大学の次世代がん研究のブランドとする事である。本事業を基盤とする先端的研究で得られる成果を世界に向けて発信し、次世代型放射線内用療法を提案する。これにより、「先端的研究に支えられた薬学のプロフェッショナルの育成を追究する大学」として認知されている国内“京薬ブランド”を世界に発信し国際的連携研究体制を構築する。

#### ■Radiotheranosticsへの期待と課題

Radio-theranostics [theranostics=therapeutics (治療) +diagnostics (診断)] は核医学の領域で今後の発展が最も期待されているがん治療法のひとつであり、微小がんの病巣可視化からシームレスにがん治療へと移行できる**内用放射線医薬品**を用いる治療法である。内用放射線医薬品は、手術で除去不可能ながんや薬剤耐性を示すがんに対する効果的治療法であると同時に、**微小な転移がん細胞に対しても効果を示す次世代医薬品**として期待されている。また、放射性核種を適切に選択することで同一分子骨格を分子イメージング(画像)診断にも利用できるため、**がんの超早期発見**にも大きく貢献できる次世代がん診断法としても大いに期待されている。さらに、①薬剤集積部位の可視化による適応可能症例の迅速診断、②投与前後の画像解析に基づく定量的な治療効果の判定、③有害事象の予測、などにも適用可能な画期的抗がん薬へも容易に展開できる。

このような幅広い応用可能性にもかかわらず、現状は使用可能な放射性核種が限られていることや被曝コントロールなどの観点から、放射線内用療法の適用症例は極めて少数である。さらに、日本国内における入院施設(病床)も極めて限られており、実際の放射線内用療法を受けるためにはヨーロッパなどの海外大学病院での入院が必要になる。

京都薬科大学では、上記のような可能性を秘めつつも国内展開が制限されてきた放射線内用療法に焦点を絞り、これまで京都薬科大学で進めてきた基礎的がん研究成果に基づく次世代がん研究展開のための基盤整備を進めてきた。具体的には、放射線内用療法の核となるがん特異的画像化に特化したイメージング薬剤の創製研究のための人的・物理的研究基盤の整備を進めるとともに、学内放射性同位元素研究センターで取り扱える**放射性核種を60種にまで拡充**した。本研究ブランディング事業により、京都薬科大学がこれまで築いてきた多様な基礎研究基盤の上に上記の新たな研究基盤整備を行うことで、次世代に向けた新たな大学ブランドの実体化と世界展開を図る。

#### ■京都薬科大学のブランディング

京都薬科大学では、以下に示す“創立150周年への飛躍を目指したマスタープラン”の筆頭に「先端的研究の展開と教育への反映」という独自の研究ポリシーを掲げている。京都薬科大学がこの研究ポリシーに基づいてこれまで築き上げてきた基礎研究能力は、“**研究の京薬**”という一般的ブランドとしてすでに国内では社会的に認知されている。このブランド認知は、本学で現在進めている「新規分子標的治療薬創製に向けた大学発ベンチャー基盤の確立」研究が平成27～31年度・私立大学戦略的研究基盤形成支援事業に採択された大きな原動力となっている。本ブランディング事業では、このような基礎研究基盤をもとに、基礎研究を臨床に直結できる新たな研究ブランド構築を目指し、上記戦略的基盤形成事業とは全く異なる視点からの次世代がん研究、すなわちradio-theranostics研究を遂行する。

京都薬科大学では本研究ブランディング事業推進のため、他学では取り扱いの煩雑さのため長期縮小傾向にあった放射性化合物研究の新規手法開拓や研究施設の維持・拡充に努めてきた。特に、radio-theranostics研究に適用可能なほぼすべての放射性核種を取り扱える施設への転換申請を進め、2018年5月に原子力規制庁から**60種類の放射性核種の取り扱い承認**を得た。これらの核種はradio-theranostics研究を遂行するために必要となるほぼすべての核種を網羅するものであり、本学の放射性同位元素研究センターの施設を活用した本学独自の放射性医薬品研究環境が整備されたと考えている。さらに、本年度までの本学独自の予算措置により、微小がん病巣の高選択的かつ高感度イメージングを可能にする機器整備を終えている。すなわち、病理検体を利用した特異的がん細胞の検出が可能な**蛍光・放射性同位体マルチプル検出画像解析システム**（2016年度予算措置）および小動物を利用したγ線・X線検出用**SPECT/CTシステム**（2018年度予算執行）を導入し本格稼働を始めている。また、上記の研究基盤構築と並行して、本ブランディング研究推進を目的とした研究基盤の構築を進めてきた。すなわち、精密有機合成と化合物分析に関する研究能力ならびに分子レベルでの薬物作用機序解析の研究能力を持つ複数の研究室からなる統合研究チームの形成である。本ブランディング事業により、これらの**研究基盤及び研究推進体制を学長主導によって強力にバックアップし、汎用性の高い高感度イメージング法の開拓と新たな内用放射線抗がん薬の開発研究を効率的に推進する**。このような統合的研究に基づくradio-theranostics研究を京都薬科大学の次世代研究ブランドとすることは、本学の将来ビジョン「**先端的研究に支えられた薬学のプロフェッショナルの育成を追究する大学**」の実現に向けた中核事業となるものである。

#### 【大学の将来ビジョン】

1884(明治17)年に設立された京都薬科大学の建学の精神は「愛学躬行」(学問を愛し実践する)である。この建学の理念をもとに創立150周年に向けた学長主導による全学的検討によって2017年に制定された将来ビジョン-マスタープラン-における“京薬ブランド”は、「先端的研究に支えられた薬学のプロフェッショナルの育成を追究する大学」である。



## 【大学の将来ビジョン】（続）

このために取るべき大学の方針の筆頭に掲げられている項目が「**先端的研究の展開と教育への反映**」であり、社会において京都薬科大学が果たすべき役割として掲げられている項目は「**医療界の各領域でリーダーとなる人材を輩出する大学へ**」である。この将来ビジョンの確実な達成に向け、2017年度から第3期中期計画（5年間）が策定され、外部ブランディングシンクタンクからの助言のもと次世代“京薬ブランド”の発信事業が推進されつつある。

## （２）期待される研究成果

## ■研究テーマの概要

本研究で用いるradio-theranosticsプローブには、がん細胞に発現している特定の蛋白質を標的とする特異性の高い標的認識構造を放射性同位元素キレートユニットとカップリングさせた基本骨格を導入する。すでに特定の前立腺がんを対象として、この画像化が有効であることを確認している（本学代謝分析学分野・木村准教授らの研究）。また、標的認識構造を高集積性リガンドへと最適化することで、**原発巣のみならず微小転移がん組織をも認識可能なプローブ**とする。これにより、がん根治の最も大きな障害となっている転移がんにも対応できる内用療法を実現できる。このため、①がん特異的蛋白質への**選択性と集積性の向上**を目指したプローブ構造最適化、②臨床応用に直結した**病理検体を活用**した効率的スクリーニング系の開拓、③内用放射線医薬品としての評価及び**動態解析**、に重点を置いた研究を全学体制で実施する。対象とするがん臨床例としては主に肺がんを取り上げ、特異的受容体（EGFR,PMSA,CXCR4,Kiss1R等）を分子レベルで特異的かつ高感度で検出できるプローブ構造最適化を優先する。なお、これらの特異的受容体は、肺がんのみならず甲状腺がんなどのいくつかのがんにも特異的に発現している事が報告されている。したがって、本研究成果を他のがんにも適用することが可能である。

## ■研究の独創性と期待される成果

以上の研究内容を実施するための研究計画は「5. 年次計画」の項で詳述するが、その研究内容の独創性と期待される効果・貢献の概要は以下のとおりである。

①**高集積性プローブの設計**；がん細胞に発現している多様な標的受容体のリガンドペプチドをもとに、高集積性リガンド構造を探索する。ついで、得られた最適リガンドにリンカーを介してキレートユニットを結合させ、様々な放射性同位元素や蛍光団を導入する。本高集積性プローブを用いることにより小動物での特異的受容体のオンタイム検出が可能になる。また、従来の非選択的リガンドによる検出法でのがん細胞の見落としを解消でき、がん細胞転移状況も正確に判定できる。これらの研究段階では、本学の創薬系研究分野、分析系及び物理化学系研究分野の研究能力を最大限活用する。

②**病理検体を利用した迅速スクリーニング系の構築**；臨床応用可能なプローブ開発を迅速化するため、臨床病理検体を利用した汎用スクリーニング系を確立する。すでに本学共同利用機器センター・長谷川准教授らは、神経内分泌がんの病理標本を用いてソマトスタチン受容体を標的とするプローブの有効性を確認し、がん形成段階に応じた受容体サブタイプを選択的に識別できることも確認している。本学の病理・生化学・臨床腫瘍系研究室との緊密な連携とともに、地域中核病院から病理標本の供給を受けるための研究倫理委員会承認も得ている。

③**内用放射線医薬品としての評価**；以上の細胞及び組織レベルでの検討結果をもとに、放射性核種を導入したプローブの内用医薬品としての評価を動物レベルで検証する。この段階での投与及び解析実験は、本学放射性同位元素研究センターで実施する。同センターでは小動物のSPECT/CT撮像が可能な装置をすでに導入済みであり、多様な放射性核種に基づくこれまでにない内用医薬品候補化合物の迅速スクリーニングが可能な体制をすでに構築している。

## ■国際的研究拠点への展開

京都薬科大学では本研究ブランディング事業推進を目的として、数年来外部研究機関との共同研究推進に向けた基盤整備を進めてきた。その一環として、下記の本学創薬科学フロンティア研究センター講演会等でradio-theranostics研究トピックを取り上げ、関連研究者との連携体制構築の端緒とするとともに学内コンセンサスの醸成に努めてきた。

2015年度講演会・特別講演「**画像診断—形態の撮影から機能、組織に迫る撮像へ—**（奥山智緒診断部長・遠隔画像診断イメージ・コミュニケーション）」

2016年度講演会・特別講演「**医療が望むこれからのフォトニクス—手術支援システムへの応用—**（高松哲郎教授・京都府立医科大学医学フォトニクス講座）」

2017年度講演会・特別講演「**放射性薬剤を用いて病気を診る・治す**（中本裕士准教授・京都大学医学部附属病院・放射線部）」

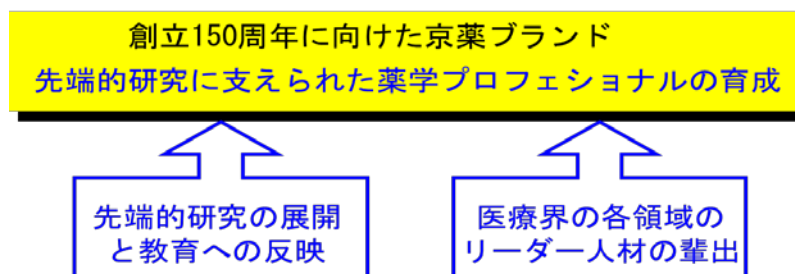
2017年度講演会・特別講演「**分子イメージングとトランスレーショナルリサーチ**（樋口隆弘画像診断医学部部長・国立循環器病研究センター）」

現在、これらの講演会を通じた国立循環器病研究センターとの連携体制構築のめどを立てるとともに、**ドイツ・ヴュルツブルク大学**との連携体制を構築しつつある。さらに、本学独自の予算措置によるSPECT/CT機器導入を通じて、**ベルギー・ゲント大学と附属病院**との連携を可能にした。上記したようにradio-theranostics研究は大きな可能性を秘めており、本ブランディング事業による国際的連携関係の確立と展開が日本でのこの分野の研究加速に大きく寄与できると考えている。

### 3. ブランディング戦略（5ページ以内）

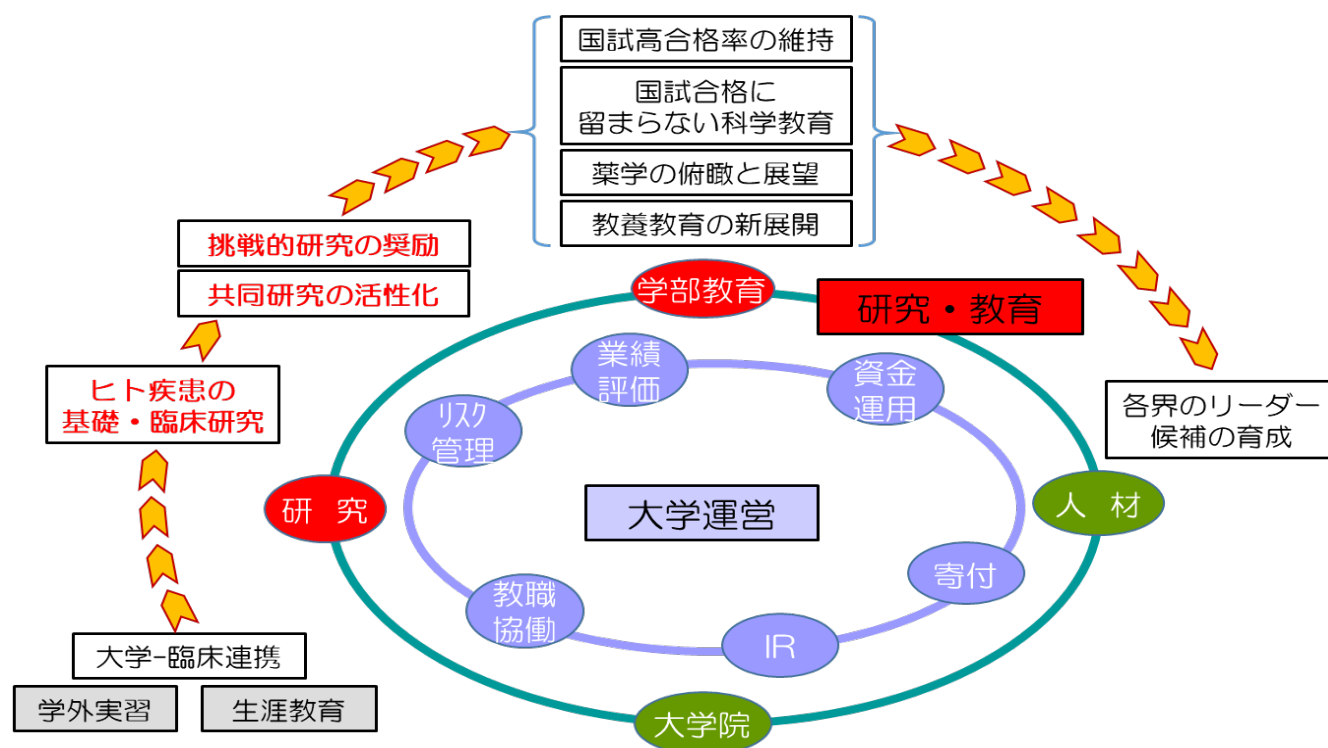
#### ■大学将来ビジョンに基づく独自色

京都薬科大学の建学の精神は「愛学躬行」（学問を愛し実践する）であり、この建学の理念をもとに本学の将来ビジョンが策定されている。京都薬科大学では、学長主導のもと、全学教職員の議論を経た中期計画を5年ごとに策定している。2017年を初年度とする第3期中期計画は、創立150周年に向けた将来ビジョン・マスタープランをもとに策定されている。本将来ビジョンで掲げられている“京薬ブランド”は、「先端的研究に支えられた薬学のプロフェッショナルの育成を追究する大学」である。本ブランド構築に向けた大学方針の筆頭に掲げられている項目が「先端的研究の展開と教育への反映」であり、社会において京都薬科大学が果たすべき役割として2番目に掲げられている項目が「医療界の各領域でリーダーとなる人材を輩出する大学へ」である。



このマスタープランに掲げられているブランドと第3期中期計画の概要(下図)はすでに学内に周知・説明されており(メール配信や2017年5月31日開催の全体説明会等)、全教職員の基本認識となっている。本ブランディング研究事業は、この将来ビジョンのトップに掲げられている“研究の京薬”を具現化するものであり、薬科大学の大きな役割である医療界への貢献を強力に推進するための中核事業となるものである。

#### 第3期中計(2017-2021年)概要



#### ■対象ステークホルダーと情報発信

##### 1. 受験生、学部生、大学院生

本事業期間を通じての最も重要なステークホルダーと考えている。本研究事業の概要と進展を定期的シンポジウム等で公開・紹介することで、学部生及び大学院生の研究マインドの醸成に役立てる。周知のためのその他の主な手段としては、大学ホームページ、広報誌（KPUニュース）、オープンキャンパスなどを利用する。大学ホームページにはすでに大学情報誌を公開しているが、本事業紹介ページを新たに設け、在学生の保護者などをはじめとした学内外のステークホルダーに広く研究成果を紹介する。また、本学同窓会誌「京薬会誌」にも定期的に本事業内容や成果を紹介し、社会で活躍中の本学卒業生に本研究事業の内容と意義を理解していただく。このような取り組みを通じて、より多くの本学学部生・大学院生がアカデミアをはじめとする研究関連職種に就職し、関連研究領域の活性化に貢献できるようにする。



また、地域中核病院等の医療機関における核医学の将来を具体的にイメージさせ、新しい領域の医療に関わる薬剤師としての貢献の重要性を自覚させる。大学入学前後のもっとも重要なステークホルダーに上記のような情報発信を継続することにより、“研究の京薬”のイメージを浸透させる。また、このような意識を学生・大学院生に浸透させることは、本学のブランド「先端的な研究に支えられた薬学のプロフェッショナルの育成を追究する大学」に基づく6年制薬学部を認識するきわめて大きな契機となる。

## 2. 医療系研究機関及び学术界

事業の進展とともに比重が高まるステークホルダーであると考えている。本研究事業の進展に伴って得られる成果を広く関連研究機関に紹介することで、京都薬科大学が核医学におけるradio-theranostics研究の拠点であることを伝える。薬学を中心とする医療系学術機関から頂いている“研究の京薬”のブランド認識をもとに、京都薬科大学が次世代型放射線治療研究の中核研究拠点であるとの認識を世界に広める。学術誌や各種専門学会での成果公表が最も重要なブランディング活動になるが、下記に示すブランディングシンクタンクとの連携のもと新たな広報チャンネルの開拓に努める。並行して、地域における京都薬科大学のプレゼンスを示すため、本学が構成員である京都ウェルネス産業コンソーシアムの代表である京都府商工労働観光部と連携しつつ関連産業界への広報活動を進める。

### ■大学イメージ

在学生・研究機関・関連企業などすべてのステークホルダーに強く浸透させたいイメージは、“研究の京薬”のブランドである。すでにこれまでの戦略的研究基盤形成支援事業等を通じて一定のブランド認識をいただいているが、基礎研究や創薬研究基盤に基づくがん治療薬研究に強い大学のイメージをいっそう浸透させたい。このような大学ブランディング事業は上記の第3期中期計画の大きな柱の一つとなっており、外部ブランディングシンクタンクとの連携を保ちつつ従来になかった新たな試みを進める。

特に本研究ブランディング事業については「非侵襲的がん診断と放射線治療に基づく新たながん治療法；radio-theranostics」の概念を京都薬科大学のイメージと直結させたい。このため、「2.事業内容■京都薬科大学のブランディング」の項で述べた新たな研究チームの形成や新鋭撮像装置の導入については2018年6月20日付でプレスリリースを行い、2018年6月26日付の化学工業日報紙面に掲載された。今後も本事業による研究進展に応じて同様のブランディング活動を継続し、京都薬科大学の研究ブランドイメージの浸透を図る。

### ■情報取得・解析と情報発信

#### 1. 情報取得

主要なステークホルダーである学生・大学院生からは、カリキュラムや進路等に関わる学内各種説明会や学内シンポジウムなどの機会ごとにアンケート等を実施し、自由意見記載を求めている。特に、在学生を対象として開催している大学独自の“KPUシンポジウム”には、学部1～4年次生が参加しやすい日程設定とされていることもあり毎回200名を超える参加者がある。シンポジウム参加学部生が専門分野での研究活動を開始する前に本学の研究実績を把握し、本学の研究ブランドに対する理解を深める貴重な機会となっている。本シンポジウムはすでに9年目を迎え、毎回のシンポジウム後に学生とシンポジウム講師との交流会を開催している。交流会に参加した学生の意見から、特に学部初年次生に本学の研究実績についての認識が深められていることが把握できている。

学部学生・大学院生と並ぶ重要なステークホルダーである受験生については、年間3回行われるオープンキャンパスで保護者を含めたアンケート調査を実施している。このアンケートでも“京都薬科大学の130年余にわたる伝統”と“研究への積極的な取り組み”の2点が、受験生とその保護者にとっての京都薬科大学のイメージの筆頭であることを確認している。オープンキャンパスアンケート結果の変遷は年毎の取りまとめデータとして総括され、教授会・理事会等での報告後広く学内に周知されている。

京都薬科大学は地域の中核病院である音羽病院との合同臨床医薬カンファレンスを3年前から定期的に年数回程度開催しており、カンファレンス後には交流会を実施している。本カンファレンスは病院の医療関係者と本学の教員・大学院生を主な対象としており、学外医療機関から見た本学のイメージを把握するためのきわめて有効な機会となっている。本カンファレンス後交流会での意見交換からも、本学の研究に対する意識や研究成果について理解いただいていることが十分把握できている。

報道関係者各位

#### 京都薬科大学 セラノスティクス創薬研究基盤を構築 分子イメージング研究の新たな領域を創造し、世界貢献を目指す

2018年6月、京都薬科大学は、新たなセラノスティクス創薬研究の展開を目指し、学内の放射性同位元素研究センター（センター長：後藤直正学長、薬学博士）にベルギーMOLECUBES社製の最新鋭SPECT（単光子放射型コンピュータ断層撮影）ならびにCT（コンピュータ断層撮影）装置を導入しました。同時に、放射性同位元素研究センターで扱える放射性同位元素を18核種から60核種へと大幅に拡充しました。これにより、様々なタイプのがんの診断と治療を並行して行えるセラノスティクス創薬を目指す研究基盤を構築しました。

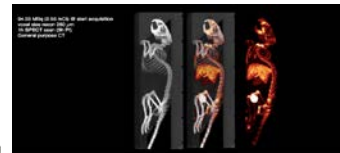
中略

京都薬科大学では関連研究分野の研究者からなる「セラノスティクス創薬研究」グループを発足させ、前立腺がん、乳がん、肺がん、膵がんなどを対象とする精度の高い診断薬および治療薬の開発をすでに始めています。さらに、学部学生がこれらの研究に加わることで、新しい診断・治療法に対する深い理解と実践能力を持った次世代型薬剤師の育成を進める計画です。同時に、放射性医薬品製薬企業・病院・国内外の大学や研究機関などと連携しつつこれまでにない創薬シーズを探し出し、京都薬科大学から世界に向けて新しい医療を提供することを目指しています。

SPECT/CT装置（MOLECUBES社提供）



SPECT/CT装置で撮影した画像例（MOLECUBES社提供）



## ■情報取得・解析と情報発信（続）

## 2. 情報の的確な解析に基づく現状把握と改善

上記アンケート等でこれまでに得られている情報や学生情報、大学基準協会あるいは薬学教育評価機構などからの外部評価結果の定量的解析を進めるため、2016年度からInstitutional Research活動を担うIR委員会が新たに設置されている。統計数学に造詣の深い専門教官が委員長となり、学生の基礎データや大学が実施している各種イベントの実績データを効率よく解析する環境を、事務局内に構築している。

ただ、これまで蓄積されてきた基礎データのほとんどがペーパー媒体として保存されてきた。このため、情報の的確な解析に多くの時間が必要となり、多方面にわたる情報の活用が困難であった。この点を改善するため、上記した本学の新たなブランド構築を目指した第3期中期計画において、**情報媒体の電子化**を計画的に進めることが挙げられている。2018年度現在、学生情報の一元管理が可能な教務ソフトや文章解析ソフトの導入をすでに終え、活用に向けた研修を実施している。これらの電子化により、本学の研究ブランドに関する各種アンケート結果を**数値化し、ブランドの浸透度や理解度の変遷をデータに基づいて統計解析**できる環境が整えられた。本研究ブランディング事業においても、数値基盤に基づいた情報解析による機動的戦略立案が飛躍的に効率化される。

これらのエビデンスに基づく解析をもとに、イベント内容と参加ステークホルダーに応じたアンケート実施方法や質問項目の改善を進める。あわせて、ペーパーアンケートからSNSアンケート方式への変更を行うなど、本事業に関わるそれぞれのステークホルダーに適した対応を進める。

## 3. 情報発信の多様化

これまで、従来の学術論文・学会発表・ホームページ・大学パンフレット等による情報発信を行ってきたが、本研究ブランディング事業の進展に伴い**外部ブランディングシンクタンクとの連携による情報発信の一元管理**を進めている。学内に広報専門委員会を設置するとともに、社会に対する本学のブランド浸透に関する新たな取り組みの検討を進めている。その広報活動による一定の成果として、上記した本研究事業にかかるプレスリリースによる専門業界紙への掲載等が挙げられる。

上記のブランディング活動と並行して、新たに本事業内容紹介の広報誌を発行し電子化を進めると同時に、関連企業・医療機関へはハードコピー版を別途配布し広報を徹底する計画である。また、新たに「京都薬科大学紀要」を電子ジャーナルとして発刊し、本事業成果のみならず学内研究センターや初年次教育グループなどからの成果を一元化させる。これらの**大学独自の情報発信手段を電子化**することで多様なステークホルダーへの周知を図るとともに、本研究事業の節目に当たる中間評価及び総括評価年度には特集号を発刊する計画である。

上記の電子化に伴う新たな情報発信と並行して、これまで進めてきた学術的発表やシンポジウム開催、公開講座等の事業は継続して進める。また、事業紹介ホームページは少なくとも月に1回の更新を行う予定である。同時にアクセス数を確認し、ブランドイメージ浸透度の指標とする。

## ■ブランディング戦略の工程表

以下に本ブランディング戦略の基礎となる京都薬科大学第3期中期計画と関連づけてブランディング戦略の工程を示す。

	2018年度	2019年度	2020年度	2021年度	2022年度
将来ビジョンの周知	第3期中期計画2年目	同3年目	同4年目	同5年目	
	第3期中期計画では、「薬学のプロフェッショナルの育成」及び「先端的で高度な研究が行える大学」を将来ビジョンとした推進項目について、学内イントラ上に構築された「中期計画進捗管理システム」により、進捗状況をリアルタイムで学内職員全員が共有できる体制としている。進捗状況は推進担当責任者（学長・副学長・事務局長）により評価を受け、PDCAサイクルに従い推進される。				
ステークホルダーへの浸透度	・大学HPに本事業紹介ページを解説 ・キックオフシンポジウムの開催 ・本事業広報誌の発行	・学内ミーティングの開催 (事業進捗度評価)	・中間評価シンポジウムの開催 ・学外ホルダーへの中間評価の周知	・学内ミーティングの開催 (事業進捗度評価)	・総括評価シンポジウムの開催 ・学外ホルダーへの総括評価の周知
学内ホルダー	事業紹介HPの更新、シンポジウム等での成果発表				
学外ホルダー	事業紹介HPの更新、事業広報誌の発行				
情報取得	各種アンケートの実施と電子化				
情報発信	アンケート結果の解析・活用		情報発信の電子化、解析結果の公表、事業関連論文の発表		

本研究ブランディング事業においても基本的にこの第3期中期計画に従ってブランディング工程を進める計画である。すでに今年度ブランディングにかかる予算措置を終えており、上記したように外部ブランディングシンクタンクとの連携の下、事業進展に応じて広報戦略等の機動的立案を進める体制が整っている。

また各工程の進展具合について担当部局での状況確認を半年に1回実施し、適切なPDCAサイクルに従った次期計画修正が行える体制をとっている。さらに、このサイクルに関わらず、**関連教職員が工程の進展状況をオンタイムで確認**できるweb環境を構築しており、日常的なチェックが可能な体制を整えている。これらのPDCAサイクル及び日常チェックは、上記した各種データの電子化に基づく客観的評価を基礎とする。

#### ■本研究ブランディング事業の進捗状況把握

1. 「4. 事業実施体制」に詳述するように、本研究ブランディング推進に関わる最高意思決定機関である経営推進会議のもとに、**ブランディング事業推進連絡会議**（責任者；副学長）を置く。事業推進連絡会議には研究事業参画研究者の参加を求め、少なくとも月に1回進捗確認会議を開催し研究進捗報告を受ける。同時に、進捗状況の把握をもとにした月次活動計画を立案する。

2. ブランディングイメージの浸透度や情報発信に関する評価をタイムリーに解析する。それぞれのステークホルダーを対象とするイベントのアンケート結果はすくなくともイベント終了後1ヶ月を目途にデータ解析を終え、以後のブランディング活動計画立案の参考とする。

3. 上記1及び2で取りまとめた進捗状況を合わせて、経営推進会議で達成度を評価する。必要であれば、学内広報委員会に検討を指示する。

本評価を少なくとも年2回実施し、進捗状況に基づく適切なブランディング戦略を検討するとともにその後の実施方針を決定する。本方針に基づき、ブランディング事業推進連絡会議と関連事務部局が連携して新たな目標達成に努める。

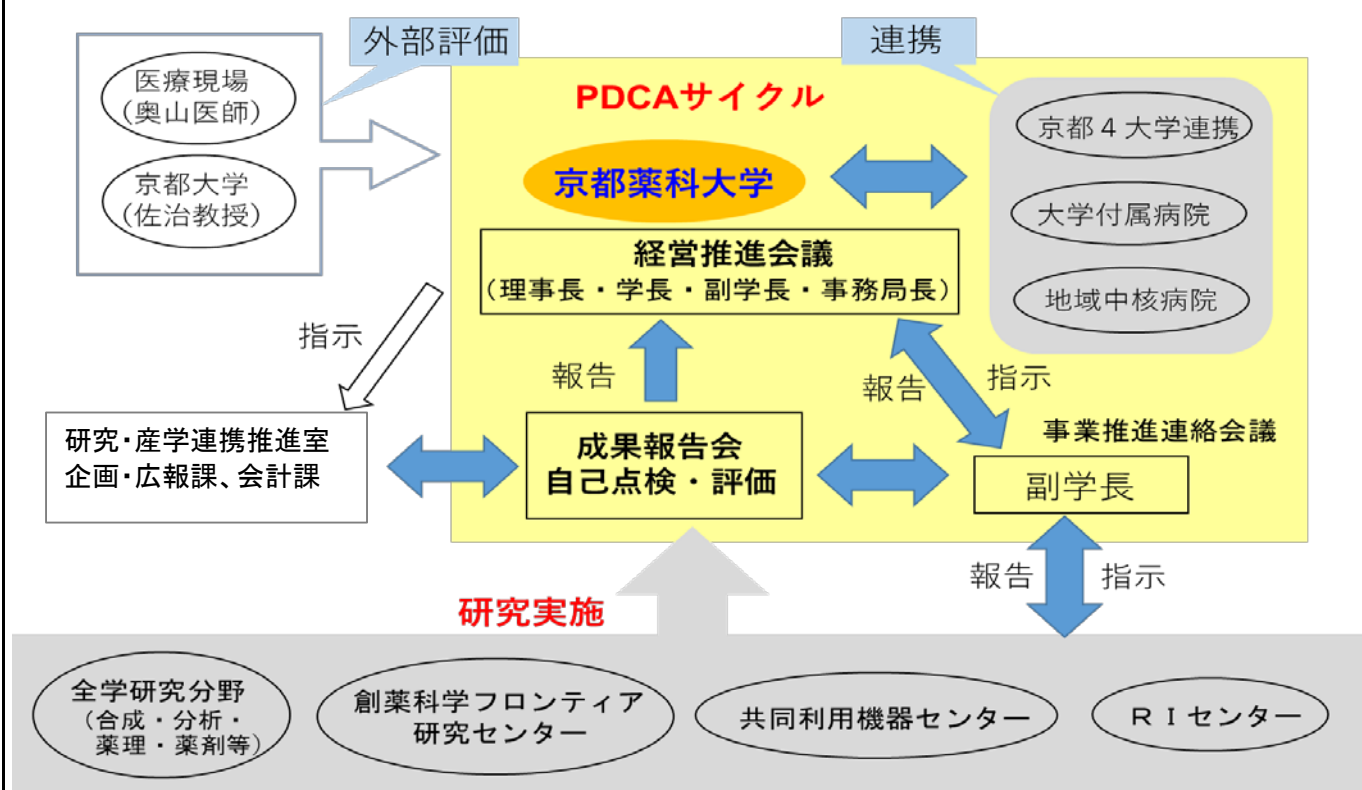


## 4. 事業実施体制（2 ページ以内）

### ■全学的実施体制

本研究ブランディング事業を、京都薬科大学・経営推進会議をトップとする統括体制のもとに実施する。経営推進会議は、大学経営及び将来ビジョンに関わる案件の最高審議・決定機関である。同会議は、法人理事長、大学長、副学長、事務局長から構成され、予算の裏付けを伴う大学経営案件の最高意思決定機関である。すでに2016年7月開催の経営推進会議での審議により、ブランディング研究事業に人的・資金的支援を含む全面的支援を大学から提供することが決定されている。また、2017年度から始まる第3期中期計画立案及び予算措置についても本経営推進会議での議論を基礎として進められている。

本研究ブランディング事業の推進にあたっては、迅速な意思決定が可能な単科大学の規模の利点を生かした学長のリーダーシップのもと、本研究事業推進連絡会議責任者（副学長）の報告や研究進捗状況（研究成果報告会・自己評価結果）に即応した将来展望を経営推進会議でタイムリーに決定する。また、毎年研究成果発表会では、研究成果を学内外に公表するとともに学外からの評価を受ける。本実施体制により、多様な外部評価や連携機関との研究進展状況が直接かつタイムリーに学長に届けられるとともに、学長からの速やかな各担当部門への通知が可能になる（下図）。下記に詳述するように、京都薬科大学ではこれまでの外部機関との連携関係をもとに、本事業にかかる学外評価や連携体制、連携研究機関との共同研究体制をすでに構築している。これら学外機関との有機的連携にはすでに多くの実績を積んでおり、本事業に関わる連携においても全く支障なく実施できる。



### ■研究実施体制

本研究ブランディング事業の学術基盤は、京都薬科大学の主要研究分野・各センターがこれまで構築してきた優れた研究基盤である。Radio-theranostics研究の必須分子である新規イメージング分子プローブ開拓研究及び内容放射性医薬品への展開を担うのは、代謝分析学分野（木村寛之准教授、有光健治助教）、創薬科学フロンティア研究センター（小林数也准教授）、共同利用機器センター（長谷川功紀准教授、服部恭尚講師）、放射性同位元素研究センター（河嶋秀和准教授）に所属する若手研究者を中心とする分野横断型研究グループである。これらの研究者が、本研究事業推進連絡会議の主要メンバーとなる。リガンド合成及び構造最適化研究には、薬品製造学分野（山下正行教授）及び薬品化学分野（赤路健一教授）を中心とする創薬科学系研究分野が参画する。がん細胞の生化学・生理学研究には、病態生理学分野（芦原英司教授）を中心とする生命薬科学系研究分野が参画する。がん細胞特異的受容体発現などの腫瘍関連生理学については、臨床腫瘍学分野（中田晋准教授）を中心とする病態薬科学系研究分野が参画する。新規イメージング試薬の体内動態研究には、薬剤学分野（勝見英正准教授）および薬物動態学分野（栄田敏之教授）を中心とする医療薬科学系研究分野が参画する。

本研究組織の統括を直接担うのは、京都薬科大学副学長・研究科長を長とする本研究ブランディング事業推進連絡会議である。実際の統括及び検証サイクルは以下のとおりである。

## ■PDCAサイクル

①**研究活動**；まず、月1回開催される事業推進連絡会議で進捗確認と計画修正が協議され、新しい成果目標が設定される。このサイクルを毎月繰り返すとともに、半年ごとに取りまとめを行う。取りまとめ結果について経営推進会議での評価を受け、次期半期の成果目標が設定される。以上の、月次、半期及び年次評価サイクルを繰り返すことで、**現状把握と研究進展状況に応じた機動的な目標設定**を行う。各年次の達成度については、別途学内研究成果発表会を開催し広く学内に公表するとともに、ホームページ等で公開する。下記に述べる外部評価は、年度ごとの経営推進会議での評価及び公開成果報告会に基づいて実施する。以上のサイクルを経て3年後の中間報告を行い、事業後半期の成果目標設定を行う。中間報告及び総括報告については、外部評価員の取りまとめ評価を受ける。

②**ブランディング戦略**；事業推進連絡会議で議論される毎月の進捗結果と研究・産学連携推進室が取りまとめるイベントデータ解析をもとにして、**ブランド浸透度の数値解析**を行う。この結果をもとに、研究データ取得の優先度とイベントターゲットを決定する。これらの数値データをもとにして、四半期ごとをめぐり外部ブランディングシンクタンクとブランディング戦略の点検・修正及び新たな方針策定を行う。さらに、必要と認められる場合にはプレスリリース等積極的な外部への広報を進める。具体的な広報媒体等については、外部ブランディングシンクタンクと本学広報部門との密接な連携のもとに詳細を決定する。

③**事業全体のPDCAサイクル**；事業全体のPDCAサイクルの統括は経営推進会議が担う。本事業推進連絡会議の取りまとめを行う副学長（研究科長）が経営推進会議の構成メンバーであるため、最高意思決定機関である経営推進会議がタイムリーに事業進捗状況を把握できる。事業全体を俯瞰する立場から上記①及び②で得られた客観的データを評価し、年度ごとの成果確認と達成目標の修正を行う。当初予算外であっても、必要に応じ機動的な予算措置を行う。

## ■学外連携

本研究事業の外部評価を、大学研究者として京都大学産学連携本部・佐治英郎教授（薬学博士）、放射線科医師として滋賀成人病センター研究所画像研究部門専門研究員・奥山智緒医師（医学博士）から継続して受ける予定である。佐治教授は、京都大学薬学部で一貫して放射性薬品化学研究を続けてこられた放射性医薬品研究の第一人者である。現在、京都大学・産学連携本部に所属しておられ、アカデミアの立場から本事業評価をいただける最適任の研究者である。奥山医師は京都府立医科大学放射線科で長く臨床に携わってこられた現役の臨床医であるとともに、核医学研究者としても多方面でご活躍されている。京都薬科大学でもご講演をいただいたこともあり、本学の研究環境・施設についても認識していただいている。臨床面からの要請に基づく的確な評価をいただけると考えている。

京都薬科大学はこれまで京都地区の国公立大学（京都工芸繊維大学、京都府立医科大学、京都府立大学）との京都4大学連携機構協定に基づくライフサイエンスに重点を置いた連携研究活動を継続して行ってきた。本ブランディング事業推進に当たっては、これら大学連携に加え地域基幹病院との連携を強める。これにより、腫瘍とその病理検体について医療現場の要請に基づくタイムリーな選択が可能になり、社会的要請に応じた研究を展開できる。また、京都地区には日本を代表する京都発祥の計測機器企業があり、本研究ブランディング事業の進展に応じてこれら企業との新たな産学連携が可能になると考えている。

## ■国際連携

本研究事業の一環である分子イメージングプローブの開発については日本国内でも多くの報告例がある。しかし、これらのプローブを治療あるいはその前段階まで結びつけた研究は非常に少ない。一方、海外では臨床展開の例はあるものの、動物実験へのハードルが高くその段階で開発の足踏みを余儀なくされている薬剤が多くみられる。本研究ブランディング事業を国際連携で行うことにより、これら双方での問題点を解決することが可能になる。

京都薬科大学における本研究事業中核研究者は、すでに国立循環器病研究センター・樋口隆弘画像診断医学部 部長との研究連携体制を整えている。さらに、ヨーロッパにおける放射線医学研究の中心の一つである **ヴュルツブルク大学**の研究チームとの連携を進めつつある。本研究事業によって京都薬科大学で開発した放射性医薬品の臨床研究をドイツにおいて進めることができる体制構築が目的である。また、京都薬科大学に導入したSPECT/CT機器の解像度向上とその応用などについては、導入元を介して **ベルギー・ゲント大学と附属病院**との連携を進める。

上記の国際連携の進展についても、本ブランディング事業推進連絡会議がその状況をタイムリーに把握する。これにより、研究全体の進行と国際連携をシンクロナイズさせることが可能になり、基礎研究から臨床研究へのトランスレーショナル研究を効率的に進めることができる。

## 5. 年次計画（3ページ以内）

2018年度	
目標	<p>本事業を下記の5カ年計画で実施する。がん臨床例としては、本事業で対象とするがん特異的受容体（EGFR、PSMA、CXCR4及びKiss1R）すべてについて検討可能な肺がん（小細胞肺がん及び非小細胞肺がん）を主に取り上げる。それぞれの受容体は他のがん細胞でも特異的に発現している場合が多く、得られる研究成果は容易に他のがんにも適用可能である。それぞれの受容体について、①リガンド構造に基づくプローブ設計と相互作用解析に基づく構造最適化、②病理検体を用いる迅速スクリーニングと細胞レベルでの可視化、③臓器・動物レベルでの可視化と薬剤としての構造最適化、④放射線内用治療プローブへの応用、という基本スキームに従って研究を進める。2018年度の目標は以下のとおりである。</p> <p>① 病理標本によるCXCR4/Kiss1R標識プローブの迅速スクリーニング</p> <p>ブランディング活動  (a) 月次進捗会議と半期毎の経営推進会議での進捗度評価の実施  (b) 得られた結果を連携病院にリリースする。連携病院の同意が得られた場合にはプレスリリースを行う。</p>
実施計画	<p>まず、がん特異的受容体のうちCXCR4とKiss1Rを対象とする特異的リガンド構造探索のためのスクリーニング系を確立する。これら二つの受容体のうち、CXCR4発現量は肺がんの予後の悪さと正の相関を示し、Kiss1R発現量は予後の良好さと正の相関を示す。したがってこれら2種の受容体を特異的かつ簡便に識別できれば、放射線内用療法への応用のみならず、予後についての診断も可能になる。本学共同利用機器センターにおける病理標本を用いた予備的検討で、CXCR4とKiss1Rそれぞれの受容体基質ペプチド構造を利用することにより各受容体の選択的標識が可能であることを確認している。あわせて、この選択性を利用すれば、肺がんの異なった進展ステージを識別できることも確認している。そこで、これら受容体リガンド由来構造に非天然型アミノ酸構造等を組み込むことで二種類の受容体発現量を精密に定量できる中・低分子由来リガンド含有プローブを探索する。本プローブ探索研究では、radio-theranostics研究への展開が容易なユニットカップリング概念(下図)に基づいた化合物設計を行う。すなわち、それぞれの受容体を選択的に認識できるペプチド構造をもとにした標的認識ユニットを、リンカーユニットを介してシグナルユニットと連結させる。シグナルユニットには、目的とする画像化に最も適した蛍光化合物あるいは放射性元素と結合できるキレート構造を組み込む。これにより、画像診断から放射線内用療法への変換がきわめて容易になる。病理標本を用いた標的認識構造の最適化を効率よく進めるため、本スクリーニング系の画像化には取り扱いの容易な蛍光化合物を用いる。臨床予後の悪い小細胞肺がんの病理検体を主なスクリーニング症例とし、80%以上の精度でのCXCR4とKiss1R認識能達成を目指す。</p> <p>なお、京都薬科大学・放射性同位元素研究センターで取り扱える核種は60種に増やされており、放射線内用療法に用いうるほぼすべての核種を利用できる。</p>  <p>The diagram illustrates the radio-theranostics concept. It shows a target recognition unit (labeled '標的認識ユニット') that binds to tumor cell membrane antigens (labeled '腫瘍細胞膜抗原に対する高親和性'). The target recognition unit is linked via a linker unit (labeled 'リンカーユニット') to a signal unit (labeled 'シグナルユニット'). The signal unit is further linked to a chelating unit (labeled 'キレートリングユニット'). The chelating unit is used for imaging (labeled 'イメージング') and therapy (labeled '治療'). The imaging part includes gamma-ray emitting RI and fluorescent groups. The therapy part includes cytotoxic RI and metal elements (inorganic drugs). The diagram also shows the ease of mutual conversion between imaging and therapy. The final outcome is a seamless 'image-guided therapy' (labeled 'シームレスな "image-guided therapy"').</p>
2019年度	
目標	<p>① CXCR4/Kiss1R認識プローブの構造最適化とがん特異性評価  ② 病理標本を用いる変異型EGFR/PSMA認識プローブのスクリーニング  ③ 放射線内用療法におけるターゲティング法検討</p>



目標 (続)	<p>ブランディング活動</p> <p>(a) 月次進捗会議と半期毎の経営推進会議での進捗度評価の実施</p> <p>(b) 学内ミーティングによる進捗度自己点検の実施</p> <p>(c) 肺がん細胞に発現している受容体の二次変異までを高感度で特定できた段階でプレスリリースを行う。</p>
実施計画	<p>①CXCR4/Kiss1R認識プローブの構造最適化；これまで京都薬科大学・創薬系研究室で蓄積してきた構造モデリングに基づくペプチドリガンドの構造最適化手法を駆使して、リガンド構造の最適化を行う。系統的アミノ酸置換や異常アミノ酸導入による低分子化を進め、病理検体でのスクリーニングを行う。抗体を用いる従来法と同等あるいはよりすぐれた検出能を示した中・低分子型リガンド含有プローブすべてについて、様々ながん細胞由来ライセートを用いたWestern Blottingデータとの比較を行い、得られた蛍光プローブのがん集積能と特異性評価を行う。95%以上の精度でのCXCR4とKiss1Rの特異的認識能達成が目標である。</p> <p>②EGFR/PSMA認識プローブの設計と評価；まず、前年度で確立した病理標本スクリーニング手法により、EGFR/PSMA認識リガンド構造の迅速スクリーニングを行う。このうち、EGFRは多くのがん種で発現が認められている代表的がん細胞由来受容体であり、肺がん以外のがん種の特定にも利用可能である。本事業では特に、肺がん特異的な変異型EGFRを分子レベルで認識できる中分子型リガンド探索に焦点を絞り、一次変異と二次変異をも識別可能なリガンド探索を進める。この構造最適化は、EGFR-TK（チロシンキナーゼ）とリガンド複合体のX線結晶解析データ（PDB:2ITY）をもとにしたドッキング手法を駆使して行う。80%以上の識別能達成が目標である。あわせて、別途研究を進めてきた前立腺がん診断及び内用放射線療法への応用例として、PSMAを標的とする低分子リガンドの探索を行う。スクリーニングには、前年度で確立した病理検体スクリーニング法を用いる。これまでの研究で一定の認識能を示す低分子ペプチド構造が得られているため、本研究ではリンカーユニットの構造最適化を主目的とする。</p> <p>③放射線内用療法におけるターゲティング法検討；上記プローブ設計と並行して、内用療法における薬物輸送システムについて予備的検討を始める。ヒト肺扁平上皮癌細胞をモデルとして用い、Re-186/188標識内用放射線治療剤のインビトロ系での取り込み評価を行う。直接ターゲティング法とプレターゲティング法の比較検討を行い、ターゲティング法選択に利用できる基礎データを蓄積することが目標である。</p> <p>なお、本年度までの基礎的研究成果に基づき、次年度以降の前臨床試験を想定した国際連携体制構築に向けた海外大学との基礎研究連携体制を確立させる。</p>
2020年度	
目標	<p>高集積性イメージングプローブによる画像化</p> <p>ブランディング活動</p> <p>(a) 月次進捗会議と半期毎の経営推進会議での進捗度評価の実施</p> <p>(b) 中間報告会による進捗度自己点検及び外部評価の実施</p> <p>(c) 新規プローブ化合物のがん特異的集積を小動物のSPECT画像で確認した段階でプレスリリースを行う。</p>
実施計画	<p>前年度までに得られた高集積性プローブのシグナル放出部に、Tc-99m、In-111、I-123等のSPECT核種のいずれかを導入した各種誘導体の設計と合成を行う。まず、インビトロ評価系を利用して標的への親和性・選択性を確認する。これまでの分子プローブ設計における経験を基に、スクリーニングの指標として各標的への親和性が数nMレベル、更に選択性が3倍以上の化合物を選択し以後のインビボ評価候補化合物とする。本スクリーニング条件を満たさない場合には、受容体との複合体モデル構造に基づく構造活性相関情報のフィードバックによる構造最適化を進め、候補化合物の探索を続ける。インビボスクリーニングでは、最初に正常動物での基礎体内分布動態の評価を行う。正常マウス、ラットにプローブ候補化合物を投与して経時的に屠殺し、各臓器の重量及び集積した放射能を測定する。非特異的な集積の有無を確認すると共に、プローブ候補化合物の基礎薬物動態解析を行う。</p> <p>本研究ブランディング事業中間報告会で、小動物をモデルとしてがん特異的集積を示すプローブ化合物探索とその集積SPECT画像を報告することが到達目標である。また、本年度までに、前臨床試験を想定した国際連携体制に基づく研究体制を確立する。</p>
2021年度	

<b>目 標</b>	<p>モデル動物への投与によるプローブの特異性評価と体内動態解析</p> <p>ブランディング活動</p> <p>(a) 月次進捗会議と半期毎の経営推進会議での進捗度評価の実施</p> <p>(b) 学内ミーティングによる進捗度自己点検の実施</p> <p>(c) 担がんモデル動物での経時的SPECT測定によるがん描出精度の検証ができた段階でプレスリリースを行う。</p>
<b>実施計画</b>	<p>まず、正常動物における腎クリアランス、がん集積性、肝集積性などを確認し、必要であればリガンド構造の修正を行う。肺の近傍に存在しイメージングの際に妨げとなる肝臓への非特異的集積を防ぐためには、ペプチドに負電荷を導入して腎移行性を向上させる。さらに、腎刷子縁膜に発現する酵素で代謝されて速やかなクリアランスを示す代謝性スパーサーを導入することで、代謝・排泄に関わる臓器への非特異的集積を低減させ、S/N比を向上させる。</p> <p>ついで、病態モデル動物での体内分布動態の評価とイメージング評価を行う。候補プローブを、実験腫瘍細胞を移植したヌードマウスに投与し体内分布を検証する。がんへの集積性、血液腫瘍比、腫瘍肺比、腫瘍筋肉比、腫瘍肝臓比、腫瘍腎臓比を指標にプローブの選別を行う。さらに、非特異的な臓器への集積も評価する。投与後腫瘍肺比は2倍以上、その他の周辺臓器（筋肉・腎臓・脾臓・血液など）比は3倍以上を目指す。また、標的部位に結合する既知の非標識化合物を投与するインビボブロック実験により、がんを集積した放射能の標的特異性について検証する。がん特異的集積が示されたプローブを担がんモデル動物に投与して経時的にSPECTでイメージングを行い、がんの描出可能性と精度について検証する。撮像後に該当臓器を摘出し集積した放射能を測定することにより、画像のシグナル強度と放射能集積の相関を検証する。また、海外連携体制に基づき、より大きな動物での実験計画を立案する。</p>
<b>2022年度</b>	
<b>目 標</b>	<p>①臨床応用を目指したプローブ構造最適化</p> <p>②プローブのイメージングシグナル放出部変換による内用治療薬開発</p> <p>ブランディング活動</p> <p>(a) 月次進捗会議と半期毎の経営推進会議での進捗度評価の実施</p> <p>(b) 学内ミーティングによる進捗度自己点検の実施</p> <p>(c) 臨床応用可能な放射性内用療法の検証ができた段階でプレスリリースを行う。</p>
<b>実施計画</b>	<p>分子プローブの薬剤としての構造最適化と臨床研究への展開を検討する。構築した動物モデル評価系を用い、Tc-99m、In-111、I-123等のSPECT核種のいずれかの放射性核種を標識可能な誘導体の評価結果を構造設計にフィードバックさせることで、標的分子との結合親和性・生体内安定性を両立させる最適構造を探索する。</p> <p>あわせて、診断用放射性リガンドの配位子を固定したまま放射性同位元素を細胞殺傷性の<math>\beta</math>-線放出核種に変更する（たとえば Lu-177やY-90など）ことで、転移・再発した微小がんをも標的とする内用療法へと移行させる。</p> <p>本事業総括報告会において、モデル動物でのSPECT診断画像と内用療法の結果が関連していること、転移微小がん細胞の殺傷効果があること、などの報告を行うことが到達目標である。あわせて、海外での臨床研究が可能な連携大学との成果共有を目指す。</p>



**6. 「私立大学戦略的研究基盤形成支援事業」との関連  
(該当する場合のみ：1 ページ以内)**

該当なし

# 私立大学研究ブランディング事業

## 平成30年度の進捗状況

学校法人番号	261006	学校法人名	京都薬科大学		
大学名	京都薬科大学				
事業名	受容体特異的画像化技術を基盤とするがん放射線内用療法 (radio-theranostics) 研究拠点の形成				
申請タイプ	タイプB	支援期間	3年	収容定員	2160人
参画組織	薬学部・放射性同位元素研究センター・創薬科学フロンティア研究センター・共同利用機器センター				
事業概要	本事業の目的は、京都薬科大学が持つ優れた研究基盤をもとに放射線内用療法に基づく radio-theranostics [therapeutics (治療) + diagnostics (診断)] 研究拠点を構築・機能させ、本学の次世代がん研究のブランドとすることである。本事業成果を突破口として、「先端的な研究に支えられた薬学のプロフェッショナルの育成を追究する大学」としての国内“京薬ブランド”を世界に発信する。				
①事業目的	本事業の目的は、アカデミアとしての京都薬科大学が持つ研究基盤を活用することで放射線内用療法に基づくradio-theranostics [theranostics=therapeutics (治療) + diagnostics (診断)] 研究拠点を構築し、京都薬科大学の次世代がん研究のブランドとする事である。本事業を基盤とする先端的な研究で得られる成果を世界に向けて発信し、次世代型放射線内用療法を提案する。これにより、「先端的な研究に支えられた薬学のプロフェッショナルの育成を追究する大学」として認知されている国内“京薬ブランド”を世界に発信し国際的連携研究体制を構築する。				
②30年度の実施目標及び実施計画	<p>【目標】</p> <p>SPECT/CT装置の導入を受け、本格稼働に向けた体制整備を行うとともに、本装置を駆使した研究展開に向けたドライ実験を行う。</p> <p>ブランディング活動</p> <p>(a) 月次進捗会議と半期毎の経営推進会議での進捗度評価の実施</p> <p>(b) 得られた結果を連携病院にリリースする。連携病院の同意が得られた場合にはプレスリリースを行う。</p> <p>【実施計画】</p> <p>以下のテーマ展開についての予備検討を実施する。</p> <p>1. 再生医療における細胞シート移植後細胞の生着を経時的に観察することを目的として、ヒト Na/I symporter (hNIS) を発現させた細胞シートを心筋梗塞モデルラットに移植し、<sup>99m</sup>TcO<sub>4</sub> の取込みをSPECTで定量する。得られた画像から、細胞の生着がどの程度まで確認できるかを検討する。</p> <p>2. 放射性ヨウ素-123で標識した低密度リポタンパクコレステロール oxLDL (123I-oxLDL) を投与したマウスを高分解能SPECT/CTで解析し、その臓器特徴的な放射能集積を観測する。得られた結果から、運動負荷や代謝を促進 (抑制) させた個体のイメージングによって生理機能への影響を確認できるかどうかを検討する。</p> <p>3. これまで進めてきた前立腺がん特異的膜抗原PSMAや膵臓β細胞で発現しているGLP-1受容体を標的としたSPECTプローブの設計と評価をもとに、臨床汎用性の高い化合物の開発を進める。</p> <p>4. 肺癌EGFRの遺伝子変異の検出を目的としたPETプローブの開発を進める。第3世代EGFR-TKIへの切り替えの目安となる2次変異発現を分子イメージングの手法を用いて早期検出することを目指し、EGFR2次変異体 (L858R / T790M) に対して選択性を持つPET/SPECTプローブを開発する。</p> <p>5. がん細胞表面に特異的に発現しているkisspeptin受容体 (Kiss1R) 認識に基づくイメージング手法を開発する。Kisspeptin受容体 (Kiss1R) の発現量は、がんの予後と相関があることが知られている。そこでkisspeptin誘導体にキレーターを導入したDOTA-Kisspeptin10をGa-67で標識後癌細胞担持マウスに投与し、SPECT/CTイメージングにより腫瘍特異的画像化が可能であるかどうかを確認する。</p> <p>京都薬科大学・放射性同位元素研究センターで以上の研究を進めるために必要となる放射性核種核種は今年度までの申請と設備整備で60種に増やされており、放射線内用療法に用いるほぼすべての核種を利用できる体制を整えている。</p>				

③30年度の事業成果	<p>【キックオフシンポジウムの開催】  日時 平成31年3月27日(水) 15:00-17:00  場所 京都薬科大学 愛学ホール</p> <p>【広報活動】  平成30年6月20日付プレスリリース「京都薬科大学 セラノステクス創薬研究基盤を構築－分子イメージング研究の新たな領域を創造し、世界貢献を目指す－」  平成31年3月27日メディアセミナー</p> <p>【関連記事】  平成30年6月26日付化学工業日報「がん、診断しながら治療 セラノステクス創薬 京都薬科大が研究」  平成31年4月10日付薬事日報「RI内用療法の研究推進 文科省事業に採択 京都薬大」</p> <p>【平成30年度発行の主要原著論文】  1. Temma T, <u>Kawashima H</u>, Kondo N, Yamazaki M, Koshino K, Iida H. One-pot enzymatic synthesis of l-[3-<sup>11</sup>C] lactate for pharmacokinetic analysis of lactate metabolism in rat brain, <i>Nucl. Med. Biol.</i> <b>2018</b>, 64-65, 28-33.  2. Nakano A, <u>Kawashima H</u>, Miyake Y, Zeniya T, Yamamoto A, Koshino K, Temma T, Fukuda T, Fujita Y, Kakino A, Kanaya S, Sawamura T, Iida H. <sup>123</sup>I-Labeled oxLDL is widely distributed throughout the whole body in mice <i>Nucl. Med. Mol. Imaging</i> <b>2018</b>, 52, 144-153.  3. Yagi Y, Shimizu Y, Arimitsu K, Nakamoto Y, Higuchi T, Togashi K, <u>Kimura H</u>. Efficient gallium-68 radiolabeling reaction of DOTA derivatives using a resonant-type microwave reactor, <i>J. Label. Compd. Radiopharm.</i> <b>2019</b>, 62, 132-138.  4. Hoffmann M, Chen X, Hirano M, Arimitsu K, <u>Kimura H</u>, Higuchi T, Decker M. <sup>18</sup>F-Labeled Derivatives of Irbesartan for Angiotensin II Receptor PET imaging, <i>ChemMedChem</i>, <b>2018</b>, 13, 2546-2557.  5. <u>Kimura H</u>, Yamauchi S, Kawashima H, Arimitsu K, Yagi Y, Nakamoto Y, Togashi K, Ono M, Saji H. Synthesis and evaluation of a [<sup>18</sup>F] formyl-Met-Leu-Phe derivative: A positron emission tomography imaging probe for bacterial infections, <i>Bioorg. Med. Chem. Lett.</i> <b>2018</b>, 28, 2949-2952.  6. 矢野恒夫, 長谷川功紀, 佐藤達彦, 蜂須賀暁子, 深瀬浩一, 平林容子. アルファ線核医学治療のための薬剤開発の考察(その2), 医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス <b>2019</b>, 50(3), 122-134.  7. 矢野恒夫, 長谷川功紀, 蜂須賀暁子, 深瀬浩一, 平林容子. アルファ線核医学治療のための薬剤開発の考察(その1), 医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス <b>2018</b>, 49(10), 676-684.  8. Ohtani S, Fujita S, <u>Hasegawa K</u>, Tsuda H, Tonogi M, Kobayashi M. Relationship between the fluorescence intensity of rhodamine-labeled orexin A and the calcium responses in cortical neurons: An in vivo two-photon calcium imaging study, <i>J. Pharmacol. Sci.</i> <b>2018</b>, 138, 76-82.  9. <u>Hasegawa K</u>, Kawachi E, Uehara Y, Yoshida T, Imaizumi S, Ogawa M, Miura S, Saku K. Improved <sup>68</sup>Ga-labeling method using ethanol addition; application to the alpha-helical peptide DOTA-FAMP, <i>J. Label. Compd. Radiopharm.</i> <b>2018</b>, 60, 55-61.</p>
④30年度の自己点検・評価及び外部評価の結果	<p>(自己点検・評価)  参画組織の研究者が原則月1回、一堂に会して、進捗報告や課題共有を目的とする会議を開催しており、これを研究ブランディング事業推進連絡会議としている。  さらに、本学の最高意思決定機関である経営推進会議に予算とその管理、事業内容と研究進捗等を報告し、概ね計画通りに進捗していることを確認した。</p> <p>(外部評価)  キックオフシンポジウムは学外にも公開して実施し、外部評価者をはじめ複数の学外有識者、専門家が参加し、本事業の成果や効果に期待するとの評価をいただいた。</p>
⑤30年度の補助金の使用状況	<p>平成30年6月にSPECT(単光子放射型コンピューター断層撮影)装置およびX線CT(コンピューター断層撮影)装置(約5,500万円)を購入し、補助金はその一部として使用した。</p>

# 私立大学研究ブランディング事業 令和元年度の進捗状況

学校法人番号	261006	学校法人名	京都薬科大学			
大学名	京都薬科大学					
事業名	受容体特異的画像化技術を基盤とするがん放射線内用療法 (radio-theranostics) 研究拠点の形成					
申請タイプ	タイプB	支援期間	平成30	年度～	令和2	年度
参画組織	薬学部・放射性同位元素研究センター・創薬科学フロンティア研究センター・共同利用機器センター					
事業概要	本事業の目的は、京都薬科大学が持つ優れた研究基盤をもとに放射線内用療法に基づく radio-theranostics [therapeutics (治療) + diagnostics (診断)] 研究拠点を構築・機能させ、本学の次世代がん研究のブランドとすることである。本事業成果を突破口として、「先端的な研究に支えられた薬学のプロフェッショナルの育成を追究する大学」としての国内“京薬ブランド”を世界に発信する。					
①事業目的	本事業の目的は、アカデミアとしての京都薬科大学が持つ研究基盤を活用することで放射線内用療法に基づくradio-theranostics [theranostics=therapeutics (治療) + diagnostics (診断)] 研究拠点を構築し、京都薬科大学の次世代がん研究のブランドとする事である。本事業を基盤とする先端的研究で得られる成果を世界に向けて発信し、次世代型放射線内用療法を提案する。これにより、「先端的な研究に支えられた薬学のプロフェッショナルの育成を追究する大学」として認知されている国内“京薬ブランド”を世界に発信し国際的連携研究体制を構築する。					
②令和元年度の実施目標及び実施計画	<p>【目標】 SPECT/CT装置の本格稼働において課題を解決するとともに、本装置を駆使した国際的な連携研究の体制を整備する。萌芽的で斬新な研究に全学的に取り組む。 ブランディング活動 (a) 月次進捗会議と半期毎の経営推進会議での進捗度評価の実施 (b) 得られた結果を連携病院にリリースする。連携病院の同意が得られた場合にはプレスリリースを行う。</p> <p>【実施計画】 テーマ展開についての予備検討の結果、以下のテーマについて本格的検討を開始する。</p> <p>1. Notch受容体を標的とする内用療法に基づく難治性腫瘍治療法の開拓 Notchシグナルの阻害薬剤開発を目標として、Notch1受容体のリガンドであるDLL4の部分ペプチドを合成し、Notch1への結合能を評価する。Notchシグナリングの分子機構の解明に向けた研究を開始する。</p> <p>2. 生体イメージング技術とiPS細胞技術の融合によるパーキンソン病の病態解明と新規診断・治療法の開発 α-シヌクレイン (SCNA) タンパク質を標的とし、イメージング技術を用いた病態の可視化と多能性幹細胞技術を融合させた研究領域を創成し、核医学的な介入によるパーキンソン病の早期診断および治療的介入法 (neurotheranostics) の確立を目指す。 SCNAの脳内伝播を再現できる動物モデル、培養細胞モデルの作製およびSCNA結合および凝集抑制能を有する化合物のスクリーニング系の開発を進める。</p> <p>3. がんセラノスティクスを目指した化合物創製とイメージング研究 これまで研究を進めてきた前立腺がん、乳がん、肺がん、膵がんなどを対象として、実用的セラノスティクスプローブの開発を進める。Molecubes社のSPECT装置を活用してより精密な画像化が可能なイメージング手法を開発する。</p> <p>4. セラノスティクス研究の推進に向けたイメージング技術の基盤形成 Molecubes社の小動物用SPECT装置を用いて2核種同時撮像実験を実施する。あわせて、疾患への展開を目指し、糖尿病や肥満に代表される代謝性疾患や転移性腫瘍を標的とする画像解析研究を実施する。具体的には放射性ヨウ素-123標識酸化LDL (<sup>123</sup>I-oxLDL) の体内動態解析や [<sup>201</sup>Tl] 塩化タリウムを用いた心筋血流量の評価を行う。</p>					



③令和元年度の事業成果	<p>【京都薬科大学－ヴェルツブルク大学 研究に関する情報交換会の開催】  日時 2020年2月26日(水) 15:30－17:35  場所 京都薬科大学 愛学館7階第2会議室  (京都薬科大学－ヴェルツブルク大学合同シンポジウムの開催を予定していたが、新型コロナウイルス感染を防ぐため、規模を縮小して双方の本事業関連研究者が参集して情報交換会を開催した。)</p> <p>【京都薬科大学－ヴェルツブルク大学 交流協定の締結】  2020年2月26日付</p> <p>【広報活動】  2019年4月KPUNews「平成30年度私立大学研究ブランディング事業に選定されました」  2020年2月23日付プレスリリース「ドイツ ヴェルツブルク大学(化学・薬学部)との連携協定を締結」</p> <p>【2019年度発行の主要原著論文】</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Koki Hasegawa, Hidekazu Kawashima, Yusuke Yagi, Hiroyuki Kimura: Chapter 7. Radiotherapeutic Applications., Handbook of In Vivo Chemistry in Mice From Lab to Living System., Katsunori Tanaka, Kenward Vong (Editor), pp.185-208, Wiley-VCH (2020)</li> <li>2. 矢野恒夫、長谷川功紀、角永悠一郎、樺山一哉、小田敬、上野悟史、蜂須賀暁子、平林容子、深瀬浩一: アルファ線核医学治療のための薬剤開発の考察(その3). 医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス. 50(12), 749-763 (2019).</li> <li>3. Hiroyuki Kimura, Masashi Ueda, Hidekazu Kawashima, Kenji Arimitsu, Yusuke Yagi, and Hideo Saji: Synthesis and biological evaluation of Tc-99m-cyclopentadienyltricarboxyl-technetium-labeled A-85380: An imaging probe for single-photon emission computed tomography investigation of nicotinic acetylcholine receptors in the brain. Bioorg. Med. Chem. 27, 2245-2252 (2019).</li> <li>4. Daisuke Mori, Hiroyuki Kimura, Hidekazu Kawashima, Yusuke Yagi, Kenji Arimitsu, Masahiro Ono, and Hideo Saji: Development of 99mTc radiolabeled A85380 derivatives targeting cerebral nicotinic acetylcholine receptor: Novel radiopharmaceutical ligand 99mTc-A-YN-IDA-C4. Bioorg. Med. Chem. 27, 4200-4210 (2019).</li> <li>5. Hiroyuki Kimura, Yusuke Yagi, Mutsumi Mikamo, Kazuya Maeda, Shinya Kagawa, Kenji Arimitsu, Tatsuya Higashi, Ryuichi Nishii, Masahiro Ono, Yuji Nakamoto, Kaori Togashi, Hiroyuki Kusuhashi, Hideo Saji: Evaluation of transporter-mediated hepatobiliary transport of newly developed 18F-labeled pitavastatin derivative, PTV-F1, in rats by PET imaging. Drug Metab.Pharmacokinet., 34(5), 317-324 (2019).</li> <li>6. Yusuke Yagi, Hiroyuki Kimura, Haruka Okuda, Masahiro Ono, Yuji Nakamoto, Kaori Togashi, Hideo Saji: Evaluation of [18F]pitavastatin as a positron emission tomography tracer for in vivo organic transporter polypeptide function. Nucl. Med. Biol., 74-75, 25-31 (2019).</li> <li>7. Hidemasa Katsumi, Rie Takashima, Hiroe Suzuki, Natsuko Hirai, Satoru Matsuura, Hiroyuki Kimura, Masaki Morishita and Akira Yamamoto: S-nitrosylated L-serine-modified dendrimer as a kidney-targeting nitric oxide donor for prevention of renal ischaemia/reperfusion injury. Free Radic. Res., (2019). [Epub ahead of print]</li> <li>8. Takashi Ui, Masashi Ueda, Yusuke Higaki, Shinichiro Kamino, Kohei Sano, Hiroyuki Kimura, Hideo Saji, Shuichi Enomoto: Development and characterization of a 68Ga-labeled A20FMDV2 peptide probe for the PET imaging of <math>\alpha v \beta 6</math> integrin-positive pancreatic ductal adenocarcinoma. Bioorg. Med. Chem., 28(1), 115189 (2020).</li> </ol>
④令和元年度の自己点検・評価及び外部評価の結果	<p>(自己点検・評価)  参画組織の研究者が原則月1回、一堂に会して、進捗報告や課題共有を目的とする会議を開催しており、これを研究ブランディング事業推進連絡会議としている。  さらに、本学の最高意思決定機関である経営推進会議に予算とその管理、事業内容と研究進捗等を報告し、概ね計画通りに進捗していることを確認した。</p> <p>(外部評価)  合同シンポジウムは学外にも公開して実施し、外部評価者をはじめ複数の学外有識者、専門家の参加を予定していたが、新型コロナウイルス感染防止のために開催できなかった。  ヴェルツブルク大学との意見交換会では、海外提携校としての協力体制と本事業への期待が示された。</p>
⑤令和元年度の補助金の使用状況	<p>高速液体クロマトグラフ、マイクロプレートリーダー、セル&amp;ティッシュプロセッサおよびセルハーベスターシステム等の機器備品(合計約2,200万円)、研究用試薬等(合計約400万円)を購入し、補助金はその一部として使用した。</p>

# 私立大学研究ブランディング事業 令和2年度の進捗状況

学校法人番号	261006	学校法人名	京都薬科大学			
大学名	京都薬科大学					
事業名	受容体特異的画像化技術を基盤とするがん放射線内用療法 (radio-theranostics) 研究拠点の形成					
申請タイプ	タイプB	支援期間	平成30	年度～	令和2	年度
参画組織	薬学部・放射性同位元素研究センター・創薬科学フロンティア研究センター・共同利用機器センター					
事業概要	本事業の目的は、京都薬科大学が持つ優れた研究基盤をもとに放射線内用療法に基づく radio-theranostics [therapeutics (治療) + diagnostics (診断)] 研究拠点を構築・機能させ、本学の次世代がん研究のブランドとすることである。本事業成果を突破口として、「先端的な研究に支えられた薬学のプロフェッショナルの育成を追究する大学」としての国内“京薬ブランド”を世界に発信する。					
①事業目的	本事業の目的は、アカデミアとしての京都薬科大学が持つ研究基盤を活用することで放射線内用療法に基づく radio-theranostics [theranostics=therapeutics (治療) + diagnostics (診断)] 研究拠点を構築し、京都薬科大学の次世代がん研究のブランドとする事である。本事業を基盤とする先端的な研究で得られる成果を世界に向けて発信し、次世代型放射線内用療法を提案する。これにより、「先端的な研究に支えられた薬学のプロフェッショナルの育成を追究する大学」として認知されている国内“京薬ブランド”を世界に発信し国際的連携研究体制を構築する。					
②令和2年度の実施目標及び実施計画	<p>【目標】 SPECT/CT装置の本格稼働によりradio-theranostics研究を展開するとともに、国際的な連携研究の体制を構築する。さらに、本学が所有するシーズを基盤とした包括的研究を拡充する。 ブランディング活動 (a) 月次進捗会議と半期毎の経営推進会議での進捗度評価の実施 (b) 得られた結果を連携病院や研究機関にリリースする。連携病院の同意が得られた場合にはプレスリリースを行う。</p> <p>【実施計画】 令和元年度から本格的に検討を開始した以下のテーマにつき、研究を進展させる。</p> <p>1. Notch受容体を標的とする内用療法に基づく難治性腫瘍治療法の開拓 ①Notch受容体に結合する薬剤開発および②受容体活性化機構解明の2つにテーマを分けて研究を進めた。それぞれの実施計画を記す。 ①Notch受容体と内在性リガンドであるDLL4の共結晶構造からDLL4の結合部位に相当する部分ペプチド誘導体を合成し、リコンビナントNotchタンパク質に対する結合定数を明らかにする。また得られた結合リガンドペプチドをNotch発現細胞に作用させた時の下流シグナルにおよぼす変化を評価する。 ②Notch受容体の活性化機構解明に向け、受容体膜貫通部位と、その周辺に存在する脂質分子の活性化時における相互作用変化をシミュレーションにより明らかにする。また膜貫通部位ペプチドおよび脂質誘導体を合成し、固体NMRでその作用の詳細を解明するための試料調製を行う。</p> <p>2. 生体イメージング技術とiPS細胞技術の融合によるパーキンソン病の病態解明と新規診断・治療法の開発 α-シヌクレイン (SNCA) タンパク質を標的とし、イメージング技術を用いた病態の可視化と多能性幹細胞技術を融合させた研究領域を創成し、核医学的な介入によるパーキンソン病の早期診断および治療的介入法 (neurotheranostics) の確立を目指す。 SNCAの脳内伝播を再現できる動物モデル、培養細胞モデルの作製およびSNCA結合および凝集抑制能を有する化合物のスクリーニング系の開発を進める。 パーキンソン病の発症に関わるSNCAの凝集・線維化機構について、in vitroでの解析を進める。</p> <p>3. がんセラノスティクスを目指した化合物創製とイメージング研究 これまで研究を進めてきた前立腺がん、乳がん、肺がん、膵がんなどを対象として、実用的セラノスティクスプローブの開発を進める。Molecubes社のSPECT装置を活用してより精密な画像化が可能なコリメーターやイメージング手法を開発する。効率的なRIの導入を目指した標識法の開発や微量合成に適したデバイス開発を進める。</p> <p>4. セラノスティクス研究の推進に向けたイメージング技術の基盤形成 生体内の分子プロセス (複数の分子の動態や相互作用) のin vivoでの可視化を目的とし、幅広いエネルギー領域のγ線を同時に撮像可能なSPECTによる二核種同時イメージングを検証する。</p>					

	Theranosticsに汎用される放射性ヨウ素の同位体として、半減期が長く取扱いが容易である一方、放出γ線エネルギーが低いI-125につき、小動物SPECTでの画像化を検討する。
③令和2年度の事業成果	<p>【私立大学研究ブランディング事業オンデマンドWebシンポジウムの開催】  日時 2021年3月1日(月)～3月12日(金) Webオンデマンド配信</p> <p>【広報活動】  2020年5月 私立大学研究ブランディング事業「受容体特異的画像化技術を基盤とするがん放射線内用療法(radio-theranostics)研究拠点の形成」News Letter Vol. 2発行  2021年3月 私立大学研究ブランディング事業「受容体特異的画像化技術を基盤とするがん放射線内用療法(radio-theranostics)研究拠点の形成」News Letter Vol. 3発行</p> <p>【2020年度発行の主要原著論文】  1. Valeriya Trusova, Kateryna Vus, Olga Zhytniakivska, Uliana Tarabara, Hiroyuki Saito, Galyna Gorbenko. Nanomechanical characterization of apolipoprotein A-I amyloid fibrils. East Eur. J. Phys. 2020, 2, 118-123.  2. Takashi Ohgita, Yuki Furutani, Miyu Nakano, Megumi Hattori, Ayane Suzuki, Miho Nakagawa, Sera Naniwa, Izumi Morita, Hiroyuki Oyama, Kazuchika Nishitsuji, Norihiro Kobayashi, Hiroyuki Saito. Novel conformation-selective monoclonal antibodies against apoA-I amyloid fibrils. FEBS J. 2021, 288(5), 1496-1513.  3. Eriko Kuroda, Kaneyasu Nishimura, Shohei Kawanishi, Mari Sueyoshi, Fumitaka Ueno, Yumiko Toji, Naoko Abo, Toko Konishi, Koki Harada, Shiho Satake, Chiaki Shima, Yuki Toda, Yoshihisa Kitamura, Shun Shimohama, Eishi Ashihara, Kazuyuki Takata. Mouse bone marrow-derived microglia-like cells secrete transforming growth factor-β1 and promote microglial Aβ phagocytosis and reduction of brain Aβ. Neuroscience, 438, 217-228 (2020).  4. Koki Hasegawa, Kazuhiro Koshino, Takahiro Higuchi. Facile synthesis of 2-deoxy-2-[18F]fluorosorbitol using sodium borohydride on aluminum oxide. Journal of labelled compounds &amp; radiopharmaceuticals. 2021, 64(1), 40-46.  5. Koki Hasegawa, Rika Maedomari, Younosuke Sato, Kumiko Gotoh, Shinji Kudoh, Akihiro Kojima, Seiji Okada, Takaaki Ito. Kiss1R identification and biodistribution analysis employing a western ligand blot and ligand-derivative stain with a FITC-kisspeptin derivative. ChemMedChem. 2020, 15(18), 1699-1705.  6. Shin-ichiro Yoshizawa, Yasunao Hattori, Kazuya Kobayashi, Kenichi Akaji. Evaluation of an octahydroisochromene scaffold used as a novel SARS 3CL protease inhibitor. Bioorg. Med. Chem. 2020, 28(4), 115273.  7. Katsuo Mogi, Hiroyuki Kimura, Yuto Kondo, Tomoya Inoue, Shungo Adachi, Tohru Natsume. Automatic radioisotope manipulation for small amount of nuclear medicine using an EWOD device with a dimple structure. Royal Society Open Science, doi.org/10.5061/dryad.2z34tmpks in press  8. Kenji Arimitsu, Yusuke Yagi, Kazuhiro Koshino, Yukina Nishito, Takahiro Higuchi, Hiroyuki Yasui, Hiroyuki Kimura. Synthesis of 18F-labeled streptozotocin derivatives and an in-vivo kinetics study using positron emission tomography. Bioorganic &amp; Medicinal Chemistry Letters, 30, 127400 (2020)  9. Rudolf A. Werner, Constantin Lapa, Sara Sheikbahaie, Takahiro Higuchi, Frederik L. Giesel, Spencer Behr, Alexander Drzezga, Hiroyuki Kimura, Andreas K. Buck, Martin G. Pomper, Michael A. Gorin, Steven P. Rowe. 18F-Labeled PSMA-Targeted Radiotracers: Leveraging the Advantages of Radiofluorination for Prostate Cancer Molecular Imaging. Theranostics, 10(1), 1-16 (2020)  10. Xinyu Chen, Alexander Fritz, Rudolf A. Werner, Naoko Nose, Yusuke Yagi, Hiroyuki Kimura, Steven P. Rowe, Kazuhiro Koshino, Michael Decker, Takahiro Higuchi. Initial evaluation of AF78: A rationally designed fluorine-18-labelled PET radiotracer targeting norepinephrine transporter. Molecular Imaging and Biology, 22(3), 602-611 (2020)</p>
④令和2年度の自己点検・評価及び外部評価の結果	<p>(自己点検・評価)  参画組織の研究者が原則月1回、一堂に会して、進捗報告や課題共有を目的とする会議を開催しており、これを研究ブランディング事業推進連絡会議としている。また、WebシンポジウムではベルギーのMolecubes社(SPECT/CTのメーカー)およびLeuven大学からの招待講演を行い、研究の国際化を図った。さらに、本学の最高意思決定機関である経営推進会議に予算とその管理、事業内容と研究進捗等を報告し、概ね計画通りに進捗していることを確認した。</p> <p>(外部評価)  Webシンポジウムはオンデマンド配信にて学外にも公開し、外部評価者を始め複数の学外有識者、専門家から研究の進捗状況について高い評価を頂いた。また、Molecubes社とは装置最適化に向けた意見交換をweb会議で実施し、SPECT/CTを活用した本事業への期待と協力体制の継続が確認された。</p>
⑤令和2年度の補助金の使用状況	組織電気信号解析装置一式、PET-HPLCアナライザー、パラフィン包埋ブロック作製装置等の機器備品(合計約1,360万円)、研究用試薬等(合計約910万円)を購入し、補助金はその一部として使用した。



# 私立大学研究ブランディング事業 成果報告書

学校法人番号	261006	学校法人名	京都薬科大学		
大学名	京都薬科大学				
事業名	受容体特異的画像化技術を基盤とするがん放射線内用療法 (radio-theranostics) 研究拠点の形成				
申請タイプ	タイプB	支援期間	3年	収容定員	2160人
参画組織	薬学部・放射性同位元素研究センター・創薬科学フロンティア研究センター・共同利用機器センター				
事業概要	本事業の目的は、京都薬科大学が持つ優れた研究基盤をもとに放射線内用療法に基づく radio-theranostics [therapeutics (治療) + diagnostics (診断)] 研究拠点を構築・機能させ、本学の次世代がん研究のブランドとすることである。本事業成果を突破口として、「先端的な研究に支えられた薬学のプロフェッショナルの育成を追究する大学」としての国内“京薬ブランド”を世界に発信する。				
事業目的	本事業の目的は、アカデミアとしての京都薬科大学が持つ研究基盤を活用することで放射線内用療法に基づく radio-theranostics [theranostics=therapeutics (治療) + diagnostics (診断)] 研究拠点を構築し、京都薬科大学の次世代がん研究のブランドとする事である。本事業を基盤とする先端的研究で得られる成果を世界に向けて発信し、次世代型放射線内用療法を提案する。これにより、「先端的な研究に支えられた薬学のプロフェッショナルの育成を追究する大学」として認知されている国内“京薬ブランド”を世界に発信し国際的連携研究体制を構築する。				



# 私立大学研究ブランディング事業 成果報告書

学校法人番号	261006	学校法人名	京都薬科大学
大学名	京都薬科大学		
事業名	受容体特異的画像化技術を基盤とするがん放射線内用療法 (radio-theranostics) 研究拠点の形成		
	<p>本事業では、受容体特異的画像化研究進展に必須の先端的研究基盤整備と個別標的受容体に関する研究を並行して実施した。以下にまず先端的研究推進に必要な共通研究基盤形成について述べ、ついで個別受容体研究の進展について述べる。</p> <p>1. セラノスティクス研究の推進に向けた先端のイメージング技術の基盤形成</p> <p>生命活動に関わる様々な分子の動態や相互作用を同時に可視化・追跡できる技術は、生体から抽出できる情報量を飛躍的に増大させる。このような画像化手法として現在主に利用されているのは、光学的手法と放射線を用いる手法である。このうち、放射線を利用した画像化手法は感度や特異性、治療への直接的応用などの様々な点で大きな利点を有している。しかし、放射線化学を専門としない研究者がストレスなく利用できる施設や研究手法の提供が十分とは言えず、放射線利用を基盤とする診断と治療の融合 (radio-theranostics) 研究が十分に普及しているとはいえないのが現状である。このような観点から本事業では、臨床施設を持たない大学での利用が容易な先端の画像化装置であるSPECT/CT装置 (ベルギーMolecubes社製<math>\gamma</math>-CUBE, X-CUBE)を導入し、その活用によるradio-theranostics研究の多様な展開を図ることを目的とした。あわせて、国際共同研究 (ドイツ、ベルギーなど)に基づく新規プローブの開発、撮像条件の最適化、<math>\gamma</math>-cube専用の高エネルギー用コリメータの開発や、国内共同研究による次世代高感度ガンマ線3Dカメラ (Electron-tracking compton gamma-ray camera;ETCC)の開発を進めている。</p> <p>基盤的手法確立の最初の試みとして、本事業推進のために導入した小動物用SPECT装置による多核種同時撮像を行った。マウス (同一個体)に骨イメージング剤のヒドロキシメチレンホスホン酸テクネチウム (<math>^{99m}\text{Tc}</math>) (<math>^{99m}\text{Tc}</math>-HMDP)と心筋血流イメージング剤の塩化タリウム (<math>^{201}\text{Tl}</math>) (<math>^{201}\text{Tl}</math> TlCl)を静脈内投与し、Tc-99mとTl-201に該当するエネルギーピークを個別に認識するよう設定した上で画像再構成を行った。その結果、Tc-99mのエネルギー領域では骨に、Tl-201のエネルギー領域では心臓に特徴的な放射能分布を認め、動物を用いた検討において2核種同時撮像が可能であることが実証された。また、別の個体では甲状腺機能診断薬の過テクネチウム酸ナトリウム (<math>^{99m}\text{Tc}</math>) (<math>^{99m}\text{Tc}</math> NaTcO<sub>4</sub>)と<math>^{201}\text{Tl}</math> TlClによるSPECT同時撮像を実施し、同様の操作にて画像再構成を行ったところ、Tc-99mのエネルギー領域では甲状腺への、Tl-201のエネルギー領域では心臓への放射能分布を認めた。</p> <p>一方、radio-theranosticsでしばしば用いられる放射性ヨウ素 (I-123, I-131)の同位体であるI-125は、低分子化合物やペプチド・高分子にも比較的容易に導入可能で半減期が60日と長いためプローブとしての経時的追跡に優れている。そこで、<math>\gamma</math>線のエネルギーが低いという難点を解消しつつ小動物用SPECT装置で精密な画像を取得できるかどうかについて検討した。まず、マウスにヨウ化ナトリウム (<math>^{125}\text{I}</math>) (<math>^{125}\text{I}</math> NaI)を静脈内投与後にSPECT撮像したところ、甲状腺を明瞭に描出することができた。ついで、生物活性物質である低比重リポタンパク質 (LDL)およびその酸化物 (oxLDL)をI-125標識し、覚醒下静脈内投与後のマウス体内動態を調べた。投与後10分の時点で灌流固定し、長時間SPECT撮像したところ、<math>^{125}\text{I}</math>-oxLDLにおいてのみ褐色脂肪と考えられる組織が描出され (図1)、組織摘出法による結果と一致した。本研究により、小動物SPECT装置で少なくとも定性的なI-125体内分布評価が可能であることを示した。</p> <p>2. がんセラノスティクスを目指した化合物創製とイメージング研究</p> <p>これまで京都薬科大学では前立腺がん、乳がん、肺がん、膵がんなどを対象として、実用的なradio-theranostics probeの開発を進めてきた。例えば、EGFR遺伝子変異の検出を可能とする分子イメージングプローブとして <math>^{18}\text{F}</math> RT-19を見出し、2次変異体EGFR (L858R/T790M)を描出することに成功している (図2)。これまでの成果を本事業で開発を目指している受容体選択的画像診断法に適用することで、治療前にEGFR-TKI適応患者を選別しgefitinibによる重篤な副作用を回避することや、的確な治療戦略決定に寄与することができる。また、神経膠腫 (グリオーマ)や乳がんなどの一部のがんにおいて高発現し、過剰な増殖に関与していることが報告されているErythropoietin-producing hepatocellular (Eph) A2受容体を標的とした分子イメージングプローブとして、<math>^{123}\text{I}</math> ETBを開発した。担がんモデルマウスを用いた体内分布実験およびSPECT撮像において、<math>^{123}\text{I}</math> ETBの腫瘍への集積を確認し、治療用放射線核種を導入した核医学治療用の薬剤開発を進めている。</p> <p>一方、新たなプローブ合成技術として、新規フッ素化法、マイクロ波反応装置、マイクロリアクターを用いた合成装置、Electro Wetting On Dielectric (EWOD) 技術を利用した標識合成技術、などの開発を進めている。</p>		

## 事業成果

### 3. Notch受容体を標的とする内用療法に基づく難治性腫瘍治療法の開拓

上記のradio-theranostics研究手法を基盤とする受容体選択的画像化研究として、Notch受容体を標的とする挑戦的研究を実施した。本受容体は難治性の小細胞肺がんの発症と悪性化に深く関わっていることが知られているが、本受容体を標的とする画像化手法はこれまで全く報告されていない。そこでまず、Notch受容体とその内在性リガンドであるDLL4の共結晶構造解析をもとに、リガンド候補薬剤を設計した。合成した各種候補化合物のNotch受容体との結合能を評価した結果、核医学治療薬剤のシーズとなりえるリガンド誘導体を見出すことに成功した。またその過程で、Notch受容体結合薬剤探索に利用できる結合親和性の新規評価法開発にも成功した。得られたリガンド誘導体の結合親和性は、まだ3  $\mu\text{M}$ 程度と低い、本化合物をもとに構造活性相関研究を進め親和性の向上を進めている。また得られたリガンド薬剤を用いて、細胞レベルでの作用を評価する系を構築した。Notch受容体ではリガンドが結合すると、下流のシグナル分子(NICDおよびHES1)の発現が増加する。そこで、小細胞肺がん細胞株であるH69ARからがん幹細胞が濃縮されていると予想される球状細胞集塊(スフェア)を形成させ、Notch受容体活性化によって生じるNICDを蛍光ウェスタンブロット法で定量する方法を構築した。現在、本評価法を用いるリガンド薬剤による活性化抑制能の評価を進めている。

一方、リガンド結合後に生じるNotchシグナリングは外部刺激に依存して変化するとされている。たとえば、Notch受容体リガンドのうちDll1とDll4は、受容体の活性化をそれぞれパルスのあるいは持続的に生じさせる。その結果、Dll1によるシグナリングは筋形成を示すが、Dll4によるものは筋形成を阻害する。そこで本研究では、このようなシグナリング様式の差異を生み出す分子機構解明をあわせて進めることとした。Notch受容体のパルスのまたは持続的な活性化は膜上における受容体の会合様式に起因すると考えられている。膜タンパク質の挙動はその脂質環境に大きく依存することが知られているので、予備的検討として分子動力学計算に基づいてNotchシグナリングの脂質依存性を解析した。その結果、上記したリガンドDll1、Dll4に関してはガングリオシドとの相互作用が寄与していることが示唆された。さらに、Notchリガンドの受容体への結合が周辺脂質との相互作用によって制御される可能性を示唆する結果が得られた。

### 4. 生体イメージング技術とiPS細胞技術の融合によるパーキンソン病の病態解明と新規診断・治療法の開発

パーキンソン病は脳幹上端にある中脳の神経細胞(ドーパミン作動性ニューロン)が減少していく疾患で、神経細胞死領域にレヴィ小体と呼ばれるタンパク質凝集体が出現する。レヴィ小体は構造異常を生じた $\alpha$ シヌクレイン(SNCA)のアミロイド凝集体で、神経毒性と構造伝播性を凝集過程で獲得する。本研究では、アミロイド凝集の進行とパーキンソン病発症との関連を明らかにすることを目的として、若年性パーキンソン病の原因となるA53T変異やC末領域の欠損が、SNCAのアミロイド凝集性に与える影響について、in vitroでの物理化学的解析を最初に行った。生理的条件において、A53T変異とC末欠損はいずれも線維形成反応を加速するとともに、線維形成量を顕著に増加させた。この分子機構を速度論・熱力学的に解析したところ、A53T変異は凝集・線維化の初期段階であるモノマーから凝集核への構造転移を促進する一方で、C末領域の欠損はアミロイド線維の自己触媒的な増殖活性を向上させることが示唆された。特に、自己触媒活性の高いC末領域欠損体は線維の形成・伝播を顕著に促進しうることから、パーキンソン病の診断・治療における有望な標的分子と考えられた。

次に、SNCAタンパク質のSPECTを用いたイメージングを行うため、SNCAのpreformed fibril (PFF) をマウスの線条体に注入し、時間経過に伴う組織学的な解析を行った。その結果、注入したSNCA-PFFは、注入部位から離れた部位である黒質や大脳皮質まで拡散していることが明らかになった。また中脳ドパミン神経においては、SNCAがリン酸化されていることも確認でき、SNCA-PFF投与により病理を反映したパーキンソン病モデルマウスの作製に成功した。あわせて、病態解明に向けてin vitroでのヒト脳モデルの作製を進めた。すなわち、iPS細胞から線条体と黒質のニューロスフェアを誘導しお互いを融合させる条件を最適化したin vitro脳モデルを作製し、SNCAの伝播・凝集および毒性発現過程を画像解析できる研究基盤整備を行った。

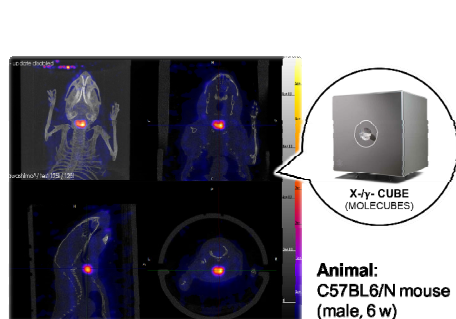


図1  $[^{125}\text{I}]\text{NaI}$ -SPECTによるマウス甲状腺画像

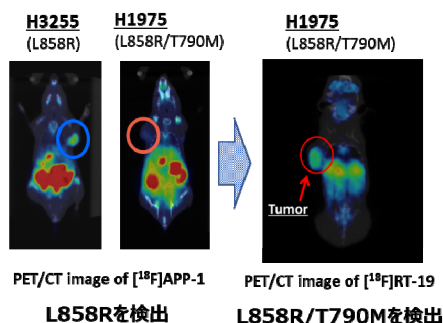


図2  $[^{18}\text{F}]\text{RT-19}$ によるEGFR(L858R/T790M)の検出



<p>今後の事業成果の活用・展開</p>	<p>1. セラノスティクス研究の推進に向けたイメージング技術の基盤形成  上記したこれまでの研究により、小動物用SPECTで複数核種の同時撮像が可能であることを明らかにした。本法は核種固有のγ線や特性X線のエネルギーピークが異なる多様な核種の組み合わせに適用できる。したがって、Ga-67やIn-111、I-123等、代表的なSPECT核種で標識した化合物を用意することで、疾患モデル動物の多面的な評価が可能となり、セラノスティクス研究を大きく前進させることができる。さらに、創薬や分子生物学の領域で汎用されてきた低エネルギーγ線放出核種であるI-125が画像化できたことは極めて重要である。画像上カラースケールに基づいた検量線作成を通じた定量的解析へと展開させることで、従来になかった研究領域を創製できると考えている。</p> <p>2. がんセラノスティクスを目指した化合物創製とイメージング研究  上記で開発したradio-theranostics probeのいくつかについては、他機関と協力して臨床研究を前提とした評価段階に入っている。特に、EphA2を標的とした核医学治療用の薬剤開発が先行しているため、最適ながん種との組み合わせを検討し臨床研究に進む計画である。また、EWODを基盤とした微量液滴操作技術に関しては特許出願も終了しているため、企業との協力による製品化を目指した研究開発を展開したい。これまで構築した国際共同拠点とのradio-theranostics研究を深化させて行くとともに、学部学生や大学院生が「セラノスティクス創薬研究」に加わることで、新しい診断・治療法に対する深い理解と実践能力を身に付けた薬剤師や研究者の育成にも努めていきたい。</p> <p>3. Notch受容体を標的とする内用療法に基づく難治性腫瘍治療法の開拓  上記研究で見出したNotch受容体結合リガンドをシースとして薬剤設計を行い、リコンビナント受容体での結合能評価系と細胞を用いた活性化抑制能評価系を駆使して最適薬剤を見出す研究を展開する。同時に、Dll1とDll4の生体膜脂質との相互作用がこれらリガンドと受容体との相互作用に影響を与える可能性が、分子動力学計算によって示された。そこで、これらリガンドを分子生物学的に調製し、生体膜成分との相互作用を分光学的に解析することで計算結果の評価を行うとともに計算精度向上へのフィードバックを行う。</p> <p>4. 生体イメージング技術とiPS細胞技術の融合によるパーキンソン病の病態解明と新規診断・治療法の開発  上記したこれまでの成果から、SNCAを標的としたパーキンソン病の早期診断に向けた研究基盤を整えることができた。SNCA-PFFを注入したマウスモデルはパーキンソン病の早期診断や治療に向けたin vivoイメージング研究を展開するために極めて有用なモデル動物であり、従来になかった新たなradio-theranostics研究領域の創製につながる。さらに、iPS細胞技術を応用した黒質-線条体モデルは、ヒト細胞を用いたin vitro脳モデルとして、パーキンソン病の病態解析に応用できる。特に、SNCAタンパク質自身の構造に着目したアミロイド凝集を制御する分子機構やSNCAのC末領域の重要性の解析など、パーキンソン病に対する診断・治療分子の設計基盤の構築する研究において極めて有用なツールとなると考えている。</p>
<p>自己点検・評価、外部評価の状況</p>	<p>(自己点検・評価)  参画組織の研究者が原則月1回、一堂に会して、進捗報告や課題共有を目的とする会議を開催し、これを研究ブランディング事業推進連絡会議として本プロジェクトを推進した。特に、本事業には若手・中堅の教員が多数参画しており、若手の人材育成にも努めた。その他、外部資金獲得のための支援、全学的な研究推進体制の構築にも取り組んだ。研究成果については、研究ブランディングシンポジウムを年1回開催し、国内外の研究者に研究の進捗状況を公表した。ウェブを活用したシンポジウムも開催し、COVID-19禍においても国際連携の強化に務めた。研究業績として、英文原著論文75報、総説12編、著書2冊、特許出願2件、国際学会発表13件、国内学会発表136件、外部講演等41件があり、本事業の3年間で学術的に大きな成果を挙げた。本事業により、radio-theranosticsの先端的研究基盤を整備することができたので、今後は更なる研究の発展のために共同研究を推し進める。  ブランディング活動として、本学の企画・広報課と連携し、本学のHPに専用のページを設けシンポジウムの案内、研究の進捗報告、専門機関向けと一般向けにNews Letterの公開などを行った。報道機関向けにメディアセミナーやNews Releaseも行い、研究の紹介などが業事日報紙に掲載され、外部への情報発信も効果的に行われた。</p> <p>(外部評価の状況)  外部評価者: 京都大学名誉教授、学術研究支援室長 佐治英郎  「京都薬科大学が持つ優れた研究基盤をもとに、核医学診断と放射線内用療法(核医学治療)を融合して診断と治療を一体的に行う、個別化精密医療を実現できる新しい医療技術として期待されているradio-theranosticsの研究拠点を構築・機能させ、京都薬科大学の次世代がん研究のブランドの確立に全学的に取り組んでいることは高く評価できる。また、優れた研究成果も多く出ており、有効ながんradio-theranostics用化合物の新規創製、開発したradio-theranostics用化合物の臨床研究展開に向けた評価、企業との協力による製品化を目指した合成基盤技術の開発、海外の企業との高エネルギー用コリメータの開発など、基礎研究から応用研究まで幅広く、独創性・新規性が高く、また実用性が期待できる研究が進んでおり、本事業に期待された成果を十分にあげ、今後も継続的な研究の発展と優れた成果の創出が十分に期待できる。事業終了後も、大学として、貴学の高い研究力を基盤に、本事業で構築・整備された研究拠点を有効活用して、研究をさらに発展させ、国際共同研究拠点としてtheranostics研究を先導して推進し、発展させていかれることを強く期待する。併せて、本拠点の活動を通して、次世代のライフサイエンス研究、theranostics医療を担う若手人材の育成にも努められることを期待する。」</p>

## 最終評価報告書

評価対象：

平成 30 年度選定 私立大学研究ブランディング事業 タイプ B

「受容体特異的画像化技術を基盤とするがん放射線内用療法 (radio-theranostics) 研究拠点の形成」

評価内容：

本事業は、受容体特異的画像化研究進展に必須の先端的研究基盤整備と個別標的受容体に関する研究を 2018 年度～2020 年度の 3 年計画で実施された。京都薬科大学が持つ優れた研究基盤をもとに、核医学診断と放射線内用療法（核医学治療）を融合して診断と治療を一体的に行う、個別化精密医療を実現できる新しい医療技術として期待されている radio-theranostics の研究拠点を構築・機能させ、京都薬科大学の次世代がん研究のブランドの確立に全学的に取り組んでいることは高く評価できる。また、優れた研究成果も多く出ており、有効ながん radio-theranostics 用化合物の新規創製、開発した radio-theranostics 用化合物の臨床研究展開に向けた評価、企業との協力による製品化を目指した合成基盤技術の開発、海外の企業との高エネルギー用コリメータの開発など、基礎研究から応用研究まで幅広く、独創性・新規性が高く、また実用性が期待できる研究が進んでおり、本事業に期待された成果を十分にあげ、今後も継続的な研究の発展と優れた成果の創出が十分に期待できる。新型コロナウイルス感染症禍においてもウェブを活用したシンポジウムを積極的に利用し、国際連携も進めていることは高く評価できる。

事業終了後も、大学として、貴学の高い研究力を基盤に、本事業で構築・整備された研究拠点を有効活用して、研究をさらに発展させ、国際共同研究拠点として theranostics 研究を先導して推進し、発展させていかれることを強く期待する。併せて、本拠点の活動を通して、次世代のライフサイエンス研究、theranostics 医療を担う若手人材の育成にも努められることを期待する。

評価日：2021 年 3 月 26 日

外部評価者：京都大学名誉教授、学術研究支援室長 佐治英郎

佐治英郎

# 研究活動成果

## がんラジオセラノスティクスを目指した化合物創製とイメージング研究

代謝分析学分野 准教授 木村寛之

### 【はじめに】

「セラノスティクス(Theranostics)」とは、治療(Therapeutics)と診断(Diagnostics)を組み合わせた新しい医療技術であり、患者個々における病態像を正確に捉えた上で、適切な治療を施すことを目指している。また、近年患者個人の詳細な生体情報を統合し、最適な治療法を選択する新しい医療アプローチ(プレシジョン・メディシン)が国際的に注目されている。プレシジョン・メディシンとは、患者個々の細胞、遺伝子、受容体やたんぱく質発現などの特性を、最先端技術を用い分子レベルで判別することで精密にグループ化し、適切な投薬、治療と予防を提供する医療であり、2015年米国オバマ元大統領が一般教書演説のなかで触れたことで一躍有名となった。プレシジョン・メディシンの発展により最適化された治療が実現すれば、有害事象の軽減にも貢献し、患者のQOL向上にも繋がる。さらには、精密に分類された病態グループに用いる新たな治療薬の開発促進に繋がり、新薬開発の効率を大きく向上させ、創薬分野にも大きな影響を及ぼすと考えられる。そこで、プレシジョン・メディシンの推進には、セラノスティクスは重要な役割を果たすと期待されている。

セラノスティクスを実現する診断技術の一つとして、分子イメージング技術が挙げられる。分子イメージング技術は、組織/細胞レベルにおいて生化学的・分子生物学的なプロセスの可視化を可能とし、基礎研究・臨床研究・創薬研究などへの応用が検討されている。生体分子イメージングには、可視光・蛍光・近赤外光などの光を利用する方法、核磁気共鳴現象を利用するMRI(magnetic resonance imaging、核磁気共鳴画像診断)、放射線を用いるPET(positron emission tomography、陽電子放射型断層撮影)やSPECT(single photon emission computed tomography、単光子放射型断層撮影)などが広く知られている。さらに近年、蛍光イメージングの感度の高さや分解能の高さに加え、超音波イメージングの透過性の高さを併せ持つ光音響イメージングのような新しいイメージング法も開発されつつある。これらの中でも特に、疾患の特長を捉えることのできる放射性プローブを用いたPET、SPECT分子イメージング技術は、全身の疾患部位をくまなく三次元情報にして精査できる強力な診断法であり、分子イメージング技術のプレシジョン・メディシンへの応用(Imaging Based Precision Medicine)は、非侵襲的に局所病変の分子病態を定量的評価できる唯一のアプローチとして、必要不可欠と考えられる。この技術を応用すれば患者個々への最適な治療法を迅速かつ高い精度で選び出すことが可能となる(図1)。

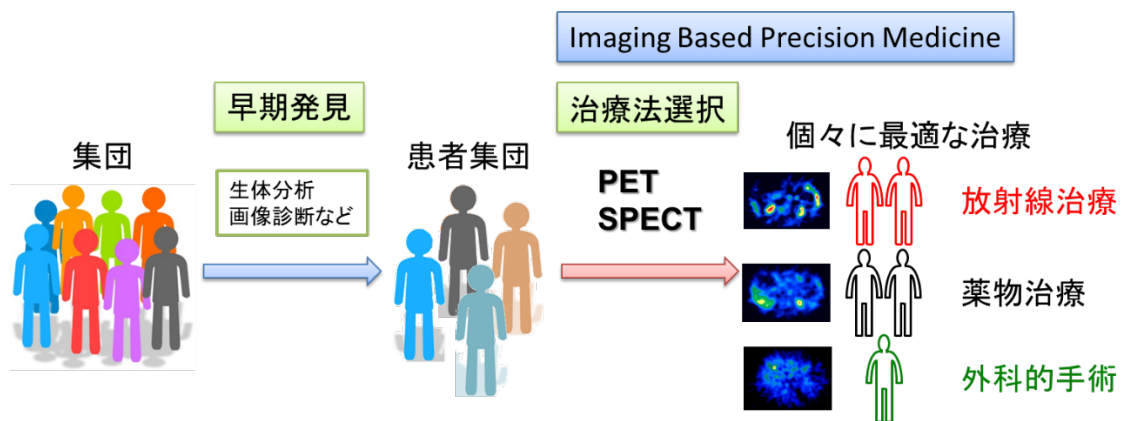


図1 分子イメージング技術のプレシジョン・メディシンへの応用

セラノスティクスの実現の重要な鍵を握るのが、セラノスティクスプローブと言われる薬剤である。盛んに研究されているセラノスティクスプローブの代表例の1つとして、ナノ担体（ミセルやリポソームなど）に、診断と治療に関わる複数の機能を搭載させた化合物の開発と応用が挙げられる（図2）。ナノ担体は分子中に複数の機能を搭載することが可能であり、治療効果をもつ物質と診断能をもつ物質を共存させることができるため、セラノスティクスの領域において特に開発が進められてきた。診断法としては、光、X線CT（X線コンピュータ断層撮影）、MRI、PET、SPECT、超音波、光音響などの画像診断法が用いられており、利用するイメージング装置に応じて診断能をもつ物質がナノ担体に導入される。さらに、ナノ担体内部に抗がん剤などの治療薬を封入することで、これを標的病巣へと効率的に送達させるDDS機能を持たせることも可能である。

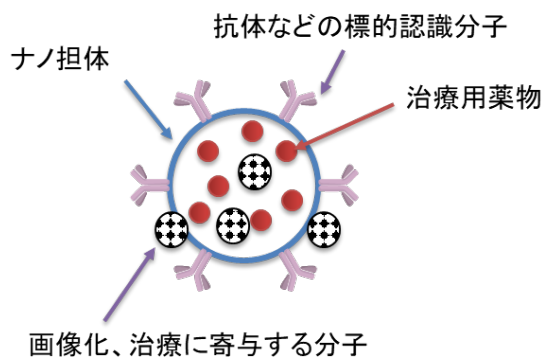


図2 ナノ担体を用いたセラノスティクスプローブ

もう一つの代表例として、核医学分野で開発が進められているラジオセラノスティクス（Radio-Theranostics）プローブが挙げられる。PETやSPECTのように病巣を可視化できる診断用放射性薬剤を使った「分子イメージング技術」で“病気の診断”を行うとともに、同じ仕組みで治療用の放射性薬剤を患部に送り込み病巣だけを狙った「放射性同位元素内用療法」で“病気の治療”ができるようにする方法である。核医学の領域では、以前から放射性医薬品を利用した核医学画像診断と放射性同位元素内用療法を融合することで、ラジオセラノスティクスを実現している。既に医薬品として承認されている、I-123/I-131 カプセル（甲状腺疾患の診断と治療）や Y-90/In-111 イブリツモマブチウキセタン（B細胞性非ホジキンリンパ腫の診断と治療）はこれに該当する薬剤と言える。

(図3)。現在、世界的に注目されているのが、神経内分泌腫瘍の細胞膜上に発現するソマトスタチン受容体を標的とした  $^{111}\text{In}$ -DTPA-Octreotide/ $^{177}\text{Lu}$ -Dotatate や、前立腺がんの細胞膜に発現する前立腺特異的膜抗原 (PSMA: Prostate specific membrane antigen) を標的とした  $^{68}\text{Ga}$ -PSMA / $^{177}\text{Lu}$ -PSMA などである。

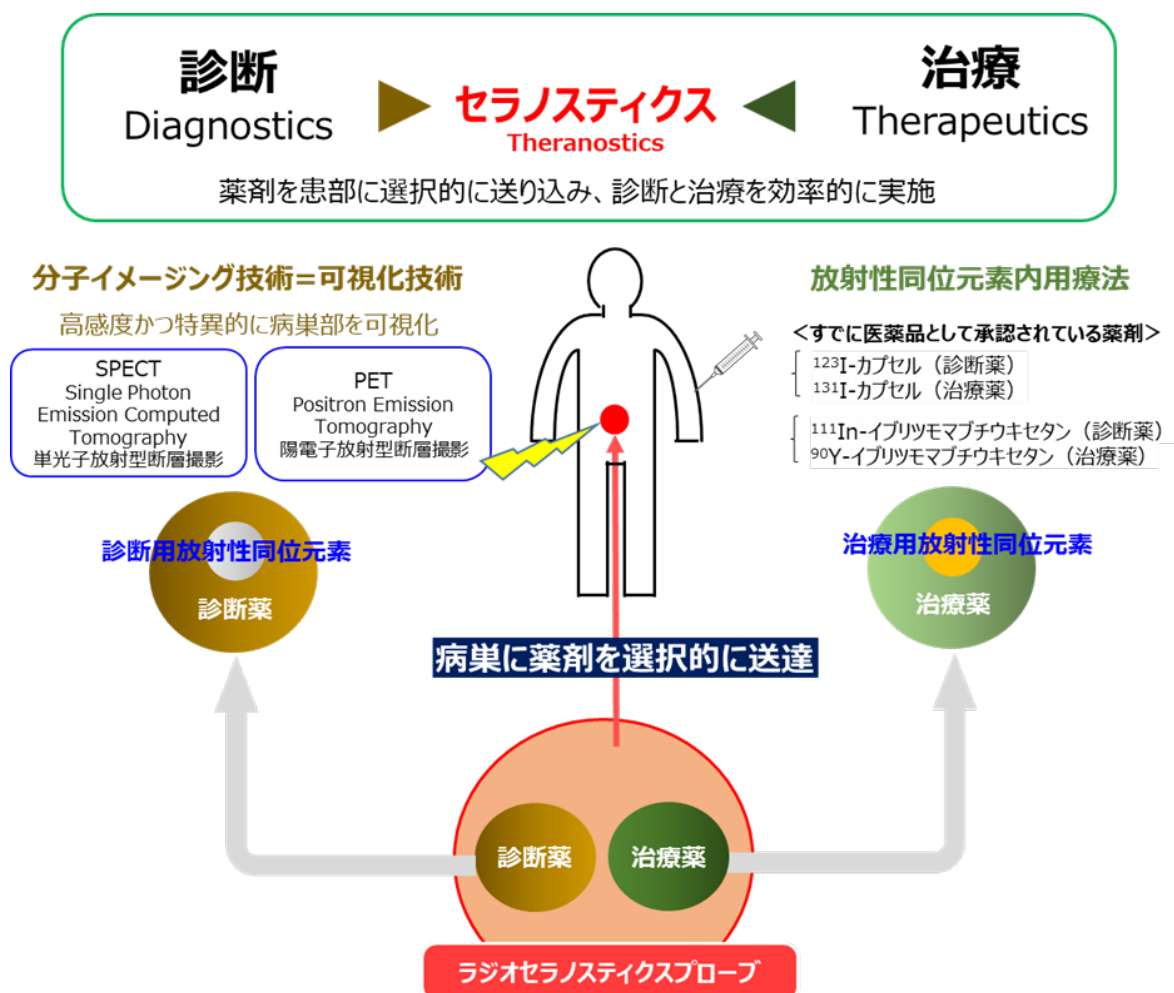


図3 ラジオセラノスティクス

我々のグループでは、以下の3つの領域においてラジオセラノスティクス研究を進めてきたので、それらの成果について報告する。

#### 1. ラジオセラノスティクスプローブの開発 (薬剤開発):

陽電子放射型断層撮影 (PET)・単光子放射型コンピュータ断層撮影 (SPECT) 用プローブの開発、治療用薬剤の開発 (RI 内用療法用薬剤など)

#### 2. プローブ合成技術の開発 (標識反応、合成装置開発):

新規標識法 (フッ素化、ヨウ素化) の開発、マイクロ波反応装置やマイクロリアクターを用いた合成装置の開発、Electro Wetting On Dielectric (EWOD) 技術を利用した標識合成技術の開発



### 3. 画像化技術の開発：

ベルギーMolecubes社のSPECT装置( $\gamma$ -cube)を用いた撮像条件の最適化、 $\gamma$ -cube専用の高エネルギー用コリメータの開発、次世代高感度ガンマ線3DカメラであるElectron-tracking compton gamma-ray camera (ETCC)の開発

さらに私立大学研究ブランディング事業では、国際共同研究(ドイツ、ベルギーなど)にも力を入れてプロジェクトを進めてきたので、併せてそちらの成果についても報告する。

#### 【方法・結果】

#### ラジオセラノスティクスプローブの開発(薬剤開発)：

本プロジェクトの目的は、がんラジオセラノスティクスを可能とする化合物創製とその高度化利用にある。具体的には、分子イメージング技術を用いてがんの早期発見、性状の特異的・効率的な把握を行い、有効な治療法へと結びつけるワークフローの構築を行う。特に、脳腫瘍、肺がん、前立腺がん、乳がん、膵がんを対象疾患として、臨床上でも有効となり得る画像診断法・治療法の研究を進めている。

#### 1) 肺がん EGFR 遺伝子変異の検出を可能とする PET、SPECT 用分子イメージングプローブの開発

本研究では、EGFR 遺伝子変異の検出を可能とする陽電子放射型断層撮影(PET)、単一光子放射型コンピュータ断層撮影(SPECT)用分子イメージングプローブの開発と、EGFR-TKIの治療効果予測や治療効果判定などを定量評価しうる分子イメージング法の確立を進めている。これまでの研究において、1次変異体EGFR(L858R)を描出可能なPET用分子イメージングプローブとし $^{18}\text{F}$ APP-1と $^{18}\text{F}$ FTP2を報告してきた。現在、2次変異体EGFR(L858R/T790M)を描出する分子イメージングプローブとして、有望な化合物である $^{18}\text{F}$ RT-19を見出すことに成功しており、現在はより詳細な*in vivo*評価を進めている(図4)。これまでの研究において、計算科学的手法を用いたEGFR-TKI薬剤設計法を独自に構築しており、 $^{18}\text{F}$ RT-19の誘導化や新規薬剤の開発も進めている。最適な候補化合物が得られた場合には、代表的なEGFR-TK選択的阻害剤であるPD153035及びgefitinibの存在・非存在下で、合成した新規誘導体のEGFR-TKリン酸化阻害能及びヒト由来肺がん細胞に対する*in vitro*における取り込みを測定し、EGFR-TKに対する結合特性の評価を行う。本研究で開発する画像診断法は、治療前にEGFR-TKI適応患者を選別するこ

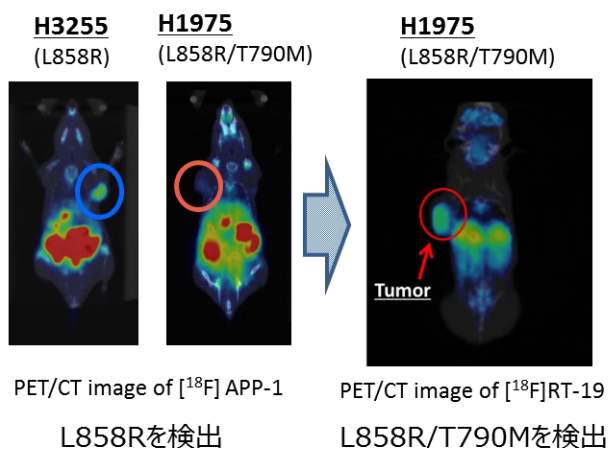


図4  $^{18}\text{F}$ APP-1と $^{18}\text{F}$ RT-19のPET画像

とで、gefitinib による重篤な副作用の危険性を回避することや、的確な治療戦略決定に寄与することで、医療経済効果が期待できる可能性がある。また EGFR の発現と活性度の定量的画像解析法により EGFR-TKI の治療効果予測・予後予測も可能となり、gefitinib 以外の肺癌の分子標的治療にも応用可能な画像診断として期待できる。本研究の成果は、画像診断情報を基にした個々の体質に合わせた予防・治療を可能とする効果的・効率的な個別化医療（オーダーメイド医療）の実現に寄与できるとともに、がんの増殖メカニズムとその診断・治療という臨床をつなぐ、がんのトランスレーショナルリサーチの一翼を強力に推進することが期待される。

## 2) EphA2 を標的とした SPECT 用分子イメージングプローブの開発

本研究では、がんの新しい標的分子として受容体型チロシンキナーゼである Eph に注目した。Eph receptor ファミリーは、受容体型チロシンキナーゼとして知られ、現在ヒトでは 14 種類の分子から構成されている。Eph receptor ファミリーはこれまで、神経細胞の分化や増殖といった多様な生理機能を有していることが知られている。以上のことから本研究では、脳腫瘍、乳がんや前立腺がんで過剰発現している EphA2 に着目し、がんの質的診断を可能とする SPECT 用分子イメージングプローブの開発を行った。

ALW-II-41-27 は Eph 受容体阻害剤として報告されていたため、分子イメージングプローブのリード化合物として選択した。ALW-II-41-27 に SPECT 核種として利用されている、 $^{123}\text{I}$  を付加した誘導体 [ $^{123}\text{I}$ ]ETB を設計・合成した(図 5)。

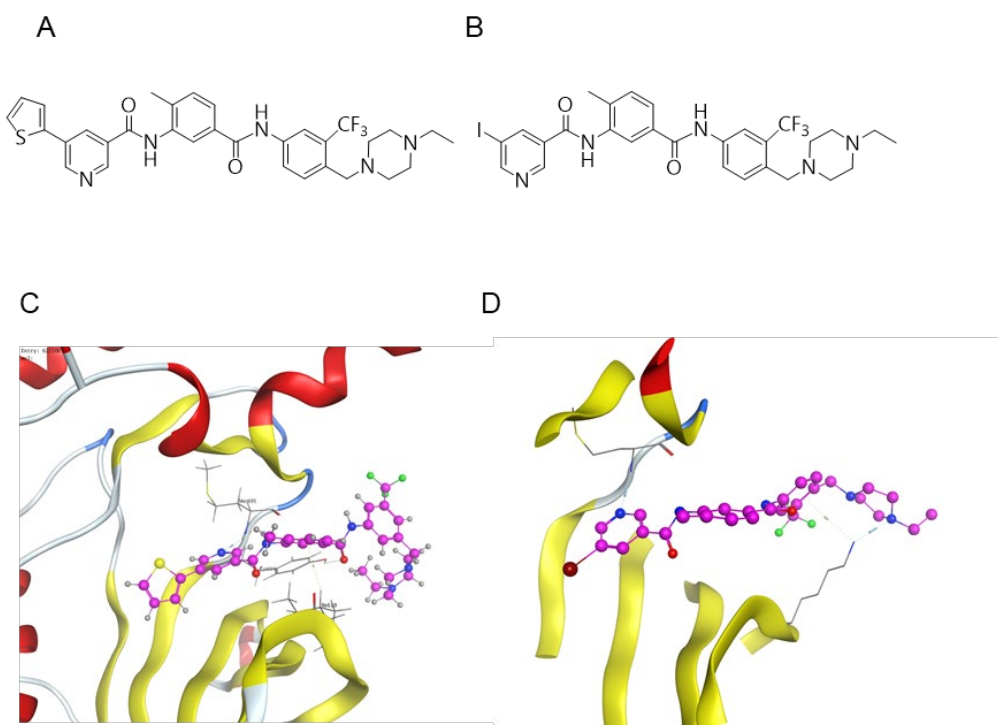


図 5 ALW-II-41-27(A, C) と ETB(B, D) の構造とドッキングシミュレーション

合成した ETB について、EphA2 に対する阻害活性を評価した。また、既存の EphA2 阻害剤と比較するために ALW-II-41-27 の阻害活性も評価したところ、ALW-II-41-27 と ETB の EphA2 に対する阻害活性は同程度 ( $IC_{50}$ : ALW-II-41-27,  $67.2 \pm 18.9$  nM; ETB,  $90.2 \pm 18.9$  nM) であったことから、ヨウ素の導入が親和性に影響しないことが示された。

スズ体前駆体より放射性ヨウ素体 ETB を合成した。 $[^{125}I]$ ETB は放射化学的収率  $70.2 \pm 1.8\%$  (2.9-3.1 MBq)、放射化学的純度 99%以上で得られた。一方、 $[^{123}I]$ ETB の放射化学的収率は  $30.1 \pm 5.6\%$  (25.6-59.1 MBq) と  $^{125}I$  体よりも低かったものの、放射化学的純度 99%以上と高い純度で目的の化合物が得られた(図 6)。

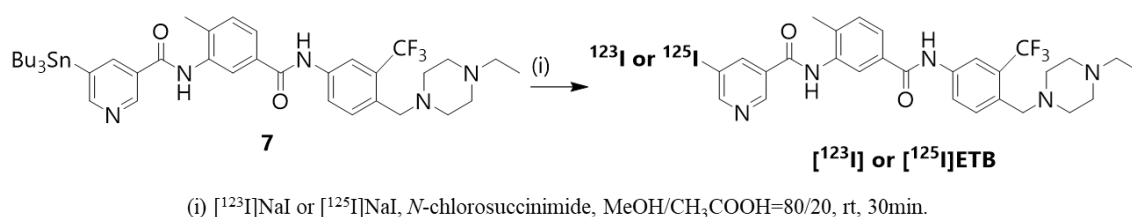


図 6 放射性ヨウ素体 ETB の標識合成

EphA2 が過剰発現していることを確認した U87MG 細胞を担癌したモデルマウスを用いて体内分布実験を実施した。投与後早期より腫瘍への集積は高く、その集積は維持されることが分かった。イメージングの指標となる腫瘍血液比は投与後 30 分の時点で 5 以上あり、さらに腫瘍筋肉比も投与後 4 時間の時点で 4 を超える良好な結果を示した。また、脱ヨウ素の指標となる甲状腺への集積は低かったことより、 $[^{125}I]$ ETB は生体内でも安定であることが示された(図 7)。

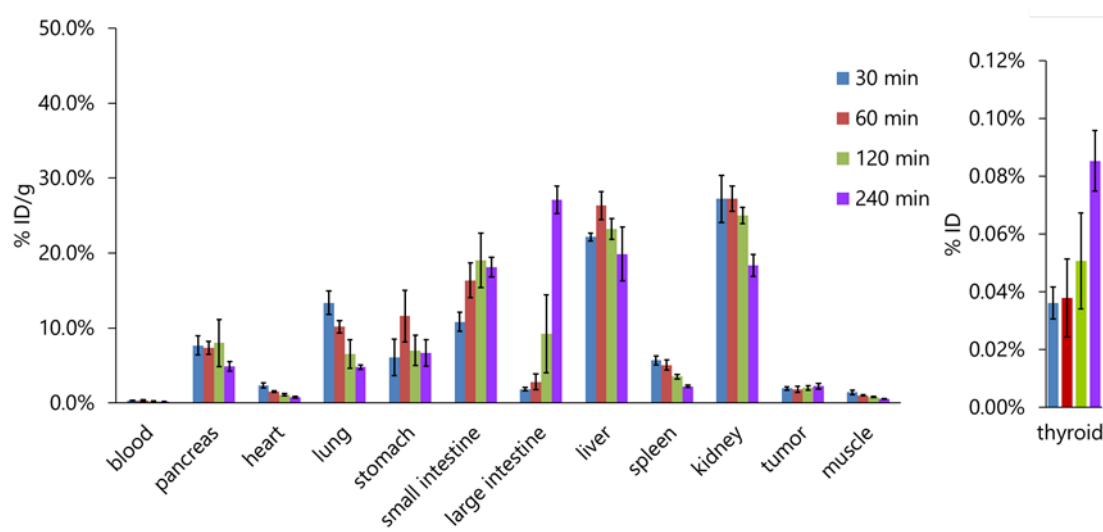


図 7 U87MG 担癌モデルマウスを用いた  $[^{125}I]$ ETB の体内分布実験

さらに、U87MG 細胞担癌モデルマウスを用いて $^{123}\text{I}$ ETB の SPECT/CT 撮像を行ったところ、明瞭な腫瘍の可視化にも成功した(図 8)。以上の結果より、 $^{123}\text{I}$ ETB は EphA2 を標的とした SPECT 用分子イメージングプローブとして有用であることが示された。

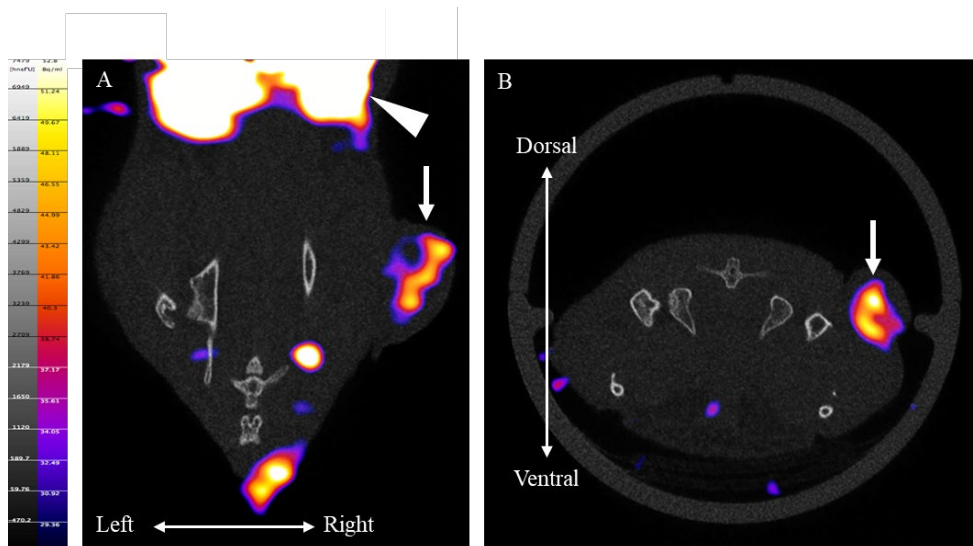


図 8 U87MG 担癌モデルマウスを用いた $^{123}\text{I}$ ETB の SPECT/CT 画像

#### プローブ合成技術の開発 (標識反応、合成装置開発) :

##### 1) マイクロリアクターを用いた合成システムの開発

分子イメージング技術は組織/細胞レベルにおいて生化学的・分子生物学的なプロセスの可視化を可能とし、基礎研究・臨床研究・創薬研究などへの応用が期待されている。特に臨床領域においては、がんやアルツハイマーなどの疾患イメージングに良く用いられている。その中でも PET は、高い感度・定量性・空間分解能・低侵襲性のため、分子イメージングの中心的技術であり、PET イメージング装置の性能向上とともに、世界中の研究機関で種々の PET プローブとその合成方法に関する開発が精力的に行われている。近年では、有機合成分野の著名な研究者も、PET 合成の研究を開始している。PET 分子プローブの合成においては、トレーサ量の合成に特化した微量合成法の開発、放射線の遮蔽の観点から合成装置の小型化、並びに用いる核種の半減期に応じた短時間合成法の確立が強く求められている。実際 PET 分子プローブには、半減期が約 20 分、110 分の短寿命 RI である  $^{11}\text{C}$ 、 $^{18}\text{F}$  がよく使用されている。 $^{11}\text{C}$ 、 $^{18}\text{F}$  共に半減期が非常に短いため、短時間で効率よく合成する必要性が求められる。ほとんどの PET 分子プローブは、施設内で自動合成装置を用いて製造されている。現在最も有名な PET 薬剤は、がんの早期発見に有用な  $^{18}\text{F}$ -標識フルオロデオキシグルコース ( $^{18}\text{F}$ FDG) である。 $^{18}\text{F}$ FDG が保険適用された後は、民間の PET センター数が 100 を越えて急激に増加しており、がんの早期発見に対する社会の大きな期待を反映したものと考えられている。このように、PET は先進診断法であるとともに、社会に根付いた一般診療法として定着しつつあると



言える。これらの社会のニーズに応え、更なる発展を遂げるには、PET 分子プローブ合成技術の発展なくしては広く社会に普及し貢献することは望めない。

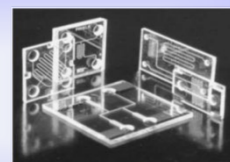
近年、著しいナノ・マイクロ加工技術の発達により、マイクロリアクターと呼ばれる微小反応装置が開発されてきた。特に、生物学やバイオテクノロジーの分野において、DNA やタンパク質の分析、細胞の分類、ハイスループット・スクリーニング、化学反応、ごく少量 (1~100  $\mu$ L) の物質輸送などに幅広く利用されている。PET 標識化学の観点から言えば、ナノ・マイクロリットル単位の微小流路内で反応を行うことで反応容量並びに装置自体のサイズの低減が可能であり、さらに優れた熱効率・混合効率により短時間・高効率合成が可能であることから、PET 分子プローブの合成に適した特徴を有していると考えられる (図 9)。そのため、マイクロリアクターは PET 分子プローブの標識合成用装置としての応用が期待されているが、未だそれ程報告例は多く無い。

#### Positron Emission Tomography (PET) 用放射性プローブ

- ・ トレーサ量 → 微量 (物質・容量) 合成
- ・ 放射線の遮蔽、ホットセル内での合成 → 自動合成化  
装置の小型化
- ・ 短半減期核種の減衰 → 短時間合成  
( $^{18}\text{F}$ :  $T_{1/2} = 109.8 \text{ min}$ ,  $^{11}\text{C}$ :  $T_{1/2} = 20.4 \text{ min}$ ,  $^{15}\text{O}$ :  $T_{1/2} = 2.07 \text{ min}$ )

#### マイクロリアクター

- ・ ナノ・マイクロリットル単位の微小流路内で反応 → 低容量合成  
装置の小型化
  - ・ 優れた熱効率・混合効率 → 短時間合成
- PET用放射性プローブ合成に適した特徴



Lab Chip, 6, 329–344 (2006)

図 9 マイクロリアクターを用いた PET 合成

これまでに我々は、hydroxyl 基の  $O$ - $^{11}\text{C}$ -メチル化反応においてマイクロリアクターを用いた、 $[^{11}\text{C}]$ Raclopride の短時間・高収率の合成を報告している (図 10)。

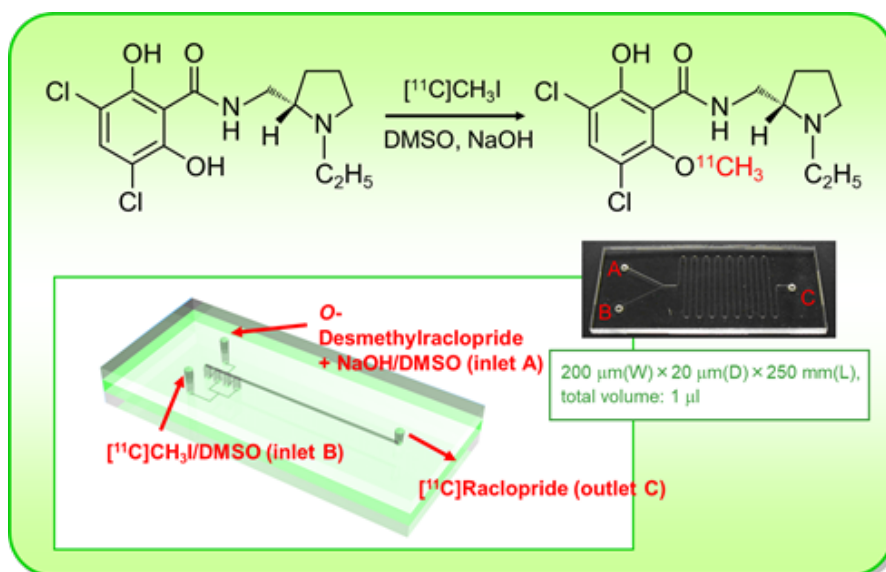
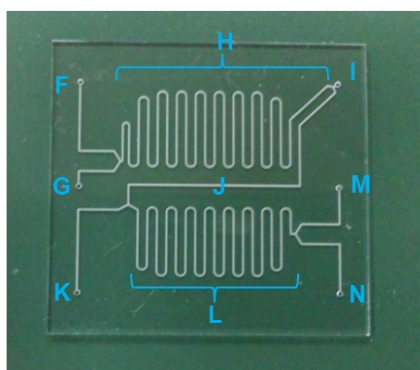
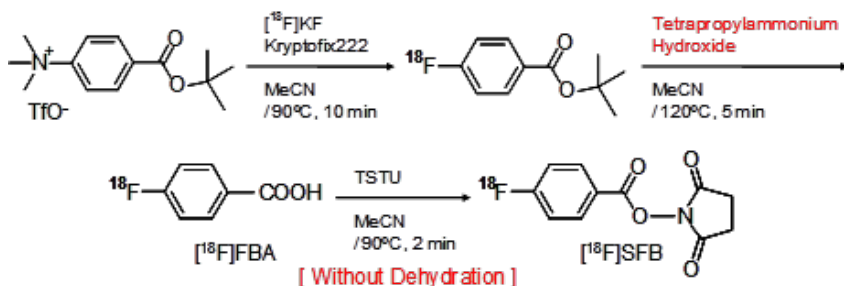


図 10 マイクロリアクターを用いた  $[^{11}\text{C}]$ Raclopride の合成

また、3 段階反応用マイクロリアクターを用いた $^{18}\text{F}$ SFB の one-flow 合成についても報告している（図 11）。 $^{18}\text{F}$ SFB はペプチドや蛋白質などの高分子化合物の  $^{18}\text{F}$  標識試薬として用いられている。



J : channel from inlet I to the junction

material : silica glass  
 fabrication : sandblast  
 chip size : 50 x 50 mm  
 volume : 5.6, 1.1, 4.5  $\mu\text{L}$

cross-section of channel

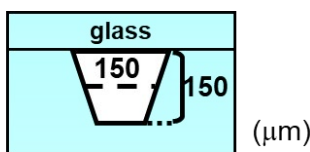


図 11 3 段階反応用マイクロリアクターを用いた $^{18}\text{F}$ SFB の one-flow 合成

## 2) Electro Wetting On Dielectric(EWOD)技術を利用した標識合成技術の開発

本プロジェクトでは、EWOD (Electro Wetting On Dielectric) の技術を利用した微量薬剤合成システムの開発に、産業技術総合研究所の茂木克雄博士と取り組んでいる。EWOD とは、図 12 のような絶縁被膜された電極基板（EWOD 基板）に電圧を印加することで絶縁膜に誘電分極が発生して EWOD 基板の見かけ上のぬれ性が変わる作用のことである。

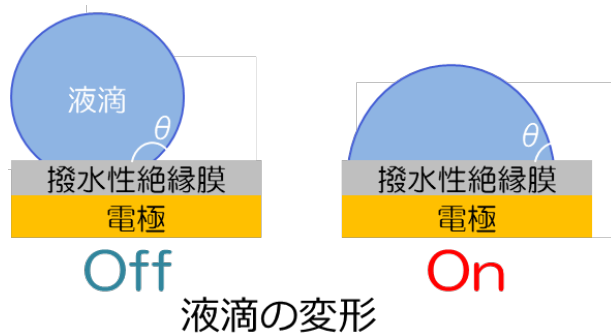


図 12 EWOD 基板の見かけ上のぬれ性の変化

この作用により、EWOD 基板上の微量試薬の液滴を電圧の切替えのみで遠隔操作できるため（図 13）、閉空間で薬剤の操作を行うマイクロ流路と異なり、誤作動や非常事態の際に、すぐに操作を中断してサンプルを回収することができる。

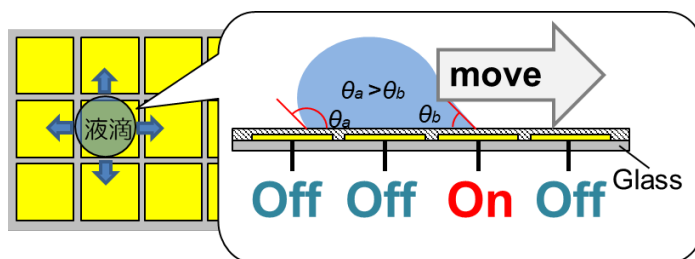


図 13 EWOD による液滴の移動

試作デバイスによる  $[^{99m}\text{Tc}]\text{DTPA}$  の合成を行っており（反応効率  $99.7 \pm 0.13\%$ ）、実際に合成した  $[^{99m}\text{Tc}]\text{DTPA}$  を使用したマウスの腎臓の SPECT / CT イメージングにも成功している（図 14）。

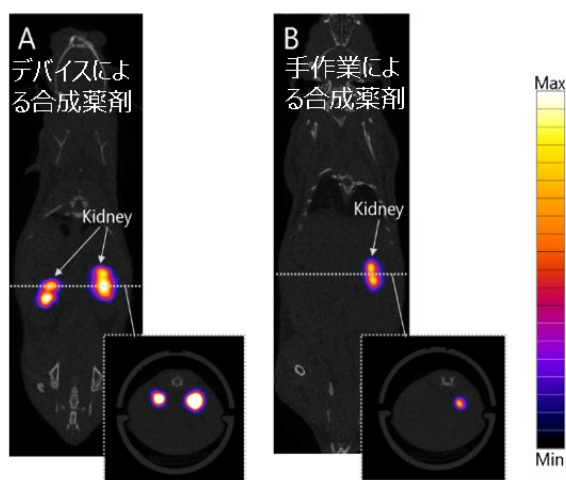
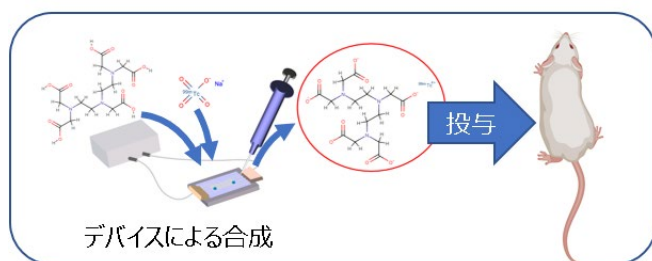


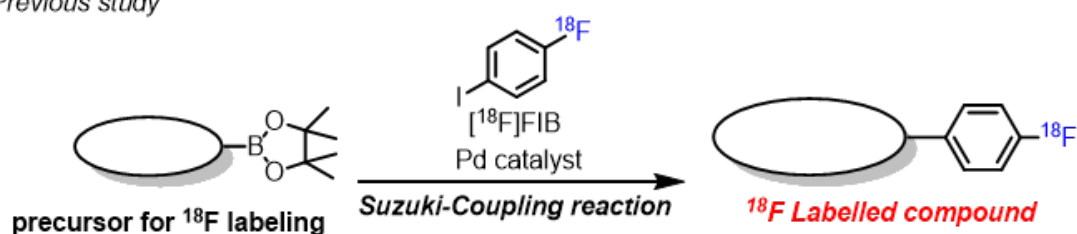
図 14 EWOD 技術を利用して合成された  $^{99m}\text{Tc}$ -DTPA のマウス SPECT 画像

### 3) 新規 F-18 標識法の開発

生理活性物質を放射性同位元素  $^{18}\text{F}$  で標識した化合物は、PET プローブとして利用されている。プローブへの  $^{18}\text{F}$  導入には  $^{18}\text{F}_2\text{gas}$  を用いる求電子置換反応と  $^{18}\text{F}^-$  を用いる求核置換反応の 2 種類がある。求電子置換反応を用いる方法では、温和な条件で合成可能であるが、担体を加えて  $^{18}\text{F}_2\text{gas}$  を調製するため、得られる  $^{18}\text{F}_2\text{gas}$  の比放射能は低く、

$^{18}\text{F}_2\text{gas}$  より合成する  $^{18}\text{F}$  標識化合物の比放射能も低いことが問題となっている。一方、求核置換反応を用いる方法では、無担体で  $^{18}\text{F}$  が調製可能であり、高い比放射能を有する  $^{18}\text{F}$  標識化合物が得られる。そのため、実際に臨床で用いられる  $^{18}\text{F}$  FDG を筆頭に  $^{18}\text{F}$  導入法として  $^{18}\text{F}$  による求核置換反応が主流となっている。しかしながら、 $^{18}\text{F}$  の求核性及び反応性が低いため、比較的高温条件が必要であり、その中でも電子豊富な芳香環への導入は困難であることが問題点として挙げられる。これまで、電子豊富な芳香環への  $^{18}\text{F}$  導入法は、電子吸引基としてカルボニル基を有するアリール誘導体に対するイプソ置換が一般的であり、近年では、ヨードニウム塩、ヨードニウムイリド、そしてスルホニウム塩に対する求核置換が報告されている。この他にも、 $^{18}\text{F}$  標識試薬を用いた間接標識法も開発され、 $^{18}\text{F}$  SFB がペプチドやタンパク質への  $^{18}\text{F}$  標識によく用いられる。そこで、我々は新たな間接標識法として、カップリング反応を用いた間接標識法が有効と考え、標識法の開発に着手した。これまで、我々は  $^{18}\text{F}$  Fluoroiodobenzene ( $^{18}\text{F}$  FIB) による鈴木カップリング反応を用いた間接標識法を用いることで  $^{18}\text{F}$  pitavastatin の合成を報告してきた。さらなる汎用性の向上を目指し、 $^{18}\text{F}$  試薬としてボロン酸誘導体を用いることを考えた。 $^{18}\text{F}$  標識ボロン酸誘導体によりハロゲン基やトリフラート基などの官能基に対してもカップリング可能となる。そのため、基質のボロン酸誘導体変換が不要となり、 $^{18}\text{F}$  標識がより容易になることが予想された。我々は、 $^{18}\text{F}$  標識ボロン酸誘導体  $^{18}\text{F}$  4-(4,4,5,5-Tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)fluorobenzene ( $^{18}\text{F}$  TDBFB) の合成及び本誘導体を用いた  $^{18}\text{F}$  標識化合物の合成に成功している (図 15)。

*Previous study*



*This study*

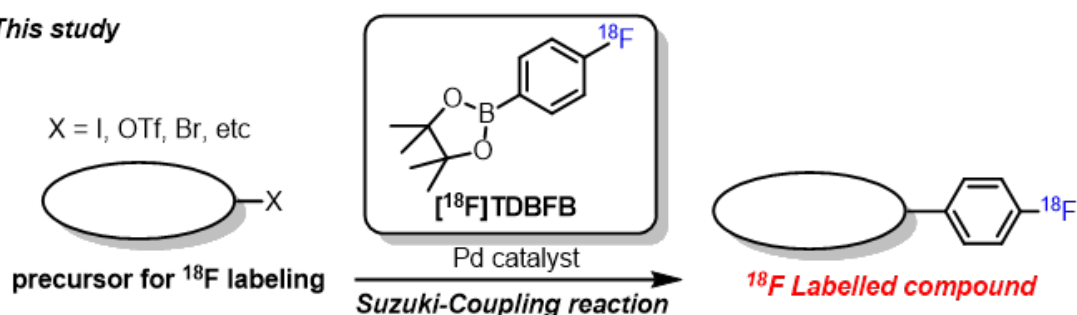


図 15  $^{18}\text{F}$  TDBFB を用いた標識法



#### 4) 銅触媒を用いたボロン酸前駆体からの放射性ヨウ素標識反応の開発

放射性ヨウ素標識法として、放射性標識率および標識特異性の観点から、スズー放射性ヨウ素交換反応を用いる方法が汎用されている。しかしながら、この標識法は投与液中に有毒な有機スズ化合物が残留する点や、スズ前駆体の安定性が低く長期的な保存に不向きなどの問題点が挙げられる。近年、それらの問題点を改善すべく、様々な放射性ヨウ素標識法が報告されており、その一つとして、銅触媒を用いたボロン酸前駆体からの放射性ヨウ素標識法が挙げられる。この反応は、室温での標識も可能であり、さらにボロン酸前駆体はスズ前駆体と比較して安定性が高いため長期の保存も可能である。ボロン酸前駆体を用いた  $^{18}\text{F}$  標識については従来から多くの報告があるが、それに加えて、 $^{77}\text{Br}$ ,  $^{211}\text{At}$ ,  $^{11}\text{CN}$  標識に関する報告も出てきており、今後、さらに注目が集まることが予想される。ボロン酸にはいくつかの保護基が存在するが、合成途中で保護基が外れてしまうことや、逆に脱保護が効率よく進行しないこともある。したがって、保護基の有無が標識率に、どの程度の影響を与えるかを知ることは前駆体を設計する上で重要である。そこで我々は、ボロン酸の保護基の中でも一般的に使用頻度の高いピナコールエステル型の保護基に焦点を絞り、保護基の有無による  $^{125}\text{I}$  標識への影響を調べることにした。また、本標識法の応用例として、環状ペプチドである c(RGDyk) の  $^{125}\text{I}$  による間接標識及び直接標識についても検討を行った (図 16)。

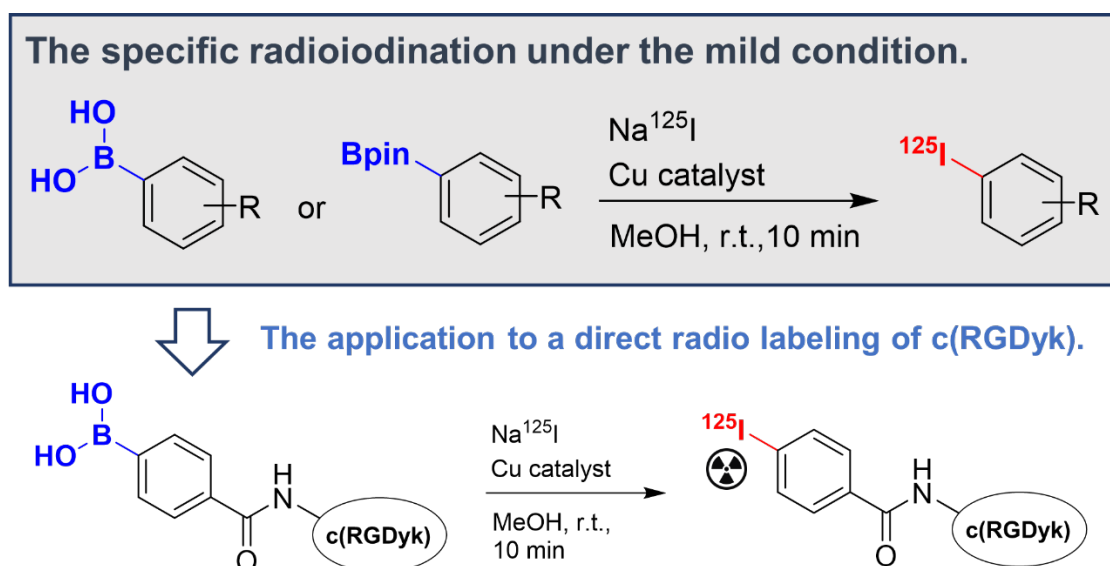


図 16 銅触媒を用いたボロン酸前駆体からの放射性ヨウ素標識法

メタノール溶媒下で、各ボロン酸前駆体と  $\text{Na}^{125}\text{I}$  を  $\text{Cu}(\text{pyridine})_4(\text{OTf})_2$  触媒存在下で、10 分間、室温で反応させた後、ラジオ TLC 及び HPLC を用いて放射化学変換率 (RCC) を算出し比較した。さらに RCC が低い値のものに関して反応溶媒の検討を行った。また、(4-(2,5-dioxopyrrolidine-1-carbonyl)phenyl)boronic acid (PB-NHS) からの  $[^{125}\text{I}]2,5\text{-dioxopyrrolidin-1-yl 4-iodobenzoate}$  ( $[^{125}\text{I}]\text{IB-NHS}$ ) への誘導化の条件を

最適化した上で、c(RGDyK) の間接的な標識を行った。さらに、PB-NHS を用いて、c(RGDyK) からボロン酸前駆体 (PB-c(RGDyK)) を合成し、銅触媒存在下で  $\text{Na}^{125}\text{I}$  と反応させた。今回、我々が検討を行った範囲において、ピナコールエステル型の保護基を有する前駆体又は保護基を有さない前駆体を用いた標識率は、共に 80–99%と高い値を示し、保護基の有無が標識率に大きな影響を及ぼす例は少なかった。また、位置異性体における標識率にも大きな差は確認されず、立体的に混み合った位置でも保護基の影響を受けずに標識しやすい手法であることが示された。本法により合成された  $^{125}\text{I}$  IB-NHS を用いて c(RGDyK) を間接的に  $^{125}\text{I}$  で標識することが出来た。さらに、各種条件検討の結果、PB-c(RGDyK) からの直接的な  $^{125}\text{I}$  標識にも成功した (図 17)。これらの結果から、本標識法は、ペプチド標識にも有効な手段となり得ることが示唆された。

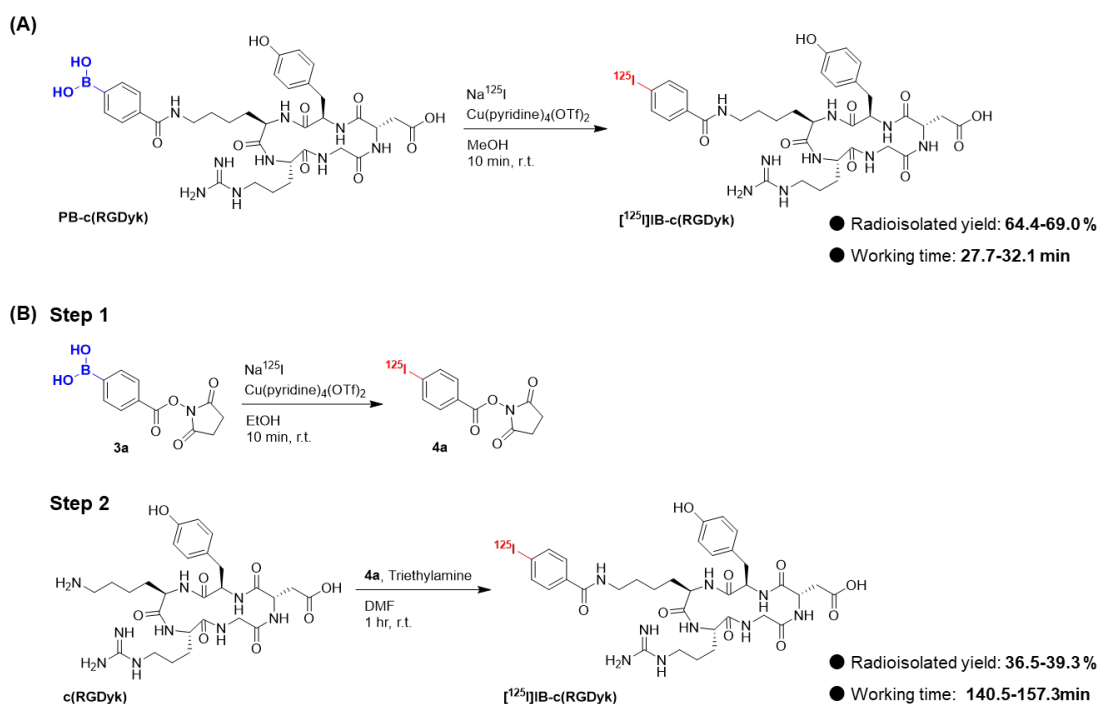


図 17 ペプチドを用いたボロン酸前駆体からの放射性ヨウ素標識法の応用例

### 画像化技術の開発 :

本学に導入した Molecubes 社の  $\gamma$ -cube の性能評価を実施した (図 18)。販売されている附属のコリメータとして、マウス用コリメータ (GP mouse collimator、FOV 12x32mm) とラット用コリメータ (GP rat collimator、FOV 24x60mm) の 2 種類あるが、以下の性能評価ではマウス用コリメータを用いた (図 19)。



図 18 CT: X-CUBE SPECT:  $\gamma$ -CUBE

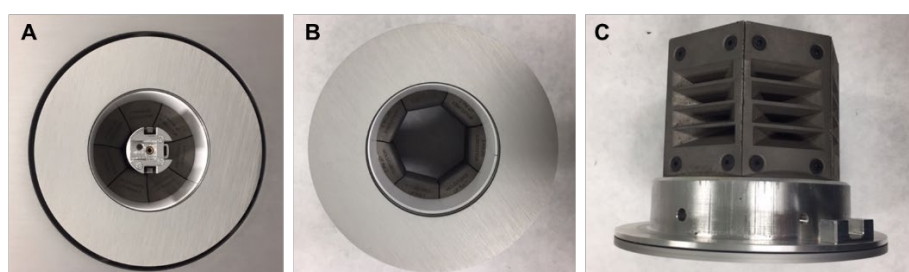


図 19 A: GP mouse collimator、B: GP rat collimator、C: GP rat collimator を横から見た写真

図 20 に示す評価用ファントムに、 $^{99m}\text{TcO}_4^-$  を 10MBq 充填して撮像を行った。撮像は、15 分、30 分、45 分、1 時間、2 時間でそれぞれ撮像し、画像再構成は以下の条件で実施した。

画像再構成：

- ・  $^{99m}\text{Tc}$  energy window (141 keV  $\pm$  10 %)
- ・ 3D maximum likelihood-expectation maximization algorithm (500 iterations)

なお、本研究では散乱線補正および減弱補正は行っていない。

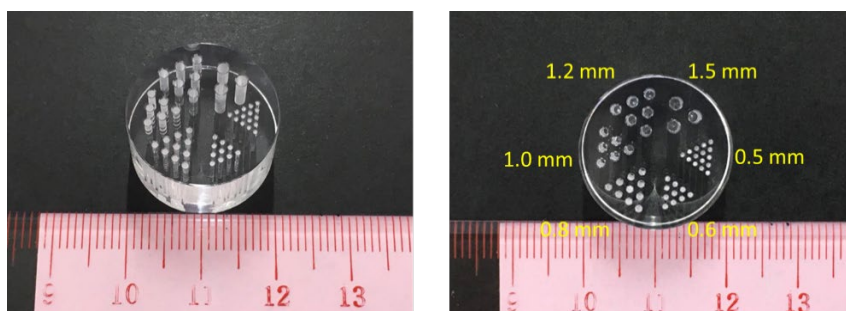


図 20 評価用ファントム

撮像実験の結果より、撮像時間 15 分でも直径 0.8 mm の穴は明瞭に描出されており、撮像時間を 2 時間まで延ばすと直径 0.6 mm の穴まで明瞭に描出された（図 21）。今回の検討では、10MBq を充填して撮像した結果のみであるため、今後は充填する RI の量を変えて評価を行う。さらに、 $^{123}\text{I}$ 、 $^{111}\text{In}$ 、 $^{67}\text{Ga}$  でも同様の検討を行う予定である。

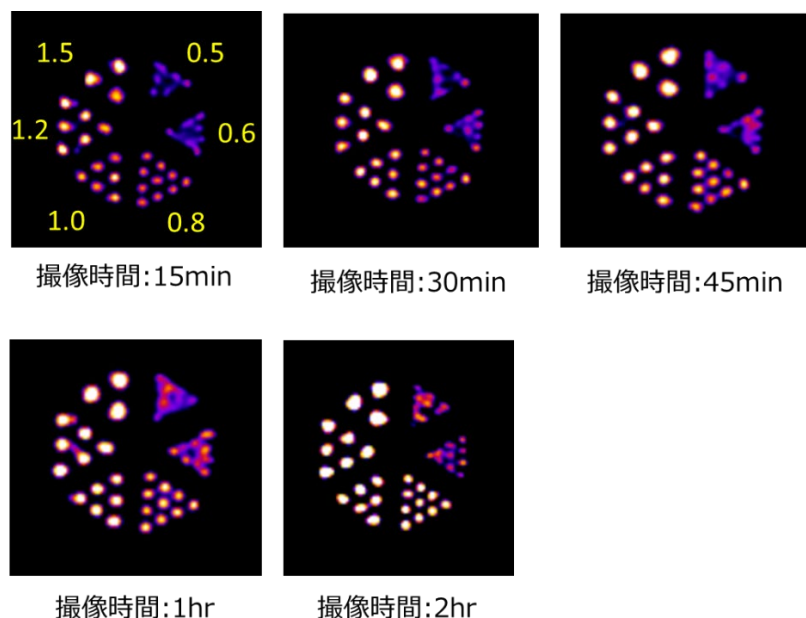


図 21 評価用ファントムでの撮像結果

上記での検討結果を踏まえ、次にインビボでの撮像評価を、マウスを用いて実施した。イメージングプローブとしては、 $^{123}\text{I}$ -iofulupane と  $^{123}\text{I}$ -IMP を用いた。図 22 には、 $^{123}\text{I}$ -iofulupane の SPECT 画像を示す。 $^{123}\text{I}$ -iofulupane を 26 MBq 投与 60 分後から、30 分間撮像を行ったところ、線条体への集積を明瞭に描出することができた。さらに、投与量を 4 MBq まで減らしても、線条体への集積を描出することができた。

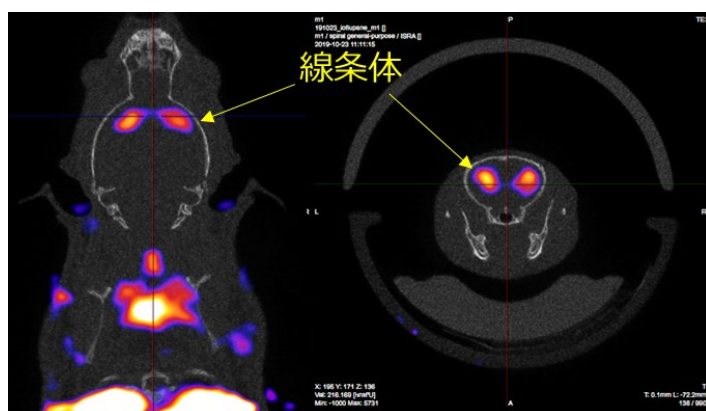


図 22  $^{123}\text{I}$ -iofulupane の SPECT 画像



図 23 には、 $^{123}\text{I}$ -IMP の SPECT 画像を示す。 $^{123}\text{I}$ -IMP を 29 MBq 投与 60 分後から、30 分間撮像を行ったところ、脳への集積を明瞭に描出することができた。さらに、生体内で  $^{123}\text{I}$ -IMP から脱離した  $^{123}\text{I}$  の甲状腺への集積も明瞭に描出することができた。

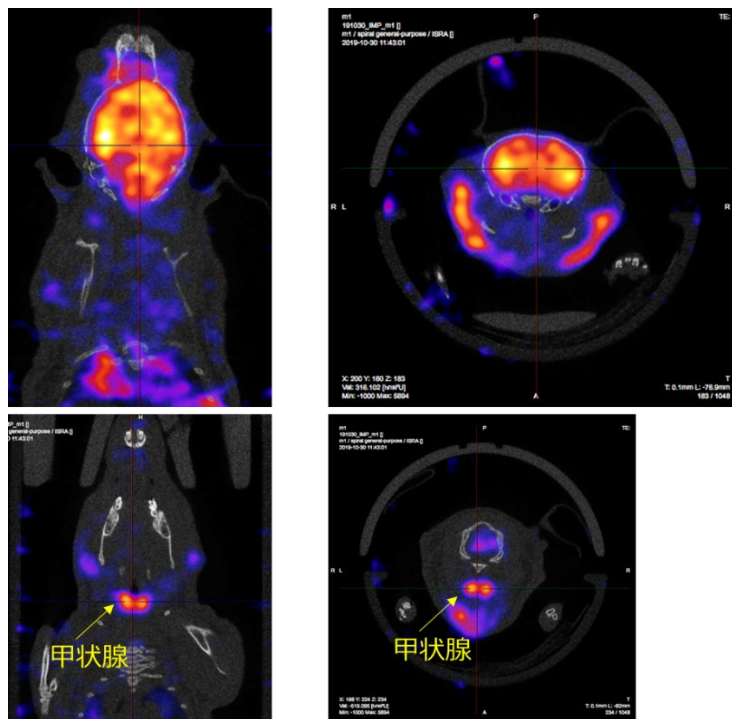


図 23  $^{123}\text{I}$ -IMP の SPECT 画像

以上の結果より、定量性も含めたさらなる性能評価が必要であるが、Molecubes 社の  $\gamma$ -cube が小動物のイメージング研究に有用であることが示された。さらに我々は、治療用核種での画像化を目指し、Molecubes 社と共同で  $\gamma$ -cube 専用の高エネルギー用コリメータの開発を進めている。

#### 【最後に】

本学においてセラノスティクス研究を開始して数年が経過し、徐々に学内でも浸透しつつあるがその重要性が広く認知されるまでには至っていない。しかしながら、最適な診断と治療の融合は今後の医療において重要な役割を果たすと考えられるため、セラノスティクス研究の発展は必要不可欠である。さらに我々は、学部学生や大学院生が「セラノスティクス創薬研究」に加わることで、新しい診断・治療法に対する深い理解と実践能力を身に付けた次世代の薬剤師と研究者の育成にも引き続き努めていきたい。本ブランディング事業をスタートに、今後さらに多くの研究者の方々と精力的に共同研究を進め、医療に貢献できる薬剤や技術の開発を進めていきたいと考えている。本稿で紹介した研究成果は、代謝分析学分野の所属学生、当研究室助教の有光健治博士、博士研究員の屋木祐亮博士による多大な努力の賜物であり、ここに深く感謝の意を表します。

## セラノスティクス研究の推進に向けたイメージング技術の基盤形成

河嶋秀和（放射性同位元素研究センター）

### 【緒言】

疾患の病態解明を分子レベルで進める過程において、生体医工学領域の技術をその分析系に組み込むことにより個体における分子生物学的プロセスの空間的・時間的変化を *in vivo* にて可視化、生命現象の理解を深める「生体分子イメージング」の重要性は広く認知されるに至った（図 1）。さらに、現在の臨床では、この手法を基軸として対象疾患の性状を個々の患者で的確に診断しつつ、効果的な治療へと展開させる「診断と治療の融合」：セラノスティクス（Theranostics）が潮流となっている。本事業「受容体特異的画像化技術を基盤とするがん放射線内用療法（radio-theranostics）研究拠点の形成」の名称に含まれている「Radio-theranostics」はセラノスティクスの一形態であり、主に悪性腫瘍を標的とする。すなわち、がん選択的に集積する化合物に対して診断（生体透過性）あるいは治療（細胞殺傷性）に適した放射線を放出する放射性同位元素（Radioisotope：RI）を導入、適切に相互変換させることで診断と治療の一体化を実現し、微小がんのみならず、全身に転移したがんの根本的治療を期待する先端的医療と言える。

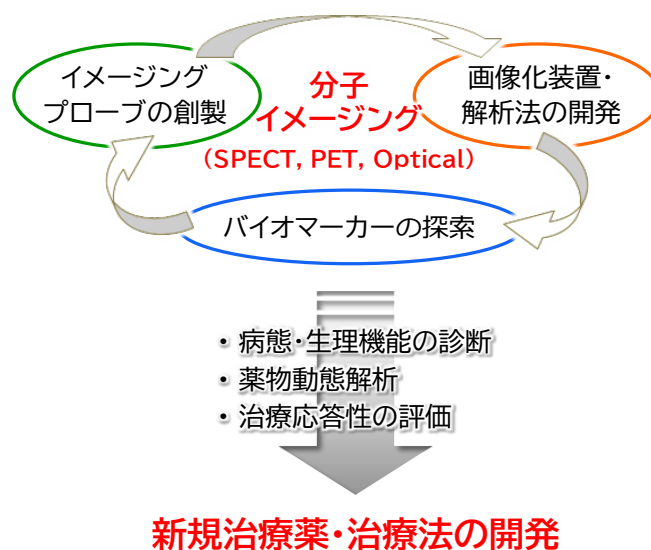


図 1 分子イメージング技術の医療への貢献

その一方で、セラノスティクスという用語は、広義では「ある疾患に対して最適な治療を施すためのアプローチとなる診断を高い精度で実施すること」とも捉えられる。これは取りも直さず対象となる疾患が悪性腫瘍に限定されないことを意味し、近年では Neuro-theranostics（神経系領域）や Cardiovascular-theranostics（循環器系領域）、さらに Metabolo-theranostics（代謝系領域）等の新造語も生まれている。多岐にわたる疾患の病態像を詳細に探るため複数の機能性分子に注目し、これらの動態や相互作用を可視化、*in vivo* 測定する目的においては蛍光分子イメージングと比較して、Single-photon emission computed tomography（SPECT）や Positron emission tomography（PET）といった放射性プローブを用いる

核医学的手法が全身を対象に体外から撮像できる（生体の深部情報を得られる）という点で圧倒的なアドバンテージを有している。これらを背景とし、本学セラノスティクス研究は、当センター内に設置された小動物用 SPECT 装置を用いた各種モデル動物での評価を中心に、X 線 CT にて取得される形態画像の解析、さらに in vitro, ex vivo 実験と組み合わせながら展開させたいと考えている（図 2）。

以下、「セラノスティクス」をキーワードとした当該ブランディング事業において本学が現在目指している「疾患の診断から治療へと通じる分野横断的研究の確立」に向けた研究成果を報告する。

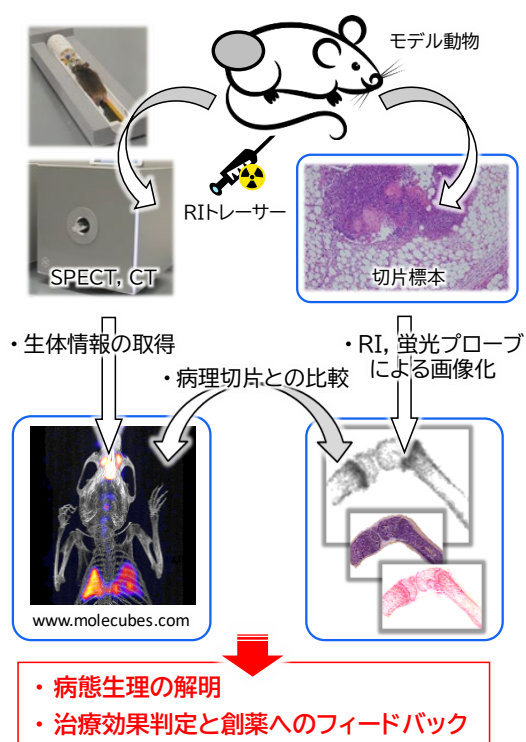


図 2 セラノスティクス創薬研究

## 【小動物用 SPECT および CT を用いた画像取得に関する検証】

### ① SPECT による 2 核種同時撮像

当該ブランディング事業に関連し、ベルギー Molecubes 社製の小動物用 SPECT ( $\gamma$ -CUBE) および X 線 CT (X-CUBE) が 2018 年 5 月に本学に導入された。本装置を用いた一般的なプロトコルでは、X-CUBE による CT 画像の取得後にマウスあるいはラットを保定しているホルダーをそのまま  $\gamma$ -CUBE に移動させ、装着することで予め動物に投与された放射性プローブの体内分布を画像化する。これにより、形態画像 (CT) と機能画像 (SPECT) の融合が可能となる。現在、本学において  $\gamma$ -CUBE で測定の対象となっている放射性同位元素は  $^{67}\text{Ga}$ ,  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ,  $^{111}\text{In}$ ,  $^{123}\text{I}$ ,  $^{201}\text{Tl}$  の 5 種類であるが、実際に臨床で用いられている放射性医薬品をマウスに投与した画像を例示する。

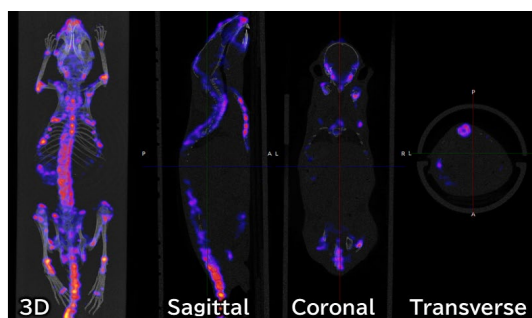
ヒドロキシメチレンホスホン酸テクネチウム ( $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ) ( $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -HMDP) はビスホスホン酸と  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  の多核錯体であり、骨の構成成分であるハイドロキシアパタイト等のリン酸カルシウム化合物と相互作用するため、骨腫瘍や疲労骨折の診断に利用される。ddY マウス (6 週齢, 雄性) に 39.6 MBq の  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -HMDP を静脈内投与し、投与 120 分後に安楽死させ、30 分間の SPECT 撮像を実施した。その結果、CT 画像 (骨格) と一致した全身性の骨への放射能分布を認めた。特に長骨では末端部分に放射能が高集積しており、

骨形成の盛んな部位に取り込まれるという  $^{99m}\text{Tc}$ -HMDP の集積機序に合致するものであった (図 3)。

また、塩化タリウム ( $^{201}\text{Tl}$ ) ( $^{201}\text{Tl}$ TlCl) を投与した個体の撮像も実施した。一価の陽イオンである  $\text{Tl}^+$  は  $\text{K}^+$  とイオン半径が近く ( $\text{Tl}^+$ :  $1.50 \times 10^{-10}$  m,  $\text{K}^+$ :  $1.38 \times 10^{-10}$  m)、正常心筋に多く分布する  $\text{Na}^+/\text{K}^+ \text{-ATPase}$  を介して心筋細胞内に能動的に取り込まれることから、心筋血流量測定剤として汎用されている。こちらにも ddY マウス (6 週齢, 雄性) に 18.6 MBq の  $^{201}\text{Tl}$ TlCl を静脈内投与し、投与 5 分後に安楽死させ、30 分間の SPECT 撮像を行ったところ、心臓への明瞭な放射能集積を認めた。また、排泄経路の一つである腎臓も描出されていた (図 4)。

さて、生体分子の動態や相互作用を可視化する近年のトピックとして「複数の生体分子の同時イメージング技術」が挙げられる。PET では陽電子放出核種を用いるが、検出する消滅放射線のエネルギーが等しく 511 keV なので、複数の異なる PET 核種の弁別はできない。そこで、幅広いエネルギー領域の  $\gamma$  線や X 線を同時に撮像する技術の開発が進められている。単なる放射能集積だけでなく、ある個体に投与した異なる核種からなる複数の放射性トレーサーの動きを追跡することが可能になれば、生体から抽出できる情報量は飛躍的に増大すると期待されるが、SPECT はエネルギーが

異なる  $\gamma$  線や特性 X 線を個別に画像化できるという特徴を持つことから、正にこの目的に資するモダリティである。そこで、 $\gamma$ -CUBE に対して異なる 2 種類の放射性同位元素を含む水溶液を調製し、検出エネルギーを該当する核種固有の数値に設定した際に得られる画像の見え方について検証した。



Animal: ddY, 6 w, male  
Body weight: 28.0 g  
Dose: 39.6 MBq

#### Protocol

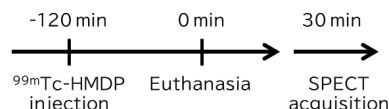
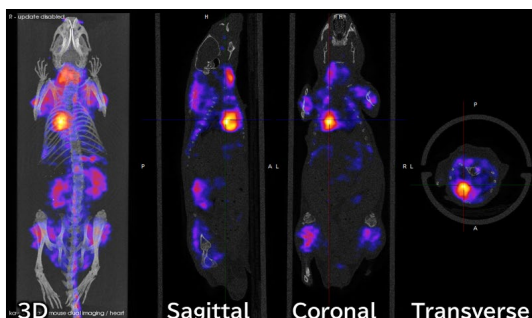


図 3 マウス SPECT 画像 ( $^{99m}\text{Tc}$ -HMDP)



Animal: ddY, 6 w, male  
Body weight: 29.0 g  
Dose: 18.6 MBq

#### Protocol

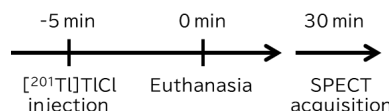


図 4 マウス SPECT 画像 ( $^{201}\text{Tl}$ TlCl)



Na<sup>[99mTc]</sup>TcO<sub>4</sub> (Tc-99m の光子エネルギーピーク : 141 keV) と<sup>[201Tl]</sup>TlCl (Tl-201 の光子エネルギーピーク : 70.8 keV, 80.3 keV) の水溶液を別々のマイクロチューブに分注した。マウスコリメータを装着した SPECT 装置にてこのファントムを撮像し、得られたエネルギーピークを図 5 に示す。Tc-99m あるいは Tl-201 を単独で測定した場合との比較において両者を融合させた形状のスペクトルが得られたため、各エネルギーピークをそれぞれの核種のものとして弁別可能であることが示された。次に、各放射性同位元素に該当するエネルギーピークを個別に選択し、画像再構成した結果、Tc-99m のみ、あるいは Tl-201 のみを画像化できた。さらに、Tc-99m と Tl-201 のエネルギーピークを認識させるよう設定すると、双方が重ね合わせられた画像として描出された (図 6)。

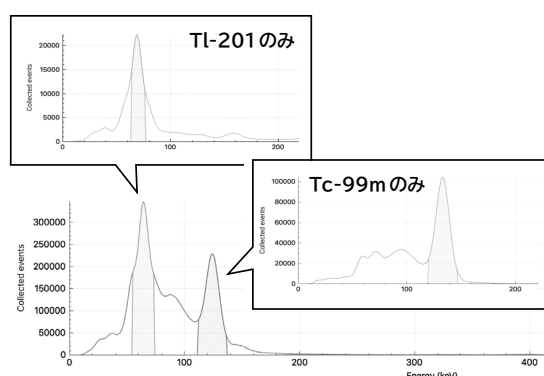


図 5 Tc-99m/Tl-201 のエネルギーピーク

そこで、マウスに対して  $t = -240$  分の時間点で 42.5 MBq の <sup>99m</sup>Tc-HMDP を、 $t = -5$  分の時間点で 20.4 MBq の<sup>[201Tl]</sup>TlCl をそれぞれ静脈内投与し、 $t = 0$  分に安楽死させた。その後、90 分間の SPECT 撮像を実施し、前述の Tc-99m と Tl-201 に該当するエネルギーピークをそれぞれ個別に認識するよう設定した上で画像再構成を行った。その結果、Tc-99m のエネルギー領域 (<sup>99m</sup>Tc-HMDP) では骨への、Tl-201 のエネルギー領域 (<sup>[201Tl]</sup>TlCl) では心臓 (および腎臓) への特徴的な放射能分布を認めた。これは各トレーサーを単独で投与した際に得られた画像 (図 3, 図 4) と一致していたことから、動物を用いた検討でも 2 核種同時撮像が可能であることが実証された (図 7)。

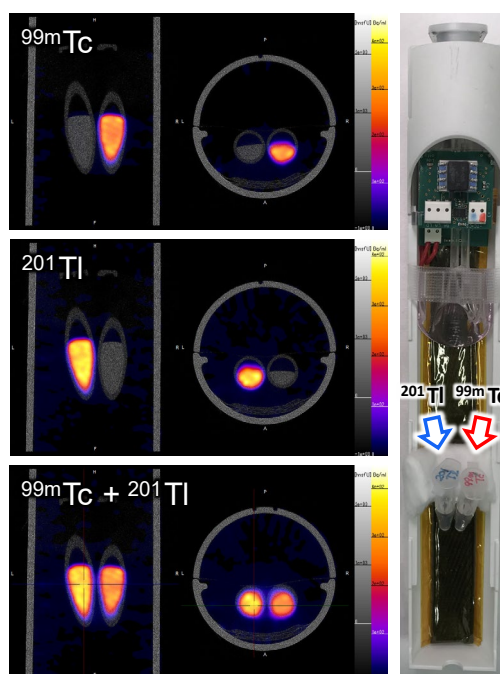


図 6 2 核種同時撮像  
(Tc-99m, Tl-201)

以上、小動物用 SPECT ( $\gamma$ -CUBE) にて複数核種の同時撮像が可能であることを明らかにした。本法は核種固有の  $\gamma$  線や特性 X 線のエネルギーピークが異なる多様な核種の組み合わせにおいて適用できる。したがって、Ga-67 (93.3 keV, 185 keV) や In-111 (171 keV, 245 keV)、I-123 (159 keV) 等、代表的な SPECT 核種で標識した化合物を用意することで、疾患モデル動物の多面的な評価が可能となり、セラノスティクス研究が大きく前進するものと期待される。

## ② SPECT による低エネルギー $\gamma$ 線 (X 線) 放出核種の画像化

SPECT では放射性プローブの体内位置情報を得るため、まず鉛やタングステン製のスリット(コ

リメータ)を装着し、特定の方向から来た  $\gamma$  線(特性 X 線)のみを検出部(シンチレータ)に到達させる。その後、 $\gamma$  線の持つエネルギーをシンチレータにより光へと変換し、この光信号の分布をもとに画像を構築する。画質は主にコリメータとシンチレータに依存するが、一般的な SPECT では 50~350 keV 程度のエネルギーの  $\gamma$  線の検出を想定しており、本学に導入されている  $\gamma$ -CUBE も Tc-99m (141 keV) や In-111 (171 keV, 245 keV) といった核種についての設定となっている。一方、SPECT の特性として、低エネルギー  $\gamma$  線を検出する場合、エネルギーの光変換効率が上がるため感度は高くなるものの、光散乱の問題から分解能が低くなる(画像が粗くなる)というデメリットが生じることが挙げられる。

$\gamma$  線放出核種の I-125 は、その標識化合物を市販品として容易に入手できるだけでなく、新規合成した低分子やペプチド、高分子など種々の化合物に導入することも可能である。さらに、物理的半減期が 60 日と長いのでプローブとしての経時的追跡に優れており、創薬や分子生物学の領域で利用されてきた。しかし、 $\gamma$  線のエネルギーが 35.5 keV と低く(娘核種である Te から放出される特性 X 線のエネルギーは 27.5 keV, 31.1

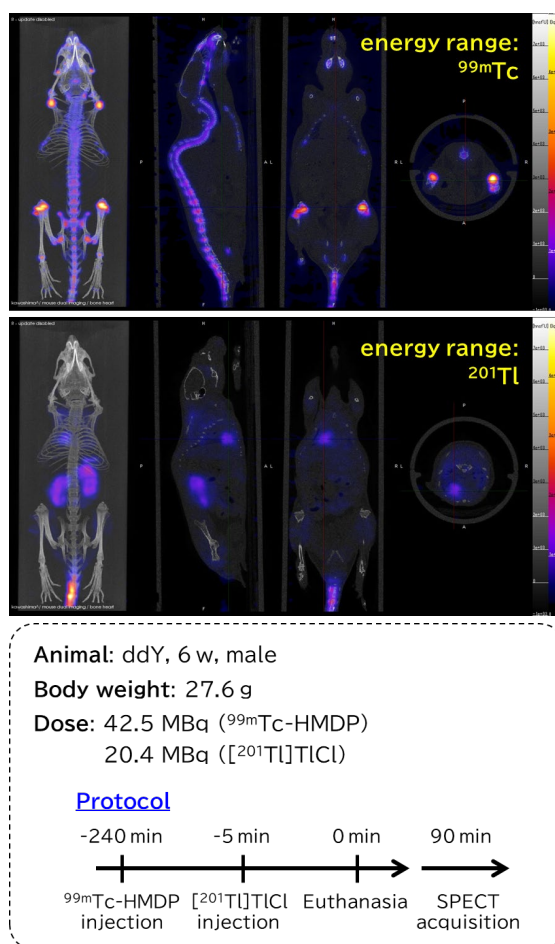


図 7  $^{99m}\text{Tc}$ -HMDP と  $^{201}\text{Tl}$ ]TlCl の dual imaging

keV)、小動物を対象とした SPECT イメージングにおいては透過性（体内吸収）こそ大きな問題にはならないと予想されるが、装置側の視点に立ち、本学の SPECT でどの程度精密な画像を取得できるか検討しておく必要があると考えた。

まず、マイクロチューブに 11.9 MBq のヨウ化ナトリウム ( $^{125}\text{I}$ ) ( $^{125}\text{I}$ ]NaI) 水溶液を用意し、マウスコリメータを装着した  $\gamma$ -CUBE で 60 分間撮像したところ、I-125 に該当するエネルギーピークを検出できた。さらにデータを再構成した結果、明瞭なファントム画像を得られた(図 8)。

次に、 $^{125}\text{I}$ ]NaI を投与したマウスの SPECT 撮像を試みた。甲状腺ホルモンを合成するため、甲状腺の濾胞細胞はヨウ化物イオンを  $\text{Na}^+/\text{I}^-$  共輸送体を介して細胞内へと能動輸送する。C57BL/6 マウス (6 週齢, 雄性) に 1.45 MBq の  $^{125}\text{I}$ ]NaI を静脈内投与し、投与 30 分後に安楽死させ、60 分間の SPECT 撮像を行ったところ、甲状腺への明瞭な放射能集積を認めた (図 9)。

また、別の実験では酸化 LDL (Oxidized low-density lipoprotein: oxLDL) を I-125 で標識し ( $^{125}\text{I}$ -oxLDL)、その体内分布の SPECT 撮像を試みた。まず、oxLDL が Lectin-like oxLDL receptor-1 (LOX-1) や CD36 等のスカベンジャー受容体による認識後、細胞内に輸送されることを背景に、放射性ヨ

ウ素 I-123 ( $\gamma$ 線エネルギー: 159 keV, 物理的半減期 13.3 時間) 標識 oxLDL ( $^{123}\text{I}$ -oxLDL) の体内動態を  $\gamma$ -CUBE にて基礎的に検討した。Chloramine-T を用いて  $^{123}\text{I}^-$  を酸化し、oxLDL 構成タンパク質 (ApoB-100) に対する求電子置換反応により  $^{123}\text{I}$ -oxLDL を作製した。0.838 MBq の  $^{123}\text{I}$ -oxLDL を覚醒下の C57BL/6/N マウス (雄性, 6 週齢) マウスに

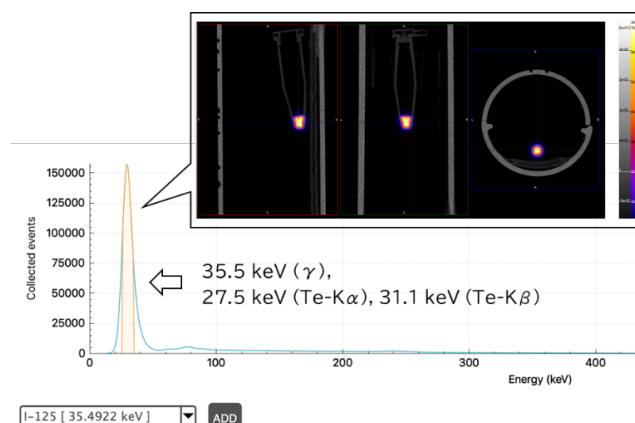


図 8 I-125 エネルギーピークの検出とファントム画像

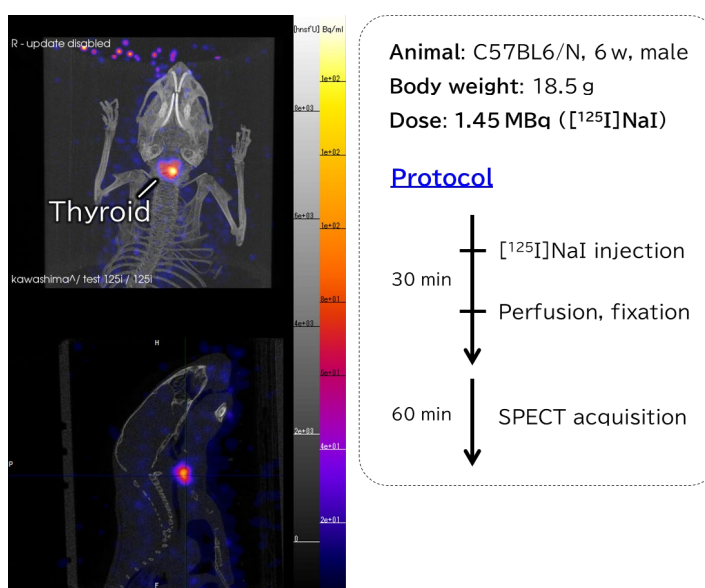


図 9  $^{125}\text{I}$ ]NaI を投与したマウスの SPECT 画像

静脈内投与し、10 分後、頸椎脱臼により安楽死させ、脱血・灌流固定した後に X 線 CT および 6 時間の Static-SPECT 撮像を実施した結果、肝臓や脾臓の他、左右肩甲骨の間に存への特徴的な放射能集積を認めた（図 10）。解剖学的な考察および DiI-oxLDL を用いた検討から、これは褐色脂肪組織（Brown adipose tissue : BAT）に分布した  $^{123}\text{I}$ -oxLDL に由来することが示された。

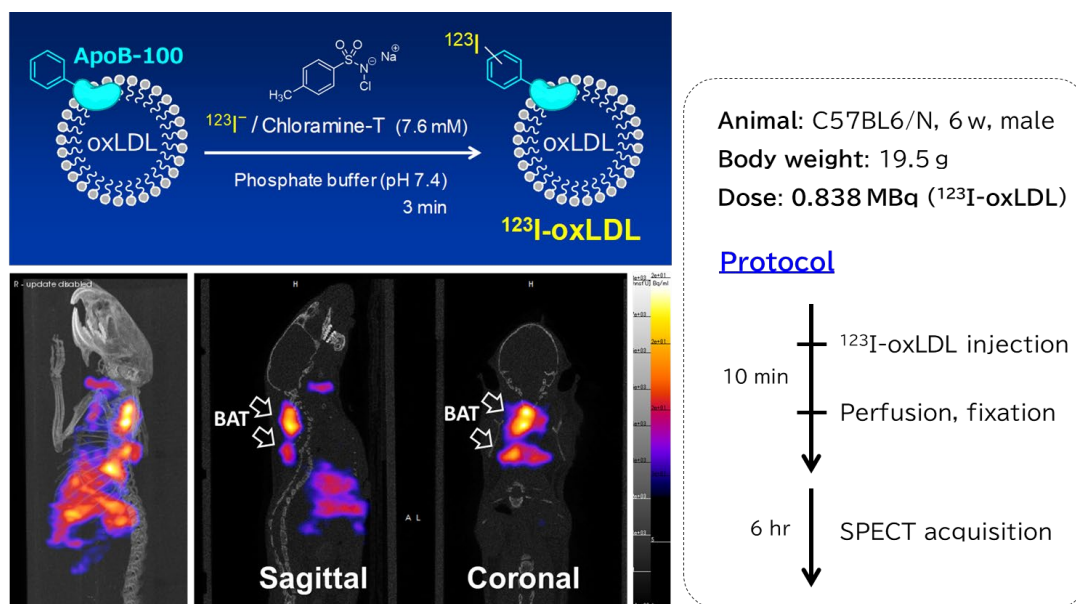


図 10  $^{123}\text{I}$ -oxLDL の作製とマウス BAT への集積

一方、同様の方法で  $^{125}\text{I}$ -oxLDL を作製、その 1.18 MBq を静脈内投与した C57BL/6 マウス（6 週齢，雄性）に対して前述のプロトコルで Static-SPECT 撮像を行ったところ、 $^{123}\text{I}$ -oxLDL と一致した放射能分布を得られた。また、BAT と考えられる部位への放射能集積は、BAT を切除することにより消失した（図 11）。

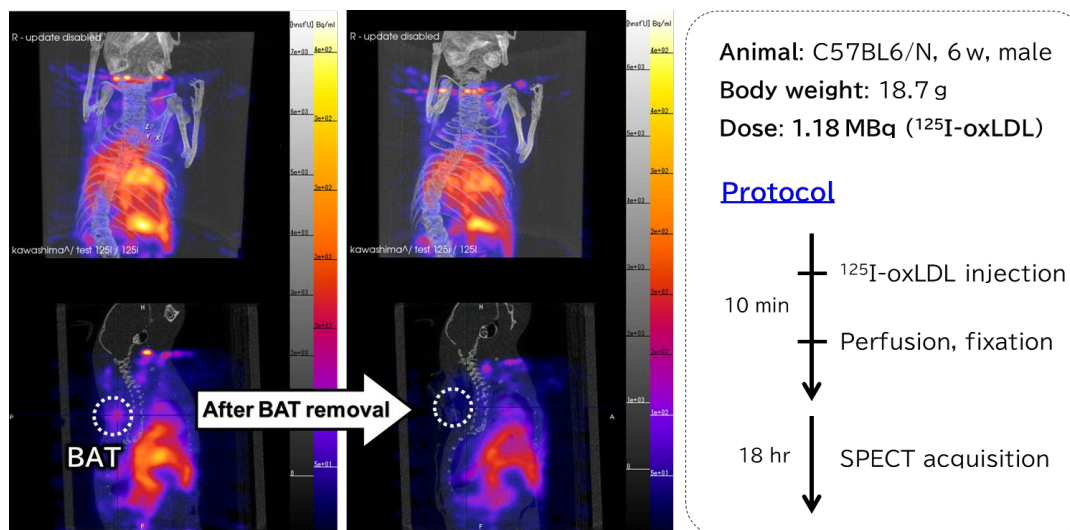


図 11  $^{125}\text{I}$ -oxLDL のマウス BAT への集積



以上、薬学・医学の基礎領域で汎用されている低エネルギー $\gamma$ 線放出核種の I-125 の画像化に成功し、少なくとも動物における定性的な体内分布の評価は可能であることが示された。今後は SPECT 画像上のカラースケールと放射能の実測値、あるいは ex vivo オートラジオグラム（ラジオルミノグラム）より得られる放射能濃度との相関から、定量的解析法の確立へと展開させたいと考えている。

## 【結び】

本研究では、本学でセラノスティクス研究を推進するため、その基盤技術としてのイメージングモダリティ（小動物用 SPECT, X 線 CT）の活用法を検討した。冒頭にも述べたように、セラノスティクスでは患者一人一人の生体情報を統合しながら最適な治療法を選択できるため、精密医療（Precision medicine）を体現しうる手段として注目されている。本学においても種々の疾患を対象として診断から治療へとシームレスに結び付ける基礎研究を早期に確立するため、分野・センター間、さらには国内外の大学や病院、研究機関と連携を取ってゆくことが重要になると考える。

また、セラノスティクスの中でも中心的な Radio-theranostics とは、ある標的病巣に集積する化合物に対し、これを視覚化するための放射性同位元素を導入した「分子イメージング」と、治療を目的とした放射性同位元素を導入する「核医学治療」を融合させたものであり、主にながん治療への展開が精力的に進められている。そのような中、数年前まで核医学における診断および治療は $\gamma$ 線と $\beta^-$ 線を用いるものが主であったが、現在は $\alpha$ 線放出核種による核医学治療が臨床で大きく注目されており、今後の Radio-theranostics への要求も変わりつつある。 $\alpha$ 線放出核種の大きな特徴として、放射性壊変が連続的に続くことから（逐次壊変）少ない放射能でもがんに対する治療効果が発現するモデルが考えられている。しかし、壊変を繰り返すごとに元素そのもの、すなわち原子の化学的性質＝標識化合物としての安定性や体内動態も変化すると予想され一方で、現時点では壊変系列に存在する個々の核種の分布を追跡することは非常に難しい。そこで、次の方向性としてはこれら核種を可視化することにあると考えている。 $\alpha$ 壊変の際に原子核（電子軌道）から同時に放出される低エネルギーの $\gamma$ 線や特性 X 線を体外検出することが可能となれば、親核種や壊変で生じた娘核種の分布を追跡できる。これを実現するには検出感度を満たす装置や撮像技術の開発という医工学分野のブレイクスルーが必須となるが、将来的には $\alpha$ 線核医学治療の効果予測と投薬設計を可能にした Radio-theranostics 新機軸の実現に期待するところである。

## Notch 受容体を標的とする内用療法に基づく難治性腫瘍治療法の開拓

長谷川功紀、服部恭尚（共同利用機器センター）

小林数也（薬品化学分野）

佐藤毅、朝比奈裕子（一般教育分野）

河嶋秀和（放射性同位元素研究センター）

### 【はじめに】

難治性腫瘍の原因として腫瘍内不均一性が挙げられる。腫瘍内には、化学療法が効く細胞と効かない細胞が不均一に混在する。いったん寛解した腫瘍の再発は、化学療法抵抗性細胞から再び癌細胞が増殖するためと考えられている。化学療法抵抗性細胞は代謝回転が悪く、 $^{18}\text{F}$ FDG-PET での検出も困難である。一方で、化学療法抵抗性細胞には Notch 受容体が高発現している。そこで本研究では Notch を標的とし、 $^{18}\text{F}$ FDG で検出困難な化学療法抵抗性細胞を Notch リガンドで検出できるプローブを開発する。さらに、本プローブを内用療法に利用することで難治性腫瘍の新たな治療法を開拓する。また Notch 受容体の活性化機構を解明し、新規の阻害機序に基づく薬剤開発を目的としてその基礎的研究を行う。

小細胞肺癌は細胞内不均一性による難治性腫瘍の代表例の一つである。長谷川はこれまで小細胞肺癌の薬剤抵抗性および細胞内不均一性について研究を進め、Notch シグナルが細胞内不均一性に関与することや化学療法抵抗性細胞への転換に寄与することを報告している。これらの研究を通じて、小細胞肺癌細胞株 H69 細胞とその化学療法抵抗性細胞株 H69AR を準備するとともに発現解析に必要な手法を整えている。佐藤と朝比奈はこれまで、受容体の活性化機構や相互作用部位の構造学的解析を行ってきた。また小林と服部は、がん関連受容体の二量体化阻害剤の設計と構造活性相関研究を進めている。河嶋は放射性同位元素を用いたイメージング手法開発を目的として、プローブ合成や薬剤集積性評価を行うとともにセラノスティクス研究へと展開している。

本共同研究課題では、これまで各研究者が独自に蓄積してきた成果を融合し、Notch 受容体からのシグナル伝達に係るタンパク質間相互作用の解析と阻害剤開発に取り組む。具体的には、長谷川・朝比奈は Notch に対する親和性評価系の構築、阻害剤の腫瘍集積性評価を行う。佐藤は、Notch 受容体へ強い親和性を示すリガンドの設計及び受容体とリガンドの膜中における構造機能解析を行う。小林・服部は Notch 受容体リガンドの合成を行う。また河嶋・長谷川は上記の研究の進展に応じて動物モデルを作製し、見出した薬剤候補を標識し、SPECT/CT などを用いて全身分布評価と薬剤の腫瘍集積性について評価を行う。これらの共同研究体制のもとで、Notch 受容体を標的とするセラノスティクスプローブの創出に挑んだ。

## 【方法・結果】

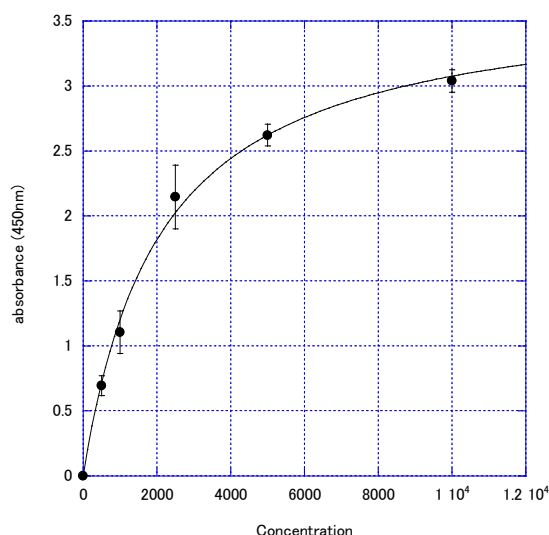
まずは Notch 受容体に結合する薬剤開発を行うそして並行して革新的受容体標的創薬を展開するため、ワークステーションを用いたシミュレーションを駆使し、Notch 受容体の活性化機構を計算科学的に解析する。さらにその実証研究として、解析結果から標的結合薬剤の分子設計を行う。次に本学が伝統的に培ってきたペプチド創薬の技術を駆使し、設計された薬剤の合成を行う。また新規薬剤の Notch 受容体への親和性を確認するために評価系を構築し、合成が完了した薬剤を順次評価する。

まず 1 つ目の目標である Notch シグナルの阻害薬剤開発であるが、すでに Notch1 受容体とそのリガンドである Delta-like (Dll)4 との複合体の結晶構造が報告されている (図 1)。そこでそれを参考に Dll4 の部分ペプチドを合成し、その Notch1 受容体への結合能を評価した。まず相互作用部位としては Dll4 の 185 から 204 残基に着

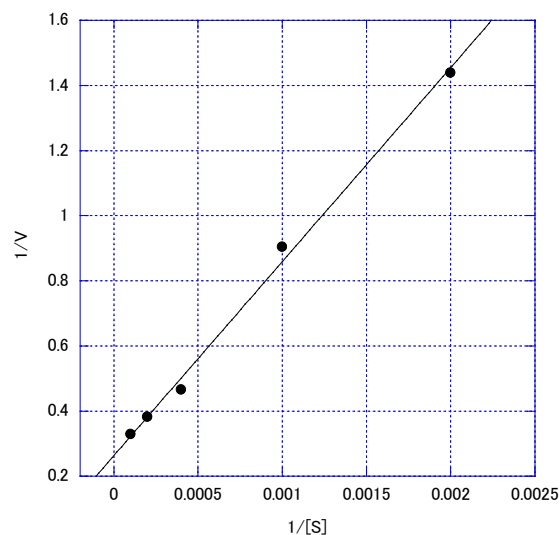


図 1 Notch 受容体のリガンド結合部位の構造

目し、Fmoc 固相合成法により Dll4(185-204)誘導体を合成した。親和性を評価するために、N末端にポリエチレングリコールリンカーを介して FITC (fluorescein isothiocyanate) をタグとして修飾した。得られた FITC-Dll4 (185-204)誘導体の親和性を、recombinant



ミカエリスメンテンプロット



ラインウェーバーバークプロット

図 2 recombinant NOTCH1 に対する FITC-DLL4 (185-204)誘導体の親和性評価

Notch1 を用いて評価した。評価法としては 96 穴プレートに recombinant Notch1 を固定し、そこに濃度を振った FITC-Dll4 (185-204)誘導体を反応させ、洗浄後に抗 FITC 抗体を用いて定量を行うことで結合飽和曲線を求めた。その結果、FITC-Dll4 (185-204)の

親和性 ( $K_d$ ) は  $2.1 \mu\text{M}$  であることが判った (図 2)。今後はこの得られた FITC-DII4 (185-204)誘導体の機能評価を行い、またさらに親和性の高いペプチドミミックの合成に着手する予定である。

次に FITC-DII4 (185-204)誘導体の Notch 受容体阻害能について細胞を用いたアッセイ法構築を目指した。肺小細胞癌細胞株である H69 を用い、Notch 受容体を介した細胞間相互作用を阻害することで Notch シグナル下流の Notch 受容体細胞質内ドメイン (NICD)が減少することを指標にアッセイする系を立ち上げることを考えた。細胞間相互作用を持つ H69 細胞を解析するために、培養系としては 3D 培養を行い、スフェロイドを形成させることとした。そのために H69 細胞をスフェロイドマイクロプレートで培養し、細胞塊を形成させた。その細胞塊を溶解し、NICD を Western blot により定量する方法を現在進めている。すでに NICD の検出条件等は見出しており、スフェロイドを再現性高く形成させる条件検討を行っている (図 3)。今後は、合成した DII4 誘導体をスフェロイドに反応させて、その阻害活性の細胞レベルでの検討を行う予定である。

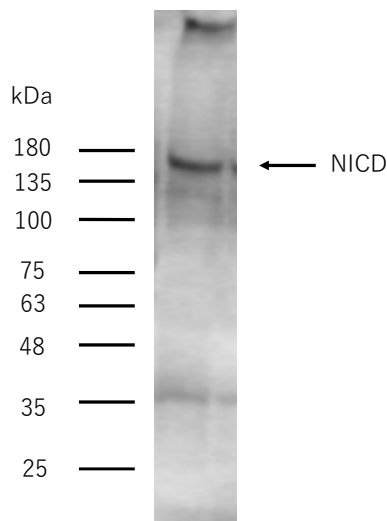


図 3 NICD の western blot

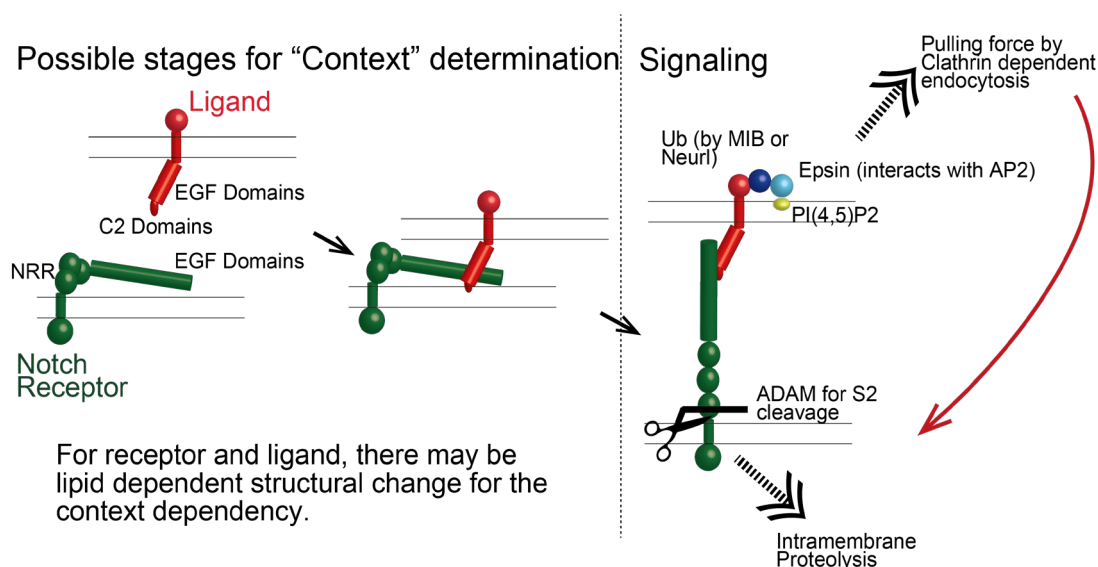


図 4 Notch 受容体活性化機構の模式図

一方、Notch 受容体を標的とした新たな治療法の開発を目指すために、我々はそのシグナリング機構の分子機構の解明に向けた研究を行っている。Notch シグナリングは、細胞の



生存とアポトーシスといった二者択一の細胞運命の決定が細胞種によって異なることなどに見られるように context dependent であるとされ、この context dependency 存在下でのシグナリング機構の解明が喫緊の課題である。最近、Notch 受容体リガンド Delta-like(Dll)1 と Dll4 とでは受容体活性化に伴う細胞のレスポンスが異なることが示された<sup>1</sup>。その報告では Dll1 が Notch1 受容体に結合することで、 $\gamma$ -secretase による膜内切断からの Notch 受容体細胞質内ドメイン(NICD)の放出(受容体の活性化)はパルス的に生じるが、一方、Dll4 の同受容体への結合は NICD の放出を持続的に生じさせることが示された。その結果上述の膜内切断によって放出される NICD は、そのまま核内に移行し転写に関与するため、NICD が切断の後に修飾を受けることは知られていない。つまり、異なるリガンドが同種受容体に結合し、その結果、同種タンパク質断片が細胞内に放出されるが、その放出様式が異なることで、異なる遺伝子発現が生じる。この放出様式、ダイナミクスに差異を与える context とは何か、その機構はどのようなものか？この分子機構を明らかにしていくことが本研究の目的である。

ヒトの Notch 受容体のリガンドについては上述の Dll1、Dll4 を含む 5 種類が知られる。Chillakuri らは Jagged-1 というリガンドの構造解析から、その細胞外領域には C2 ドメインと呼ばれる脂質結合領域が存在することを示した<sup>2</sup>。後に Dll1<sup>3</sup>、Dll4<sup>4</sup>にも C2 ドメインが存在することが示され、最近では Notch 受容体の活性化においてはリガンドの脂質認識も関与すると考えられるようになってきている<sup>5</sup>。Notch 受容体の機能が glycosphingolipid に依存することが細胞生物学的実験で示されているが<sup>6</sup>、未解の問題は、「どのように？」であり、この問題は薬剤開発の基礎を構築する上では重要課題と言える。我々は上述の context dependency の機構解明を目指すにあたり、Notch 受容体と脂質の協奏機構のメカニズムに注目することとした。

膜タンパク質と脂質の協奏を解析する上での難関の一つは研究対象とする膜タンパク質の機能を制御する特異的な脂質を見出すところにある。この点に関して、上皮増殖因子受容体(EGFR)に関しては、lipid ordered (lo) phase を形成する組成の膜への再構成が達成され、ガングリオシドの一つである GM3 が受容体活性を制御することが見出されている<sup>7</sup>。この報告を参考にし、我々は GM3 に関して Notch 受容体との相互作用をみていくこととした。一方、研究手法であるが、本研究では、まず、分子動力学的計算(MD simulation)によって Notch 受容体と脂質の相互作用に当たりをつけてから、各種、mutagenesis 等の生化学的実験、構造解析実験を行うこととした。また、実際に対象とする系に関して、ここでは人工脂質二重層中に Notch 受容体の細胞外膜近傍(EJM)-膜貫通(TM)-細胞質内膜近傍(IJM)配列タンパク質断片を包埋した系とすることにした。人工脂質二重層の利用は、その組成の変更が容易であることが大きな利点となる。EJM-TM-IJM 配列を対象とすることに関しては、全長受容体ではないことが欠点となることは十分に認識しているが、当該部位は脂質から最も大きな影響を受ける中、その脂質との相互作用解析こそが、現時点における膜タンパク質の生物化学的解析研究における弱点であり、ここで得られる知見をより高次な、すなわち、細胞、個体レベルの解析に生かすことが必要である。ここでは Notch 受容体 EJM-TM-IJM 部位の脂質二重

層中における挙動、構造、そしてリガンドと脂質の相互作用の解析を MD simulation によって行った結果を述べる。

まず、Notch 受容体の EJM-TM-IJM 配列に関して述べる。ここで EJM としているのは、一般的には Notch regulatory region (NRR)と呼ばれる部位である(図 4 の模式図を参照)。NRR はリガンド結合部位を有する EGF domain リピートと TM 部位の間に位置する。Blacklow らにより構造解析が達成されており<sup>8,9</sup>、Notch 活性化における構造変化のモデルも提唱されている。図 4 の模式図を用いることで、Notch 活性化機構を簡単に述べる。まず、近接する細胞(signal sending cell)の表面に存在するリガンドはシグナルを受容する細胞(signal receiving cell)上に発現した Notch 受容体の EGF domain リピートに結合する(結合部位は同定されている)。その状態において、リガンドは signal sending cell によるエンドサイトーシスを受ける。その結果、リガンドと結合している Notch 受容体は、その細胞の外側方向へ物理的な力(トルク)を受けることになる。このトルクがかかることによって、NRR は伸びた形になり、NRR 内部に存在していた S2 切断部位がタンパク質表面に露出し、ADAM10 による切断を受けることになる。その結果、細胞膜上に残ったタンパク質断片が  $\gamma$ -secretase の基質となる。

計算方法に関して簡単に述べる。EJM-TM-IJM 配列全長に関する構造の報告は存在しないので、Blacklow らによる NRR の構造<sup>9</sup>と Sanders らによる TM-IJM の構造<sup>10</sup>の座標(pdb ファイル)を CHIMERA というソフトウェアで繋げることで、今回の計算で用いる初期構造とした。この初期構造に関して CHARMM GUI という web サイト上において、膜への埋め込みを行い<sup>11,12</sup>、MD simulation ソフトウェア NAMD によって全原子分子の MD 計算を行った。なお実際の計算においては、EJM-TM-IJM 分子、二分子を膜に包埋した。今回は2種類の脂質組成、すなわち、POPC/POPS、DOPC/sphingomyelin/cholesterol/GM3 中での計算を行うこととした。後者の組成は lo phase を形成することが既知である組成であり、前述の EGFR の再構成系での機能解析実験<sup>7</sup>においても用いられていたものである。

EJM-TM-IJM 配列二分子の脂質二重層中における計算の結果であるが、上述の両脂質組成において、EJM-TM-IJM 分子は EJM 部位を介して二量体を形成することがわかった。また、EJM 部位、すなわち、NRR は GM3 を介して膜に結合することもわかった。これらの知見は新規のものであり、これが生物学的に重要となる可能性があることは後に述べる。

この理論計算による大きな収穫は NRR が GM3 と相互作用していることを見出した点である。GM3 は生体膜上の microdomain、「ラフト」に存在すると考えられている<sup>7</sup>。Notch がこの NRR-GM3 の相互作用を介してラフトに存在するという推測は時期尚早かもしれないが、受容体が GM3 と共存する可能性は成り立つ。ここで、我々は Notch、GM3 に加え、リガンドをこの協奏機構のコンポーネントとして、その可能性を理論的に探ることとした。つまり、Notch のリガンドである DII1、DII4 の脂質結合部位を含む C2 domain と GM3 との相互作用を MD simulation で解析していくこととした。方法に関する詳細は割愛するが、この C2 と GM3 の相互作用解析は MARTINI 力場を用いた粗視化モデルで行うこととした。

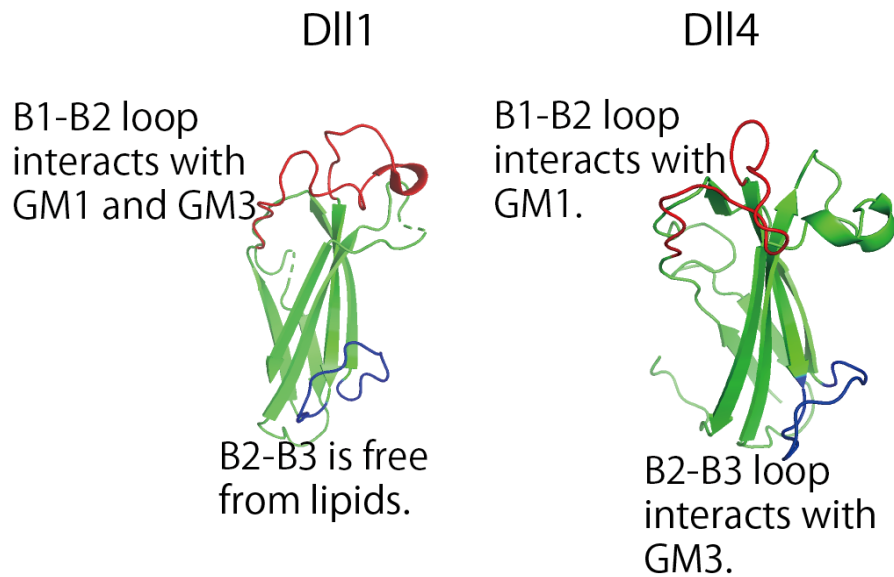


図5 DII1, DII4 の構造と B1-B2(赤), B2-B3loop(青)。

用いた脂質二重層の組成は以下の 3 種類、POPC/POPS、POPC/POPS/GM1、POPC/POPS/GM3 である。今回の MD simulation によってわかったことは DII1、DII4 の C2 domain は GM を介して膜に結合することである。DII1 に関しては、C2 domain 中 1 番目と 2 番目の  $\beta$  strand(図5)の間の loop(B1-B2 loop)が GM1、GM3 それぞれに結合することがわかった。一方、DII4 に関しては、GM1 に対しては B1-B2 loop が相互作用することが観察されたが、GM3 に対しては C2 domain 中 2 番目と 3 番目の  $\beta$  strand(図5)の間の loop(B2-B3 loop)が相互作用し、膜に埋まることがわかった。この結果は興味深い。Hozumi らの報告によると、DII4 におけるこの B2-B3 loop (正確にはマウスの配列において相当する部位)は、Notch 受容体との結合に関与することが示されており<sup>13</sup>、この loop が膜に埋まってしまうと、受容体とは相互作用しないとの推測が可能である。

今回の計算では、Notch 受容体は GM と相互作用しうることが示された。そのリガンドである DII1、DII4 の脂質認識部位も GM と結合し、さらに DII4 においては、受容体との相互作用部位が、膜中の GM3 と相互作用し、膜に埋まってしまうことも示された。これらの結果は Notch 受容体と microdomain、ラフトの関連を考えていく上では、今後の生化学的実験(再構成系での解析)に方向性を与えるものである。

Notch 受容体と microdomain の相関は、生体膜上における事象を考えていく上では非常に興味深い研究対象である。最近の報告では、 $\gamma$ -secretase の基質としての Notch 受容体断片、つまり、細胞外領域を欠損した(NRR も含まない)配列は Id (lipid disordered) phase に存在することが示されている<sup>14</sup>。今回の結果と合わせて考えると NRR が Notch 受容体を lo (lipid ordered) phase、つまり、microdomain に安定に存在させる、または、そこへの出入を

制御しているとの推測もできる。一方、今回観察された Dll4 C2 domain の GM3 に対する結合様式は興味深い。我々の研究目標である context dependency を解き明かすところでは、Dll4 の受容体活性化における選択性を与えるうる事象であるとの推測が可能である。これらの結果をもととし、生物化学的、構造化学的実験を行っていく所存である。

#### 【参考文献】

1. Nandagopal, N. *et al.* Dynamic Ligand Discrimination in the Notch Signaling Pathway. *Cell* **172**, 869-880.e19 (2018).
2. Chillakuri, C. R. *et al.* Structural Analysis Uncovers Lipid-Binding Properties of Notch Ligands. *Cell Rep.* **5**, 861–867 (2013).
3. Kershaw, N. J. *et al.* Notch ligand delta-like1: X-ray crystal structure and binding affinity. *Biochem. J.* **468**, 159–166 (2015).
4. Suckling, R. J. *et al.* Structural and functional dissection of the interplay between lipid and Notch binding by human Notch ligands. *EMBO J.* **36**, 2204–2215 (2017).
5. Shilo, B. & Sprinzak, D. The lipid - binding side of Notch ligands. *EMBO J.* **36**, 2182–2183 (2017).
6. Hamel, S., Fantini, J. & Schweisguth, F. Notch ligand activity is modulated by glycosphingolipid membrane composition in *Drosophila melanogaster*. *J. Cell Biol.* **188**, 581–594 (2010).
7. Coskun, U., Grzybek, M., Drechsel, D. & Simons, K. Regulation of human EGF receptor by lipids. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **108**, 9044–9048 (2011).
8. Gordon, W. R. *et al.* Structural basis for autoinhibition of Notch. *Nat. Struct. Mol. Biol.* **14**, 295–300 (2007).
9. Gordon, W. R. *et al.* Structure of the Notch1-negative regulatory region: Implications for normal activation and pathogenic signaling in T-ALL. *Blood* **113**, 4381–4390 (2009).
10. Deatherage, C. L. *et al.* Structural and biochemical differences between the Notch and the amyloid precursor protein transmembrane domains. *Sci. Adv.* **3**, (2017).
11. Jo, S., Kim, T. & Im, W. Automated builder and database of protein/membrane complexes for molecular dynamics simulations. *PLoS One* **2**, (2007).
12. Lee, J. *et al.* CHARMM-GUI Membrane Builder for Complex Biological Membrane Simulations with Glycolipids and Lipoglycans. *J. Chem. Theory Comput.* **15**, 775–786 (2019).
13. Hirano, K. I. *et al.* Delta-like 1 and delta-like 4 differently require their extracellular domains for triggering Notch signaling in mice. *Elife* **9**, 1–18 (2020).



14. Barros, M. *et al.*  $\gamma$ -Secretase Partitioning into Lipid Bilayers Remodels Membrane Microdomains after Direct Insertion. *Langmuir* **36**, 6569–6579 (2020).

生体イメージング技術と iPS 細胞技術の融合による  
パーキンソン病の病態解明と新規診断・治療法の開発

薬品物理化学分野	教授	斎藤博幸
薬品物理化学分野	助教	扇田隆司
統合薬科学系	教授	高田和幸
統合薬科学系	助教	西村周泰

【はじめに】

パーキンソン病は、中脳黒質のドパミン神経が選択的に変性脱落する神経変性疾患であり、日本には約 16 万人、世界では約 700 万人の患者がいるとされている。発症者の多くは 65 歳以上の高齢者であることから、超高齢化社会を迎えた日本にとって、パーキンソン病の予防法および根治治療法の確立は患者本人の QOL 向上や介助に携わる患者家族および医療従事者の負担軽減の観点からも喫緊の課題となっている。

現在の治療法は、薬物治療や脳深部刺激療法などの対症療法が主流であり、症状の進行は遅らせることができるものの、疾患の進行そのものは抑えることが難しい。一般的にパーキンソン病の運動症状が発症するころには、残存しているドパミン神経細胞は 20%を下回っているとされており、発症してから神経保護の予防策を講じても手遅れであると考えられる<sup>1</sup>。従ってパーキンソン病の発症を未然に防ぐことは、治療戦略上極めて重要であり、パーキンソン病の予防法を確立するためには、ドパミン神経の脱落および、その脱落の前段階として起こる病態的变化をいち早く捉え、早期診断法を開発することが求められる。

また近年、胚性幹細胞 (embryonic stem 細胞; ES 細胞) や人工多能性幹細胞 (induced pluripotent stem 細胞; iPS 細胞) などの多能性幹細胞から誘導したドパミン神経細胞を用いた細胞移植治療の開発が進められている。この治療法の利点は、症状が発症した後でも生きた細胞を脳に移植することで神経機能の改善が見込める点であり、過去に行われた中絶胎児細胞移植では症例を選べば、長期的な改善が見られることも明らかとなっており<sup>2</sup>、今後、多能性幹細胞を用いた細胞移植治療の一般化が期待される。

この背景のもと、本研究課題ではパーキンソン病の発症と深く関わりのある  $\alpha$ -シヌクレインタンパク質を標的とし、生体イメージング技術を用いた病態の可視化と iPS 細胞技術を融合させた研究領域を創成し、核医学を応用した介入による病態の調節により、パーキンソン病の早期診断および治療的介入法 (neurotheranostics) の確立を目指す。さらには、 $\alpha$ -シヌクレインの凝集および線維化の過程における物理化学的な変化を詳細に解析することで、 $\alpha$ -シヌクレインによる病態発現機構を解明することを目指す。

## 【方法・結果】

### 1. $\alpha$ -シヌクレインの脳内伝播の生体イメージングによる早期診断法の開発

パーキンソン病の病理所見として、残存ドパミン神経にレビー小体と呼ばれる細胞質内封入体が形成されることが知られている。また最近の研究では  $\alpha$ -シヌクレインタンパク質はパーキンソン病が発症する前段階から、凝集、蓄積およびリン酸化など、コンフォメーションを変化させながら脳内を伝播することが明らかになってきている<sup>3</sup>。従って、ドパミン神経細胞が脱落を始める前に起こる  $\alpha$ -シヌクレインのダイナミックな凝集構造変化および脳内伝播を、放射性同位元素で標識した化合物を用いたイメージングにより可視化することができれば、パーキンソン病の早期診断および神経脱落の予防法開発の一助になると考えられる。そこで本研究では、 $\alpha$ -シヌクレインの脳内伝播を再現できる動物モデル、培養細胞モデルの作製および  $\alpha$ -シヌクレインに結合する化合物、さらには凝集抑制能を有する化合物のスクリーニング系の開発を行った。

#### 1.1. $\alpha$ -シヌクレインの脳内伝播の生体イメージングを目指したマウスモデルの作製

$\alpha$ -シヌクレインの脳内伝播を *in vivo* で評価できるモデルマウスの作製を行った。*In vitro* で合成したヒト  $\alpha$ -シヌクレインタンパク質の PFF (preformed fibril) 体をマウス脳（線条体）に微量注入し、 $\alpha$ -シヌクレインタンパク質の PFF ( $\alpha$ -シヌクレイン-PFF) の脳内伝播、凝集・沈着およびリン酸化の解析を行った。ヒト  $\alpha$ -シヌクレイン-PFF を 5  $\mu$ g 注入した 2 ヶ月後の組織学的解析において、ヒト  $\alpha$ -シヌクレイン-PFF は、注入部位から脳の前後軸に沿って拡散し、主に大脳皮質において神経細胞の細胞体に、そのシグナルが確認された（図 1A）。さらに、同マウスの黒質サンプルにおける組織学的な解析を行ったところ、ドパミン神経細胞の細胞体にリン酸化  $\alpha$ -シヌクレインが多数蓄積していることが明らかとなった（図 1B）。また、ドパミン神経の細胞体には、ヒト  $\alpha$ -シヌクレインのシグナルが確認された（図 1C）。今後は、このモデルマウスが示すパーキンソン病様病態の詳細な解析を進めるとともに、早期診断法の確立に向けて、この  $\alpha$ -シヌクレインの脳内伝播を SPECT イメージングで捉えることができるかを検証していく予定である。

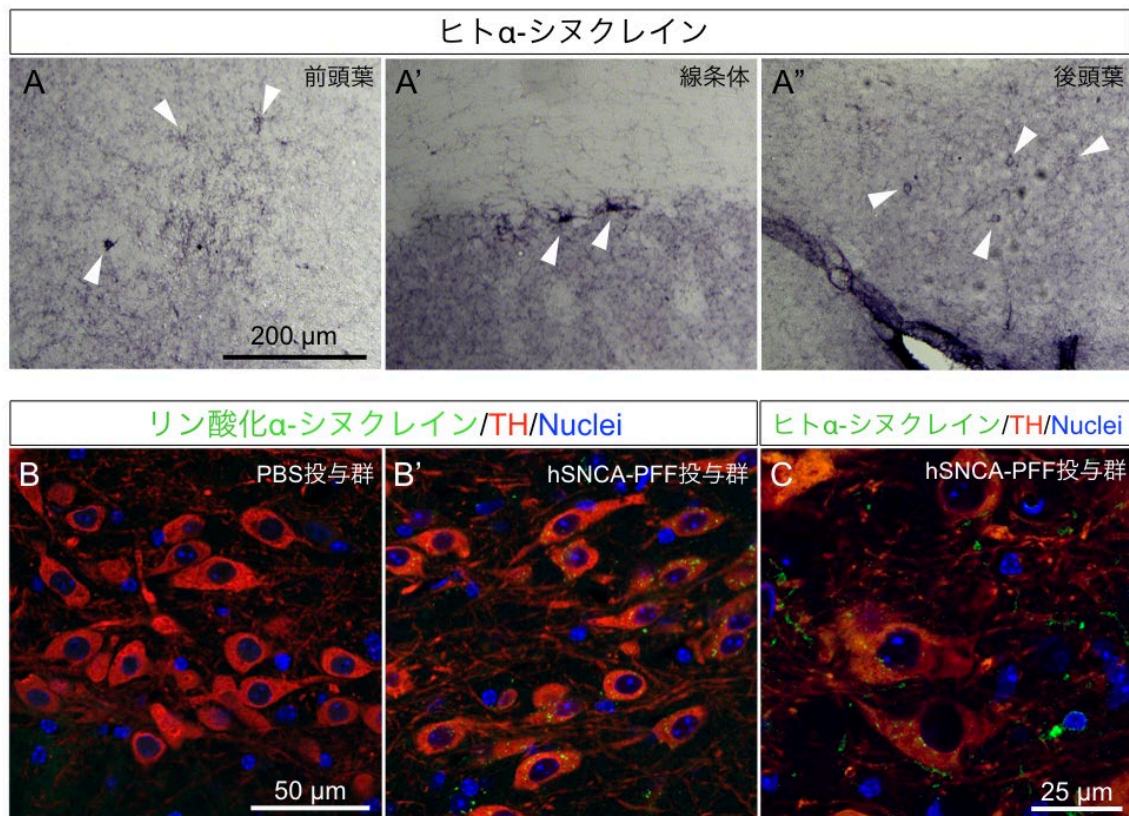


図 1. ヒト  $\alpha$ -シヌクレイン-PFF 5  $\mu\text{g}$  を正常マウスの線条体に微量注入 2 ヶ月後における組織像。(A-A'') 前頭葉、線条体および後頭葉におけるヒト  $\alpha$ -シヌクレインの染色像。白矢頭は、ヒト SNCA 陽性細胞を示す。(B, B') 黒質緻密部におけるリン酸化  $\alpha$ -シヌクレインおよびチロシン水酸化酵素 (TH) の免疫染色像。(C) 黒質緻密部におけるヒト  $\alpha$ -シヌクレインおよび TH の免疫染色像。

## 1.2. ヒト iPS 細胞を用いた脳モデルを用いた病態再現

次に、ヒト iPS 細胞を用いて  $\alpha$ -シヌクレインの細胞間伝播および病態発現を再現できる *in vitro* 脳モデルの確立を行った。ヒト iPS 細胞から三次元神経誘導法を用いて黒質-線条体経路の脳モデルの作製を行った。ヒト iPS 細胞から、三次元培養法を用いて、中脳ドパミン神経細胞の起源領域である腹側中脳 (ventral midbrain; VM) ニューロスフェアと、中脳ドパミン神経の投射先である線条体の前駆領域である外側基底核原基 (lateral ganglionic eminence; LGE) のニューロスフェアをそれぞれ誘導し、両者を融合させることにより黒質-線条体経路の作製を行った (図 2A)。誘導 20 日目における遺伝子発現解析において、LGE ニューロスフェアでは VM ニューロスフェアと比較して LGE および大脳マーカーである *GSH2* および *FOXG1* の発現が高く、一方で VM ニューロスフェアでは、LGE ニューロスフェアと比較して VM マーカーである *LMX1A* および *FOXA2* の高い発現が確認され、VM 領域および LGE 領域の作り分けができてい



とが確認された (図 2B)。さらにこれらのニューロスフェアを融合させ、64 日まで誘導を行い、免疫染色による組織学的解析を行ったところ、ドパミン神経のマーカであるチロシン水酸化酵素 (tyrosine hydroxylase; TH) 陽性の神経軸索が、黒質領域から線条体領域に投射していることが観察された (図 2C)。今後、作製したニューロスフェアのサイズや融合のタイミングなどの検討を行い、黒質-線条体経路の脳モデルを確立し、 $\alpha$ -シヌクレイン伝播のメカニズム解明に向けた細胞モデルの構築を目指す。

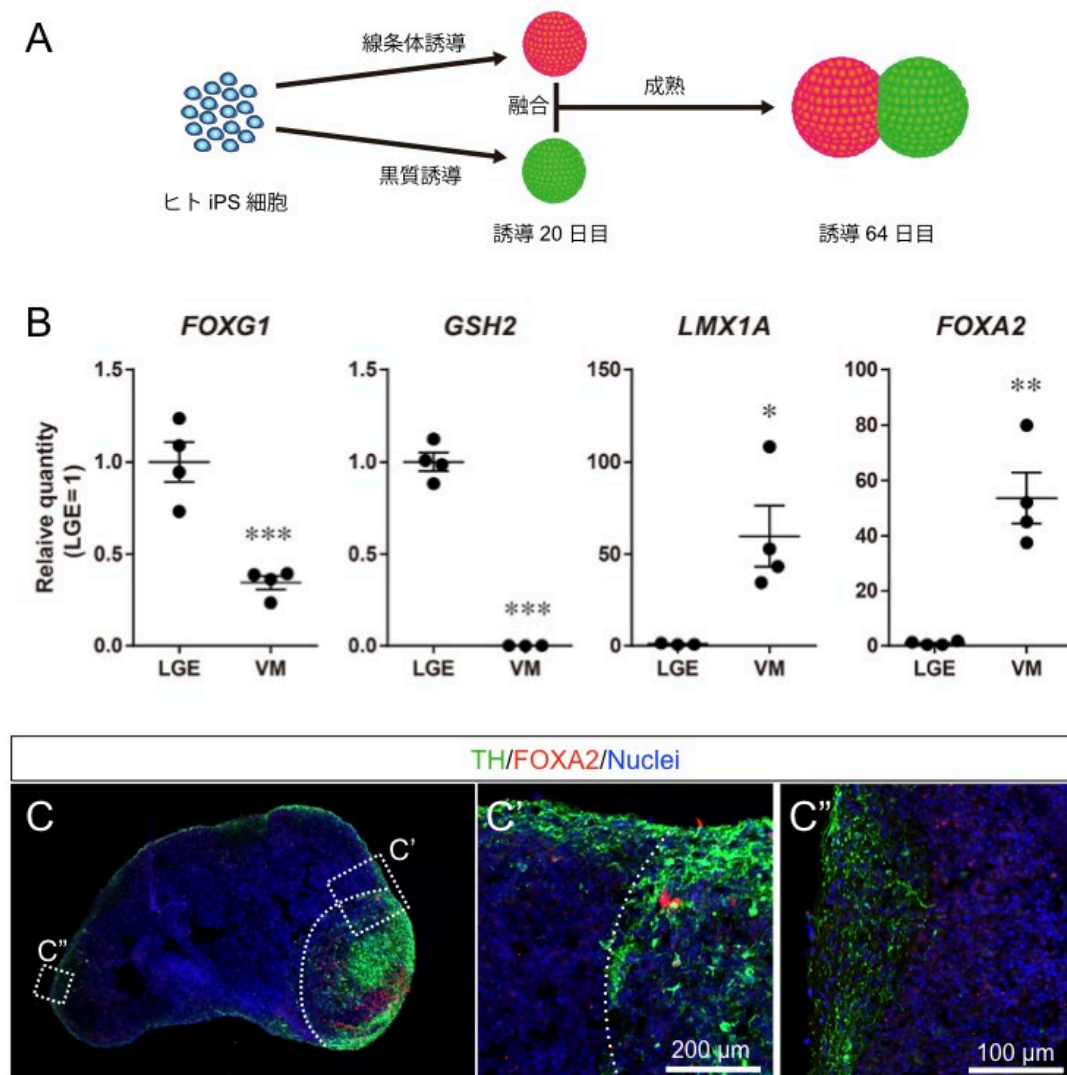


図 2. ヒト iPS 細胞由来脳モデルを用いた黒質-線条体経路の作製。(A) 黒質-線条体経路作製過程の模式図。(B) Q-PCR を用いた LGE ニューロスフェアおよび VM ニューロスフェアにおける遺伝子発現の比較。\* $p<0.01$ ; \*\*\* $p<0.001$  vs LGE。(C-C'') ヒト iPS 細胞由来黒質-線条体経路における免疫染色像。

現在、上記の脳モデルを用いて線条体側から黒質側への  $\alpha$ -シヌクレインの伝播を観察するモデルの作製を進めている。この目的を達成するために、線条体における  $\alpha$ -シヌクレインの発現をコントロールできる実験系の作製が不可欠である。そこで、 $\alpha$ -シヌクレインの発現を人為的にコントロールできるヒト iPS 細胞の作製を行った。 $\alpha$ -シヌクレインの発現の制御には、ドキシサイクリン (doxycycline; DOX) 存在下で任意のタイミングで  $\alpha$ -シヌクレインを強制発現するシステムを取り入れ、標的となるベクターの作製を行った (図 3A)。このベクターを用いて、Piggybac システムによりヒト  $\alpha$ -シヌクレインと mCherry をコードする配列をゲノム DNA に導入した。この細胞はドキシサイクリン添加 24 時間後において、ヒト  $\alpha$ -シヌクレインと mCherry を発現していることが確認された (図 3B)。今後、この iPS 細胞から神経細胞へ誘導し、 $\alpha$ -シヌクレインの発現のコントロールを検討する予定であり、 $\alpha$ -シヌクレインに着目した病態再現モデルとしての有用性を検証していく。

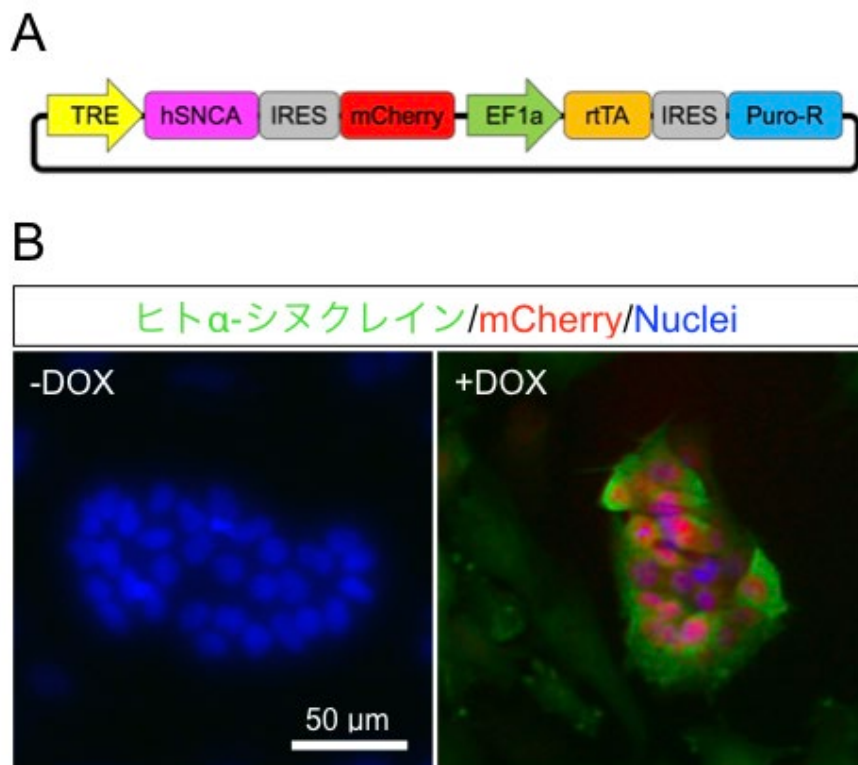


図 3. ヒト  $\alpha$ -シヌクレイン強制発現ヒト iPS 細胞の樹立。(A)  $\alpha$ -シヌクレインを強制発現させるためのベクターのデザイン。(B) DOX 添加 24 時間後における免疫染色像。

また、一般的にドパミン神経は内在的に  $\alpha$ -シヌクレインを発現していることが知られている。 $\alpha$ -シヌクレインの細胞間伝播を観察する実験系において、ドパミン神経に  $\alpha$ -シヌクレインのシグナルが確認された場合、内在的に発現している  $\alpha$ -シヌクレインと伝播してきた  $\alpha$ -シヌクレインを区別して観察する必要がある。そこで、CRISPR/Cas9 システムを用いて  $\alpha$ -シヌクレイン遺伝子 (SNCA) をノックアウトしたヒト iPS 細胞の作製を行った。ガイド RNA 作製ツールである CHOPCHOP (<https://chopchop.cbu.uib.no/>) を用いて SNCA 遺伝子のエキソン 2 を標的としたノックアウトを行った (図 4A)。ガイド RNA および Cas9 のプラスミドを導入した iPS 細胞のクローンを複数単離し、ゲノム DNA の配列を確認したところ、一つのクローンにおいて、エキソン 2 上に 1 塩基欠損によるフレームシフトの導入に成功した (図 4B)。今後は、この細胞を用いて  $\alpha$ -シヌクレインが発現しないことを確認し、前項で作製した脳モデルを用いて  $\alpha$ -シヌクレインの伝播および病態発症機序の解明に応用していく予定である。

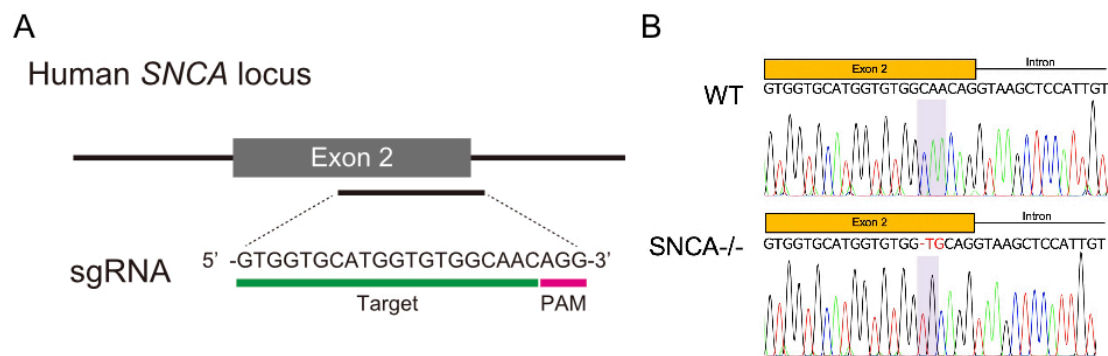


図 4. SNCA ノックアウトヒト iPS 細胞の樹立。(A) CRISPR/Cas9 システムを用いた SNCA ノックアウトにおけるガイド RNA のデザイン。(B) SNCA ノックアウトヒト iPS 細胞におけるゲノム DNA の配列。

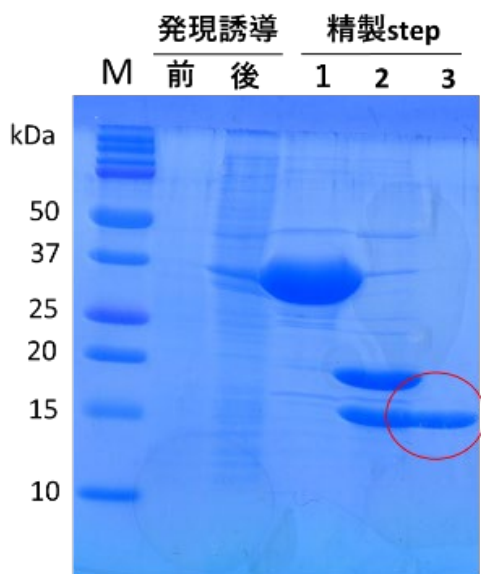
## 2. $\alpha$ -シヌクレインの凝集、線維化機構の *in vitro* 解析

パーキンソン病における神経脱落には、原因タンパク質である  $\alpha$ -シヌクレインのアミロイド線維化・凝集が深く関わる<sup>4,5</sup>。パーキンソン病の早期診断・治療法の開発基盤となる知見を取得すべく、 $\alpha$ -シヌクレインの凝集・線維化機構についての *in vitro* 解析を実施した。

### 2.1. リコンビナントヒト $\alpha$ -シヌクレインの作製と凝集・線維化評価系の構築

実験に用いるリコンビナントヒト  $\alpha$ -シヌクレインの大腸菌発現・精製系を構築した。大腸菌内で発現させた His タグ融合ヒト  $\alpha$ -シヌクレインを超音波破碎法にて抽出し、Ni アフィニティクロマトグラフィーにて単離した。その後、タグ配列をプロテアーゼ処理にて切断し、再度 Ni アフィニティクロマトグラフィーを行うことで、ヒト  $\alpha$ -シヌクレインを調製した。本手法でヒト  $\alpha$ -シヌクレインが得られていることを MALDI-TOF-MS にて確認した。また、作製した  $\alpha$ -シヌクレインは SDS-PAGE にて 95% 以上の高純度であり、大腸菌培養液 1 L から 20~30 mg のタンパク質を大量取得した (図 5)。

#### 【SDS-PAGE】



タグ融合 $\alpha$ -シヌクレイン：34.0 kDa

タグ配列：19.4 kDa

$\alpha$ -シヌクレイン：14.6 kDa

#### 【MALDI-TOF-MS】

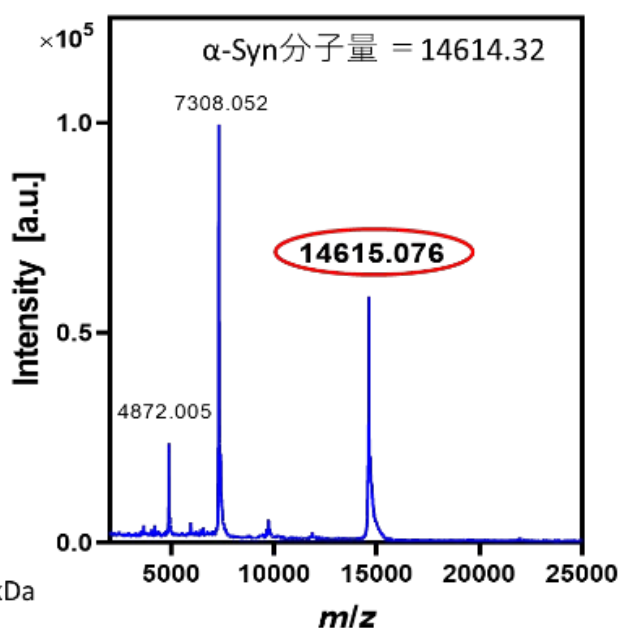


図 5. リコンビナントヒト  $\alpha$ -シヌクレインの作製



作製した  $\alpha$ -シヌクレインの PBS 溶液を 96 ウェルプレートに分取し、テフロンビーズを入れて 37°C で 3 日間振とうすることで、人工的にアミロイド線維を調製した。原子間力顕微鏡での観察から線維様の凝集物が観察できた(図 6)。また、円偏光二色性 (CD) スペクトル測定にてアミロイド線維の特徴である  $\beta$  シート構造への転移が確認できた。さらに、アミロイド線維に特異的蛍光色素であるチオフラビン T (ThT) に反応することも確認した。したがって、作製したヒト  $\alpha$ -シヌクレインがアミロイド線維を形成することが確認された。

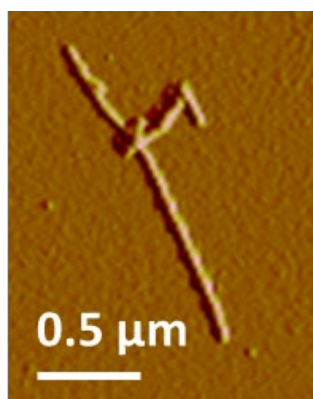


図 6.  $\alpha$ -シヌクレインアミロイド線維の原子間力顕微鏡画像

## 2.2. $\alpha$ -シヌクレインの核形成および線維伸長過程の解析

ThT はアミロイド線維に結合して蛍光を発するが、モノマータンパク質には反応しない。そこで、ThT 共存下でアミロイド線維形成を進行させて蛍光強度を経時的に測定することで、 $\alpha$ -シヌクレインの線維形成過程を追跡した。その結果、図 7 に示すシグモイド型の蛍光強度変化が観察された。これは、アミロイド線維形成が、①モノマータンパク質が会合して核を生じる過程と、②核に単量体が順次結合して線維へと伸長する過程の二段階で進行するという、重合核依存性重合モデルに合致する<sup>6,7</sup>。ここで、ThT は核には反応しないため、蛍光強度が上昇し始めるまでの期間は核形成過程に、ThT 蛍光強度が直線的に上昇する期間は線維伸長過程に対応する(図 7)。このモデルに基づいて ThT 蛍光測定データを解析し、各過程の起こりやすさを反映するパラメータである lag time およびみかけの線維伸長速度定数  $k_{app}$  を導出することで、 $\alpha$ -シヌクレインが置かれた環境の変化がアミロイド凝集の各過程に与える影響を調べた。

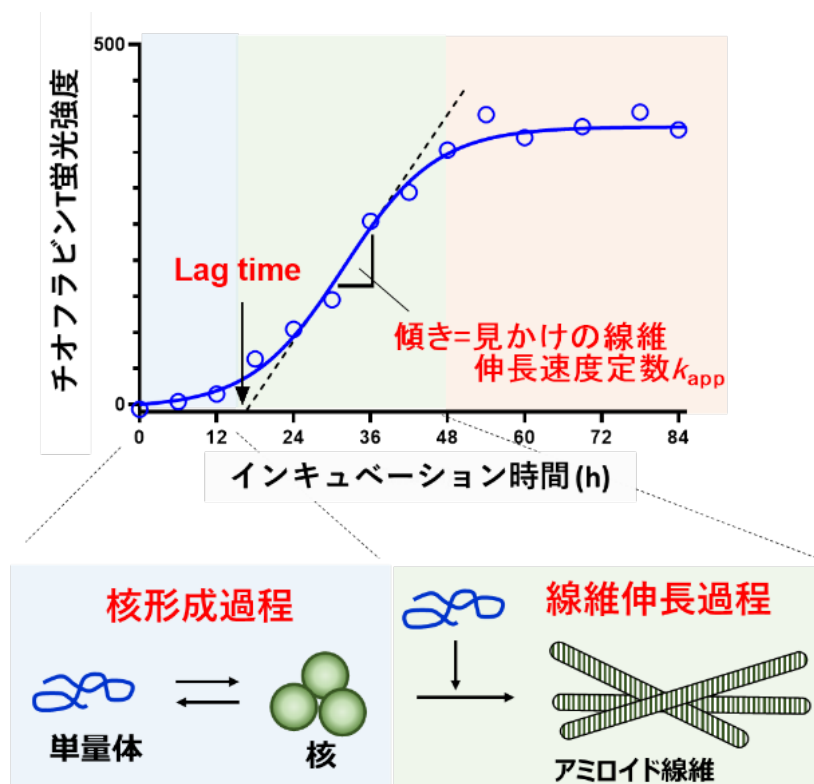


図 7. チオフラビン T 蛍光測定による  $\alpha$ -シヌクレインアミロイド線維形成評価

パーキンソン病発症要因のひとつに、神経内での  $\alpha$ -シヌクレインの過剰発現がある<sup>8</sup>。生理的濃度範囲である 20-50  $\mu\text{M}$  での  $\alpha$ -シヌクレインのアミロイド線維形成を調べたところ、濃度依存的に lag time は短縮したが、 $k_{app}$  は濃度に依らず一定であった。このことから、核形成ではモノマー同士の会合などの濃度依存的な過程が律速になるが、線維伸長ではモノマーと核/線維との結合は迅速に起こり、 $\beta$  構造転移や線維の断片化といった濃度非依存的な過程が律速であることが示唆された。

$\alpha$ -シヌクレインは単独ではランダムコイルであるが、一部の  $\alpha$ -シヌクレインは神経内でシナプス小胞に結合して  $\alpha$  ヘリックスを形成する<sup>9</sup>。膜結合型  $\alpha$ -シヌクレインが線維形成に与える影響を調べるため、シナプス小胞を模倣した人工脂質膜小胞の共存下でのアミロイド線維形成を評価した。その結果、膜結合型  $\alpha$ -シヌクレイン濃度に依存した lag time の短縮と  $k_{app}$  の上昇が認められ、膜結合型  $\alpha$ -シヌクレインが核形成と線維伸長の両過程を促進することがわかった。脂質膜の有無による線維伸長過程の濃度依存性の違いは、脂質膜上では水中とは異なる機構で線維伸長が起こることを示しており (図 8)、神経内での  $\alpha$ -シヌクレインの線維化において、脂質膜相互作用の変化が重要な要因のひとつであることが示唆された。

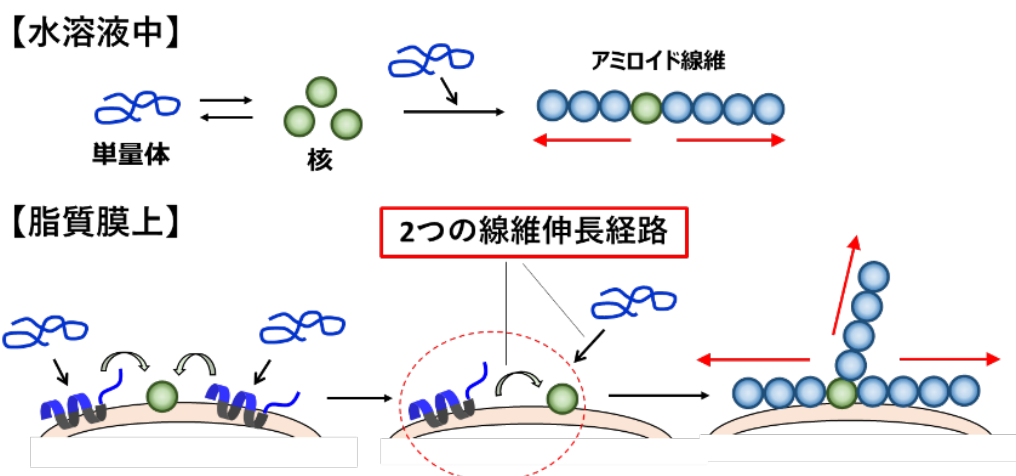


図 8. 水中と脂質膜上での  $\alpha$  シヌクレイン線維形成モデル

### 2.3. パーキンソン病変異による $\alpha$ -シヌクレインの凝集・線維化促進機構の解析

パーキンソン病の発症には、 $\alpha$  シヌクレインの変異や断片化などの質的変化が深く関わる。パーキンソン病の発症に関わる遺伝子変異には、現在までに8種類(A18T、A29S、A30P、E46K、H50Q、G51D、A53T/E)が報告されている<sup>10</sup>。このうちA53T変異は最も頻度が高い家族性変異であり、若年性パーキンソン病の原因となる。また、パーキンソン病に特徴的な脳内沈着物のレビー小体中では、C末領域が欠損した $\alpha$ -シヌクレインが多く検出される。これらのフラグメントは、神経内で生じた線維がカテプシンによる不完全な消化を受けて生じると考えられている<sup>11,12</sup>。なかでも、N103残基部分の切断で生じる1-103フラグメント（以下、C末欠損体）は高い神経毒性と構造伝播性を有しており、パーキンソン病発症への寄与が示唆されている<sup>13</sup>。そこで、A53T変異とC末欠損が $\alpha$ -シヌクレインのアミロイド線維形成性に与える影響について、物理化学的解析を行った。各 $\alpha$ -シヌクレインのアミロイド線維を透過型電子顕微鏡および全反射型蛍光顕微鏡にて観察したところ、A53T変異体の線維は野生型(WT)のものと酷似していたが、C末欠損体では短い線維がクラスターを形成していた。アミロイド線維を超遠心(80,000 rpm×1 h)にて分画・定量したところ、WTでは全タンパク質の約30%しか線維を形成していなかったが、A53T変異体では約60%、C末欠損体では約80%と線維形成量が顕著に増加していた。

生理的環境を模した条件(20  $\mu$ M  $\alpha$ -シヌクレイン、pH7.4、37°C)でのアミロイド線維形成をThT蛍光測定にて追跡したところ、A53T変異とC末欠損はいずれも線維形成を顕著に加速した(図9A)。A53T変異とC末欠損による線維形成の促進機構を明らかにするため、ThT蛍光測定データに対してFinke-Watzky(F-W)モデルを用いた速度論的解析を行った。F-Wモデルでは、アミロイド凝集がモノマーから凝集核への自発的構造転移(核形成)と、形成された核や線維が周囲のモノマーの構造転移を触媒する線

維伸長過程の2つの過程から成ると仮定する<sup>14-16</sup>。解析の結果、A53T変異は線維伸長過程には影響せず、核形成過程のみを顕著に促進しており、モノマーから凝集核への構造転移を促進することが示唆された。一方、C末欠損では核形成と線維伸長の両過程が促進されていた。また、線維形成速度の指標となるHalf timeのモノマー濃度依存性を調べたところ、A53T及びC末欠損体は濃度に拘わらずWTよりも早い線維形成速度を示し、かつC末欠損体ではWTよりも低濃度で折れ曲がり点が認められた(図9B)。これは核形成が既存線維の表面で自己触媒的に進行する二次核形成<sup>17</sup>が、C末領域を欠損することで促進されることを示唆する(図9C)。したがって、C末領域欠損体は線維の形成・伝播を著しく促進しうることから、パーキンソン病の早期診断・治療における有望な標的分子となりうる。

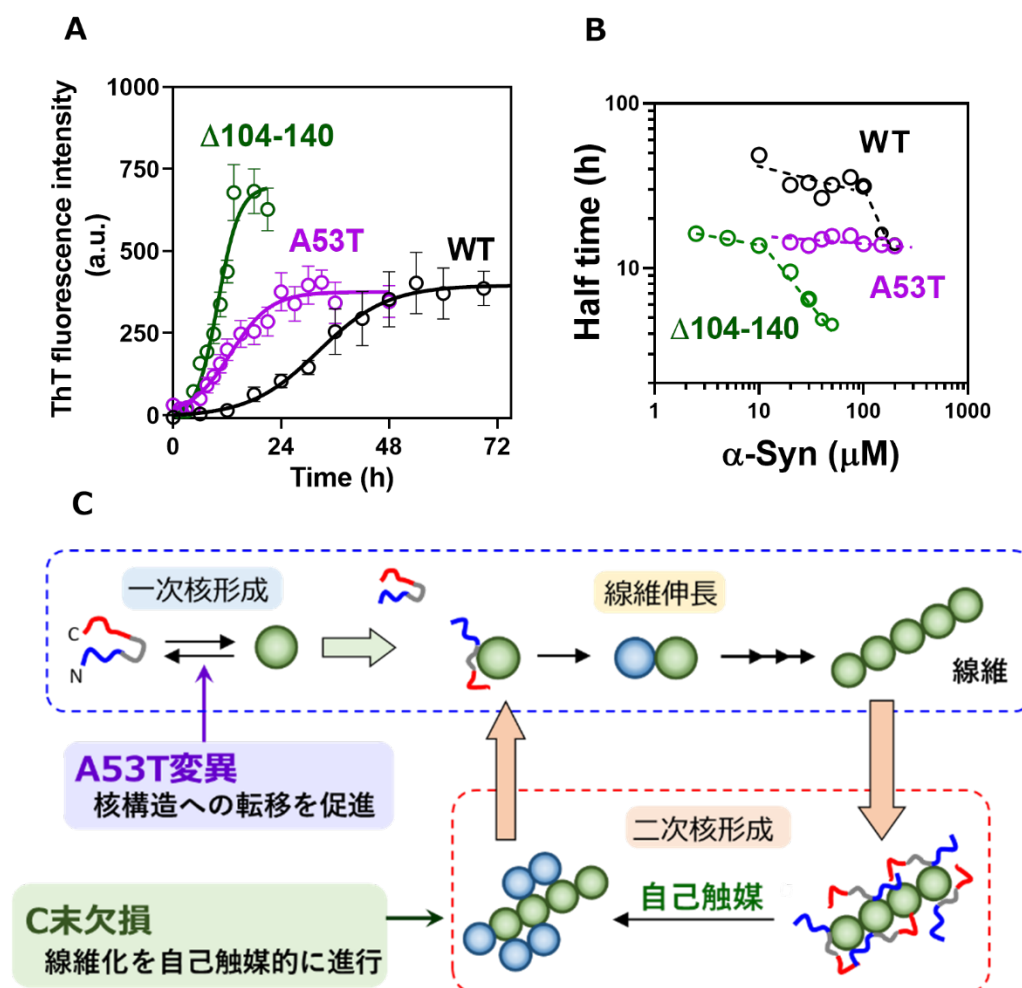


図9.  $\alpha$ -シヌクレイン線維形成に対するA53T変異とC末欠損の影響. (A) チオフラビンT蛍光測定によるアミロイド線維形成の経時評価. (B) アミロイド線維形成のHalf-timeと $\alpha$ -シヌクレイン濃度の関係. (C) A53T変異とC末欠損による線維化加速機構のモデル図

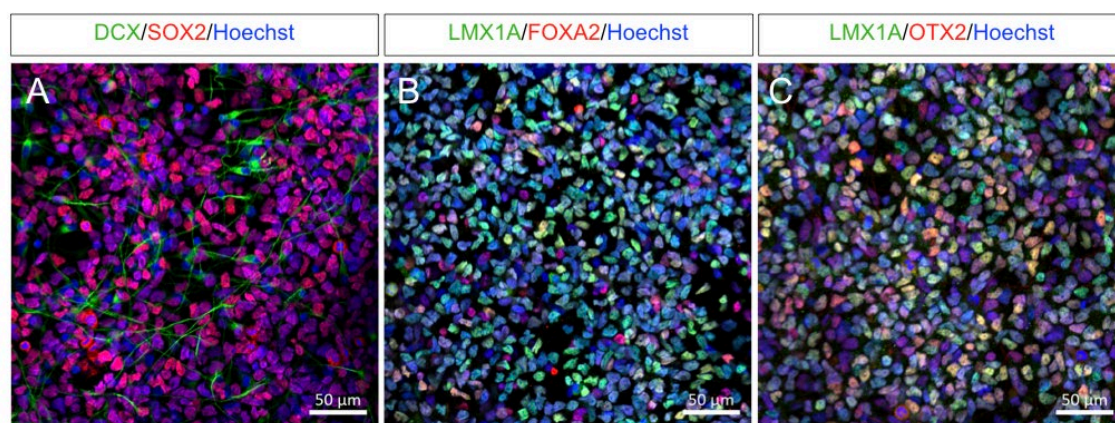


### 3. パーキンソン病に対する細胞移植治療における移植細胞の品質モニタリングを目指した neurotheranostics 戦略の開発

近年、多能性幹細胞を用いたパーキンソン病に対する細胞移植治療の開発が進められている。細胞移植治療において、移植細胞の長期モニタリングによる品質管理法の確立は重要な課題である。過去に行われたパーキンソン病に対する胎児細胞移植における剖検脳を用いた研究では、移植した細胞への  $\alpha$ -シヌクレインタンパク質の凝集・蓄積が観察されている<sup>18</sup>。このことから、長期的な細胞移植治療の効果の担保には移植した細胞のモニタリングによる品質管理の必要性があると考えられる。したがって、 $\alpha$ -シヌクレインのホスト脳から移植細胞への伝播の可視化および凝集阻害による機能修飾法（neurotheranostics）の開発が将来求められると考えられる。そこで、この過程を再現できる実験系の確立するため、移植に用いるヒト iPS 細胞由来ドーパミン神経前駆細胞の誘導法の確立およびパーキンソン病モデル動物の確立を行った。

#### 3.1. ヒト iPS 細胞由来ドーパミン神経前駆細胞の誘導および標準化

ヒト iPS 細胞から、移植に用いるドーパミン神経前駆細胞の誘導法の規格化を行った。誘導効率等の確認には、細胞移植実験に用いることを想定している誘導 16 日目の細胞を用いて、免疫染色による各種マーカーの陽性率の評価を行った。まず、誘導した細胞における神経誘導のステージを確認するために、神経前駆細胞マーカーである SOX2 および幼若神経マーカーである doublecortin (DCX) の陽性率の確認を行ったところ、それぞれ約 87%と 13%であり、誘導した細胞が効率よく神経前駆細胞の状態を保っていることが確認された（図 10A）。さらに中脳ドーパミン神経前駆細胞のマーカーである LMX1A、FOXA2、OTX2 はいずれも 90%以上の陽性率であり、安定して中脳ドーパミン神経前駆細胞を誘導できることが確認された（図 10B, 10C）。また 1 回の神経誘導の実施（12 穴シャーレ 2 穴分）において、約 500 万個の細胞が得られることも確認された。今後は、モデル動物への細胞移植実験を計画しているが、1 匹あたりおよそ 40 万個の細胞移植を想定していることから、一回の誘導実験から得られる細胞数で、8 匹以上の動物に対する移植実験においても十分な細胞数を確保できることを確認した。



(前項図 10 の説明)

図 10. ヒト iPS 細胞から誘導した中脳ドパミン神経前駆細胞の評価 (誘導 16 日目)。

(A) SOX2 と DCX の免疫染色像。(B) LMX1A と FOXA2 の免疫染色像。(C) LMX1A と OTX2 の免疫染色像。

### 3.2. パーキンソン病モデルマウスの作製と SPECT による評価系の確立

細胞移植の実施については、ラットを用いたモデル系を想定しているが、まずは予備検討として、マウスを用いてパーキンソン病モデルの作製を行った。ドパミン神経毒である 6-hydroxydopamine (6-OHDA) を C57BL/6 マウスの左側の内側前脳束 (medial forebrain bundle; MFB) に 5  $\mu$ g 微量注入することで片側性パーキンソン病モデルの作製を行った。モデル作製から 4 週間後においてメタンフェタミン誘発旋回運動を指標に、パーキンソン病モデルの作製を評価した。その結果、作製したパーキンソン病モデルは平均して  $771.8 \pm 175.2$  回/90 分 (4 匹) の回転数を示し、いずれの個体も一般的なパーキンソン病モデルの基準である 540 回/90 分を満たしていた (図 11)。

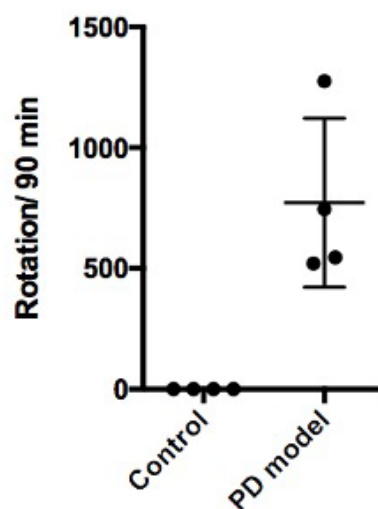


図 11. 6-OHDA を用いた片側性パーキンソン病モデルにおけるメタンフェタミン誘発旋回運動の結果。

さらに上記で作製した片側性パーキンソン病モデルマウスにおけるドパミン神経の SPECT イメージングを行った。ドパミン神経の標識には  $^{123}\text{I}$  イオフルパン（ドパミントランスポーターのリガンド）を用いて、1 個体あたり 21 Mbq となるように尾静脈注射により投与し、吸入麻酔下において CT および SPECT の撮像を行った。その結果、作製したパーキンソン病モデルマウスはいずれも正常側の線条体では  $^{123}\text{I}$  イオフルパンのシグナルが検出されたのに対し、傷害側の線条体では、 $^{123}\text{I}$  イオフルパンのシグナルは検出されなかった。このことから、片側性パーキンソン病モデルマウスが作製できたこと、および  $^{123}\text{I}$  イオフルパンを用いた SPECT 撮像により、生きたままドパミン神経の脱落の有無を確認できることが示された（図 12）。

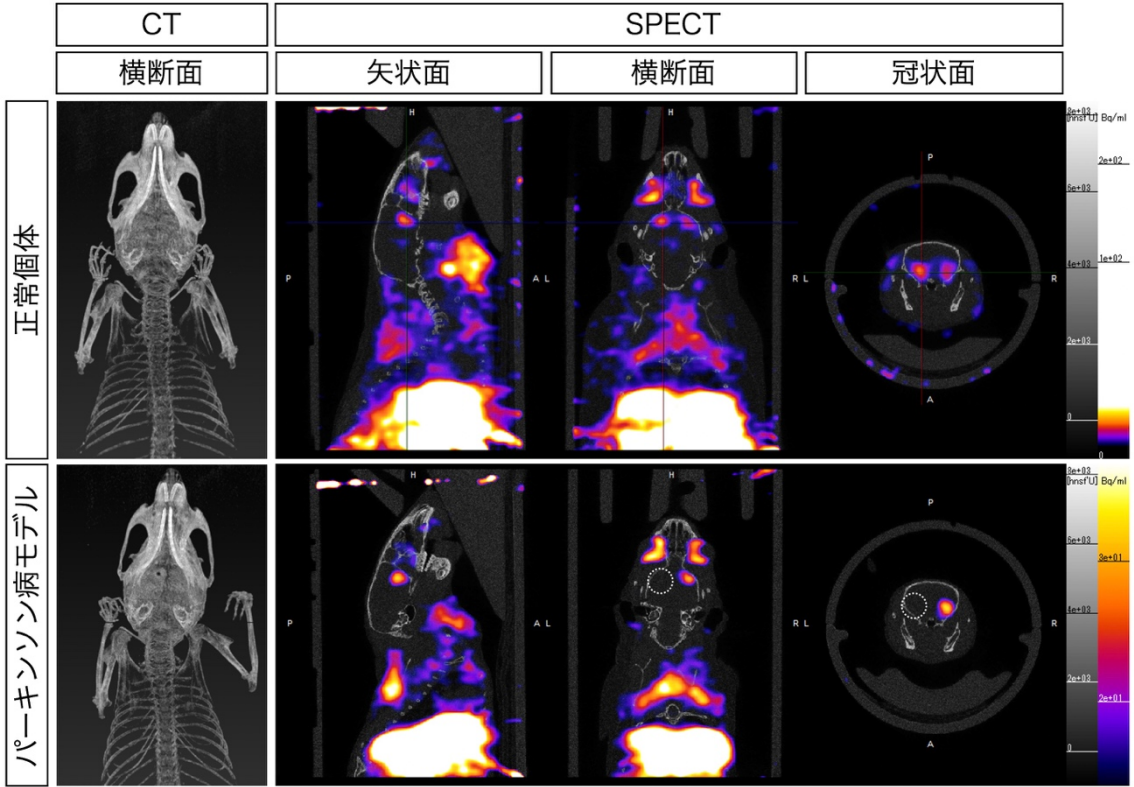
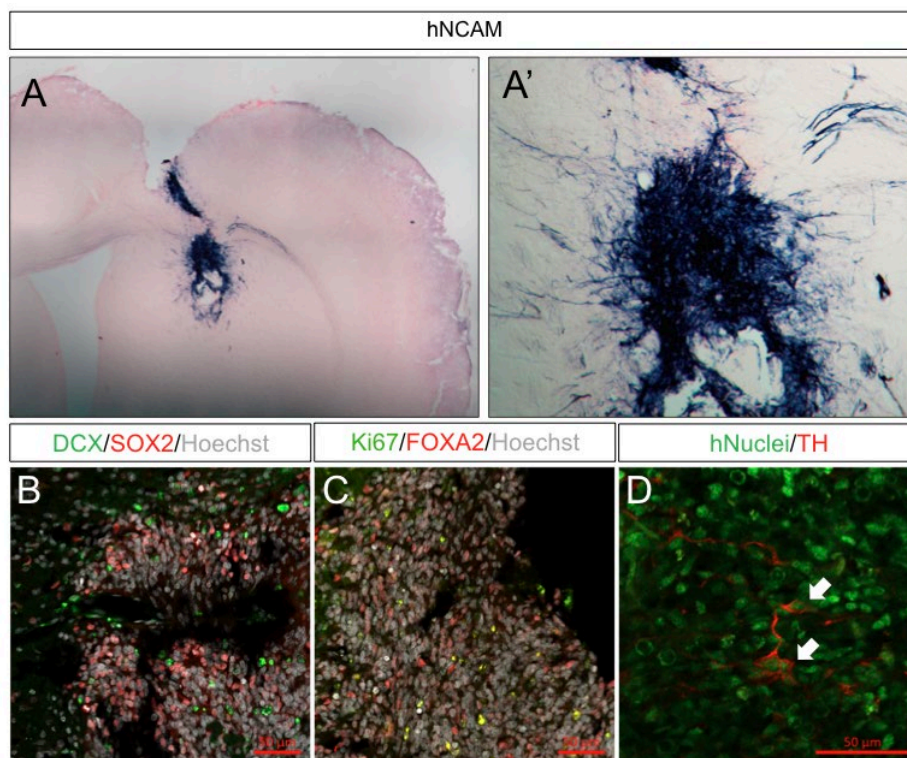


図 12. 片側性パーキンソン病モデルにおける  $^{123}\text{I}$  イオフルパンを用いた CT/SPECT 撮像。白点線はドパミン神経の脱落部位を示している。



### 3.3. 免疫不全ラットを用いた細胞移植実験系の確立

現在、ラットを用いて、同様の動物モデルを確立すべく検討を進めている。また細胞移植実験には、ヒト iPS 細胞由来ドパミン神経前駆細胞をパーキンソン病ラットモデルに移植する計画である。そのため異種移植（ヒト-ラット）によって惹起される免疫拒絶による移植細胞の脱落を防ぐため、免疫不全ラット（F344-*Il2rg<sup>em1lexas</sup>*）を導入した。このラットは、ヒト iPS 細胞由来神経前駆細胞の脳移植においても、免疫拒絶が惹起されないことが実証されており、今後の異種細胞移植実験に有用であると考えている<sup>19</sup>。このラットを用いて上記で誘導したヒト iPS 細胞由来ドパミン神経前駆細胞の移植実験に向けた予備検討を行った。方法として、誘導 16 日目のヒト iPS 細胞由来ドパミン神経前駆細胞を成体ラットの片側の線条体にて約 40 万個移植を行い、2 週間後に脳サンプルを取得し組織学的解析を行った。ヒト神経特異的マーカーであるヒト NCAM (neural cell adhesion molecule) 抗体を用いた免疫染色では、ラット脳においてヒト細胞の良好な生着が確認された（図 13A）。さらにヒト核特異的抗体を用いた染色において移植したヒト細胞は、神経前駆細胞マーカーである SOX2、ドパミン神経前駆細胞マーカーである FOXA2、細胞分裂マーカーである Ki67 と共局在していることが明らかとなり、移植 2 週間後においては、分裂能を有したドパミン神経前駆細胞が移植細胞の主要構成細胞であることが明らかとなった（図 13B, 13C）。またごく一部の細胞は、ドパミン神経マーカーである TH を発現していることも明らかとなった（図 13D）。今後、このラットを用いてパーキンソン病モデルを作製し、移植細胞への  $\alpha$ -シヌクレインの伝播の有無を観察する予定であり、生体内において移植細胞への  $\alpha$ -シヌクレインの伝播を示すモデルとしての有用性を検証していく。



(前項図 13 の説明)

図 13. ヒト iPS 細胞由来ドパミン神経前駆細胞移植後 2 週間における組織学的評価。

(A, A') ヒト NCAM による免疫染色。(B) SOX2 と DCX の免疫染色画像。(C) Ki67 と FOXA2 の免疫染色画像。(D) ヒト核と TH の免疫染色画像。矢印は、TH 陽性細胞を示している。

#### 【参考文献】

1. Schapira *et al.* Non-motor features of Parkinson disease. *Nat. Rev. Neurosci.* **18**, 435-450 (2017).
2. Piccini *et al.* Dopamine release from nigral transplants visualized in vivo in a Parkinson's patient. *Nat. Neurosci.* **2**, 1137-1140 (1999).
3. Braak *et al.* Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease. *Neurobiol. Aging* **24**, 197-211 (2003).
4. Araki, K., *et al.* Parkinson's disease is a type of amyloidosis featuring accumulation of amyloid fibrils of alpha-synuclein. *Proc Natl Acad Sci U S A* **116**, 17963-17969 (2019).
5. Stefanis, L. alpha-Synuclein in Parkinson's disease. *Cold Spring Harb Perspect Med* **2**, a009399 (2012).
6. Wordehoff, M.M. & Hoyer, W. alpha-Synuclein Aggregation Monitored by Thioflavin T Fluorescence Assay. *Bio Protoc* **8**(2018).
7. Shoffner, S.K. & Schnell, S. Estimation of the lag time in a subsequent monomer addition model for fibril elongation. *Phys Chem Chem Phys* **18**, 21259-21268 (2016).
8. Oliveira, L.M., *et al.* Elevated  $\alpha$ -synuclein caused by SNCA gene triplication impairs neuronal differentiation and maturation in Parkinson's patient-derived induced pluripotent stem cells. *Cell Death & Disease* **6**, e1994 (2015).
9. Burré, J. The Synaptic Function of  $\alpha$ -Synuclein. *Journal of Parkinson's Disease* **5**, 699-713 (2015).
10. Guan, Y., *et al.* Pathogenic Mutations Differentially Regulate Cell-to-Cell Transmission of  $\alpha$ -Synuclein. *Frontiers in Cellular Neuroscience* **14**, 159 (2020).
11. Li, W., *et al.* Aggregation promoting C-terminal truncation of alpha-synuclein is a normal cellular process and is enhanced by the familial Parkinson's disease-linked mutations. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* **102**, 2162-2167 (2005).
12. McGlinchey, R.P., *et al.* C-terminal alpha-synuclein truncations are linked to cysteine cathepsin activity in Parkinson's disease. *J. Biol. Chem.* **294**, 9973-9984 (2019).



13. Zhang, Z., *et al.* Asparagine endopeptidase cleaves alpha-synuclein and mediates pathologic activities in Parkinson's disease. *Nat. Struct. Mol. Biol.* **24**, 632-642 (2017).
14. Morris, A.M. & Finke, R.G. Alpha-synuclein aggregation variable temperature and variable pH kinetic data: a re-analysis using the Finke-Watzky 2-step model of nucleation and autocatalytic growth. *Biophys. Chem.* **140**, 9-15 (2009).
15. Morris, A.M., Watzky, M.A., Agar, J.N. & Finke, R.G. Fitting neurological protein aggregation kinetic data via a 2-step, minimal/"Ockham's razor" model: the Finke-Watzky mechanism of nucleation followed by autocatalytic surface growth. *Biochemistry* **47**, 2413-2427 (2008).
16. Morris, A.M., Watzky, M.A. & Finke, R.G. Protein aggregation kinetics, mechanism, and curve-fitting: a review of the literature. *Biochim. Biophys. Acta* **1794**, 375-397 (2009).
17. Linse, S. Monomer-dependent secondary nucleation in amyloid formation. *Biophys. Rev.* **9**, 329-338 (2017).
18. Li *et al.* Lewy bodies in grafted neurons in subjects with Parkinson's disease suggest host-to-graft disease propagation. *Nat. Med.* **14**, 501-503 (2008).
19. Samata *et al.* X-linked severe combined immunodeficiency (X-SCID) rats for xenotransplantation and behavioral evaluation. *J. Neurosci. Methods* **243**, 68-77 (2015).

ブランディング活動



## 社会を動かす薬学へ。

報道関係各位

## 京都薬科大学 セラノスティクス創薬研究基盤を構築

分子イメージング研究の新たな領域を創造し、世界貢献を目指す

京都薬科大学は2018年6月15日、放射性同位元素研究センターにベルギーMOLECUBES社製の最新鋭SPECT（単光子放射型コンピューター断層撮影）装置およびX線CT（コンピューター断層撮影）装置を導入しました。同時に、同研究センターで扱える放射性同位元素を18核種から60核種へと大幅に拡充しました。これにより、さまざまなタイプのがんの診断と治療を並行して行えるセラノスティクス創薬を目指す研究基盤を構築、がんのさらなる早期発見・早期治療につなげる先端的研究を開始しました。

「セラノスティクス（Theranostics）」は、治療（Therapeutics）と診断（Diagnostics）を組み合わせた新しい医療技術で、PET（陽電子放射型断層撮影）やSPECTのように病巣を目で見えるようにできる放射性薬剤を使った「分子イメージング技術」で“病気の診断”を行うとともに、同じ仕組みで治療用の放射性薬剤を患部に送り込み病巣だけを狙った「放射性同位元素内用療法」で“病気の治療”ができるようにする方法です。この方法をがん治療に応用すると非常に小さな初期段階のがんを捉えることができ、これまでよりもずっと早期に治療を始められます。また、患者さんの身体の負担も大きく軽減できます。

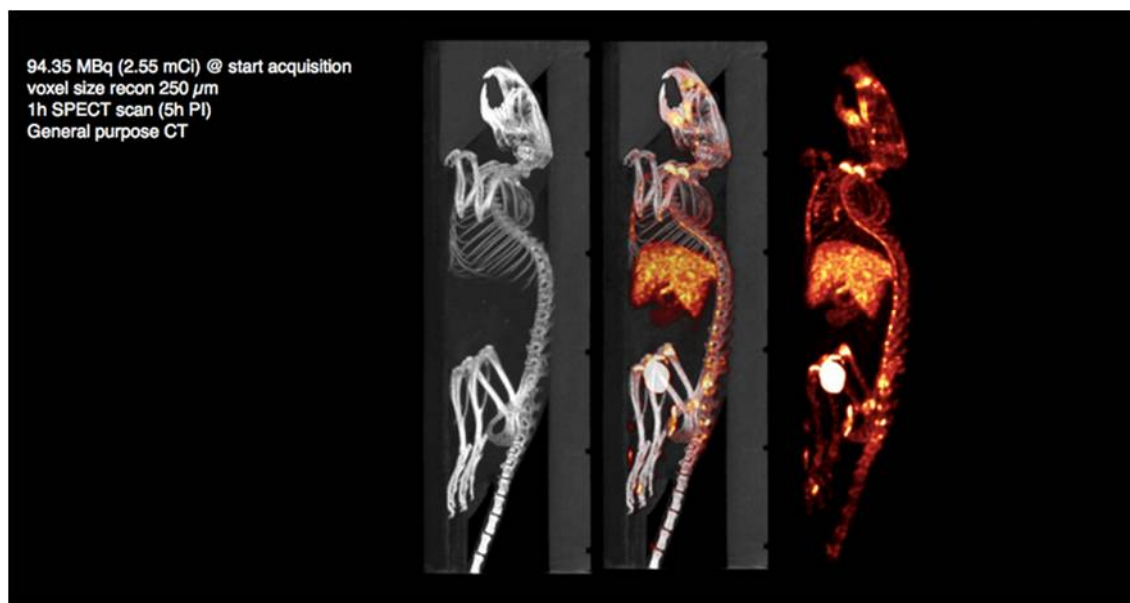
本学では関連研究分野の研究者からなる「セラノスティクス創薬研究」グループを発足させ、前立腺がん、乳がん、肺がん、膵がんなどを対象とする精度の高い診断薬および治療薬の開発を、これまで培った本学独自の開発手法や化合物ライブラリーを用いて始めています。

今回導入した最新鋭「SPECT」装置は、体内に投与した放射性薬剤から放出される放射線を特殊カメラでとらえコンピューターで精密に画像化する装置です。得られた画像から血流量や代謝機能を調べることができ、病気の状態をリアルタイムで知ることができます。このため、がん・中枢神経疾患・心疾患などの検査で特に重要な役割を果たすと期待されています。さらに、「SPECT」装置に「X線CT」装置を組み合わせることで、診断の精度を格段に向上させることができます。

また本学は、学部学生が「セラノスティクス創薬研究」に加わることで、新しい診断・治療法に対する深い理解と実践能力を持つ次世代型薬剤師の育成を進める計画です。同時に、放射性医薬品製薬企業・病院・国内外の大学や研究機関などと連携しつつこれまでにない創薬シーズを探し出し、京都薬科大学から世界に向けて新しい医療を提供することを目指しています。

SPECT装置およびX線CT装置の概要は次の通りです。

■SPECT 装置および X 線 CT 装置で撮影した画像例（MOLECUBES 社提供）



写真左から、X 線 CT 画像、SPECT 画像に X 線 CT 画像を合わせた画像、SPECT 画像

■導入する装置について※

- 1) SPECT 装置（ $\gamma$ -CUBE）
- 2) X 線 CT 装置（X-CUBE）

【特徴】

- ・ 卓上型で操作性に優れる
- ・ 双方で取得した画像を高精度に重ね合わせられる
- ・ 小動物を対象とした形態・機能情報の融合解析が実現可能

（※） $\gamma$ -CUBE と X-CUBE の導入は、アジアでは初めて

（※）他の導入機関

ペンシルバニア大学（米国）、シカゴ大学（米国）、ゲント大学（ベルギー）、  
デュースブルク・エッセン大学病院（ドイツ）、アーヘン工科大学病院（ドイツ）



SPECT 装置および X 線 CT 装置（MOLECUBES 社提供）

## ■分子イメージング技術について

放射線技術などを使って、人間の体内にある遺伝子やたんぱく質などの分子の動きを画像でとらえる技術のこと。代表的な臨床応用例がFDG-PETによるがんの診断です。

分子イメージング技術の創薬支援や治験・診断支援への展開が試みられており、患者個人の詳細な生体情報を統合し最適な治療法を選択する新しい医療アプローチ（プレシジョン・メディシン）の中心的役割を果たすと期待されています。

## ■放射性同位元素研究センターについて

放射性同位元素を用いたライフサイエンス研究を実施するための共同利用施設。同センター内に長期飼育が可能な動物飼育施設も完備。同センターを核として、各研究分野、創薬科学フロンティア研究センター、共同利用機器センターおよびバイオサイエンス研究センターが連携し、がん・中枢神経疾患・心疾患を対象とした先端的分分子イメージング法の開発やセラノスティクス創薬研究への応用を進めています。

### [研究に関するお問い合わせ先]

京都薬科大学 代謝分析学分野

准教授 木村 寛之

〒607-8414 京都市山科区御陵中内町5

TEL:075-595-4630 FAX:075-595-4750

E-mail: hkimura@mb.kyoto-phu.ac.jp

### [報道に関するお問い合わせ先]

京都薬科大学 事務局 企画・広報課

担当：川勝、仲達

〒607-8414 京都市山科区御陵中内町5

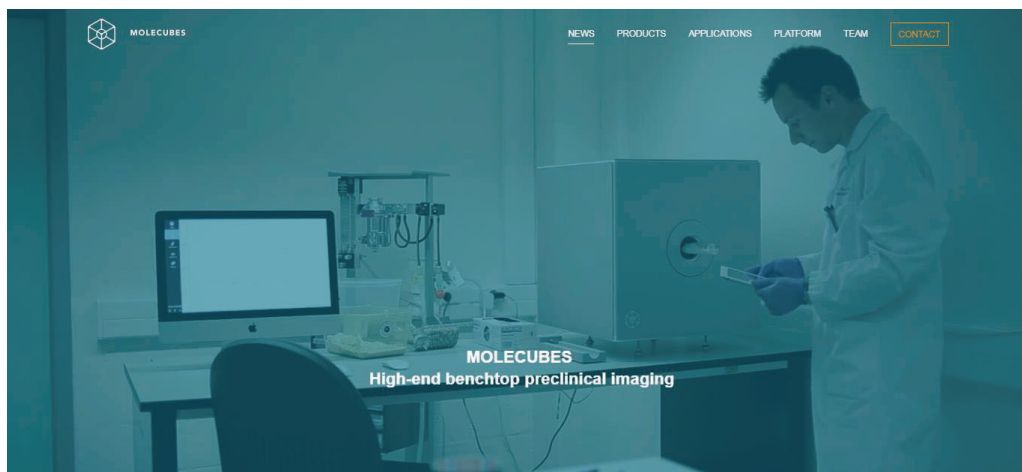
TEL:075-595-4691 FAX:075-595-4750

E-mail:kikaku@mb.kyoto-phu.ac.jp



## MOLECUBES SPECT/CT at Kyoto Pharmaceutical University, Japan

MOLECUBES will install a SPECT/CT whole-body rat and mouse benchtop imaging solution at Kyoto Pharmaceutical University in Japan. The systems will help discovering new insights in biological pathways and accelerate the development of new pharmaceuticals.



### LATEST NEWS



12.06.2018

#### MOLECUBES installs SPECT CT at KPU, Japan

MOLECUBES has recently installed a SPECT/CT imaging solution at the Radioisotope Research Center of Kyoto Pharmaceutical University. Moreover, in conjunction with the introduction of equipment, the Radioisotope Research Center is equipped with an animal breeding facility and molecular imaging research using radioisotopes spanning 60 available nuclides has been conducted.



04.05.2018

#### MPIC meeting – St.-Louis

Looking forward to the 4th annual Midwest Preclinical Imaging Consortium (MPIC) meeting, May 6-8, 2018, hosted by Mallinckrodt Institute of Radiology (MIR) at Washington University School of Medicine, St. Louis, MO. We will be presenting the latest NEMA characterisation poster by UPenn, highlighting the specifications of our B-CUBE.



15.03.2018

#### EMIM 2018 meeting – San Sebastian

MOLECUBES will be exhibiting at EMIM 2018 booth #9 in San Sebastian. The conference takes place from 20th to 23rd of March in the Kursaal Donostia, San Sebastian, Spain. We invite you to come to our booth to find out about our latest scientific advancements in SPECT imaging and installations world wide.

受容体特異的画像化技術を基盤とするがん放射線内用療法  
(radiotheranostics) 研究拠点の形成

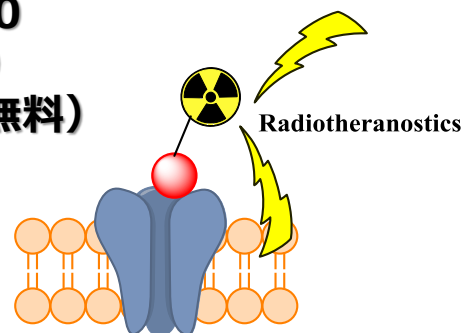
キックオフシンポジウム

主催：京都薬科大学

日時：2019年3月27日（水） 15:00～17:30

会場：京都薬科大学 愛学ホール（A31講義室）

参加方法：当日会場にお越しください（参加無料）



プログラム

開会の辞 京都薬科大学 学長 後藤 直正

15:05～15:20 ブランディング事業概要説明

赤路 健一（京都薬科大学 研究科長）

15:20～16:20 講演1（座長：赤路健一）

佐治 英郎（京都大学 特任教授・学術研究支援室長）

「がんの内用放射線治療薬の現状と開発展望—Radiotheranostics—」

16:20～16:50 講演2 プロジェクトに向けた本学の準備状況

（座長：長谷川 功紀）

河嶋 秀和（京都薬科大学 放射性同位元素研究センター 准教授）

「京都薬科大学セラノスティクス事業の展開に向けた現状」

16:50～17:20 講演3（座長：木村 寛之）

高田 和幸（京都薬科大学 統合薬科学系 教授）

「アルツハイマー病の病態コントロールを目指した  
新たなneurotheranosticsの開発にむけて」

閉会の辞 京都薬科大学 副学長 赤路 健一



連絡・問い合わせ先：〒607-8412 京都市山科区御陵四丁野町1  
京都薬科大学 創薬科学フロンティア研究センター 赤路 健一  
TEL:075-595-4635 E-mail: akaji@mb.kyoto-phu.ac.jp

平成 30 年度文部科学省 私立大学研究ブランディング事業

受容体特異的画像化技術を基盤とするがん放射線内用療法  
(radiotheranostics) 研究拠点の形成

## キックオフシンポジウム 講演要旨集

開催日時；2019 年 3 月 27 日（水）15：00～17：30

開催場所：京都薬科大学 愛学ホール（A31 講義室）

主催：京都薬科大学

共催：京都薬科大学・放射性同位元素研究センター

京都薬科大学・創薬科学フロンティア研究センター

京都薬科大学・共同利用機器センター

# プログラム

開会の辞 京都薬科大学 学長 後藤 直正

15 : 05～15 : 20 ブランディング事業概要説明

赤路 健一（京都薬科大学 研究科長）

15 : 20～16 : 20 講演 1 （座長：赤路健一）

佐治 英郎（京都大学 特任教授・学術研究支援室長）

「がんの内用放射線治療薬の現状と開発展望—Radiotheranostics—」

16 : 20～16 : 50 講演 2 プロジェクトに向けた本学の準備状況

（座長：長谷川 功紀）

河嶋 秀和（京都薬科大学 放射性同位元素研究センター 准教授）

「京都薬科大学セラノスティクス事業の展開に向けた現状」

16 : 50～17 : 20 講演 3 （座長：木村 寛之）

高田 和幸（京都薬科大学 統合薬科学系 教授）

「アルツハイマー病の病態コントロールを目指した

新たな neurotheranostics の開発にむけて」

閉会の辞 京都薬科大学 副学長 赤路 健一

## 私立大学研究ブランディング事業について

京都薬科大学・研究科長 赤路健一

この度、本学は平成30年度「私立大学研究ブランディング事業」に選定されました。まず“本事業委員会委員長の所見”冒頭に掲げられている「本事業の意義」を以下に引用します。

### 「私立大学研究ブランディング事業」の意義

大学を研究でブランディングする、とはどういうことか。

それは、研究を研究者個人の学術的な側面だけに留まらせず、大学の組織的な取組へと昇華させ、全学的な看板となる研究を推進し、その成果をもって、大学の目指す将来展望に向けて独自色や魅力を発信する取組である。個々の研究者あるいは個々の研究組織での取組だけでは到底なし得ず、大学を取り巻く現状と課題を適切に分析し、大学全体としての目指すビジョンに向け、研究成果を戦略的に発信する全学的な事業推進・支援体制の整備が前提となる。本事業は、従来までの個別の研究プロジェクトへの支援ではなく、学長のリーダーシップの下で推進される研究を通じた全学的な「ブランディング」に係る取組として支援することを特徴とする。各大学での将来性の検討を行う全学的体制を充実させる機会となるとともに、18歳人口の急激な減少や地域社会の衰退への懸念が高まる中、私立大学が持つ強み・独自性をより一層強化し、私立大学全体としての多様性を発揮させることで、グローバル社会において我が国が持続的に発展していくための一助となるものとして、本事業は評価できるであろう。

本学での事業概要については、以下のスライドおよび各講演者の要旨をご参照ください。本学における活発な研究活動の進展に努める所存です。どうぞよろしくお願いいたします。



## 平成30年度私立大学研究ブランディング事業

### 趣旨

学長のリーダーシップの下、大学の特色ある研究を基軸として、**全学的な独自色**を大きく打ち出す取組を行う私立大学及び私立短期大学の機能強化を促進する。

### 支援対象

- **タイプA【社会展開型】** 地域の経済・社会、雇用、文化の発展や特定の分野の発展・深化に寄与する研究：特定の地域あるいは分野における、地域の資源活用、産業の振興・観光資源の発掘・文化の発展への寄与、企業や雇用の創出等を目的とするもの。
- **タイプB【世界展開型】** **先端的・学際的な研究拠点の整備**により、全国あるいは国際的な経済・社会の発展、科学技術の進展に寄与する研究：学際・融合領域・領域間連携研究等による新たな研究領域の開拓、生産技術の確立や技術的課題への大きな寄与、国際連携等のグローバルな視点での横断的取組、社会的ニーズに対応した知の活用等を目的とするもの。

## 平成30年度私立大学研究ブランディング事業

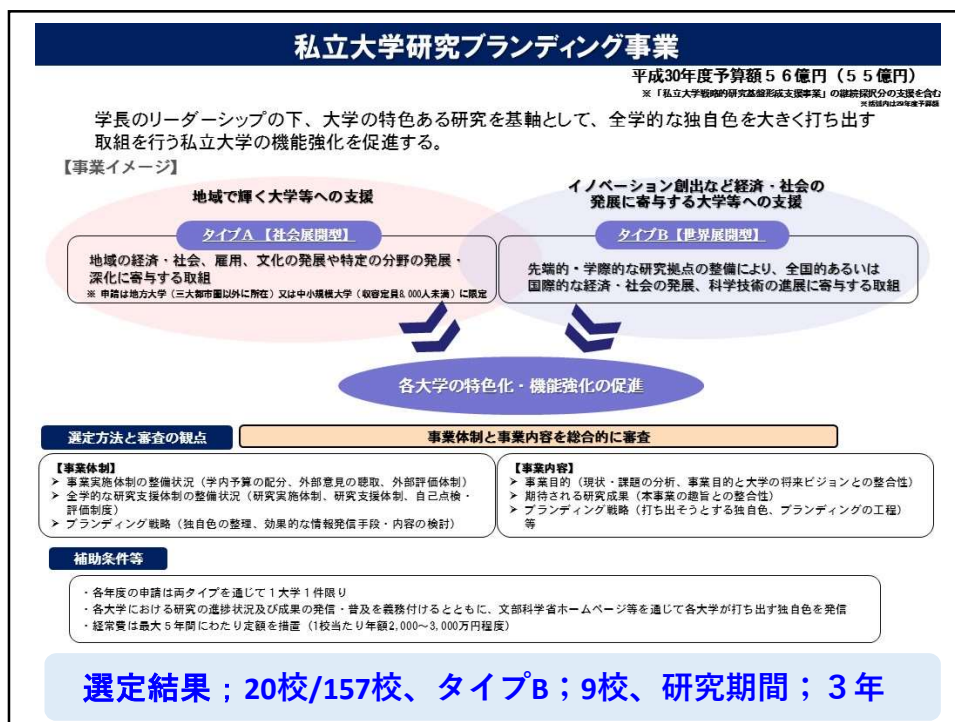
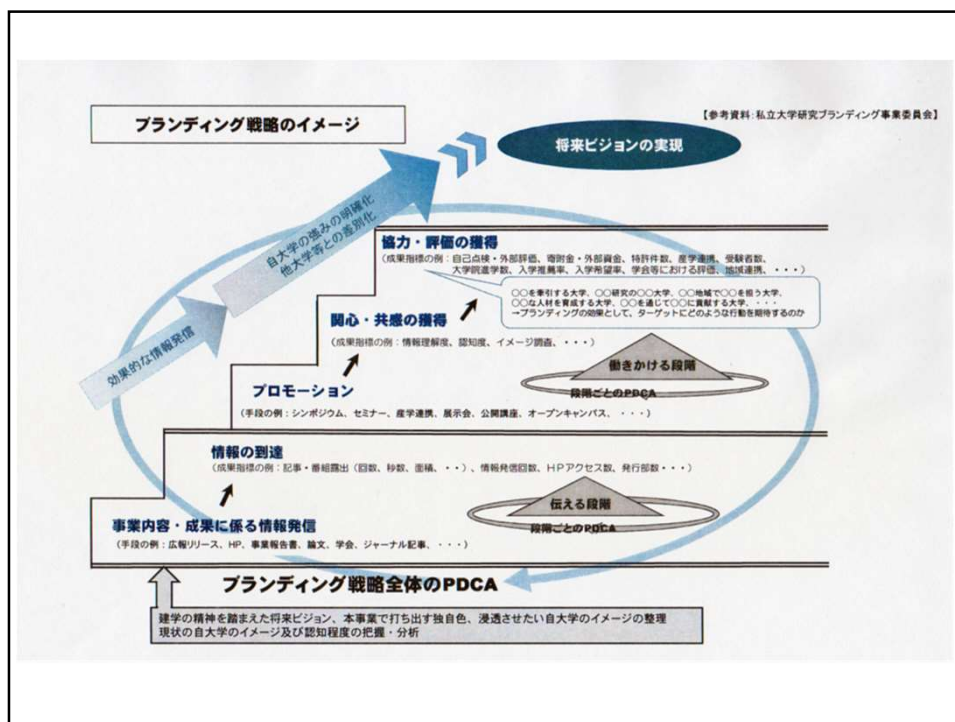
### 取組内容

- ・大学の**将来ビジョン**に基づき、**ブランディング戦略**を策定した上で、**全学的な事業実施体制及び支援体制を整えて行う取組**であること。

- ※「**将来ビジョン**」とは、建学の精神を踏まえ、将来的に自大学が社会において果たそうとする役割・機能・あるべき姿等を全学的に検討し、とりまとめたものを指す。
- ※「**ブランディング戦略**」とは、大学の将来ビジョンの実現に向けて、自大学の強みを明確化し、他大学等との差別化を図るための戦略を指す。
- ※「**全学的**」とは、大学のブランディング戦略に基づき、独自色の打ち出しにふさわしい取組を大学本部として推進し、大学全体で支援する体制を整えることをいい、必ずしも全学部・研究科等の参画を求めるものではない。

### 支援措置

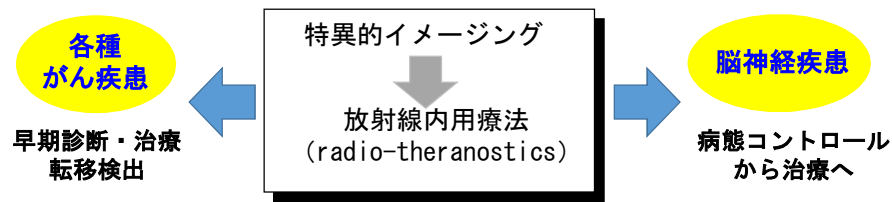
- ・取組期間にわたり一定額を措置（特別補助の増額）する。個別の研究プロジェクトではなく全学的な取組への支援であることから、研究活動の所要経費ではなく、大学全体に対する定額補助（使途は限定しない）とする。



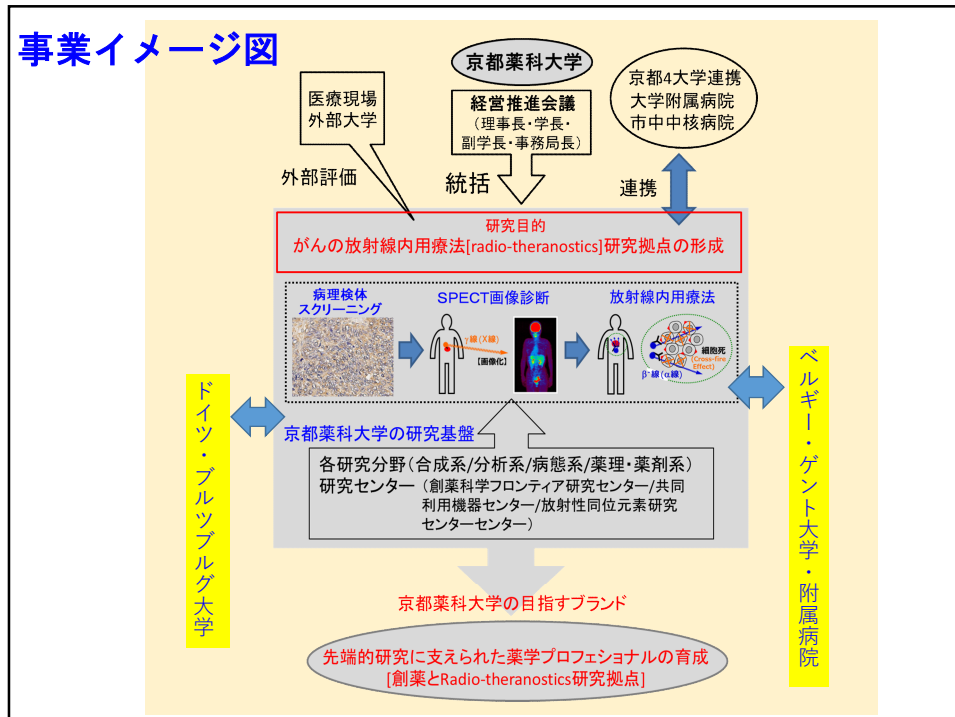
京都薬科大学  
平成30年度私立大学研究ブランディング事業計画

**事業名** 受容体特異的画像化技術を基盤とするがん放射線内用療法（radio-theranostics）研究拠点の形成

**事業概要** 本事業の目的は、京都薬科大学が持つ優れた研究基盤をもとに放射線内用療法radio-theranostics [therapeutics（治療）+ diagnostics（診断）] 研究拠点を構築・機能させ、本学の次世代がん研究のブランドとすることである。本事業成果を突破口として、「**先端的な研究に支えられた薬学のプロフェッショナルの育成**」を追究する大学としての国内“京薬ブランド”を世界に発信する。



事業イメージ図



## がんの内用放射線治療薬の現状と開発展望 – Radiotheranostics –

佐治英郎 （京都大学 特任教授・学術研究支援室）

近年、分子生物学的研究の進歩によって各種疾患の病態の分子レベルでの解明が進み、それを基盤に、最近進歩が著しい生体画像工学研究の成果を組み入れて、生体での分子生物学的プロセスの空間的・時間的分布をインビボで可視化・解析する「生体分子イメージング」による画像診断、さらにその成果を治療に結びつけて診断と治療を一体化して展開する「セラノスティックス」（治療（**Therapeutics**）と診断（**Diagnostics**）を組み合わせた造語）が注目されている。中でも、放射性化合物を用いるセラノスティックス（ラジオセラノスティックス）は、診断、治療にそれぞれ適した放射性同位元素（**RI**）（診断：透過性の高い $\gamma$ 線や特性 $X$ 線放出体、治療：細胞殺傷性の高い $\beta$ 線や $\alpha$ 線放出体）を同一化合物内に導入可能であることから、診断から治療までの一体化が効率的に進展する可能性があり、その展開が期待されている。本講演では、このような背景のもとに展開されている $\beta$ 線、さらに $\alpha$ 線放出 **RI** を用いる内用放射線治療薬（核医学治療薬）の開発と臨床応用の現状と展望について述べる。

## 京都薬科大学セラノスティクス事業の展開に向けた現状

京都薬科大学・放射性同位元素研究センター 河嶋 秀和

治療 (Therapeutics) と診断 (Diagnostics) を組み合わせた概念としてセラノスティクス (Theranostics) という用語が取り上げられるようになってから、およそ 10 年が経過した。臨床において診断と治療を融合させ、患者一人一人の病態像を正確に捉えた上で効果的な治療を達成させる手法の一つがセラノスティクスであり、放射線医学・薬学の領域におけるこの包括的医療は、ある標的疾患に選択的に集積する化合物に対し、これを視覚化するための放射性同位元素を導入した「分子イメージング」に基づく診断を行うとともに、治療を目的とした放射性同位元素を導入することで患部を「放射性同位元素内用療法 (核医学治療)」にて集中的に治療する、という両輪から成り立っている。セラノスティクスの中での本形態は特にラジオセラノスティクス (Radio-theranostics) と呼ばれ、主にがん治療への展開が精力的に進められており、全身性、転移性がんのみならず、初期段階にある微小がんに対しても効率的な治療が期待される。すなわち、結果として患者の身体的負担を大きく軽減できることから、患者個人の詳細な生体情報を統合しながら最適な治療法を選択してゆく、いわゆる精密医療 (Precision medicine) を具現化する手段として世界的にも大いに注目されている。

こうした背景のもと、京都薬科大学では従来の *in vitro*, *ex vivo* でのトレーサー研究に加え、*in vivo* 画像化を基礎とした分子イメージング研究をラジオセラノスティクスに結び付けてゆくための準備が進められてきた。放射性同位元素研究センターにおいては 2016 年度に感染防止機能を備えたクリオスタットと蛍光・放射線スキャナータイプ画像解析装置が、2018 年度に小動物インビボ画像撮像システム (SPECT: Single-photon emission computed tomography および X 線 CT) と実験動物飼養保管施設が設置された。さらに、2018 年度には原子力規制委員会への申請と承認を経て、使用可能な放射性同位元素が 17 元素 (18 核種) から Radio-theranostics 研究に必須となるものを含めた 37 元素 (60 核種) へと大幅に拡充されている。本講演では、その整備状況について紹介する。



ところで、前述のように、セラノスティクスという概念は一つの担体(化合物)に診断と治療という両方の機能を付与することにより達成されるものであり、放射性同位元素を活用する「ラジオ」セラノスティクスとして臨床展開されてきている。一方、基礎から応用の領域に目を向けると、「イメージング」として蛍光色素や MRI (Magnetic resonance imaging) に用いられる常磁性金属元素を、あるいは「治療」として抗腫瘍活性を有する金属元素や光線力学療法に特化した光感受性物質を担体に導入するといった側面からのセラノスティクス研究の進展も可能である。さらに、セラノスティクスは「様々な選択肢の中から最適な治療法を導き出すにあたり、これを確実に実行できる診断法を併用すること」という解釈も広義ではなされており、これは取りも直さず対象となる疾患ががんに限定されないことを示す。将来的に種々の疾患の診断から治療へと至る横断的研究の確立を目指すべく、本学学内の諸分野・センター間、さらには国内外の大学や研究機関との連携を図り、患者にとって有益になる多くの成果を引き出したいと考える次第である。

# Theranostics の概念

## Theranostics

Therapeutics (治療)

Diagnostics (診断)

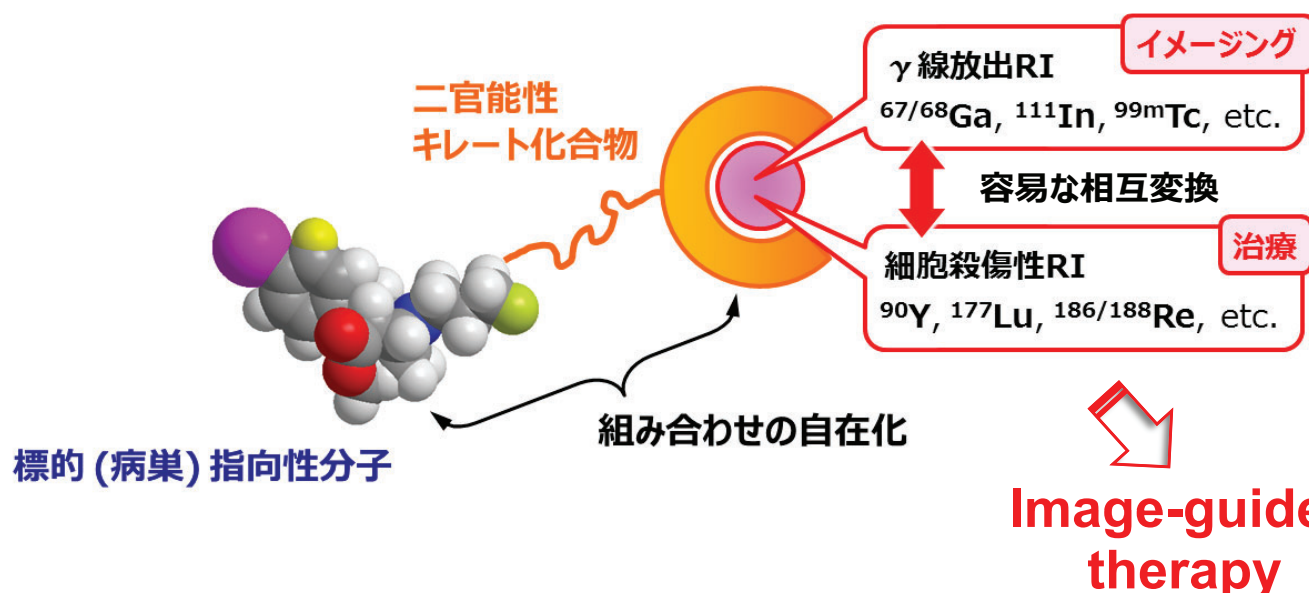
「診断をseamlessに治療へと活かす」

「診断と治療を有機的にリンク(一体化)させる」

精密医療の実現

## Radio-theranostics

- 病巣(がん)に集積する化合物の基本構造を固定したまま, これに導入する**放射性同位元素**を**診断**あるいは**治療**に適した核種に変換することでTheranosticsを効率的に達成できる。



# Radio-theranostics 用核種

診断用 (SPECT) 核種			治療用核種		
<sup>67</sup> Ga	γ 線エネルギー	93.3 keV	<sup>90</sup> Y	β <sup>-</sup> 線エネルギー	2.28 MeV (100%)
		185 keV		半減期	64.1 h
	半減期	3.27 d	<sup>177</sup> Lu	γ 線エネルギー	113 keV (6.4%)
<sup>111</sup> In	γ 線エネルギー	171 keV			208 keV (11.0%)
		245 keV		β <sup>-</sup> 線エネルギー	0.50 MeV (79%)
	半減期	2.81 d		半減期	6.73 d
<sup>99m</sup> Tc	γ 線エネルギー	141 keV	<sup>186</sup> Re	γ 線エネルギー	137 keV
	半減期	6.01 h		β <sup>-</sup> 線エネルギー	0.932 MeV (22%)
					1.07 MeV (71%)
				半減期	90.6 h
			<sup>188</sup> Re	γ 線エネルギー	155 keV
				β <sup>-</sup> 線エネルギー	1.97 MeV (26%)
					2.12 MeV (71%)
				半減期	17.0 h

## イブリツモマブチウキセタン (Zevalin)

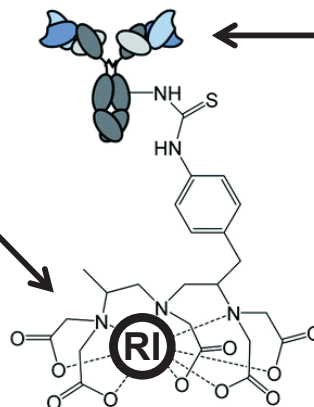
### イットリウム (<sup>90</sup>Y) イブリツモマブチウキセタン

- ・ CD20 陽性の, 再発または難治性の低悪性度 B 細胞性非ホジキンリンパ腫, マントル細胞リンパ腫の治療に使用。
- ・ <sup>90</sup>Y による治療への適合性を, 前もって <sup>111</sup>In 標識体による画像で確認する。

#### <sup>90</sup>Y/<sup>111</sup>In-DTPA錯体

: シグナル放出ユニット  
Signal emitting unit

- Chelating site
- Radioisotope (RI)
  - ・ <sup>90</sup>Y ... β<sup>-</sup> ray (Therapy)
  - ・ <sup>111</sup>In ... γ ray (Imaging)



#### 抗 CD20 抗体

: 標的認識ユニット  
Target-recognizing unit

# 本学における使用可能核種

Group → 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18  
Period ↓

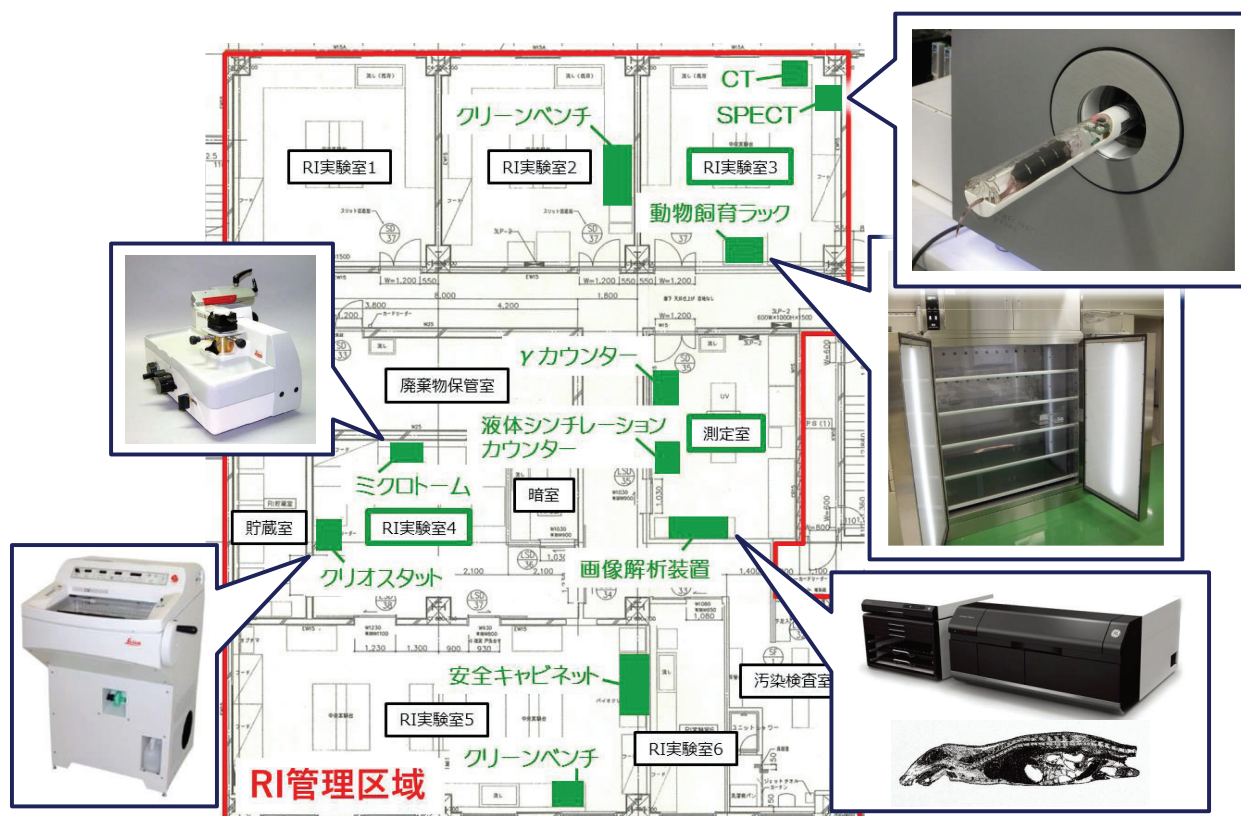
**37元素60核種**  
(2018年5月21日～)

1 H																	2 He
3 Li	4 Be											5 B	6 C	7 N	8 O	9 F	10 Ne
11 Na	12 Mg											13 Al	14 Si	15 P	16 S	17 Cl	18 Ar
19 K	20 Ca	21 Sc	22 Ti	23 V	24 Cr	25 Mn	26 Fe	27 Co	28 Ni	29 Cu	30 Zn	31 Ga	32 Ge	33 As	34 Se	35 Br	36 Kr
37 Rb	38 Sr	39 Y	40 Zr	41 Nb	42 Mo	43 Tc	44 Ru	45 Rh	46 Pd	47 Ag	48 Cd	49 In	50 Sn	51 Sb	52 Te	53 I	54 Xe
55 Cs	56 Ba	57 La	* 72 Hf	73 Ta	74 W	75 Re	76 Os	77 Ir	78 Pt	79 Au	80 Hg	81 Tl	82 Pb	83 Bi	84 Po	85 At	86 Rn
87 Fr	88 Ra	89 Ac	* 104 Rf	105 Db	106 Sg	107 Bh	108 Hs	109 Mt	110 Ds	111 Rg	112 Cn	113 Nh	114 Fl	115 Mc	116 Lv	117 Ts	118 Og
			* 58 Ce 59 Pr 60 Nd 61 Pm 62 Sm 63 Eu 64 Gd 65 Tb 66 Dy 67 Ho 68 Er 69 Tm 70 Yb 71 Lu														
			* 90 Th 91 Pa 92 U 93 Np 94 Pu 95 Am 96 Cm 97 Bk 98 Cf 99 Es 100 Fm 101 Md 102 No 103 Lr														

[https://en.wikipedia.org/wiki/Periodic\\_table](https://en.wikipedia.org/wiki/Periodic_table)

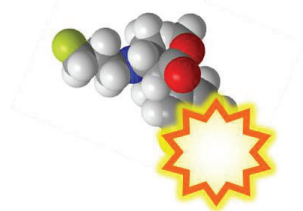
Alkali metal	Alkaline earth metal	Lanthanide	Actinide	Transition metal	Post-transition metal
Metalloid	Polyatomic nonmetal	Diatomic nonmetal	Noble gas	Unknown chemical properties	

## RIセンター内機器の設置状況





# (より広義な)Theranosticsに向けて

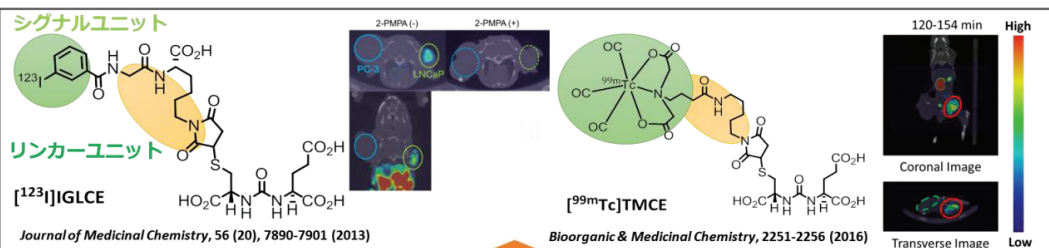


造影効果を持つ、あるいは  
光子シグナルを放出する原子  
(分子)

CT: I, Au-nanoparticle  
MRI:  $Gd^{3+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Fe^{3+}$   
光: ICG, Rhodamine  
SPECT:  $^{67}Ga$ ,  $^{99m}Tc$ ,  $^{111}In$ ,  $^{123}I$   
PET:  $^{11}C$ ,  $^{18}F$ ,  $^{68}Ga$

抗腫瘍活性を有する原子  
(分子)

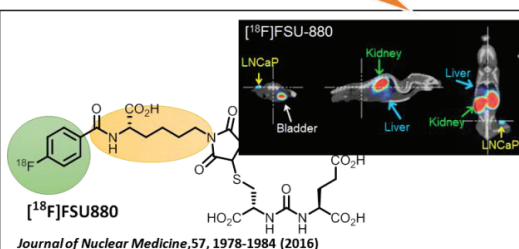
金属元素  
光線力学治療用分子  
抗腫瘍薬



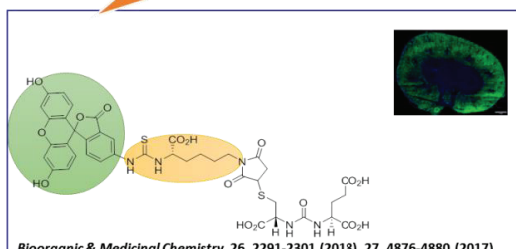
SPECTプローブ

前立腺がんのイメージング  
PSMA targeting probe

PETプローブ



蛍光プローブ



代謝分析学分野 木村 寛之 先生

# (より広義な)Theranosticsに向けて





# Theranosticsと創薬研究・教育

- 病理検体を用いた疾患特異的標的分子の探索
- 大学が見出したシーズ(創薬に関する手法やライブラリー)の活用

## Theranostics

- 探索/新規合成化合物の動態解析, DDS評価
- モデル動物を用いた病態生理の解明
- 薬理作用・有害作用に関わる分子機構の解明
- 治療とその効果に関する評価, 創薬へのフィードバック

- ・ 新たな診断・治療法への理解と実践能力を持つ次世代型薬剤師の育成
- ・ 製薬企業, 病院, 国内外の大学や研究機関との連携

⇒ **京都薬科大学発の新しい医療の提供**

## アルツハイマー病の病態コントロールを目指した 新たな neurotheranostics 開発にむけて

京都薬科大学 統合薬科学系 高田 和幸

### はじめに

日本における認知症患者数は予備群も含め 2025 年には約 700 万人に達すると予想されており、また、現在、認知症に関わる社会的費用（医療費・介護費・家族等による無償のケア費）は、年間約 14.5 兆円に上ると算定されている。この認知症に対して効能・期間ともに限定的な対症療法で対処せざるを得ない現状において、上記数値は高齢化が進むとともに今後も上昇の一途をたどることは想像に難くない。認知症を招く基礎疾患が数ある中で、アルツハイマー病 (Alzheimer's disease : AD) はその約 50% から 70% を占めるとされており、がん、生活習慣病などの国民病とならび、AD は一刻も早く克服すべき喫緊の課題である。

本キックオフシンポジウムでは、診断と治療を結び付ける theranostics を中枢神経疾患において適応する新たな概念である neurotheranostics について、AD での展開の可能性を紹介したい。

### アルツハイマー病と病態形成機序

AD に特徴的な脳の病理学的変化は、老人斑や神経原線維変化の形成、神経シナプスや神経細胞の高度な脱落であり、この病理学的変化は死後剖検脳で確認され AD の確定診断となる。老人斑は、アミロイド  $\beta$  (amyloid- $\beta$  : A $\beta$ ) ペプチドがそれ自身の高い凝集性により脳内で異常蓄積して形成されるが、そもそも A $\beta$  は、神経細胞内でアミロイド前駆体タンパク質 (amyloid precursor protein : APP) から  $\beta$  ならびに  $\gamma$ -セクレターゼで切り出されて産生される。一方、神経原線維変化は、微小管結合タンパク質であるタウタンパク質が神経細胞内で蓄積して形成されるが、この蓄積するタウタンパク質は glycogen synthase kinase (GSK) 3 $\beta$  や cyclin-dependent kinase (CDK) 5 等のリン酸化酵素により過剰なリン酸化を受けた後に特徴的構造変化を伴うことが判明している。

以上のように、独立した病理学的変化の形成機序はある程度解明されているものの、それらを繋げるメカニズム、さらには神経細胞死や臨床症状との関連性は今もなお不明である。しかし、家族性 AD 家系の解析から同定された様々な原因遺伝子のすべてが、直接脳内 A $\beta$  の産生増加に寄与することが判明し、AD 病態形成の最初の引き金は脳内 A $\beta$  の異常増加であるとする「アミロイドカスケード仮説」が提唱された。この仮説は、現在、AD 病態形成機序を説明し得る最も有力な説として世界的に支持を得ている。

### アルツハイマー病治療薬の開発状況

アミロイドカスケード仮説が提唱されて以降、これまでの対処療法ではなく AD の病態形成過程をコントロールできる疾患修飾療法 (disease-modifying therapy : DMT) の開発に向け、A $\beta$  を標的とした創薬研究が世界中で始まった。その戦略として、A $\beta$  の産生抑制のための  $\beta$  または  $\gamma$ -セクレターゼ阻害薬、凝集阻害薬、分解促進のための A $\beta$  ワクチンや抗 A $\beta$  抗体が合成・産出され、臨床試験が多数実施された。当時、効果の判定は問診式の質問による神経心理学的認知機能検査で評価されたが、有効性を認めた薬物はなく全ての開発は中止された。このうちの A $\beta$  ワクチンについては開発中止後も被験者の長期追跡調査が実施され、死後剖検脳でワクチン接種による A $\beta$  減少効果が示されるも、やはり明らかな臨床症状の改善は認められなかった。臨床症状が出現する約 15 年から 20 年以上も前から A $\beta$  の脳内蓄積は既に始まっていることを考慮すると、AD 病

態形成の引き金として最上流に位置する A $\beta$  を発症段階で標的とすることは、治療戦略として時期が遅すぎると考えられるに至った。さらに、主観性が高く再現性の低い神経心理学的検査のみで治験薬を評価することの問題性も明らかとなった。

### アルツハイマー病の画像診断技術の現状と重要性

度重なる臨床試験の失敗を受け、神経心理学的検査よりも客観的に再現性良く AD 臨床症状の進行が評価でき、さらに無症候期である発症前 (preclinical stage) や、軽度認知機能障害 (mild cognitive impairment : MCI) の段階で AD 予備群を捉えることのできる診断技術が求められるようになった。そこで 2005 年には、magnetic resonance imaging (MRI) による脳容積測定、 $^{18}\text{F}$ fluorodeoxyglucose (FDG) -positron emission tomography (PET) による脳糖代謝画像、A $\beta$  の放射性プローブを用いたアミロイドイメージングなどの画像診断と脳脊髄液や血液中の生化学マーカーを神経心理学的検査と組み合わせ、AD の発症や進行を高精度にモニターする方法を策定・標準化するために、大規模縦断的画像診断の先導的研究 (Alzheimer's disease neuroimaging initiative : ADNI) が米国で開始された。同じく日本では、2007 年より J-ADNI が立ち上げられた。

この成果により、現在、AD 画像診断は実用化され、MCI を呈する AD 予備群の抽出も高い精度で可能となり、新たなコンセプトを有する抗 A $\beta$  抗体などの臨床試験が再開されている。また近年では、画像診断のさらなる普及に向け、半減期の長い核種を用いた A $\beta$  に対する PET 用プローブや single photon emission computed tomography (SPECT) 用プローブの開発もすすめられており、一方では、認知機能低下と高い相関性を有する神経原線維変化の検出を可能とするリン酸化タウタンパク質に対するプローブの開発も進められている。

### アルツハイマー病の画像診断から neurotheranostics にむけて

Neurotheranostics の AD での展開にどのような戦略が可能であろうか。天然植物ウコンから得られるポリフェノール化合物クルクミンの研究は、この先駆けとして示唆に富む。クルクミンは蛍光を発する物質であり、A $\beta$  への結合性から A $\beta$  の蓄積部位を標識可能である<sup>1)</sup>。またクルクミンは PET や MRI 用のアミロイドイメージングプローブとしても開発が進められており、その誘導体は A $\beta$  凝集を阻害して神経保護作用を示す<sup>2)</sup>。

新たな neurotheranostics の開発において A $\beta$  オリゴマー (低分子複合体) は魅力ある標的と考えられる。A $\beta$  は高い自己重合性を有し、即座に高分子複合体へと線維化するが、その重合中間体である A $\beta$  オリゴマーが高い神経毒性を有する。このオリゴマーを特異的に標識し、線維化して蓄積した A $\beta$  ではない神経毒性の本体となる A $\beta$  の画像化と、プローブの結合による毒性構造のマスキングが同時に可能になれば、診断と治療を結び付け、さらには病態形成機序の解明にも大きく貢献するツールとなり得る。また、A $\beta$  蓄積部位には、脳の免疫担当細胞でその貪食機能により A $\beta$  の除去にも貢献するミクログリアが集積しており、この A $\beta$  貪食機能を化合物で促進することが可能である<sup>3)</sup>。これまでに開発されてきたアミロイドイメージング用プローブを修飾すれば、A $\beta$  蓄積部位の画像化と集積するミクログリアの A $\beta$  貪食機能促進を同時に行える可能性もある。

新たな概念である neurotheranostics の開発は、分野横断的研究が必須であり、まさに AD の病態形成をコントロールする疾患修飾療法の開発ツールとして、またその治療薬そのものとして AD 治療の次元を引き上げる高いポテンシャルを有する。

1) Garcia-Alloza M. *et al.*, J. Neurochem., 102, 1095-1104 (2007)

2) Yanagisawa D. *et al.*, Neurobiol. Aging, 36, 201-210 (2015)

3) Takata K. *et al.*, Neurobiol. Aging, 62, 197-209 (2018)

2019年3月27日 キックオフシンポジウム 講演3

## アルツハイマー病の病態コントロールを目指した 新たなneurotheranosticsの開発にむけて

京都薬科大学・統合薬科学系 高田 和幸

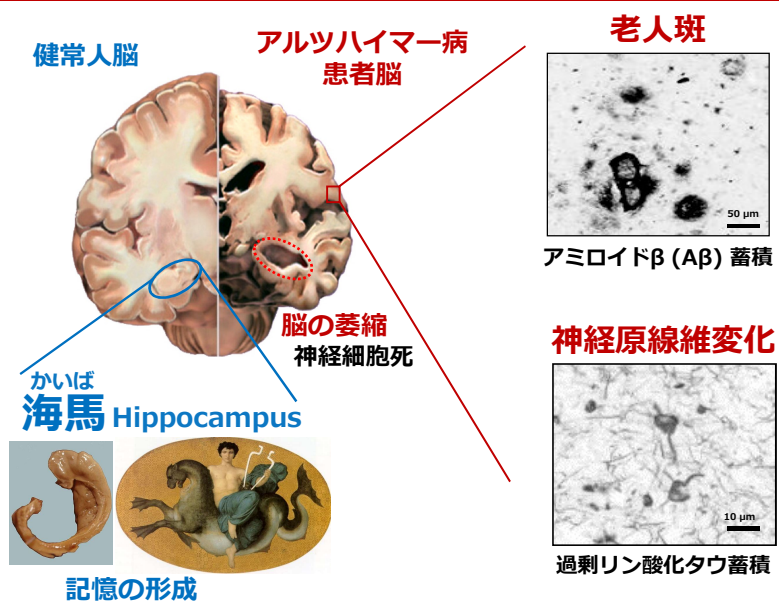


アロイス・アルツハイマー博士  
(1864–1915)

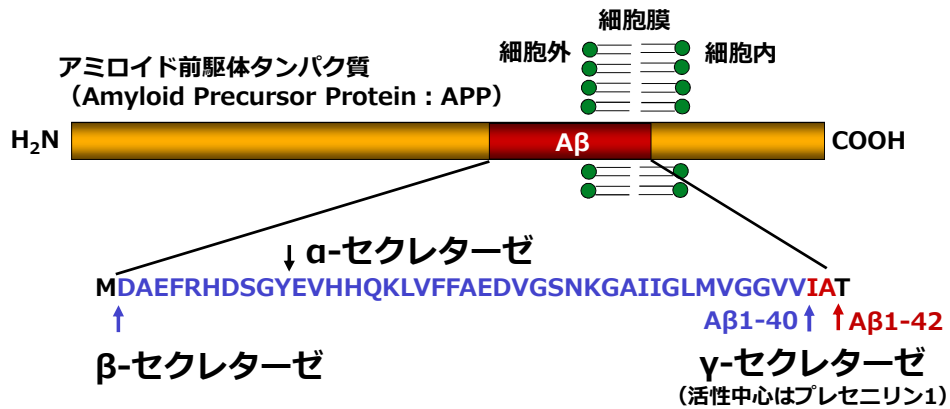


アウグステ・デター

## アルツハイマー病 (AD) 脳の病理学的変化



# アミロイドβ (Aβ)

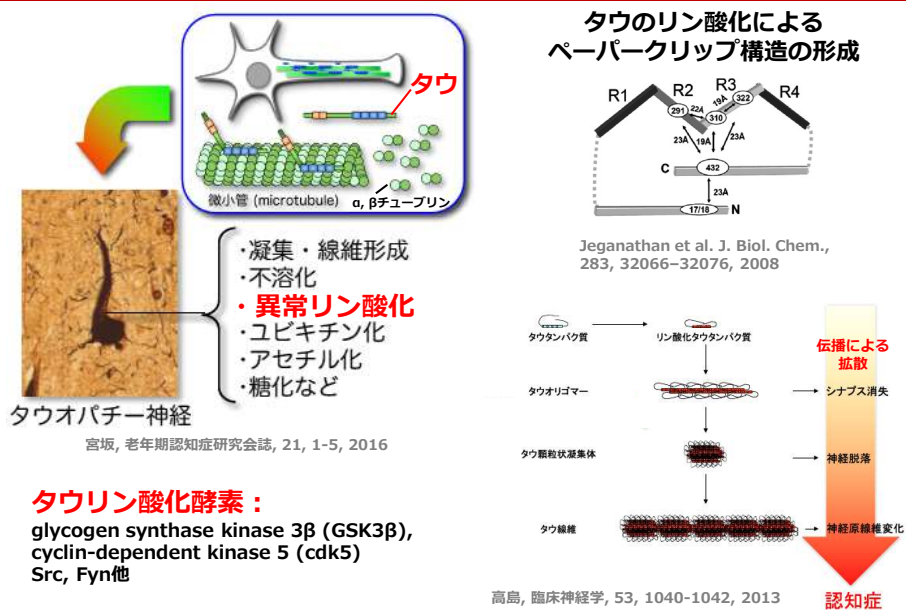


Aβ1-40 : Aβのうち生理的に最も多く産生される

Aβ1-42 : 産生量は少ない (Aβ1-40の約1/10) が凝集能が極めて高い

家族性ADで見つかった原因遺伝子変異は、APPまたはプレセニリン遺伝子上で見つかり、全てがAβの産生量・凝集性を高める変異である。

# タウタンパク質

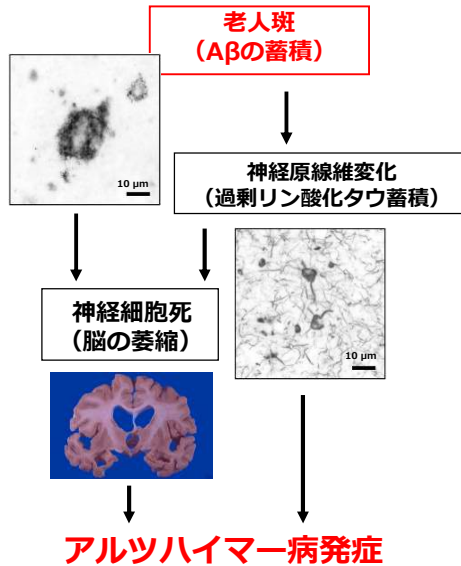


## タウリン酸化酵素 :

glycogen synthase kinase 3β (GSK3β),  
cyclin-dependent kinase 5 (cdk5)  
Src, Fyn他



# アミロイドカスケード仮説



# アミロイド仮説に基づく臨床試験の現状

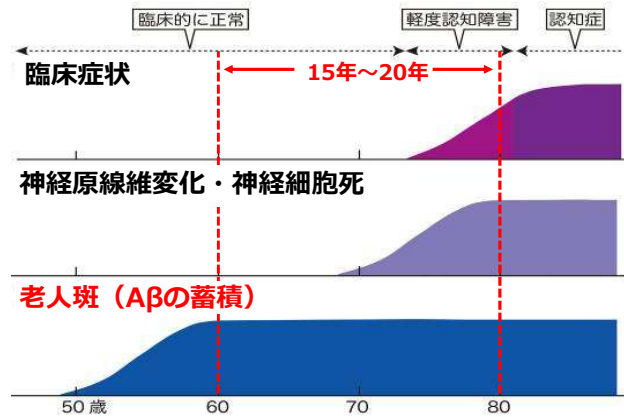
2018年5月現在

薬剤名	機序	臨床試験	結果	備考
AN-1792 (Elan, Wyeth)	能動免疫	Phase I/II フランス: 97名 米国: 298名	中止	6-7%に脳炎 死亡例 フランス: 4例 米国: 18例 (Nat Med 2003)
Bapineuzumab (Pfizer, J&J)	受動免疫	Phase III 北米+ヨーロッパ Mild-moderate AD; 2,452名	無効 (ADAS-Dog, ADA) 終了2012.8	ARIA-E Aβ-PET: cleared cerebral Aβ by week 78 4億ドルの損失を計上
Solanezumab LY2062430 (Eli Lilly)	受動免疫	Phase III Mild-moderate AD; 2,052名 Expedition-1 Expedition-2 Expedition-3	Exp1でmild caseに限り弱い効果 (ADAS-Cog14) Exp2では無効 しかしAβ-PETでは改善	Expedition-3では失敗 A4, DIANIにも使用
Aducanumab (Biogen)	受動免疫	Phase III MCI due to AD & mild AD; 1,350名	PRIME dataでは弱い効果との発表、ただし第3者から統計上の異論あり。(2016) (CDR-SB, MMSE) Aβ-PETで改善	2022年まで継続中
Flurizan (Myriad Genetics & Laboratories)	γセクレターゼ阻害剤	Phase III	無効	Green et al, 2009 JAMA, 302, 2557-2564
Semagacestat (Eli Lilly)	γセクレターゼ阻害剤	Phase III	無効	Doody et al, 2013 N Engl J Med, 369, 341-350
LY2886721 (Eli Lilly)	βセクレターゼ阻害剤	Phase II	中止	重篤な肝障害
Verubecestat (Merck)	βセクレターゼ阻害剤	Phase III	EPOCH (mild-moderate case)では無効 APECS (prodromal AD)は継続中止	
AZD3293 (AstraZeneca)	βセクレターゼ阻害剤	Phase III	進行中	
E2609 (Eisai & Biogen)	βセクレターゼ阻害剤	Phase III	進行中	

ARIA-E: Amyloid-related imaging abnormalities-vasogenic edema

岡沢, 月刊ファームステージ, 12, 2016より改変

# アルツハイマー病の時間的経過



評価方法と投与時期の問題

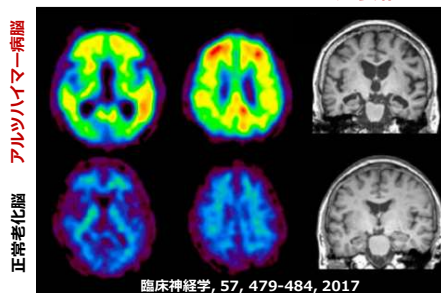


客観性と再現性の高い評価方法の構築  
軽度認知障害 (MCI)や発症前 (preclinical) 段階の抽出

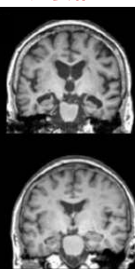
## Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative (ADNI) 大規模縦断的画像診断の先導的研究 (米国)

### 画像診断

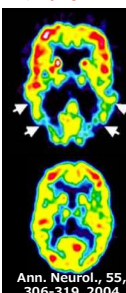
PiB-PET  
アミロイドイメージング



MRI  
脳萎縮

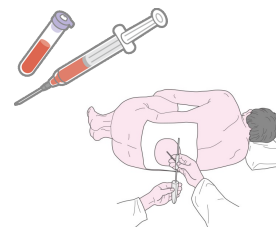


FDG-PET  
脳糖代謝



### 生化学マーカー

脳脊髄液、血液、尿の  
Aβやタウの定量



これまでの神経心理学的検査 + 画像診断と生化学マーカー



ADの発症や進行を高精度にモニターする方法の策定と標準化

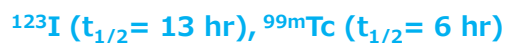
## 現在の画像診断プローブの開発

### アミロイドイメージングの検査施設の拡大に向けて

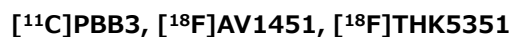
- ・半減期の長い核種を用いたPET用プローブの開発



- ・半減期の長い核種を使用できるSPECT用プローブの開発  
(PETに比べ国内に約10倍のSPECT検査施設)



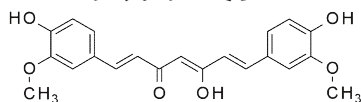
### 臨床症状と高い相関性を示すタウ凝集体の診断に向けて



第2世代PET用プローブ **off-targetの克服**  
および  
SPECT用プローブ

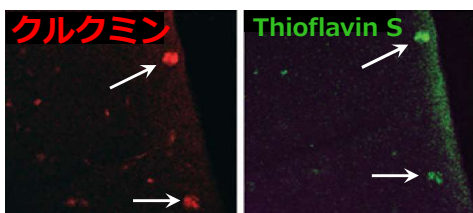
## 画像診断からneurotheranoticsへ向けて

### クルクミン



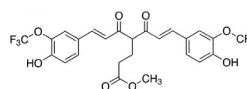
ウコンの根茎と粉末

### ADモデルマウス脳 (ex vivo)

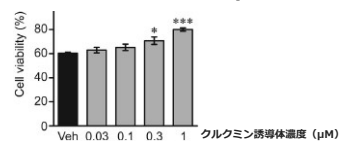


Garcia-Alloza et al., J. Neurochem., 102, 1095-1104 (2007)

### クルクミン誘導体の神経保護作用



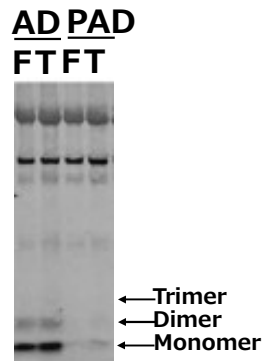
### SH-SY5Y神経芽細胞へのAβ処置



Yanagisawa et al., Neurobiol. Aging, 36, 201-210 (2015)

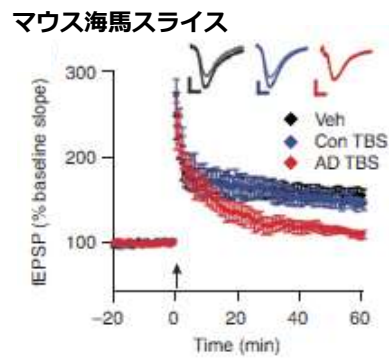
## Aβオリゴマー（低分子複合体）①

AD脳可溶性分画における  
Aβオリゴマー



PAD：無症候AD  
F：前頭葉 T：側頭葉

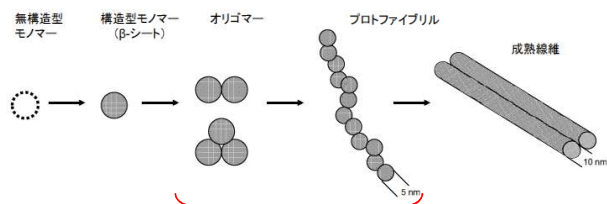
AD脳可溶性分画による  
シナプス活動(長期増強)の阻害



Shankar et al., Nat. Med., 14, 837-842, 2008

## Aβオリゴマー（低分子複合体）②

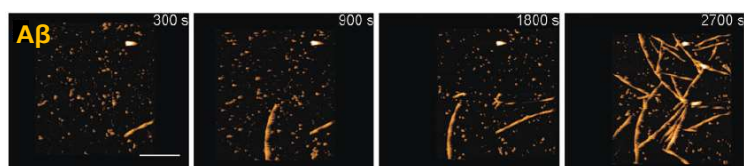
Aβの凝集過程



小野, 神経化学, 55, 42-51, 2016

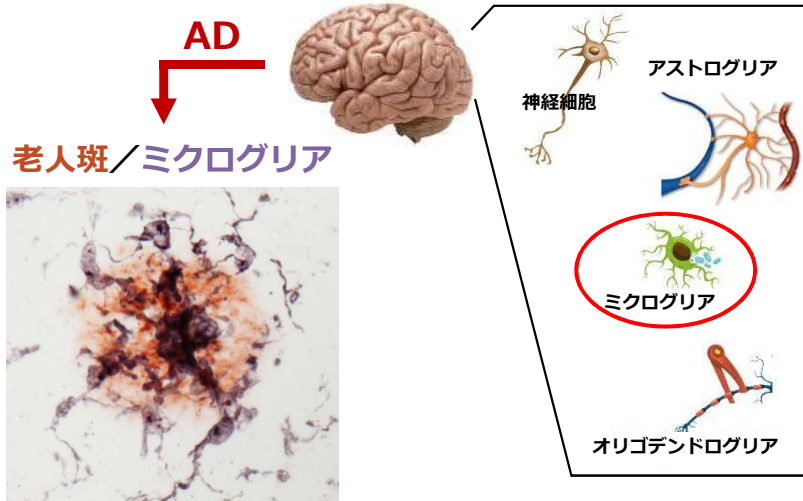
高い神経毒性

高速原子間力顕微鏡によるAβの凝集過程の観察

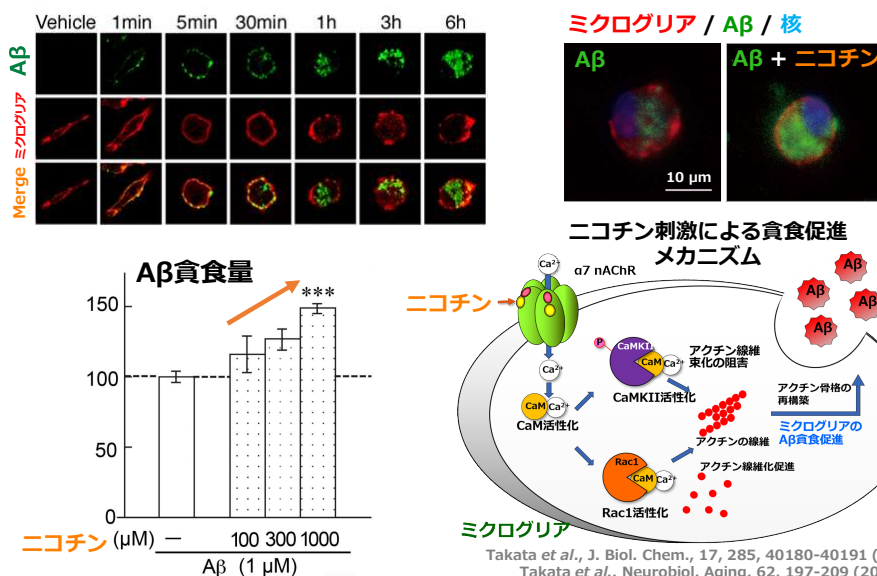


Watanabe-Nakayama, et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 113, 5835-5840, 2016.

# アルツハイマー病とミクログリア



## ミクログリアのAβ貪食機能とニコチン受容体刺激による促進





**ADを標的にしたneurotheranostics**  
(病態形成をコントロールする診断と疾患修飾)

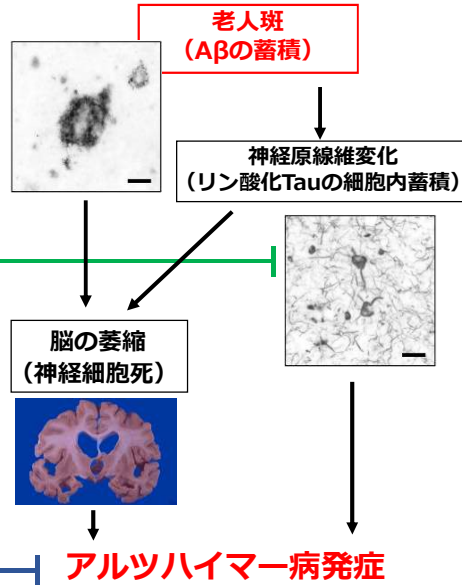
**<アミロイドカスケード仮説>**

線維化およびオリゴマーA $\beta$ の診断  
+  
神経毒性の中和  
ミクログリアによる貪食促進

リン酸化Tau蓄積の診断  
+  
リン酸化の阻害  
立体構造の修飾  
伝播の抑制

**対症療法薬**

アセチルコリンエステラーゼ阻害薬  
グルタミン酸受容体阻害薬



報道関係各位

がんの早期発見・早期治療に向け、海外機関との連携で国際的な研究体制を構築

## ドイツ ヴェルツブルク大学（化学・薬学部）との連携協定を締結

分子レベルで病巣を発見する「セラノスティクスプローブ」の研究連携や、人材交流を促進

京都薬科大学（京都市山科区）は、2月26日、がんの早期発見・早期治療に向けた国際的な研究体制の構築を目的に、「治療」と「診断」を一体化した新しい医療技術「セラノスティクス」の研究に先進的に取り組む、ドイツのヴェルツブルク大学の化学・薬学部と、研究協力に関する連携協定を締結しました。

京都薬科大学は、「平成30年度文部科学省 私立大学研究ブランディング事業」の支援対象校に選定された事業「受容体特異的画像化技術を基盤とするがん放射線内用療法（ラジオセラノスティクス）研究拠点の形成」（※1）を推進しており、その中で、分子レベルで病巣を発見する「セラノスティクスプローブ」の開発を進めています。

ヴェルツブルク大学は、レントゲン博士がX線を発見した大学として有名であり、放射線医学研究が伝統的に盛んで、世界に先駆け、がん患者に対する新しいラジオセラノスティクスの臨床応用が進められた大学です。この度、京都薬科大学とヴェルツブルク大学はセラノスティクスプローブの開発研究における領域において連携することで合意、教員や学生の人材交流も行うことで、国際的な研究体制を構築していきます。

本協定における具体的な取り組み内容は以下のとおりです。

### ■協定締結による取り組み

- （1）研究者、教員、学生の交流
- （2）共同研究プロジェクトの実施
- （3）国際学会の組織

今後、本事業に関わらず、広く研究領域での連携を推進していく予定です。

（※1）京都薬科大学は、本学が持つ優れた研究基盤をもとに放射線内用療法 radio-theranostics 「therapeutics（治療）+diagnostics（診断）」研究拠点を構築・機能させ、次世代がん研究を本学のブランドとしていくことや、本成果を突破口として、「先進的な研究に支えられた薬学のプロフェッショナルの育成を追求する大学」として“京薬ブランド”を世界に発信することを目指しています。

[報道に関するお問い合わせ先]

京都薬科大学 事務局 企画・広報課

担当：川勝、谷垣

TEL:075-595-4691 FAX:075-595-4750

E-mail: [kikaku@mb.kyoto-phu.ac.jp](mailto:kikaku@mb.kyoto-phu.ac.jp)

受容体特異的画像化技術を基盤とするがん放射線内用療法  
(radio-theranostics) 研究拠点の形成

京都薬科大学-ヴェルツブルグ大学合同シンポジウム

主催：京都薬科大学

日時：2020年2月26日（水） 13:30～17:35

会場：京都薬科大学 愛学ホール（A31講義室）

参加方法：当日会場にお越しください（参加無料）

プログラム

開会の辞 京都薬科大学 学長 後藤 直正

13:40～14:20 招待講演 1 （座長：赤路 健一）

「Learning from nature - bioinspired drug delivery」

Lorenz Meinel (Julius-Maximilians-Universität Würzburg)

14:20～15:00 招待講演 2 （座長：河嶋 秀和）

「Functionalized Molecules against age-related diseases」

Michael Decker (Julius-Maximilians-Universität Würzburg)

15:00～15:10 （休憩）

15:10～16:40 ブランディング事業報告 1 （座長：長谷川 功紀）

「セラノスティクス研究の推進に向けたイメージング技術の基盤形成」

河嶋 秀和（京都薬科大学 放射性同位元素研究センター）

「分子イメージングプローブ開発」

樋口 隆弘（Julius-Maximilians-Universität Würzburg）

「がんラジオセラノスティクスプローブの開発状況」

木村 寛之（京都薬科大学 代謝分析学分野）

16:40～17:20 ブランディング事業報告 2 （座長：木村 寛之）

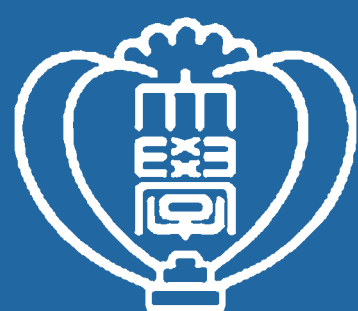
「パーキンソン病の病態可視化による新規診断・治療法の開発に向けて」

西村 周泰（京都薬科大学 統合薬科学系）

「Notch受容体を標的とする内用療法に基づく難治性腫瘍治療法の開拓」

長谷川 功紀（京都薬科大学 共同利用機器センター）

閉会の辞 京都薬科大学 副学長 赤路 健一



連絡・問い合わせ先：〒607-8412 京都市山科区御陵四丁野町1  
京都薬科大学 創薬科学フロンティア研究センター 赤路 健一  
TEL:075-595-4635 E-mail: akaji@mb.kyoto-phu.ac.jp

平成 30 年度文部科学省 私立大学研究ブランディング事業

受容体特異的画像化技術を基盤とするがん放射線内用療法  
(radio-theranostics) 研究拠点の形成

## 京都薬科大学-ヴェルツブルグ大学 合同シンポジウム 講演要旨集

開催日時：2020 年 2 月 26 日（水）13：30～17：35

開催場所：京都薬科大学 愛学ホール（A31 講義室）

主催：京都薬科大学

共催：京都薬科大学・放射性同位元素研究センター

京都薬科大学・創薬科学フロンティア研究センター

京都薬科大学・共同利用機器センター

# プログラム

開会の辞 京都薬科大学 学長 後藤 直正

13：40～14：20 招待講演 1 (座長：赤路 健一)

「Learning from nature - bioinspired drug delivery」

Lorenz Meinel (Julius-Maximilians-Universität Würzburg)

14：20～15：00 招待講演 2 (座長：河嶋 秀和)

「Functionalized Molecules against age-related diseases」

Michael Decker (Julius-Maximilians-Universität Würzburg)

15：00～15：10 (休憩)

15：10～16：40 ブランディング事業報告 1

(座長：長谷川 功紀)

「セラノスティクス研究の推進に向けたイメージング技術の基盤形成」

河嶋 秀和 (京都薬科大学 放射性同位元素研究センター)

「分子イメージングプローブ開発」

樋口 隆弘 (Julius-Maximilians-Universität Würzburg)

「がんラジオセラノスティクスプローブの開発状況」

木村 寛之 (京都薬科大学 代謝分析学分野)

16：40～17：20 ブランディング事業報告 2

(座長：木村 寛之)

「パーキンソン病の病態可視化による新規診断・治療法の開発に向けて」

西村 周泰 (京都薬科大学 統合薬科学系)

「Notch 受容体を標的とする内用療法に基づく難治性腫瘍治療法の開拓」

長谷川 功紀 (京都薬科大学 共同利用機器センター)

閉会の辞 京都薬科大学 副学長 赤路 健一





# Learning from nature - bioinspired drug delivery

Institute of Pharmacy, University of Würzburg,  
Am Hubland, Germany  
Lorenz Meinel

Nature precisely tunes the spatial and temporal availability of bioactive molecules. This presentation details two examples in which we “learned from Nature”, one for small chemical molecules and one for protein delivery.

The solubilization of **poorly water soluble drugs (PWSD)** is critically impacted by the presence of vesicles in the gut formed from bile fluids. We detailed the interaction-dynamics of model PWSD with bile vesicles and the interplay in presence of relevant concentrations of pharmaceutical polymers by NMR, DLS, analytical ultracentrifugation, and Cryo-TEM. The choice of polymer was essential in preserving the natural solubilization system and impacted the flux across model membranes. Future *in vivo* studies are required detailing the pharmacokinetics resulting from the perplexing impact of pharmaceutically relevant polymers on bile-vesicle structures.

Nature enzymatically binds biopharmaceuticals to the **extracellular matrix (ECM)**. We are building off this natural process by translating it to pharmaceutical application. For that, we detailed Nature’s ability of binding Insulin-like **growth factor I (IGF-I)** to the ECM to position K68 within IGF’s D-domain in presence of transglutaminase Factor XIIIa. Subsequently, the D-domain was fused to various other therapeutically relevant proteins and peptides. More than 80 % of these fusion proteins and peptides including IGF-I bound to engineered ECM in presence of Factor XIIIa within less than 5 minutes. We further improved these bioconjugates by placing peptide sequences responding to matrix metalloproteinases between the D-domain and the biotherapeutics. One example, [IGF’s D-domain]-[MMP sensitive peptide linker]-[Interleukin 4] was tested in a canine model system of arthritis following intra-articular injection. Whereas neither Interleukin 4 nor Factor XIIIa alone modified disease progression, administration of Factor XIIIa along with [IGF’s D-domain]-[MMP sensitive peptide linker]-[Interleukin 4] positively modified inflammation and structure in the index joint. Control MMP sensitive peptide linker synthesized of d-amino acids failed in contrast to linkers made of l-amino acids, detailing the necessity of locally releasing Interleukin 4 from the bioconjugate.

As a result, we provided insight into the natural solubilization process of PWSD and to which extent pharmaceutical polymers impact that delicately balanced system. Further, we translated a natural strategy of localizing proteins into effective pharmaceutical depot systems, formed by minimally invasive injection of two liquids resulting in covalent decoration of the ECM with the biopharmaceutical.



## Functionalized molecules against age-related diseases

Pharmaceutical and Medicinal Chemistry, Institute of Pharmacy and Food Chemistry, Julius-Maximilian-University of Würzburg

Michael Decker

With increasing life expectancy all over the world, diagnosis and therapy of age-related diseases is becoming an increasing problem for patients, as well as societies and health systems. Our group works on novel enzyme inhibitors and G protein-coupled receptor (GPCR) ligands in the context of neurodegenerative disorders, especially Alzheimer's disease, as well as other age-related disorders, like cardiac and renal diseases.

In our drug discovery and development efforts, we apply different innovative approaches to known compounds, starting either from lead structures from nature, or already developed ligands. In the "hybrid molecule approach" we connect or merge different pharmacologically active molecules, like GPCR ligands and enzyme inhibitors, into one molecule to get a molecular entity acting at two or more targets, but still being selective over undesired ones. With this approach we were able to get small-molecule hybrid compounds with an over-additive neuroprotective effects opening prospects to more than symptomatic treatment of Alzheimer's disease (AD).

For development of clinically applicable diagnostic agents, we develop synthetic pathways to access positron emission tomography (PET) ligands. In these efforts we develop the first irreversible PET ligands for the AD target butyrylcholinesterase (BChE), and we also described  $^{18}\text{F}$ -labeled radiotracers based on clinically applied sartanes for renal imaging.

In a third approach, the photopharmacological one, we introduce photoswitchable moieties, such as azobenzenes, into biologically active molecules. If correctly designed, it is possible to obtain GPCR ligands or enzyme inhibitors that can either be "switched on" or "switched off" at their molecular target and therefore be used to spatiotemporally control biological activity in a yet unprecedented manner. We have applied this approach to develop photoswitchable cannabinoid receptor and muscarinic receptor ligands.

Using innovative chemically highly functionalized ligands it is possible to advance drug discovery efforts, diagnostics as well as the discovery of innovative molecular probes against a portfolio of age-related diseases.

# セラノスティクス研究の推進に向けた イメージング技術の基盤形成

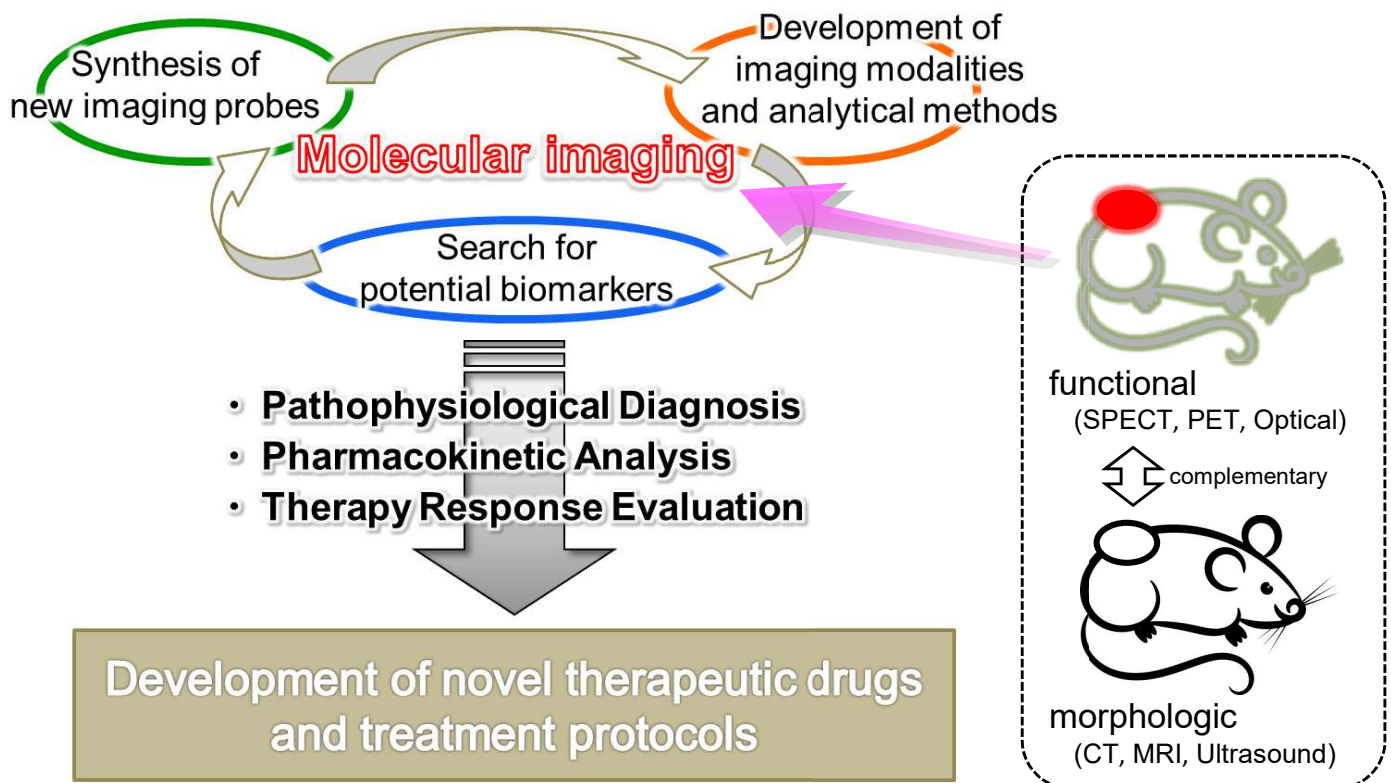
京都薬科大学・放射性同位元素研究センター 河嶋 秀和

様々な疾患の病態解明が分子レベルで進む中、生体医工学領域の技術をこれに組み込むことで分子生物学的プロセスの空間的・時間的变化をインビボにて可視化、生命現象の理解を深める「生体分子イメージング」の重要性は広く認知されるに至った。さらに現在の臨床では、この手法を基軸として対象疾患の性状を的確に診断しつつ効果的な治療へと展開させる「診断と治療の融合」ーセラノスティクス (Theranostics) が潮流となっている。本学においても「受容体特異的画像化技術を基盤とするがん放射線内用療法 (radio-theranostics) 研究拠点の形成」が私立大学研究ブランディング事業に採択された。事業の名称に含まれる「ラジオセラノスティクス」とはセラノスティクスの一形態であり、主に悪性腫瘍を標的として実施される。すなわち、がん選択的に集積する化合物に対して診断 (生体透過性) あるいは治療 (細胞殺傷性) に適した放射線を放出する放射性同位元素を導入、適切に相互変換させることで診断と治療の一体化を実現し、全身性に転移したがんの根本的治療を期待するものである。

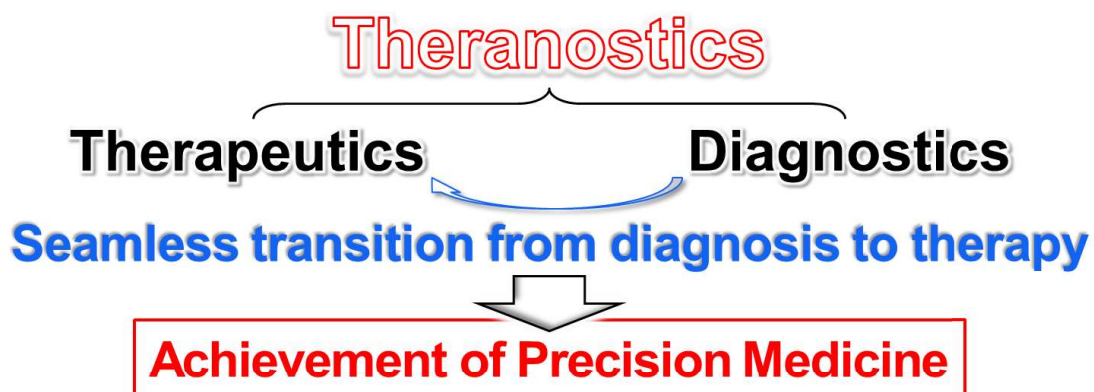
その一方、セラノスティクスは「ある疾患に対して最適な治療を施すためのアプローチとなる診断を高い精度で行うこと」とも定義できる。これは対象となる疾患が悪性腫瘍に限定されないことを意味しており、近年では Neuro-theranostics (中枢神経系領域) や Cardio-theranostics (循環器系領域)、Metabolo-theranostics (代謝領域) 等の新造語も生まれている。多岐にわたる疾患の病態像を詳細に探るため複数の分子に注目し、これらの動態や相互作用を可視化、インビボで同時に測定する目的において SPECT (Single-photon emission computed tomography) が非常に優れたツールであることから、今後、本学セラノスティクス研究は当センター内に設置された小動物用 SPECT 装置による各種モデル動物での評価を中心に、X 線 CT にて取得される形態画像の解析と組み合わせながら展開してゆくものとする。

今回の講演では、「セラノスティクス」をキーワードとした当該ブランディング事業において本学が現在目指している「疾患の診断から治療へ通じる分野横断的研究の確立」に向けた施設の整備状況について SPECT, X 線 CT を中心に概説するとともに、その基盤研究として試みた ① I-123 標識酸化 LDL, ② TI-201 塩化タリウムを用いた動物の撮像例を幾つか紹介したい。

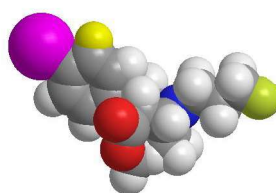
# Molecular Imaging



# Concept of Theranostics



## Radio-theranostics



Chelate

### Imaging

$^{67/68}\text{Ga}$ ,  $^{111}\text{In}$ ,  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  etc.

### Radiation Therapy

$^{90}\text{Y}$ ,  $^{177}\text{Lu}$ ,  $^{186/188}\text{Re}$  etc.

easy conversion

## Image-guided therapy



$^{111}\text{In}/^{90}\text{Y}$ -ibritumomab tiuxetan



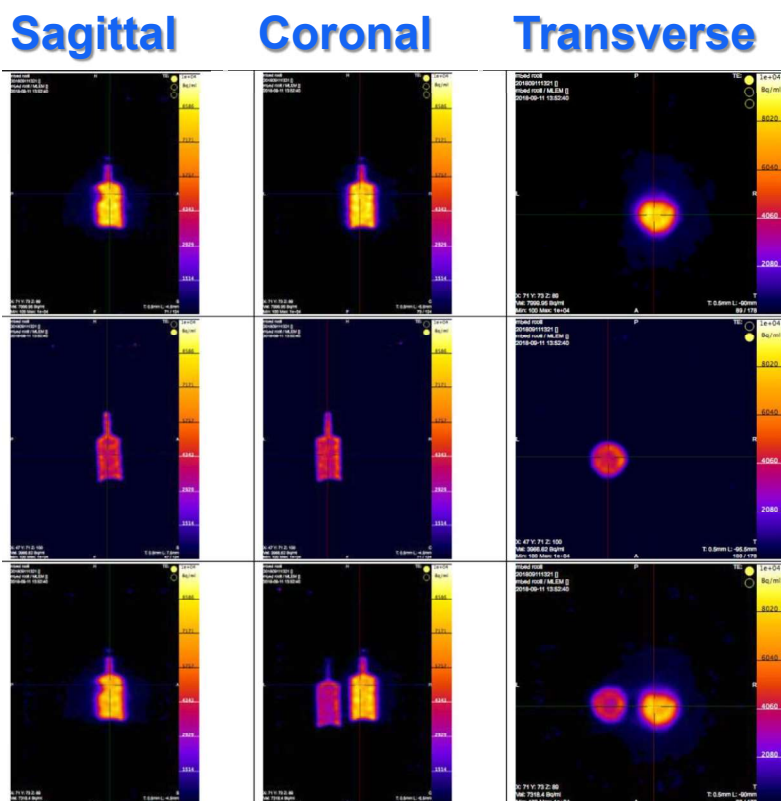
# Dual-Imaging ( $^{111}\text{In}$ vs. $^{99\text{m}}\text{Tc}$ )

Energy peak settings  
for detection:

$^{111}\text{In}$

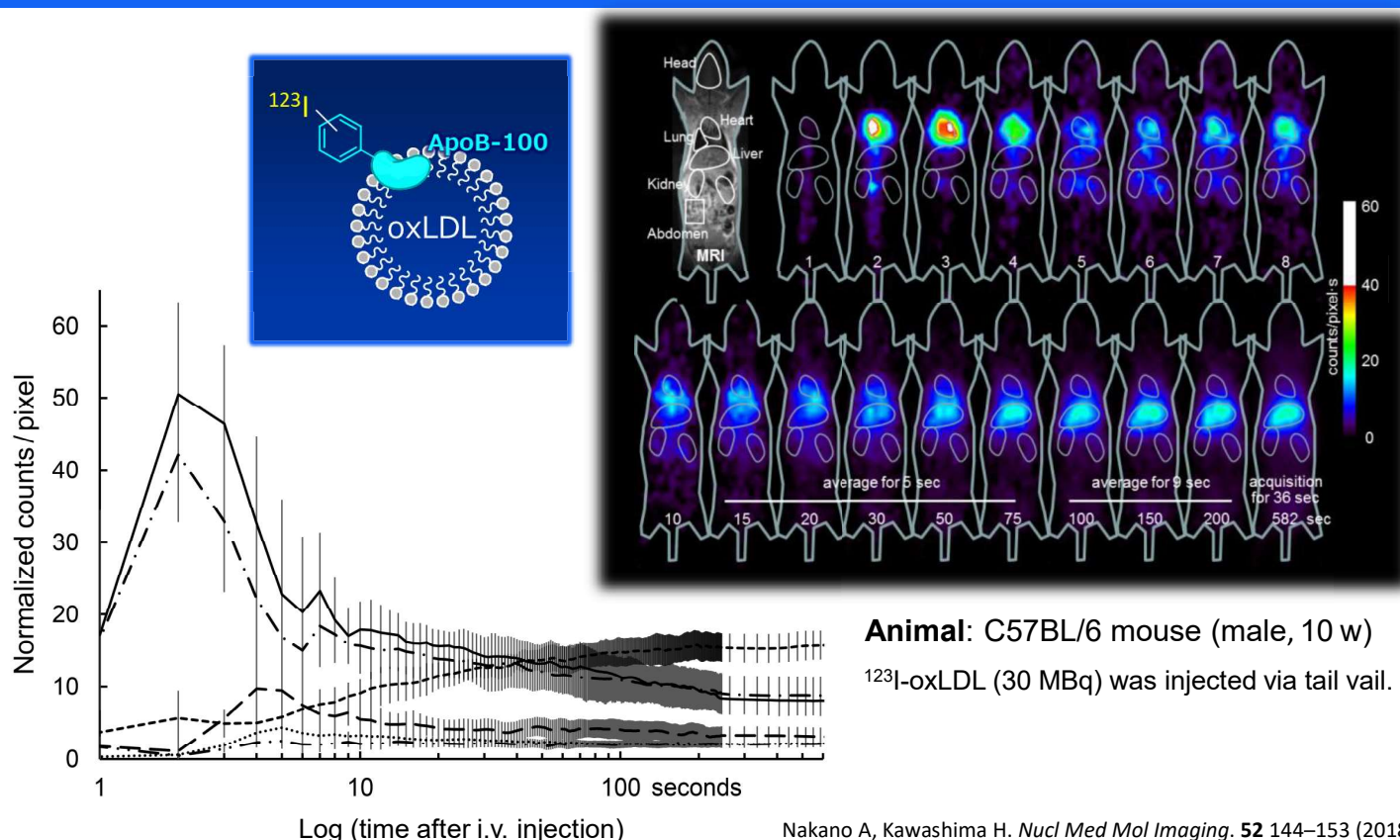
$^{99\text{m}}\text{Tc}$

Both

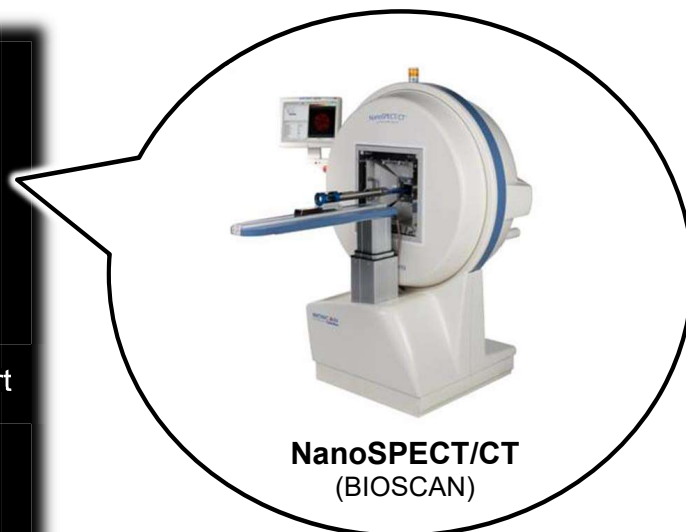
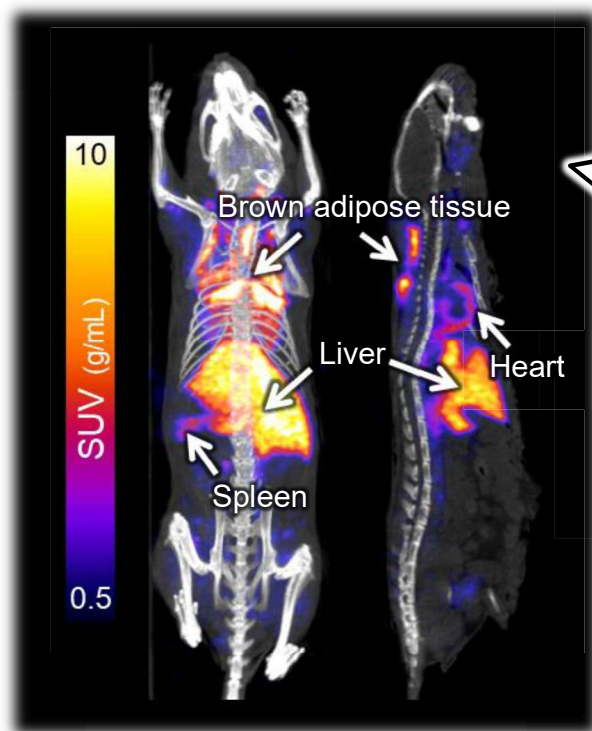


$^{111}\text{In}$ - or  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ - solutions were filled in two separate syringe phantoms.

## Dynamic Planar Image of $^{123}\text{I}$ -oxLDL



# SPECT Image of $^{123}\text{I}$ -oxLDL



**Animal:** C57BL/6 mouse (male, 8 w)

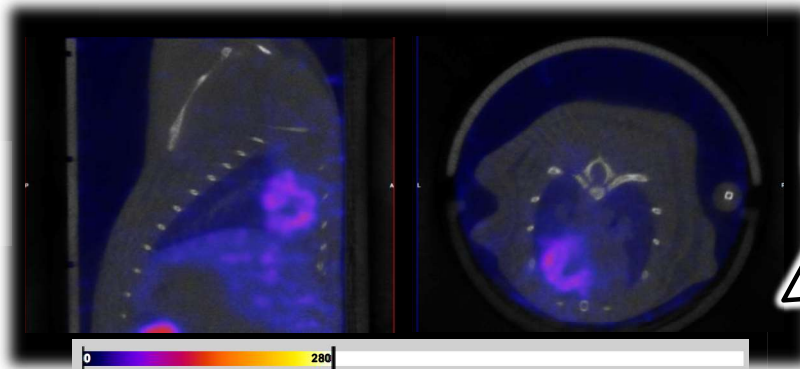
Mouse was sacrificed by bleeding at 10 min after i.v. injection of  $^{123}\text{I}$ -oxLDL (30 MBq), and then fixed by PFA perfusion.

# Myocardial Perfusion Imaging ( $^{201}\text{Tl}^+$ )

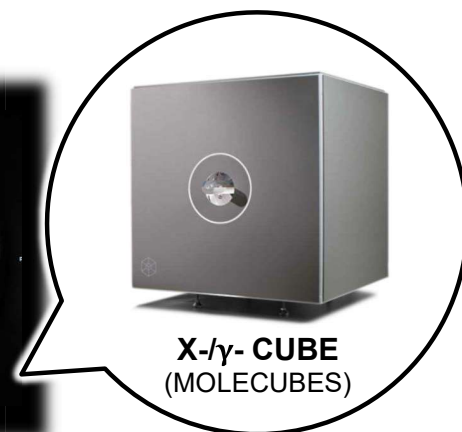
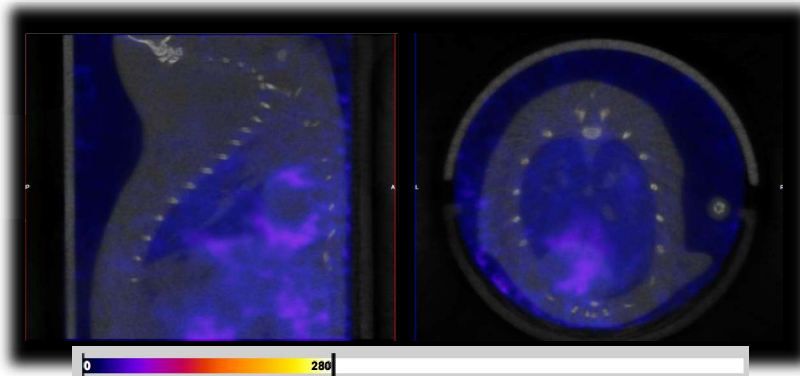
**Sagittal**

**Transverse**

**Normal**



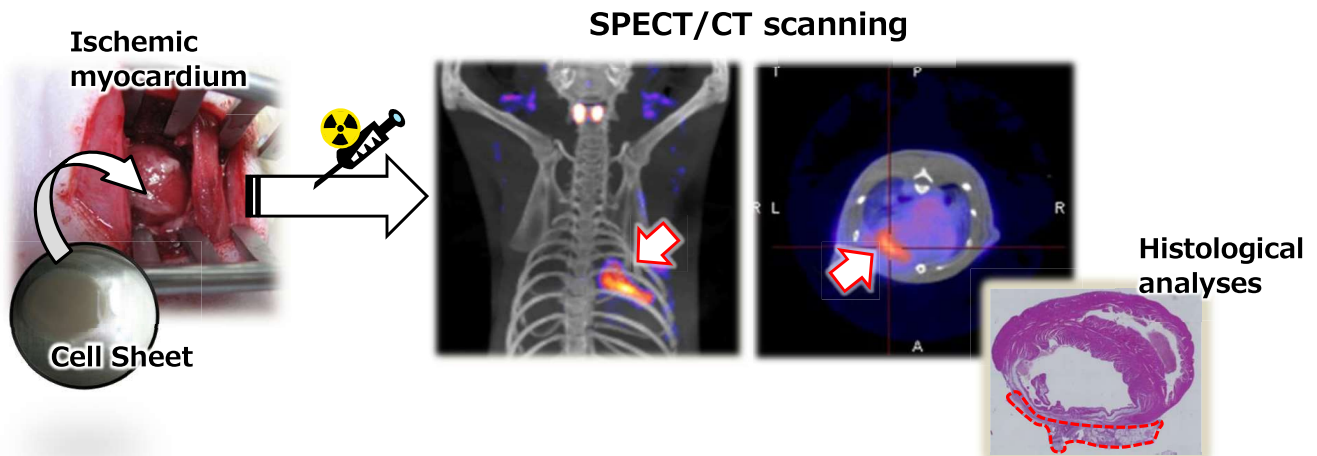
**MI model  
(2 w)**



**Animal:** SD rat (male, 8 w)

Left anterior descending coronary artery (LAD) was permanently occluded by ligation.  $^{201}\text{Tl}^+$  (12.6 MBq) was injected via tail vein after 2 weeks of the operation.

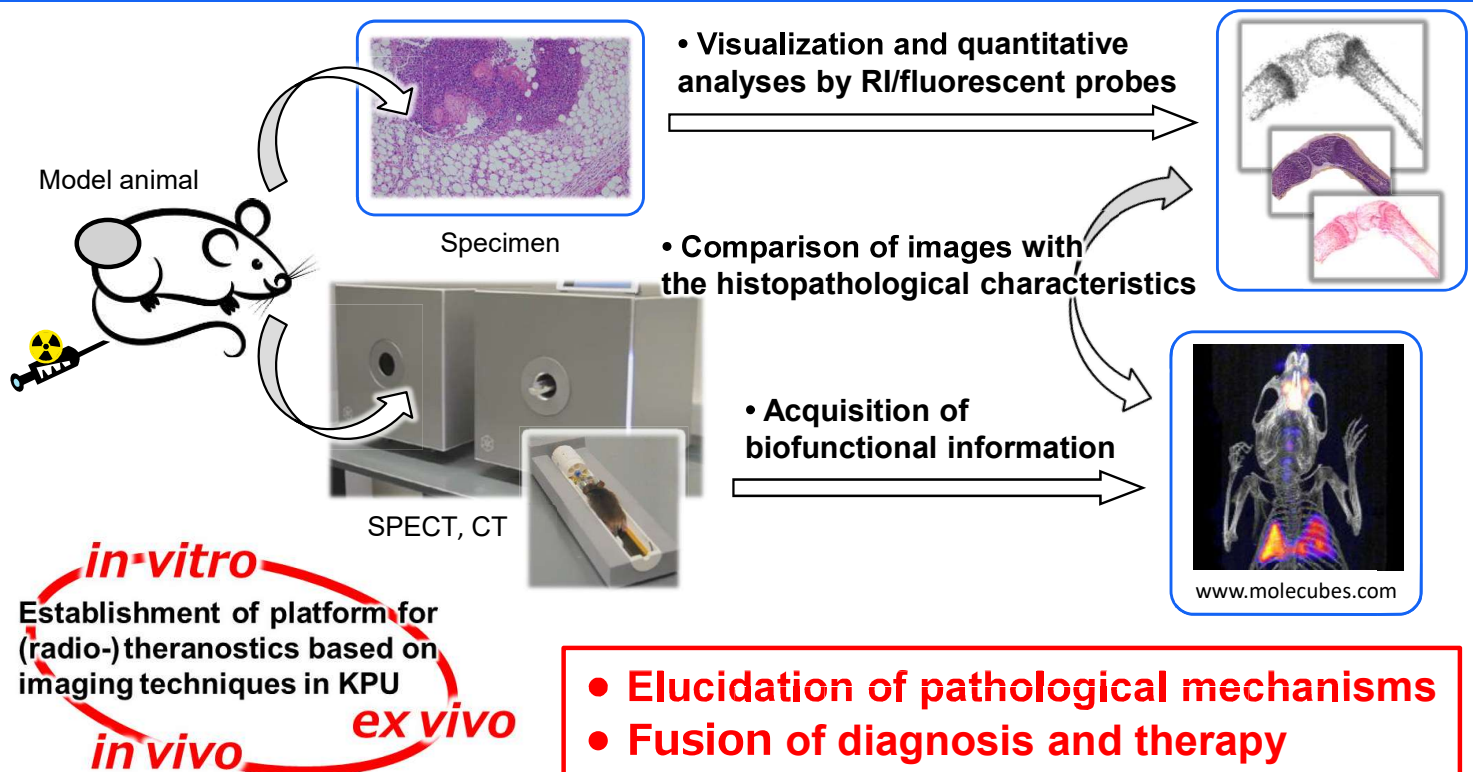
# Assessment in Regenerative Therapy



## Assessment of cell survival (viability) and myocardial functional recovery after the cell sheet transplantation

- Mouse embryonic fibroblasts (MEF) expressing human  $\text{Na}^+/\text{I}^-$  symporter  $\rightarrow [^{99\text{m}}\text{Tc}]\text{TcO}_4^-$
- Cardiomyocytes differentiated from iPS cells  $\rightarrow ^{111}\text{In}$ -iodinated anti-GLUT4 antibody
- Cardiac function  $\rightarrow [^{201}\text{Tl}]\text{TlCl}$ ,  $^{123}\text{I}$ -BMIPP,  $^{18}\text{F}$ -FDG ...

# Establishment of “Theranostics”



# 分子イメージングプローブ開発

ユリウス・マクシミリアン大学ヴュルツブルク  
分子イメージング学

樋口 隆弘

分子イメージングは、“分子又は細胞レベルの生体活動を、非侵襲的に可視化・計測する技術”と定義される。放射性核種によって標識された様々なプローブを用いる核医学的手法 (PET, SPECT) は、臨床応用が可能な技術であり、分子イメージングの中心に位置づけられる。最新の高感度 PET 装置や新規トレーサー技術の発展により、生体内での様々な分子・細胞の活動を 3 次元定量画像として捉えることが可能になり、①治療可能な段階での早期臨床診断、②個々の病態に合わせた個別化治療マーカー、③基礎研究結果の速やかな臨床応用（トランスレーショナル研究）等の新たな治療戦略を推し進める基盤技術として期待されている。特に、心臓イメージング分野では、心筋血流、心筋代謝（糖、脂肪酸）、神経液性因子（交感神経活性）、局所炎症等のバイオマーカーの画像化に取り組んでいる。

講演では、京都薬科大学との共同研究の様子、成果を報告するとともに、ユリウス・マクシミリアン大学ヴュルツブルク大学の分子イメージングラボ施設を紹介する。

# がんラジオセラノスティクスプローブの 開発状況

京都薬科大学・代謝分析学分野 木村 寛之

「セラノスティクス(Theranostics)」とは、治療(Therapeutics)と診断(Diagnostics)を組み合わせた新しい医療技術であり、患者個々における病態像を正確に捉えた上で、適切な治療を効率よく施すことを目指している。また、近年患者個人の詳細な生体情報を統合し、最適な治療法を選択する新しい医療アプローチ(プレジジョン・メディシン)が国際的に注目されている。プレジジョン・メディシンとは、患者個々の細胞、遺伝子、受容体やたんぱく質発現などの特性を、最先端技術を用い分子レベルで判別することで精密にグループ化し、適切な投薬、治療と予防を提供する医療であり、2015 年米国オバマ前大統領が一般教書演説のなかで触れたことで一躍有名となった。プレジジョン・メディシンの発展により最適化された治療が実現すれば、有害事象の軽減にも貢献し、患者の QOL 向上にも繋がる。さらには、精密に分類された病態グループに用いる新たな治療薬の開発促進に繋がり、新薬開発の効率を大きく向上させ、創薬分野にも大きな影響を及ぼすと考えられる。そこで、プレジジョン・メディシンの推進には、セラノスティクスは重要な役割を果たすと期待されている。セラノスティクスを実現する診断技術の一つとして、分子イメージング技術が挙げられる。様々な分子イメージング技術の中でも特に、疾患の特長を捉えることのできる放射性プローブを用いた PET、SPECT 分子イメージング技術は、全身の疾患部位を詳細に三次元情報にして精査できる有用な診断法であり、プレジジョン・メディシンへの応用(Imaging Based Precision Medicine)は、非侵襲的に局所病変の分子病態を定量的評価できる唯一のアプローチであると考えられる。我々が開発を進めているセラノスティクスプローブの特徴は、ひとつの分子を標的認識ユニット、リンカーユニット、キレートリングユニットの各ユニットの集合体ととらえ、それぞれ独立して開発したユニットを自由に組み合わせる「ユニットカップリング型分子プローブ」という概念に基づいて分子プローブの設計を行っていることである。本講演では、現在進めている前立腺がん、乳がん、肺がん、膵臓がんを標的としたセラノスティクスプローブについての開発戦略と進捗状況を報告する。

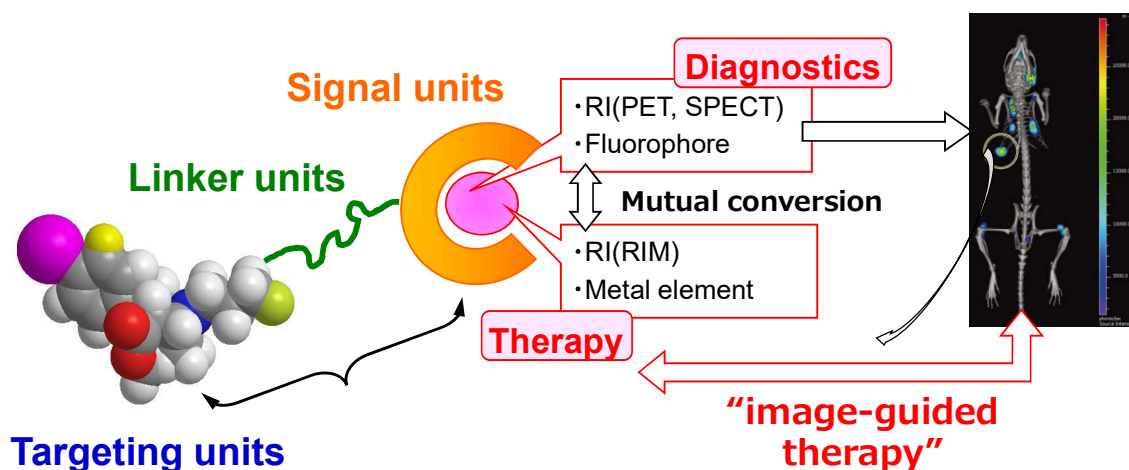
また、本学でセラノスティクス研究を推進するために、2018 年 6 月にベルギー・MOLECUBES 社製の SPECT 装置( $\gamma$ -CUBE)、CT 装置(X-CUBE)を導入している。本学で取得した SPECT、CT 画像を紹介するとともに、本装置を使用した感想も述べる。



# Current and Future Nuclear Theranostic Approaches

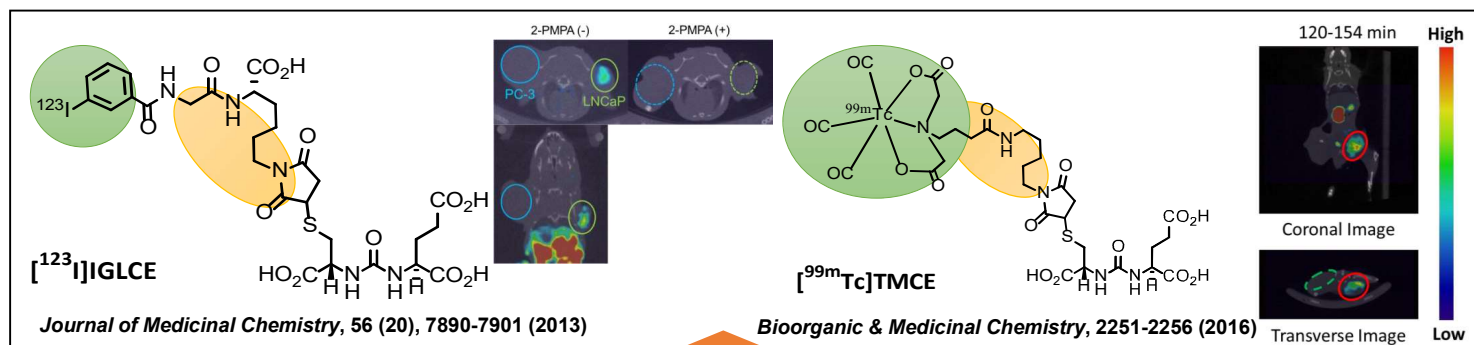
Nuclear theranostic pair	Target	Application	No. of patients/y
$^{68}\text{Ga}$ - and $^{177}\text{Lu}$ -DOTATE	Somatostatin receptors	NETs	$^{68}\text{Ga}$ -DOTATE:20,000 $^{177}\text{Lu}$ -DOTATE:7,500
$^{68}\text{Ga}$ - and $^{177}\text{Lu}$ -PSMA	PSMA	Prostate cancer	$^{68}\text{Ga}$ -PSMA:160,000 $^{177}\text{Lu}$ -PSMA:40,000
$^{123}\text{I}$ - and $^{131}\text{I}$ -iobenguane	Norepinephrine reuptake transporter	Neuroblastoma, paraganglioma, pheochromocytoma	
$^{68}\text{Ga}$ - and $^{177}\text{Lu}$ -FAPI	Fibroblast activation protein	Multiple cancers	
$^{68}\text{Ga}$ - and $^{177}\text{Lu}$ -3BP-227 NTR1 antagonist	Neurotensin receptor 1	Pancreatic cancer	
$^{124}\text{I}$ - and $^{131}\text{I}$ -girentuximab	Carbonic anhydrase 9	Renal cell cancer	
$^{123}\text{I}$ - and $^{131}\text{I}$ -iodine	Sodium/iodide symporter	Thyroid diseases	

## Unit Coupling Theranostic Probes



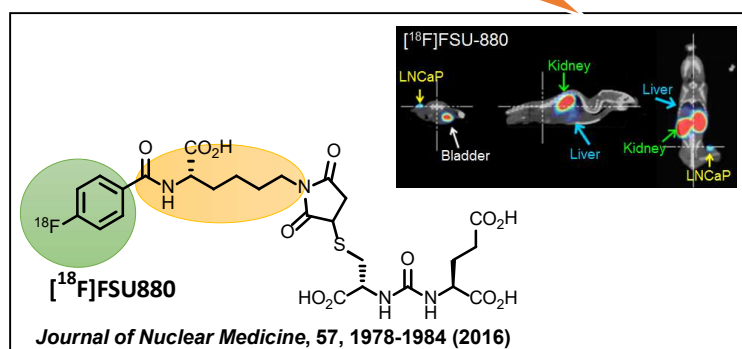
### 【Targeting units】

EGFR, FGFR, PSMA, GLP-1R  
EphA2, PD-L1, ALK1, PI3K, FAP



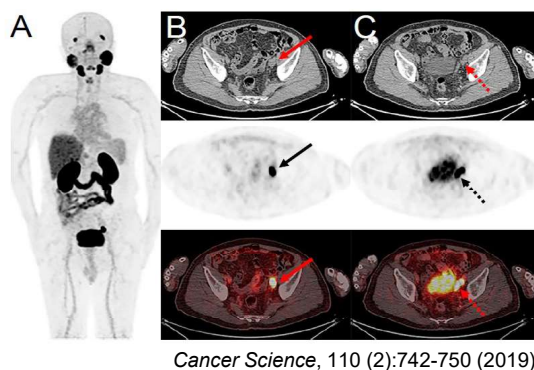
SPECT Probe

PET Probe

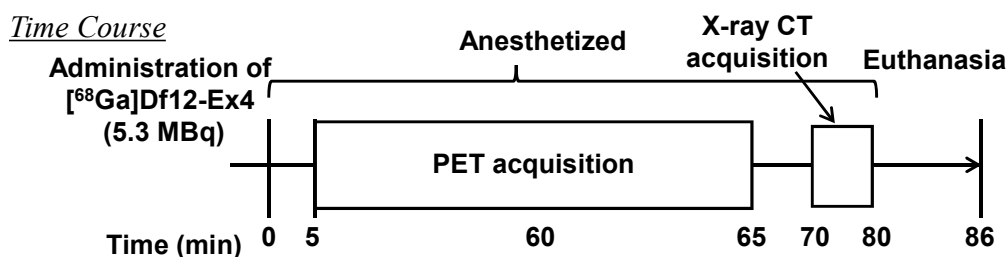


PSMA targeting probe

[<sup>18</sup>F]FSU880 PET/CT images



## PET/CT Study in INS-1-Bearing Mice: Insulinoma Imaging

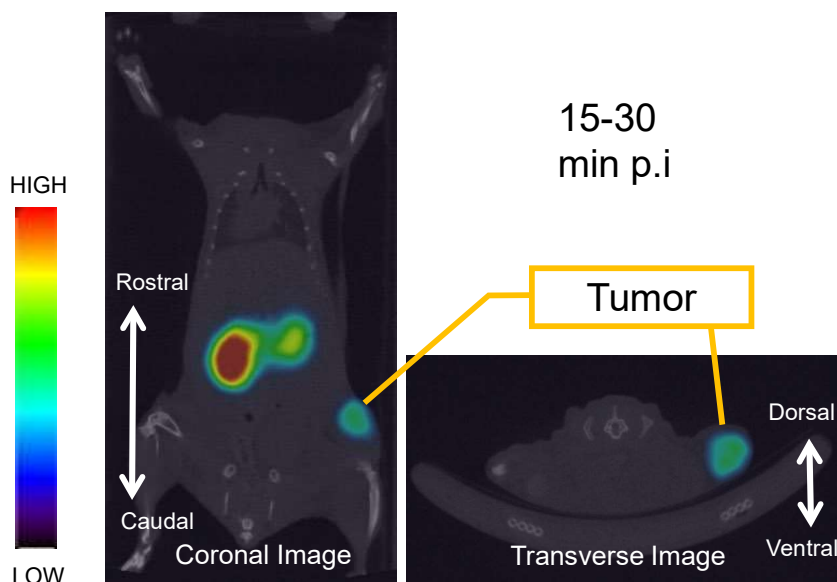


### Acquisition parameters for PET

- Injected radioactivity : 5.3 MBq/100  $\mu$ L
- Acquisition starting : 5 min after injection of [<sup>68</sup>Ga]Df12-Ex4
- Acquisition time : 60 min
- Reconstruction: 3D-OSEM

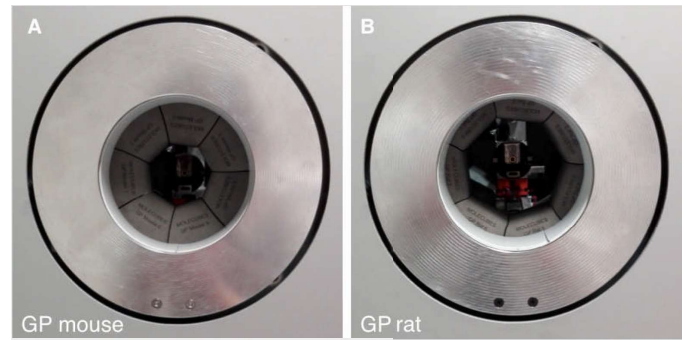
### Acquisition parameters for X-ray CT

- Tube voltage: 60 kV
- Tube current: 310  $\mu$ A

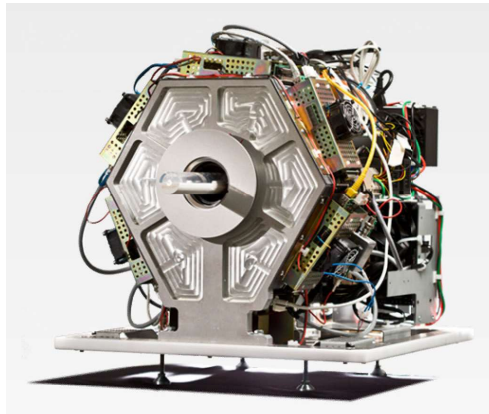


# SPECT:γ-CUBE CT: X-CUBE(Molecubes)

Picture provided by Molecubes



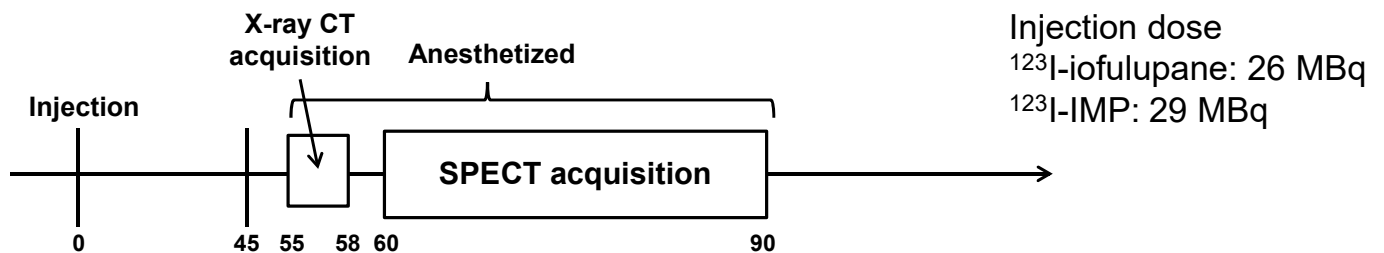
Collimator



γ-CUBE

	CT	SPECT
FOV	200x72mm	12x32mm(GP mouse collimator) 24x60mm(GP rat collimator)
resolution	0.05mm	500 μm (GP mouse collimator)
sensitivity	-	0.12%
reconstruction	FDK / ISRA	3D MLEM
weight	106 kg	78kg

## SPECT/CT Imaging



### ➤ Imaging device



SPECT:γ-CUBE CT: X-CUBE  
(Molecubes)

#### Acquisition parameters for SPECT

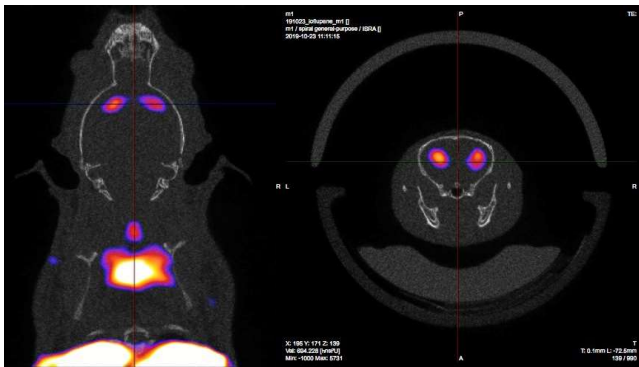
- Method: helical-orbit scan
- Collimators: Multi-lofthole
- Reconstruction: 3D-MLEM

#### Acquisition parameters for X-ray CT

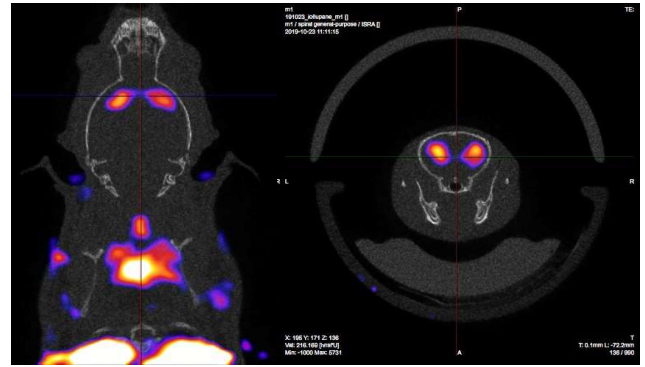
- Tube voltage: 50 kV
- Tube current: 100 μA
- Reconstruction: ISRA

# SPECT/CT ( $^{123}\text{I}$ -iofulupane)

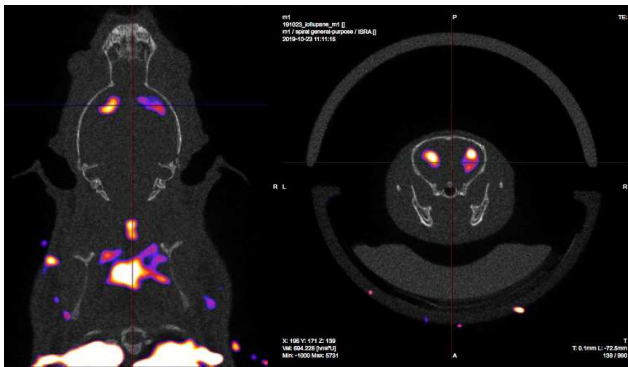
m1 Iteration10



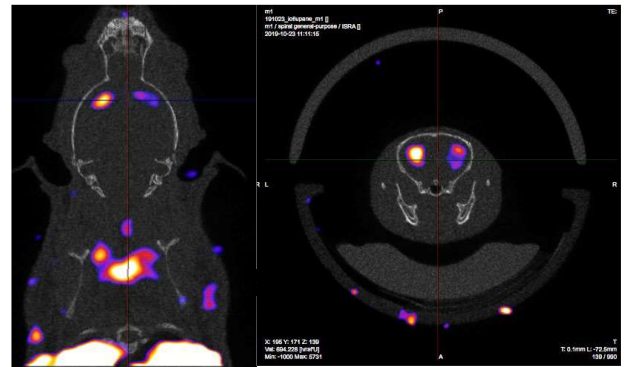
m1 Iteration20



m1 Iteration50

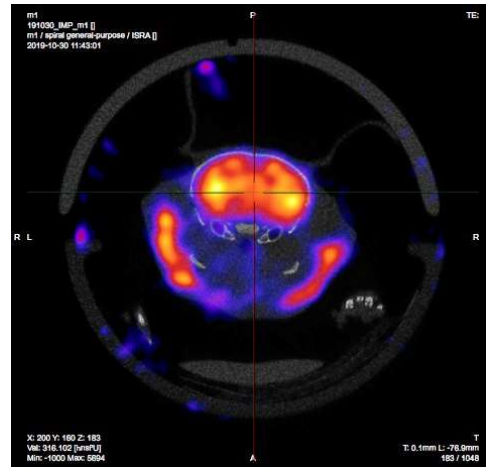
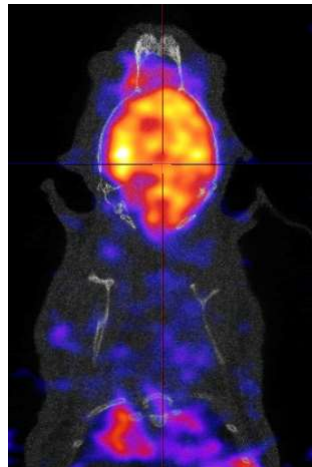
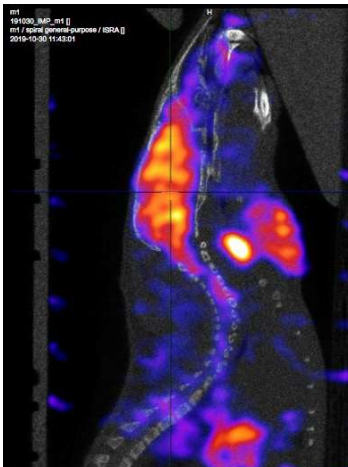


m1 Iteration20 159 kev

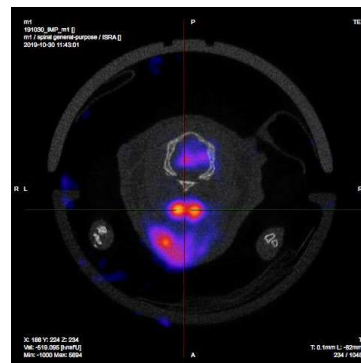


# SPECT/CT ( $^{123}\text{I}$ -IMP)

m1 Iteration20



Thyroid



# パーキンソン病の病態可視化による 新規診断・治療法の開発に向けて

京都薬科大学統合薬科学系 西村 周泰

超高齢化社会を迎えた日本。20年後の2040年における65歳以上の高齢者数は、約4,000万人（人口の約35%）に達すると試算されている。年齢を重ねると様々な疾患のリスクが高くなるが、加齢そのものが危険因子となる疾患も少なくない。パーキンソン病は、中脳ドパミン神経が選択的に脱落する神経変性疾患であり、日本には約16万人の患者がいるとされている。発症初期は手の震えといった比較的軽度の症状を呈するが、重症化すると一人で日常生活を送ることができず、全面的な介助が必要となる難治性の疾患である。失った神経細胞を再生することができない我々ヒトにとって、この疾患を克服するには、まず第一に、ドパミン神経細胞の脱落を防ぐことが、疾患予防の観点から重要である。一般的に運動症状が発症する頃には生存しているドパミン神経は20%を下回っていると言われており、症状が発症してから予防策を講じても、もはや手遅れである<sup>1)</sup>。従ってパーキンソン病の発症を予防するには、ドパミン神経の脱落および、その脱落と強い相関のある分子の挙動をいち早く捉え、早期診断に役立てることが求められる。

また近年、再生医療的アプローチとして多能性幹細胞由来ドパミン神経前駆細胞を用いた細胞移植治療の開発が進んでいる。過去に行われた中絶胎児細胞移植におけるスタディーでは、レシピエントの脳細胞から移植した神経細胞へ異常タンパク質の伝播が観察されており、長期的な治療効果を得るには、移植した細胞の状態をモニタリングし、治療効果予測や治療方針決定に役立てる必要があると考えている<sup>2)</sup>。

このような背景のもと、我々は、パーキンソン病の病態発症と深い係わりのある $\alpha$ -シヌクレイン（SNCA）タンパク質を標的として、①SNCAタンパク質の脳内動態の可視化による早期診断法の開発、②幹細胞移植治療の品質の可視化による治療効果の向上を目指して、研究を展開している。本シンポジウムでは、これまでの取り組みについて発表し、今後の研究領域の発展に資するアイデアや協働研究の可能性について議論したい。

1) Schapira *et al.*, *Nat. Rev. Neurosci.*, **18**, 435-450 (2017)

2) Li *et al.*, *Nat. Med.*, **14**, 501-503 (2008)



# Toward the development of novel diagnosis and therapeutic strategies by imaging the pathology of Parkinson's disease

Kaneyasu Nishimura

Division of Integrated Pharmaceutical Sciences



京都薬科大学  
Kyoto Pharmaceutical University

## Parkinson's disease



William Richard 1886

Normal brain

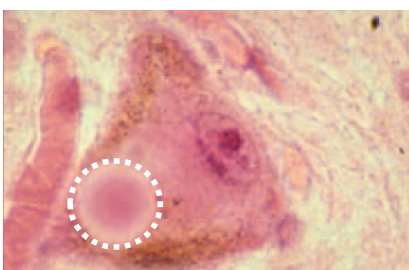


PD brain



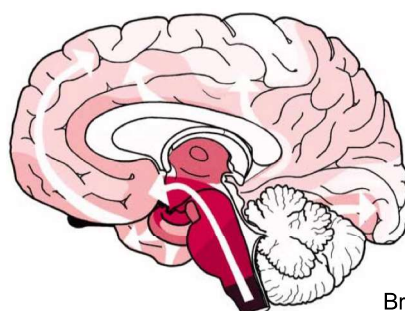
(Nikkei Science, 1997)

Lewy body



Proc. Jpn. Acad., Ser. B (2014)

$\alpha$ -synuclein (SNCA) distributes in aged-brain



Cerebral cortex (大脳皮質)

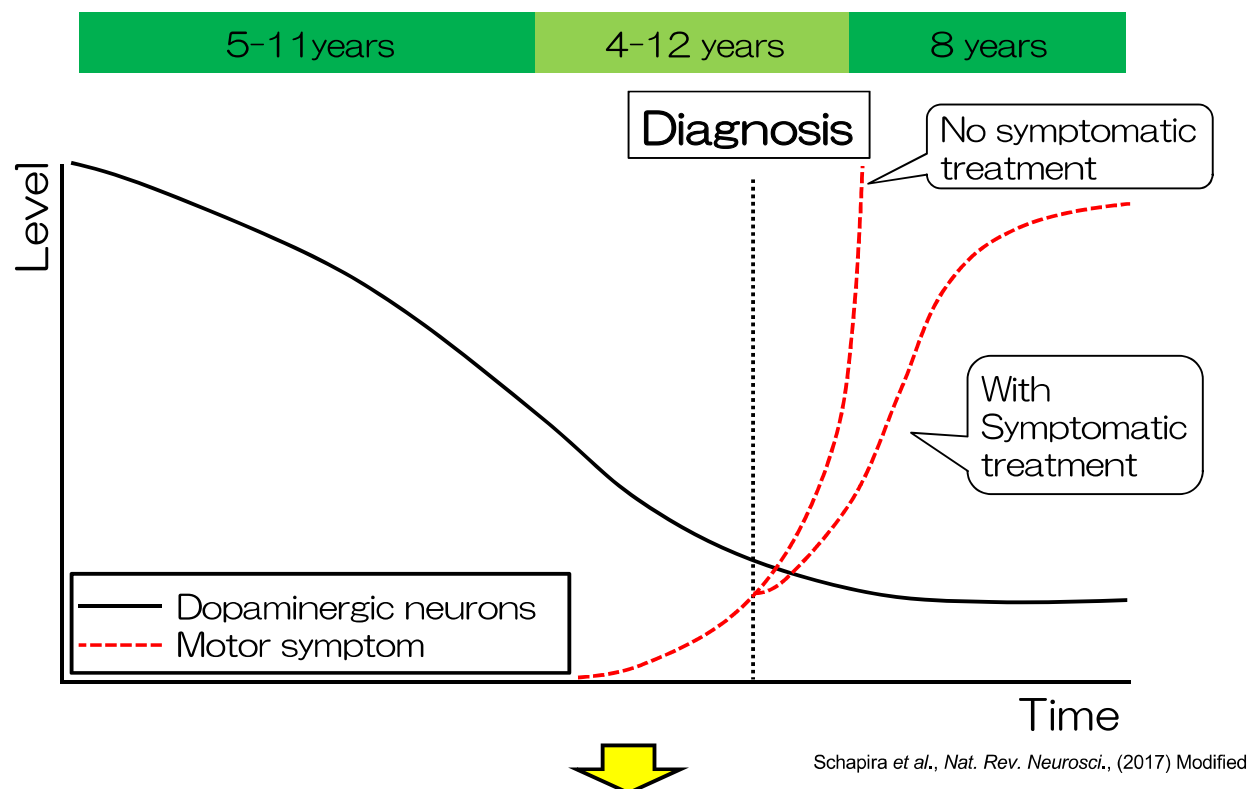
↑  
Amygdala (扁桃体)

↑  
Substantia nigra (黒質)

↑  
Brainstem (脳幹)

Braak et al., Neurobiol. Aging (2003)

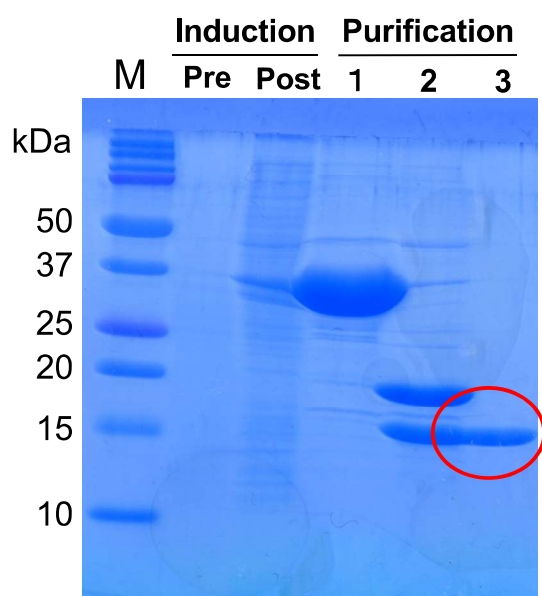
# Progression of Parkinson's disease symptoms



Towards the development of early diagnosis based on live imaging strategy

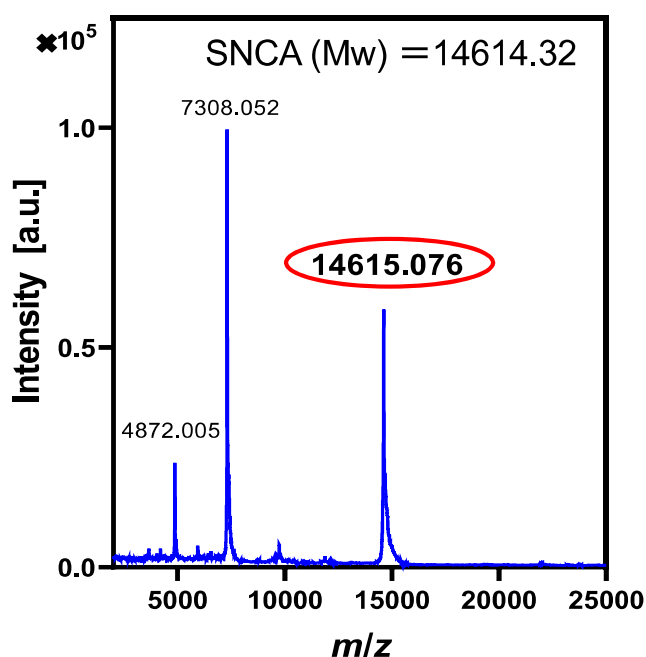
## Production of human SNCA protein

### 【SDS-PAGE】



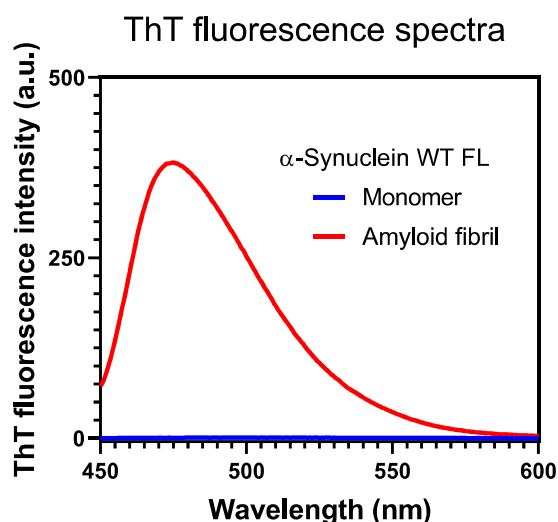
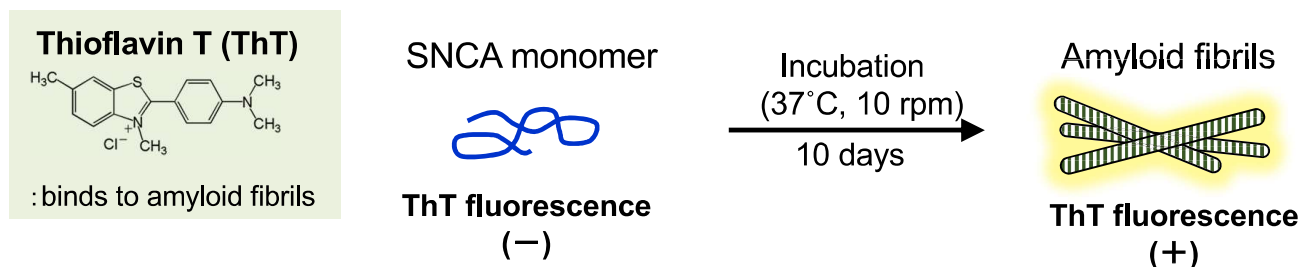
1. Tagged-SNCA: 34.0 kDa
2. Tag-seq: 19.4 kDa
3. SNCA: 14.6 kDa

### 【MALDI-TOF-MS】

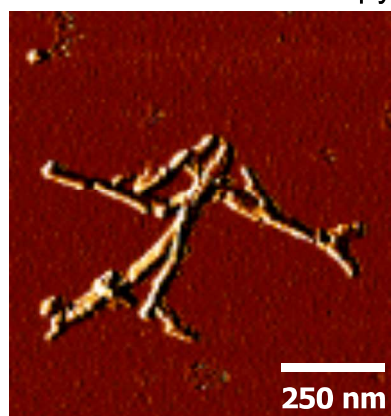


Prof. Saito and Dr. Ohgita

# Evaluation of amyloid formation of SNCA protein *in vitro*



Atomic force microscopy

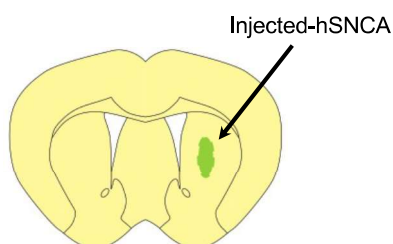
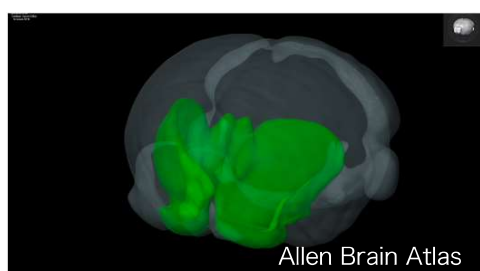


Collaborated with Dr. Haraya Y. (NIHS)

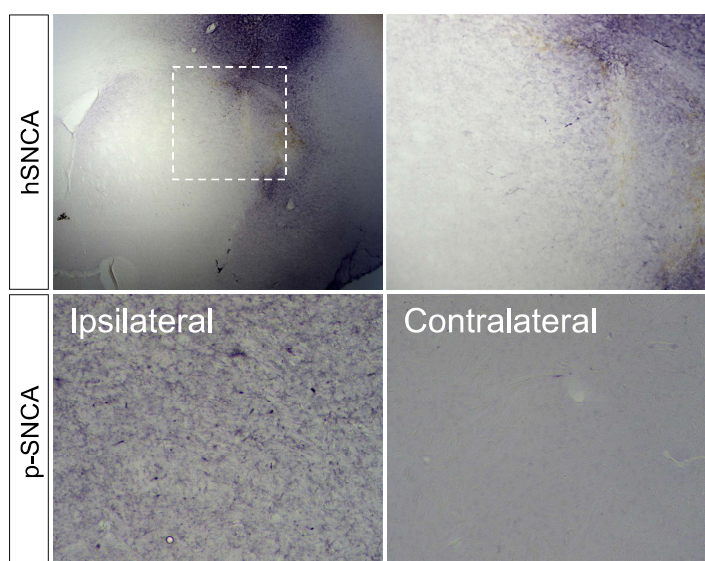
Prof. Saito and Dr. Ohgita

## Distribution of injected-hSNCA protein in mouse brain

Injection of hSNCA monomer into mouse striatum



1 week after injection (striatum)



We are checking...

- distribution of injected-hSNCA protein
- conformation change of hSNCA (phosphorylation and aggregation...)
- the difference of WT-SNCA and mutated (A53P)-SNCA

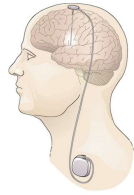
# New regenerative therapies to treat Parkinson's disease

## Current therapies

Pharmacotherapy

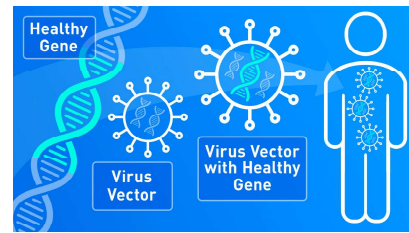


Deep brain stimulation



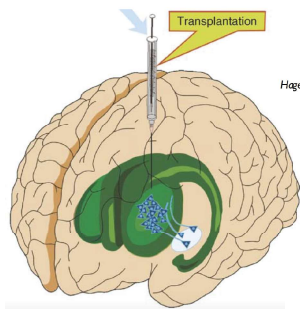
NIH

## Gene therapy



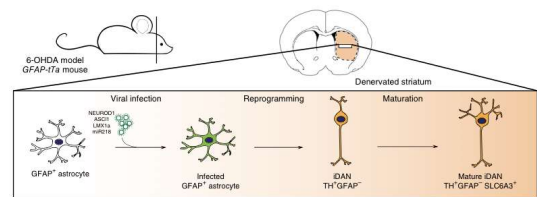
FDA

## Cell transplantation using pluripotent stem cells



Hagell P, Brundin P, 2001

## In vivo direct reprogramming



Rivetti di Val Cervo et al., *Nat. Biotech.*, 2017

# Neuronal induction from human iPSCs

## Human iPS cells (1231A3)

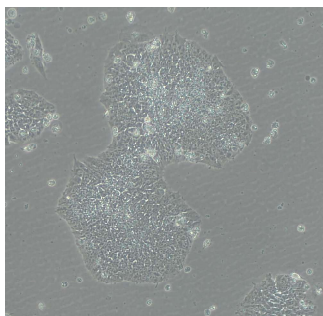
**Origin** : Peripheral blood

**Reprogramming** : Episomal vector

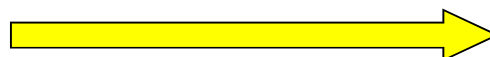
(OCT3/4, SOX2, KLF4, L-MYC, LIN28, shRNAp53, EBNA1)

**Culture** : Feeder-free, xeno-free, Chemically defined medium

Undifferentiated iPSCs

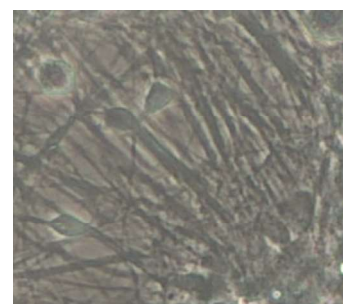


Neuronal induction



- Feeder-free
- Xeno-free
- Chemically defined condition
- Mimicking human brain development

hiPSC-derived neurons





# Notch 受容体を標的とする内用療法に基づく 難治性腫瘍治療法の開拓

京都薬科大学共同利用機器センター 長谷川 功紀

既に様々な腫瘍の治療薬剤開発が行われているが、それでも未だ生存率の向上が見られない難治性腫瘍が存在する。その中で小細胞肺癌は、全肺がん中の 15%程度を占め、5 年生存率が 20%程度といまだ低く、その治療法開発が求められている。小細胞肺癌の治療が困難な理由としては腫瘍内不均一性が挙げられる。腫瘍内には化学療法の効く細胞と効かない細胞が不均一に混在する。薬物治療によっていったん縮小した腫瘍でも、化学療法抵抗性細胞がわずかに残存し、そこから再び癌細胞が増殖すると考えられている。化学療法抵抗性細胞は代謝回転が悪く、FDG-PET での検出も困難である。そこで我々は、腫瘍内不均一性に着目し、化学療法抵抗性細胞に対し、診断・治療を行うための放射標識薬剤開発を行うこととした。

化学療法抵抗性細胞には Notch 受容体が高発現し、小細胞肺癌細胞の特徴である神経内分泌腫瘍への分化を抑制していることが報告されている。そこで我々は Notch 受容体に結合する低分子リガンド薬剤を創生し、そこに放射標識することで診断・治療を行うことを考えた。すでに Notch 受容体は、その内在性リガンドである DLL4 との共結晶が X 線結晶解析され、詳細な立体構造が報告されている（図 1）。その情報をもとに、DLL4 の受容体相互作用部位を短鎖ペプチド断片として合成し、Notch 受容体との結合親和性を評価する研究を現在進めている。受容体と結合する短鎖ペプチド断片をヒット化合物とし、今後はさらに構造活性相関研究へ展開する予定である。

もう一方のプロジェクトとして、Notch 受容体の活性化機構解明による新規薬剤作用部位の探索も進めている。Notch 受容体にはリガンドが複数存在し、結合リガンドごとに下流へのシグナル伝達様式が変化することが知られている。我々はこの特異的な Notch 受容体の活性化機構を解明することで、新しい薬剤作用部位を見出せるのではないかと考えている。現在、Notch 受容体活性化への構造変化を探るべく、リガンドである DLL1 との結合による構造変化や様々な脂質分子が受容体に与える影響の解析を分子動力学計算によって行っている。活性化機構が明らかになれば、それに対して有効な阻害剤を設計できると考えている。

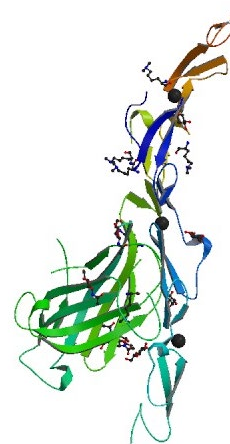


図 1 Notch1-DLL4  
複合体の立体構造  
(PDB: 4XL1)

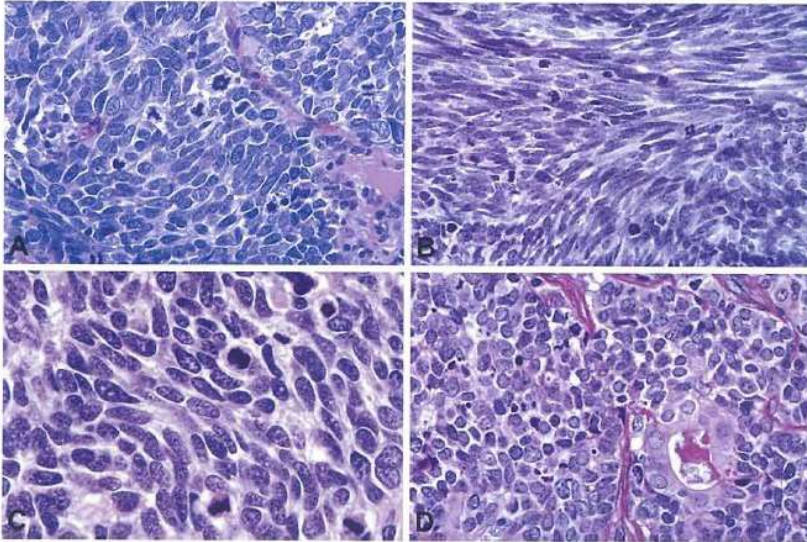


# Small cell lung cancer (SCLC) as a refractory cancer

SCLC accounts for about 15% of all newly diagnosed lung cancer in Japan.

5-year relative survival rates for small cell lung cancer is **20%**.

SCLC is a type of lung cancer with **neuroendocrine** differentiation.



Travis WD, Brambilla E, Burke A, Marx A, Nicholson AG. *WHO Classification of Tumours of the lung, pleura, thymus and heart*. Lyon: IARC; 2015.

## Notch1 receptor

Notch1 pathway activation inhibits the differentiation of precursor cells to a **neuroendocrine** fate.

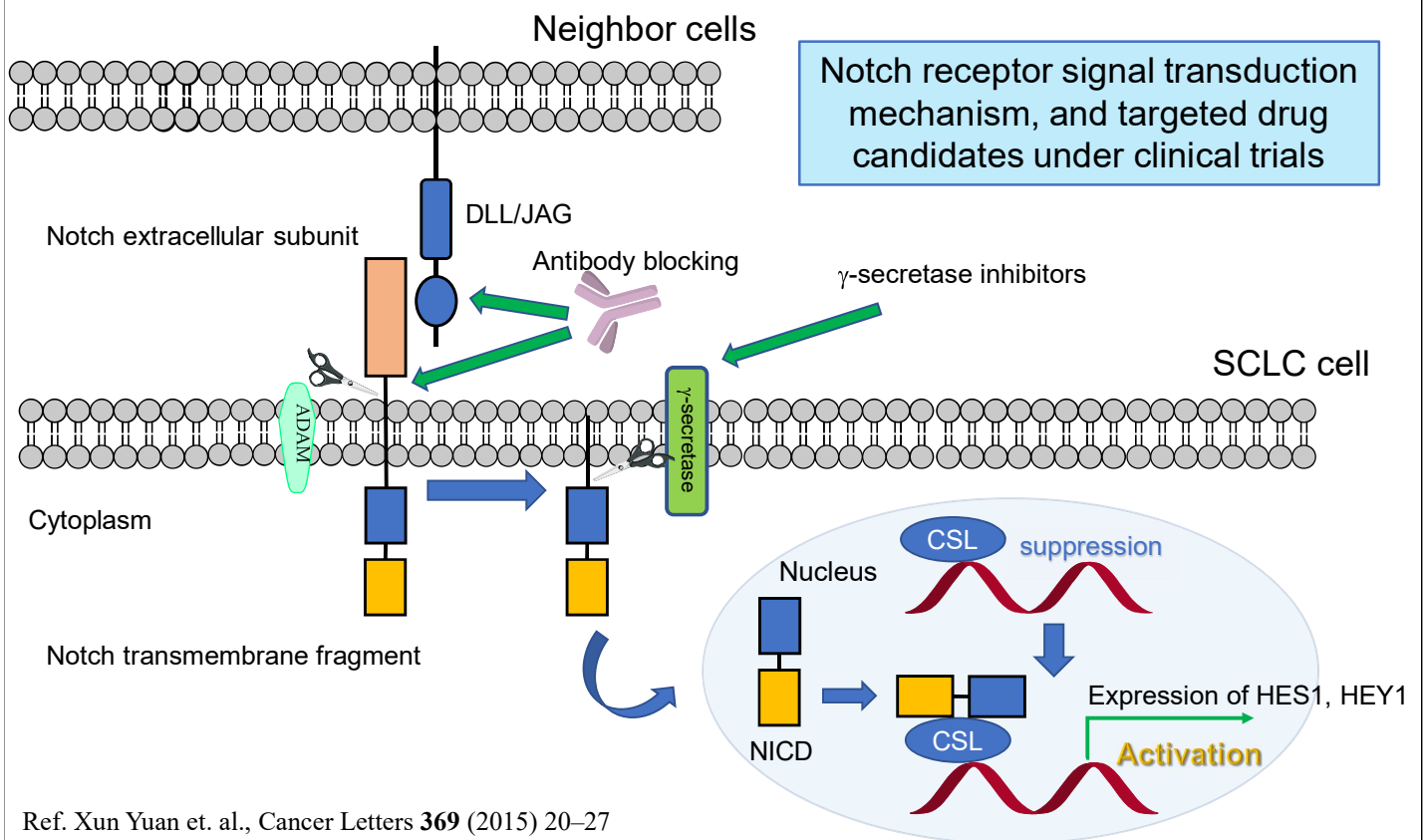
Basic helix-loop-helix transcription factors regulate the neuroendocrine differentiation of fetal mouse pulmonary epithelium. Ito T, Udaka N, Yazawa T, Okudela K, Hayashi H, Sudo T, Guillemot F, Kageyama R, Kitamura H. *Development*. **127**(18), 3913-21 (2000)

Non-neuroendocrine Notch-active small-cell lung cancer cells are slow growing, consistent with a tumour-suppressive role for Notch, but these cells are also relatively **chemoresistant** and provide trophic support to neuroendocrine tumour cells, consistent with a pro-tumorigenic role.

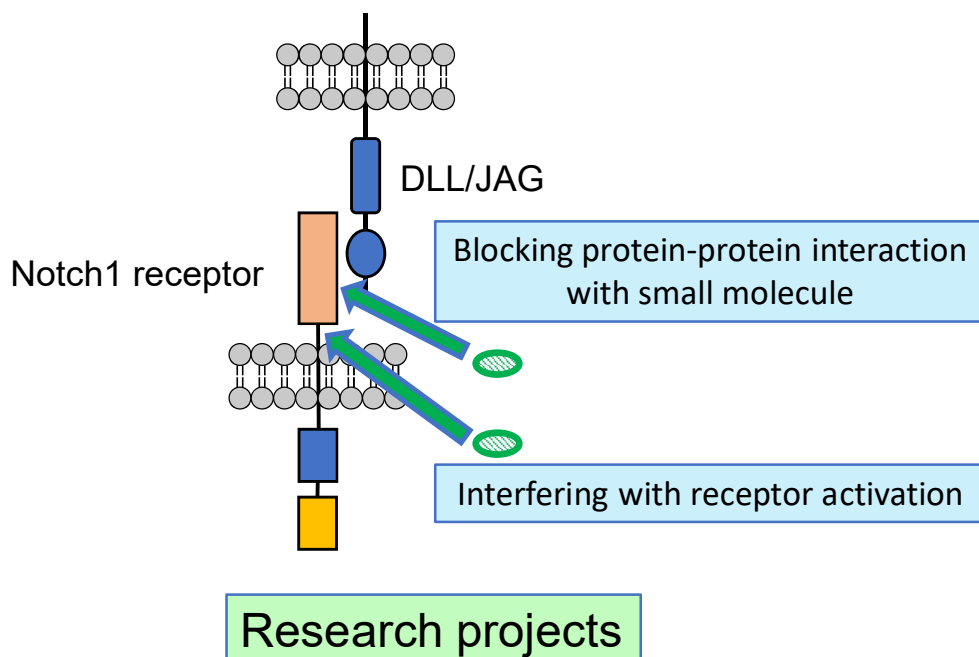
Notch1 controls cell **invasion** and **metastasis** in small cell lung carcinoma cell lines. Hassan WA, Yoshida R, Kudoh S, Hasegawa K, Niimori-Kita K, Ito T. *Lung Cancer*., **86**(3), 304-10.(2014)

Notch1 controls cell **chemoresistance** in small cell lung carcinoma cells. Hassan WA, Yoshida R, Kudoh S, Kameyama H, Hasegawa K, Niimori-Kita K, Ito T. *Thorac Cancer*., **7**(1):123-8. (2016)

Intratumoural **heterogeneity** generated by Notch signalling promotes small-cell lung cancer. Lim JS, Ibaseta A, Fischer MM, Cancilla B, O'Young G, Cristea S, Luca VC, Yang D, Jahchan NS, Hamard C, Antoine M, Wislez M, Kong C, Cain J, Liu YW, Kapoun AM, Garcia KC, Hoey T, Murriel CL, Sage J. *Nature*., **545**(7654), 360-364. (2017)

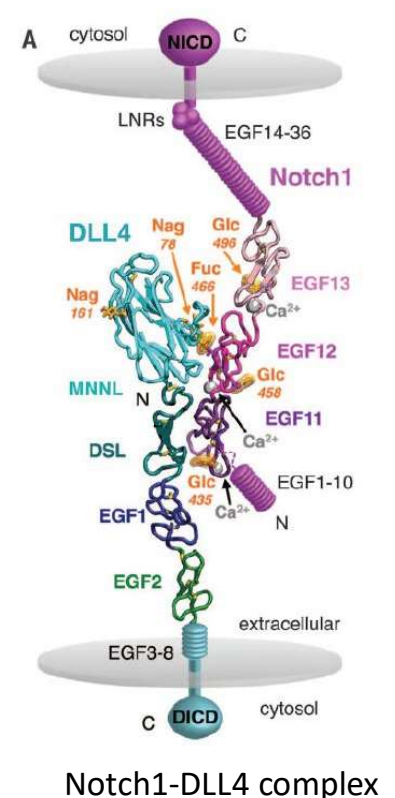


## Research projects focused on Notch1 receptor



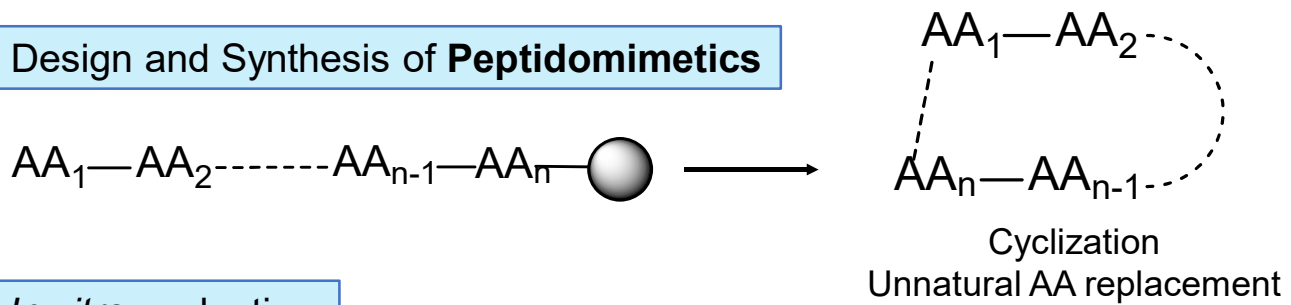
Design and synthesis of peptidomimetics and evaluation for the binding ability to Notch1 receptor

Elucidation of activation mechanism of Notch1 receptor would allow us to find new drug action sites.

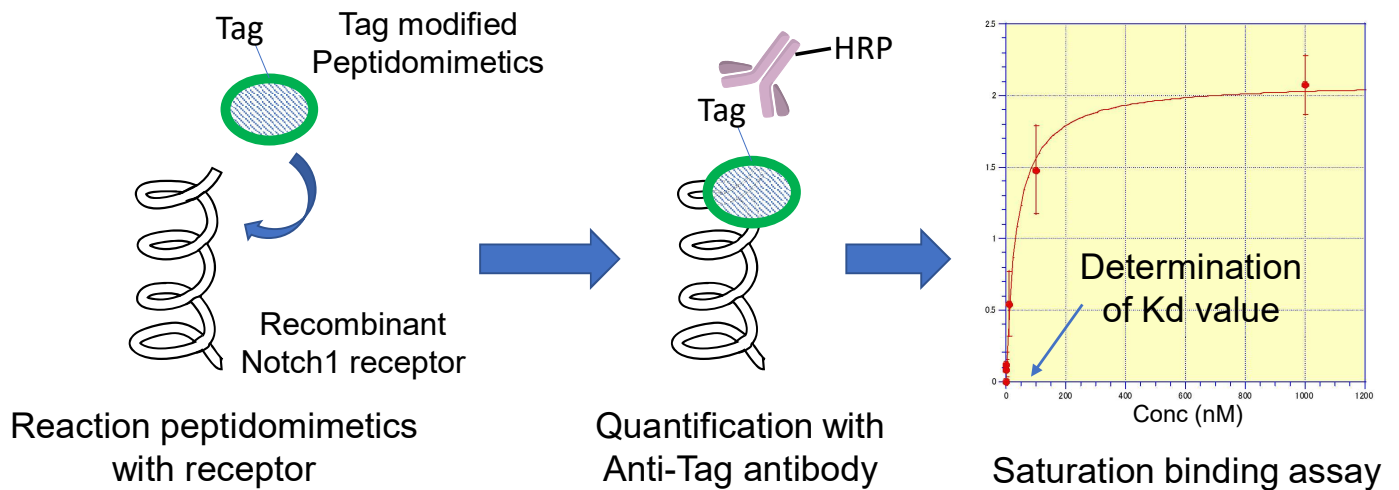


# Design and synthesis of peptidomimetics, and evaluation for the binding ability to Notch1 receptor

## Design and Synthesis of Peptidomimetics

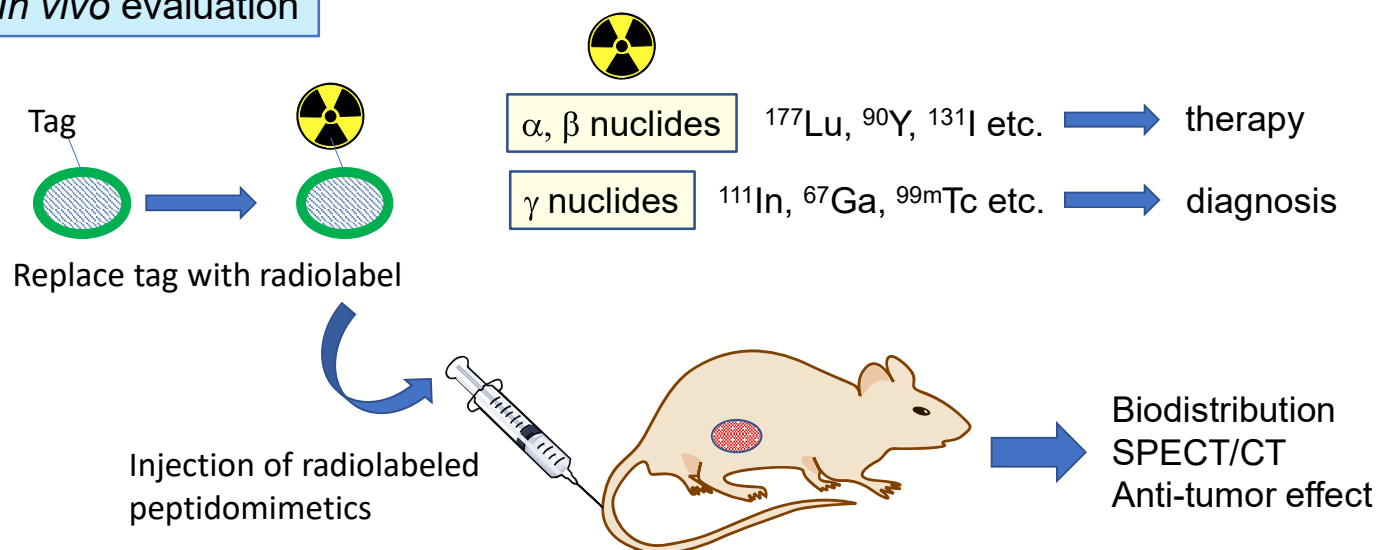


## In vitro evaluation

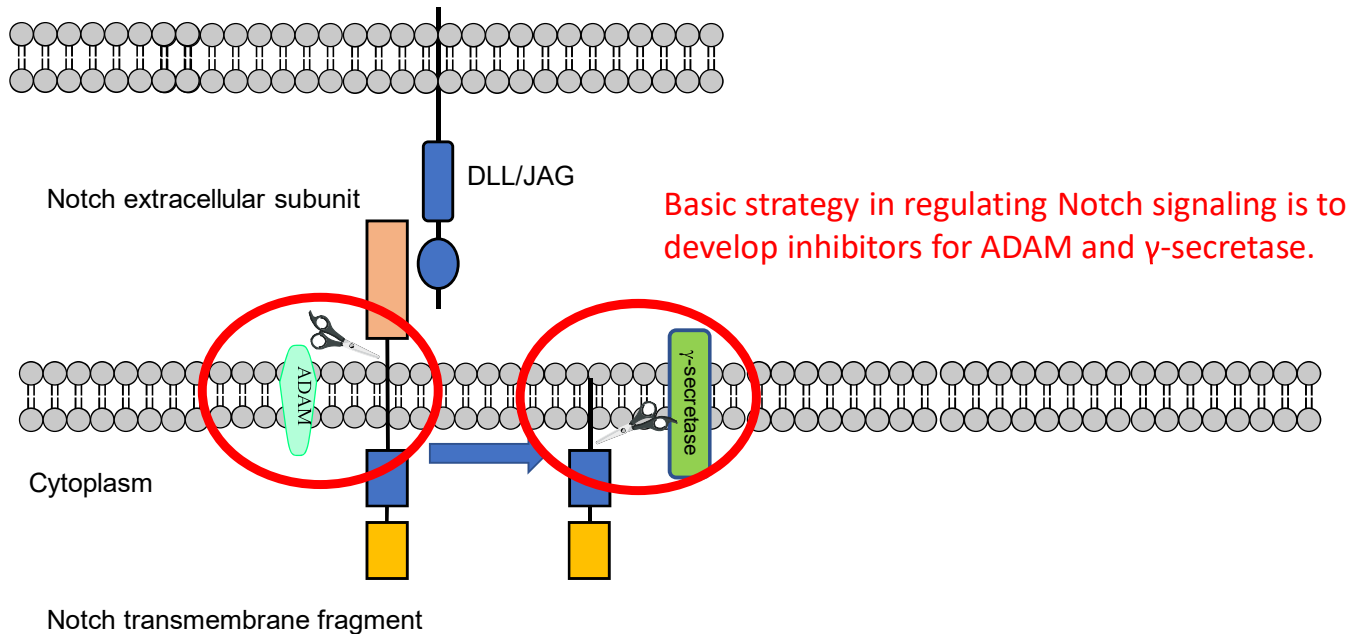


# Design and synthesis of peptidomimetics, and evaluation for the binding ability to Notch1 receptor

## In vivo evaluation

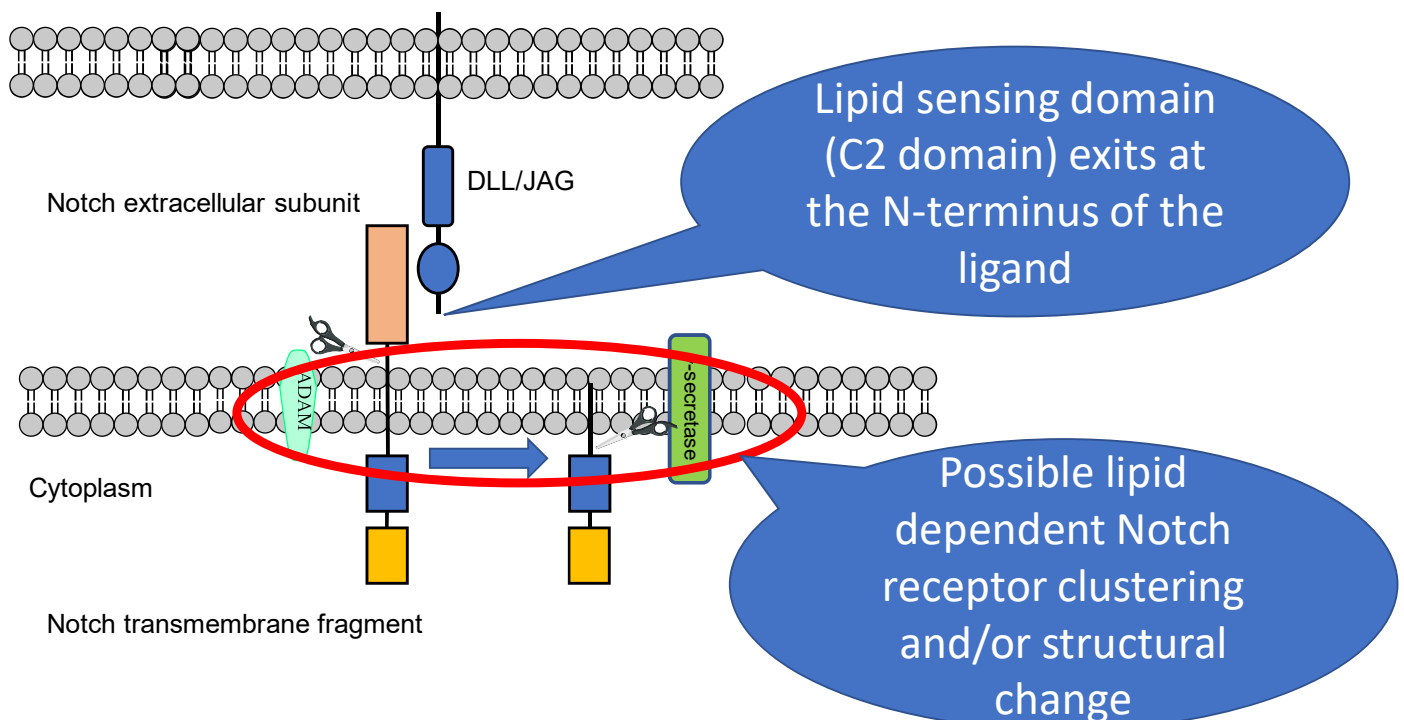


For better strategy in developing new drug  
on Notch signaling system  
~Elucidating the activation mechanism~



Knowing the activation process in detail must contribute to develop new type of drug

Possible protein-lipid interaction  
for Notch signaling process



We focus on protein-lipid interaction for elucidating the activation mechanism  
Preliminary data from MD simulation suggests DLL1 senses GM3

報道関係各位

平成 30 年度文部科学省 私立大学研究ブランディング事業 最終年度活動報告  
**国際共同研究拠点とオンデマンドシンポジウムを開催**  
放射線内用療法の普及や様々な治療への応用を目指した研究の成果を発信

京都薬科大学（京都市山科区）は、2021 年 3 月 1 日（月）13 時から「受容体特異的画像化技術を基盤とするがん放射線内用療法（ラジオセラノスティクス）研究拠点の形成」（※）に関する事業について、国際共同研究拠点とのオンデマンド Web シンポジウムを開催します。本事業は、「平成 30 年度文部科学省 私立大学研究ブランディング事業」の支援対象校としての事業です。

本ブランディング事業では、小動物に投与した放射性同位元素（ $\gamma$ 線放出核種）を世界最高水準の精度で高感度に測定する装置 SPECT/CT（ベルギー-MOLECUBES 社製）を駆使し、次世代型放射線内用療法の提案を目的として研究を推進しています。

これまでの成果として、2018 年度にキックオフシンポジウムを開催、2020 年 2 月 26 日にはドイツ・ヴュルツブルク大学の化学・薬学部と研究協力に関する連携協定を締結して合同報告会を開催するなど、国際的な共同研究体制を構築してきました。今年度は、私立大学研究ブランディング事業としての最終年度であり、本シンポジウムで 3 年間の研究成果の最終報告を行います。今回、新型コロナウイルス感染症の影響に鑑みて、オンデマンド配信により開催することといたしました。

本事業を基盤として、今後も引き続き、放射線内用療法の普及や様々な治療への応用を目指し、先端的研究で得られる成果を世界に向けて発信していきます。

本シンポジウムの実施概要は以下の通りです。

（※）京都薬科大学は、本学が持つ優れた研究基盤をもとに放射線内用療法 radio-theranostics 「therapeutics（治療）+diagnostics（診断）」研究拠点を構築・機能させ、次世代がん研究を本学のブランドとしていくことや、本成果を突破口として、「先進的な研究に支えられた薬学のプロフェッショナルの育成を追求する大学」として“京薬ブランド”を世界に発信することを目指しています。

**【 オンデマンド Web シンポジウム 】実施概要**

配信日時 : 2021 年 3 月 1 日（月）13 : 00～3 月 12 日（金）17 : 00

開催形式 : Web オンデマンド配信

質問および回答はテキスト形式（視聴申込者へ質問受付フォームを送信）



視聴方法 : 事前申込制

下記 URL よりお申込みください。後日、ご登録いただいたメールアドレスに視聴用 URL をお送りします。

[https://forms.office.com/Pages/ResponsePage.aspx?id=yse8bnIKDUu0Scujs0Ii\\_lBewbgmyKBPlI5Wapoiei5U0UEXMIICVExFSjJOMTQzSudVRkpUVjNPVi4u&qrcode=true](https://forms.office.com/Pages/ResponsePage.aspx?id=yse8bnIKDUu0Scujs0Ii_lBewbgmyKBPlI5Wapoiei5U0UEXMIICVExFSjJOMTQzSudVRkpUVjNPVi4u&qrcode=true)

申込期間 : 2021 年 2 月 19 日(金)~3 月 11 日(木) 17 時まで



プログラム :

・開会の辞 京都薬科大学 学長 後藤 直正

・招待講演

「Past, present and future of preclinical PET SPECT and CT imaging:  
an overview of technology driven innovation illustrated with relevant applications in  
various therapeutic research areas」

Niek van Overberghe & Kim Braeckman (MOLECUBES)

「An overview of Preclinical PET in the translational pathway」

Christopher Cawthorne (KU Leuven, Nuclear Medicine & Molecular Imaging)

・ブランディング事業報告

「小動物用 SPECT による低エネルギー  $\gamma$  線放出核種画像化の試み」

河嶋 秀和 (京都薬科大学 放射性同位元素研究センター)

「がんラジオセラノスティクスを指向した薬剤開発」

木村 寛之 (京都薬科大学 代謝分析学分野)

「パーキンソン病の病態解明に向けた  $\alpha$  シヌクレインの凝集・線維化機構の解明」

扇田 隆司 (京都薬科大学 薬品物理化学分野)

「ヒト iPS 細胞技術を応用したパーキンソン病に対する neurotheranostics の開発に向けて」

西村 周泰 (京都薬科大学 統合薬科学系)

「Notch 受容体活性化における Context Dependency の機構解明に向けて」

佐藤 毅 (京都薬科大学 基礎科学系)

「Notch 受容体を標的とする核医学治療薬剤の開発」

長谷川 功紀 (京都薬科大学 共同利用機器センター)

閉会の辞 京都薬科大学 副学長 赤路 健一

本件に関するお問い合わせ先

京都薬科大学 企画・広報課

担当: 川勝・谷垣

TEL: 075-595-4691 FAX: 075-595-4750

kikaku@mb.kyoto-phu.ac.jp

# 受容体特異的画像化技術を基盤とするがん放射線内用療法 (radio-theranostics) 研究拠点の形成

京都薬科大学-国際共同研究拠点 オンデマンドWebシンポジウム  
主催：京都薬科大学

配信日時：2021年3月1日（月）13：00～3月12日（金）17：00まで

開催形式：Webオンデマンド配信  
質問および回答はテキスト形式

## 事前申込方法

[https://forms.office.com/Pages/ResponsePage.aspx?id=yse8bnIKDUu0ScujsOli\\_BewbgmyKBPlI5Wapoiei5UOUExMlICVExFsjJOMTQzSudVRkpUVjNPVi4u](https://forms.office.com/Pages/ResponsePage.aspx?id=yse8bnIKDUu0ScujsOli_BewbgmyKBPlI5Wapoiei5UOUExMlICVExFsjJOMTQzSudVRkpUVjNPVi4u)

下記URL(QRコード)  
よりお申込み下さい



接続アドレスをメールでお知らせします

開会の辞 京都薬科大学 学長 後藤 直正

## 招待講演

「Past, present and future of preclinical PET SPECT and CT imaging:  
an overview of technology driven innovation illustrated with relevant applications in  
various therapeutic research areas」

Niek van Overberghe & Kim Braeckman (MOLECUBES)

「An overview of Preclinical PET in the translational pathway」

Christopher Cawthorne (KU Leuven, Nuclear Medicine & Molecular Imaging)

## ブランディング事業報告

「小動物用SPECTによる低エネルギー $\gamma$ 線放出核種画像化の試み」

河嶋 秀和 (京都薬科大学 放射性同位元素研究センター)

「がんラジオセラノスティクスを指向した薬剤開発」

木村 寛之 (京都薬科大学 代謝分析学分野)

「パーキンソン病の病態解明に向けた $\alpha$ シヌクレインの凝集・線維化機構の解明」

扇田 隆司 (京都薬科大学 薬品物理化学分野)

「ヒトiPS細胞技術を応用したパーキンソン病に対するneurotheranostics

の開発に向けて」

西村 周泰 (京都薬科大学 統合薬科学系)

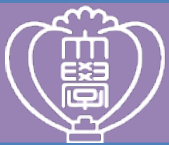
「Notch受容体活性化におけるContext Dependencyの機構解明に向けて」

佐藤 毅 (京都薬科大学 基礎科学系)

「Notch受容体を標的とする核医学治療薬剤の開発」

長谷川 功紀 (京都薬科大学 共同利用機器センター)

閉会の辞 京都薬科大学 副学長 赤路 健一



連絡・問い合わせ先：〒607-8412 京都市山科区御陵四丁野町1  
京都薬科大学 共同利用機器センター 長谷川 功紀・事務担当 前田 貴代  
TEL:075-595-4681 E-mail: research-brand-prj@mb.kyoto-phu.ac.jp

平成 30 年度文部科学省 私立大学研究ブランディング事業

受容体特異的画像化技術を基盤とするがん放射線内用療法  
(radio-theranostics) 研究拠点の形成

京都薬科大学-国際共同研究拠点  
オンデマンド Web シンポジウム  
講演要旨集

配信日時：2021 年 3 月 1 日（月）13：00 ～  
3 月 12 日（金）17：00 まで

開催形式：Web オンデマンド配信

主催：京都薬科大学

## プログラム

開会の辞 京都薬科大学 学長 後藤 直正

### 招待講演

「Past, present and future of preclinical PET SPECT and CT imaging: an overview of technology driven innovation illustrated with relevant applications in various therapeutic research areas」

Niek van Overberghe & Kim Braeckman (MOLECUBES)

「An overview of Preclinical PET in the translational pathway」

Christopher Cawthorne (KU Leuven, Nuclear Medicine & Molecular  
Imaging )

### ブランディング事業報告

「小動物用 SPECT による低エネルギー  $\gamma$  線放出核種画像化の試み」

河嶋 秀和 (京都薬科大学 放射性同位元素研究センター)

「がんラジオセラノスティクスを指向した薬剤開発」

木村 寛之 (京都薬科大学 代謝分析学分野)

「パーキンソン病の病態解明に向けた $\alpha$ シヌクレインの凝集・線維化機構の解明」

扇田 隆司（京都薬科大学 薬品物理化学分野）

「ヒト iPS 細胞技術を応用したパーキンソン病に対する neurotheranostics

の開発に向けて」

西村 周泰（京都薬科大学 統合薬科学系）

「Notch 受容体活性化における Context Dependency の機構解明に向けて」

佐藤 毅（京都薬科大学 基礎科学系）

「Notch 受容体を標的とする核医学治療薬剤の開発」

長谷川 功紀（京都薬科大学 共同利用機器センター）

閉会の辞 京都薬科大学 副学長 赤路 健一



## **Past, present and future of preclinical PET SPECT and CT imaging: an overview of technology driven innovation illustrated with relevant applications in various therapeutic research areas**

Niek van Overberghe & Kim Braeckman, MOLECUBES

In this webinar Dr. Kim Braeckman and Mr. Niek Van Overberghe aim at providing the audience with more insights into the history, current state and future perspectives of preclinical PET, SPECT and CT imaging. The lecture will start with a chapter on a historic overview showing the evolution in performance and capabilities in the last 20 years. In a next chapter, we will introduce a state of the art bench top imaging platform that causes a paradigm shift in preclinical imaging which has led to new developments that will make preclinical imaging an even more powerful tool in the future. To illustrate the performance of such benchtop preclinical systems, the lecture will also showcase a few highlighted applications in more detail before bringing us to a conclusion and some take home messages.

### Dr. Kim Braeckman

Dr. Kim Braeckman obtained her Master in Biomedical Sciences with a Major in Medical Radiation Sciences at Ghent University in 2015 focussing on the development of bile acid analogues for the visualisation of the enterohepatic cycle with SPECT. Soon after that she joined the Infinity lab at Ghent University, where she carried out her PhD studies under the supervision of Prof. Christian Vanhove and Dr. Benedicte Descamps. She has been working on diffusion MRI biomarkers to detect mild traumatic brain injury in rats and to determine the influence of a cognitive training program. In 2019, she obtained her PhD in Biomedical Engineering at the University of Ghent. Dr. Braeckman started working at MOLECUBES as an Application Specialist in October 2019.

### Mr. Niek Van Overberghe

Mr. Niek van Overberghe obtained a Master in applied biochemistry from the KU Leuven and a Master in biomedical engineering from the University of Ghent. After completing his studies, Niek took on various commercial roles at both small and large international companies such as Sigma-Aldrich and Merck KGaA prior to joining MOLECUBES. Since 2017, Niek has been establishing an international network to promote MOLECUBES product portfolio consisting of preclinical bench top PET, SPECT and CT imaging devices. Today, he is leading a team of 4 experienced sales professionals dedicated to making molecular imaging available for a broader community.

# **An overview of Preclinical PET in the translational pathway**

**Christopher Cawthorne**

Molecular Small Animal Imaging Centre (MoSAIC), Katholieke Universiteit Leuven

Translation can be defined as “The process of turning observations in the laboratory, clinic and community into interventions that improve the health of individuals and the public — from diagnostics and therapeutics to medical procedures and behavioural changes”, whilst ‘translational research’ can be defined as “the endeavour to traverse a particular step of the translation process for a particular target or disease.”

In the context of drug development, observations can be described as biomarkers, defined as “a characteristic that is measured as an indicator of normal biological processes, pathogenic processes or responses to an exposure or intervention, including therapeutic interventions”. Biomarkers are thus vital to identify a patient population with a particular pathology, or to that will benefit from a particular therapy. As such biomarkers can be classified into four types: diagnostic, prognostic, predictive, and therapeutic. In particular, imaging biomarkers have great potential to provide this information as they are noninvasive, and allow access to the biological state of otherwise inaccessible tissue (eg the brain).

Translation of imaging biomarkers is thus the process whereby imaging methods developed and assessed in animals progress to application in the clinic. The key contribution of preclinical imaging is longitudinal study, allowing parameters to be measured over time and without sacrifice. Preclinical models can be created with defined conditions (eg knockout). Preclinical PET thus has several major applications: initial

probe validation, interrogation of preclinical disease models as well as the assessment of *In vivo* receptor occupancy for putative drug candidates.

The focus of this talk is to illustrate with example each of these applications at the Molecular Small Animal Imaging Centre at KU Leuven, and also to summarise instrument validation for a novel commercial hybrid modality, i.e. PET MRI.

For the validation of novel probes intended for cancer diagnosis and therapy, preclinical imaging allows specificity of uptake to be assessed in tumour models with molecular alterations to the target of interest. As well as probe specificity, classic pharmacokinetic parameters can also be established; with compound residency assessable via repeat imaging. For theranostic agents preclinical dosimetry is also able to be measured. Here we illustrate this process for a putative CXCR4 theranostic agent.

Preclinical PET also allows the assessment of complex neurobiology in models of addiction, and an example in the area of addiction is also presented. Finally, the assessment and validation of candidate therapy response biomarkers for targeted therapies in preclinical models of cancer is also demonstrated, making use of both pharmacological intervention and molecular biology techniques to manipulate target biology.

An overview of preclinical instrumentation at MoSAIC is presented, with a focus on PET imaging of neuro-receptor occupancy in non-human primates with PET, the development of high-throughput, low dose PET-CT for general small animal PET studies involving novel and existing radiotracer probes; the use of preclinical SPECT with novel isotopes and the application of novel hybrid modalities (simultaneous PET-MRI).

Finally, an overview of the validation process for simultaneous PET-MRI as a hybrid imaging modality is presented.

## Dr. Christopher Cawthorne

After completing a PhD in Molecular Pharmacology in the Laboratory of Professor Caroline Dive in 2005, I moved to postdoctoral studies under Professors Pat Price and Terry Jones at the Wolfson Molecular Imaging Centre in Manchester UK, focusing on the preclinical applications of PET in the field of Oncology. In 2013 I was appointed Lecturer in Molecular Imaging at the University of Hull, where I was also the Head of Preclinical Imaging at the University of Hull PET Research Centre, focusing on the testing and validation of novel imaging probes and radiolabelled compounds in preclinical oncology models. In 2018 I was appointed as a Research Expert at the Molecular Small Animal Imaging Centre at KU Leuven in Belgium, where I am responsible for managing the Nuclear Medicine and Molecular Imaging Infrastructure for Preclinical Research, across the domains of cardiology, oncology and neurology.



**KU LEUVEN**

## Preclinical PET at the Molecular Small Animal Imaging Center (MoSAIC)

Overview and potential in the translational pathway



Christopher Cawthorne  
Co-ordinator, Flanders BioImaging  
Symposium, 1<sup>st</sup> March 2021

**MIRaCle** MOLECULAR IMAGING RESEARCH AND CLINIC LEUVEN

---

---

---

---

---

---

---

---

## Translation

**MIRaCle** MOLECULAR IMAGING RESEARCH AND CLINIC LEUVEN

"The process of turning observations in the laboratory, clinic and community into interventions that improve the health of individuals and the public — from diagnostics and therapeutics to medical procedures and behavioural changes".

"translational research' is defined by NCATS as the endeavour to traverse a particular step of the translation process for a particular target or disease."

*C.P. Austin, Nature Reviews Drug Discovery, 2018*

Preclinical imaging aims to develop new **imaging biomarkers**, via validation of new or existing agents via longitudinal measurement in preclinical models before and after interventions

2 **KU LEUVEN**

---

---

---

---

---

---

---

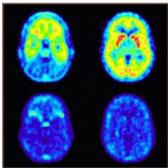
---

## Imaging biomarkers

**MIRaCle** MOLECULAR IMAGING RESEARCH AND CLINIC LEUVEN

Defined as "defined characteristic that is measured as an indicator of normal biological processes, pathogenic processes or responses to an exposure or intervention, including therapeutic interventions".  
(Biomarkers Definitions Workgroup., 2001)

- Diagnostic/prognostic biomarkers – predictive of patient outcome
- Predictive biomarkers – predictive of patient outcome in response to a particular therapy, enabling **patient stratification**
- Pharmacological (PK/PD)/response biomarkers – **early readouts of drug efficacy** in clinical trials



3 **KU LEUVEN**

---

---

---

---

---

---

---

---

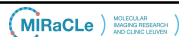
## Rationale for Preclinical Imaging



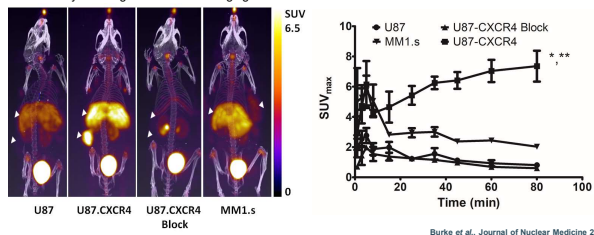
- Imaging enables longitudinal study of preclinical models
- This allows their interrogation without sacrifice, **reducing animal use and biological variability.**
- A range of preclinical models can be used to create defined conditions, e.g. induction of specific target related to pathology.
- For initial probe validation:
  - Probe uptake to be quantified at a range of timepoints to be quantified in the same animal
  - Specificity to be assessed in same animals
- For interrogation of preclinical models:
  - Repeat measures at different pathological stages or after multiple interventions; multiplexing with other imaging (or non-imaging) biomarkers
- **In vivo receptor occupancy can be quantitatively assessed for drug candidates.**

KU LEUVEN

## Validation of novel imaging probes



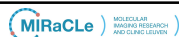
- $^{64}\text{Cu}$ -labelled CXCR4 antagonist ('Theranostic')
- From single isotope delivery, specificity assessed in tumour models that express/lack CXCR4
- Time-activity curves generated from imaging data



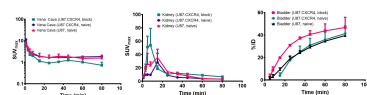
Burke et al., Journal of Nuclear Medicine 2020

KU LEUVEN

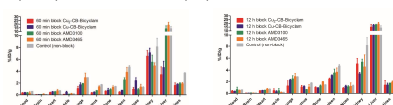
## Validation of novel imaging probes



- $^{64}\text{Cu}$ -labelled CXCR4 antagonist ('Theranostic')
- As probe identical to drug, basic PK parameters could be established from image data



- Dosimetry for probe (and theranostic counterpart) can also be derived



Burke et al., Journal of Nuclear Medicine 2020

- Imaging at different times after administration of receptor blocking agents allows residency to be assessed

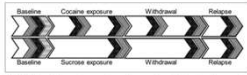
KU LEUVEN

## Interrogation of preclinical model systems

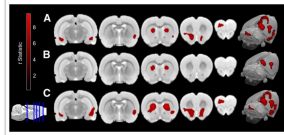


MOLECULAR  
IMAGING RESEARCH  
AND CLINICAL LEUVEN

- $^{18}\text{F}$ -FPEB PET and  $^1\text{H}$ -MRS carried out before and after sucrose or intravenous cocaine self-administration, during withdrawal, and during relapse in rats.
- Longitudinal study allowed elucidation of the temporal dynamics of the biologic processes underlying addiction



**FIGURE 1.** Schematic overview of experimental design for cocaine group (top) and control group (bottom). From left to right, each set of patterns represents  $^{18}\text{F}$ -FPEB PET, and  $^1\text{H}$ -MRS.



**FIGURE 3.** Significant SPM clusters ( $P < 0.00001$ , familywise error-corrected) locate significant differences between rats self-administering sucrose or cocaine during drug exposure (A), withdrawal (B), and relapse (C).

- Cocaine and sucrose have different effects on mGluR5 availability

De Laat et al., Journal of Nuclear Medicine 2018

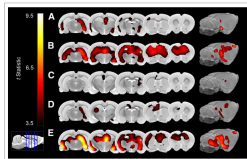
KU LEUVEN

## Interrogation of preclinical model systems

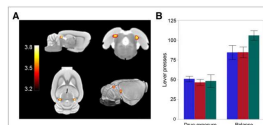


MOLECULAR  
IMAGING RESEARCH  
AND CLINICAL LEUVEN

- $^{18}\text{F}$ -FPEB PET and  $^1\text{H}$ -MRS carried out before and after sucrose or intravenous cocaine self-administration, during withdrawal, and during relapse in rats.
- Longitudinal study allowed elucidation of the temporal dynamics of the biologic processes underlying addiction



**FIGURE 4.** Significant SPM clusters ( $P < 0.0005$ , uncorrected) locate decrease in mGluR5 BPND of cocaine group during drug exposure week 1 (B), drug exposure week 2 (B), withdrawal week 1 (C), withdrawal week 2 (C), and relapse (D). Most important decreases are bilaterally in hippocampus during weeks of drug exposure. Normalization can be observed during both withdrawal weeks (C and D).



**FIGURE 5.** (A) Clusters of  $^{18}\text{F}$ -FPEB binding that positively correlated with quantity of cocaine use in left and right subiculum. (B) Classification of rats based on  $^{18}\text{F}$ -FPEB BPND in this cluster suggests that this association was most apparent during relapse phase. Observations are categorized by low (blue, 1-2.5), average (red, 2.5-3.2), or high (green, 3.2-4.5)  $^{18}\text{F}$ -FPEB binding potential, with each group containing approximately one third of all observations. Error bars represent SEM.

- mGluR5 availability correlated with cocaine use at relapse

De Laat et al., Journal of Nuclear Medicine 2018

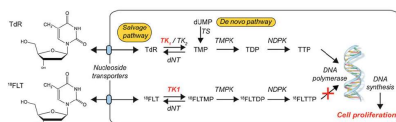
KU LEUVEN

## Validation of novel imaging biomarkers



MOLECULAR  
IMAGING RESEARCH  
AND CLINICAL LEUVEN

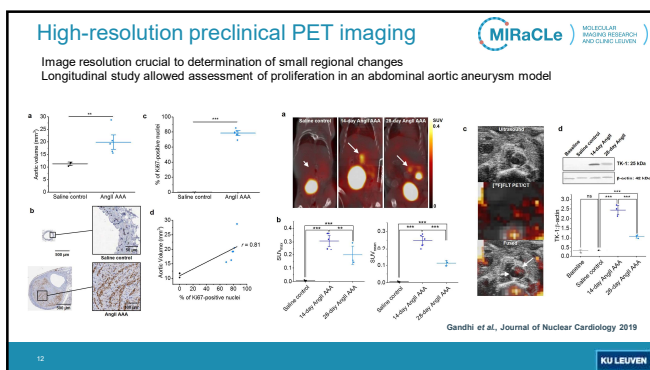
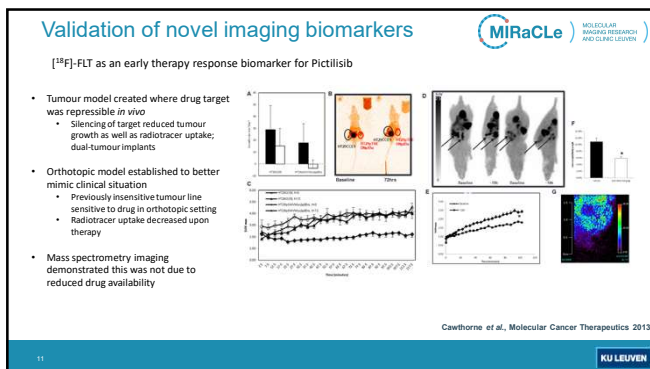
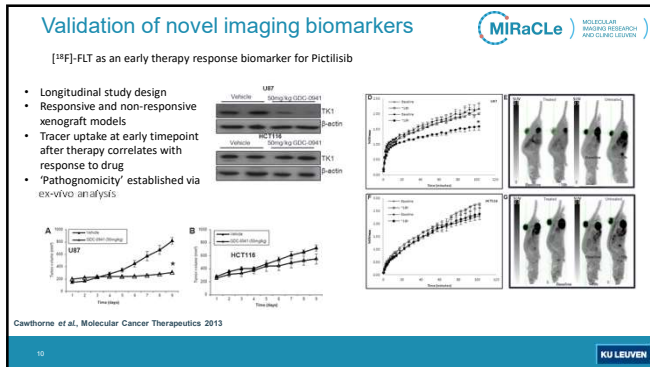
$^{18}\text{F}$ -FLT as an early therapy response biomarker for Pictilisib



- Uptake of  $^{18}\text{F}$ -FLT depends on relative use of salvage pathway


Nguyen & Abougie, 2019

KU LEUVEN



### Molecular Small Animal Imaging Centre (MoSAIC)

- Integrates heavy infrastructure for small animal imaging and ancillary tools
- $\mu$ PET -  $\mu$ PET/CT -  $\mu$ SPECT -  $\mu$ CT -  $\mu$ MRI: 9.4T + 7.0T -  $\mu$ PET/MR
- optical imaging
- radiopharmaceutical research (autoradiography, ...) – experimental radiotherapy
- Housing – hotellab



[https://gbiomed.kuleuven.be/english/corefacilities/copy\\_of\\_mosaic](https://gbiomed.kuleuven.be/english/corefacilities/copy_of_mosaic)

KU LEUVEN

---

---

---

---

---


---

---

---

### MoSAIC: Nuclear Imaging Capabilities

- $\mu$ PET - Siemens Focus 220 large-bore preclinical PET scanner
- $\mu$ PET/PET/CT – Dual Molecubes  $\beta$ -cube PET scanners and X-cube CT scanner
- $\mu$ SPECT – Molecubes  $\gamma$ -cube
- $\mu$ PET/MR (7.0T) – Bruker Albira Si78 PET insert, BioSpec 70/30 7T MRI



KU LEUVEN

---

---

---

---

---

---


---

---

### Validation of novel imaging probes

MIRaCLe (MOLECULAR IMAGING RESEARCH AND CLINICAL LEUVEN)

- Full quantitation of PET probes requires timecourse of radiolabelled parent in plasma to be established, which requires blood sampling
- In rodents this can be achieved via an arterio-venous shunt coupled to a beta-counter; in larger animals arterial blood is passed through the counter and discarded as for humans



Ali et al., Journal of Nuclear Medicine 2013

KU LEUVEN

---

---

---

---

---

---

---

---

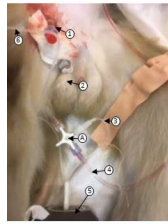
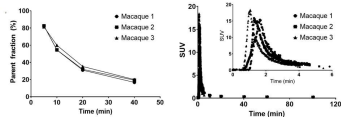


## Pharmacodynamic biomarkers: Receptor occupancy of novel compounds

MIRaCle MOLECULAR  
IMAGING RESEARCH  
AND CLINICAL LEUVEN



- HDAC-6 PET tracer used to assess receptor occupancy of existing and novel agents
- Initial scans with full arterial sampling and metabolite analysis established baseline uptake and kinetic modelling approach



Celen et al., ACS Chemical Neuroscience 2020

16

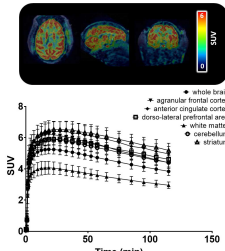
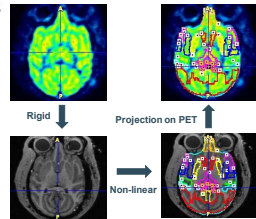
KU LEUVEN

## Pharmacodynamic biomarkers: Receptor occupancy of novel compounds

MIRaCle MOLECULAR  
IMAGING RESEARCH  
AND CLINICAL LEUVEN



MR-guided spatial normalization to standard space



Selditz et al., NeuroImage 2019

Celen et al., ACS Chemical Neuroscience 2020

17

KU LEUVEN

## Pharmacodynamic biomarkers: Receptor occupancy of novel compounds

MIRaCle MOLECULAR  
IMAGING RESEARCH  
AND CLINICAL LEUVEN

- Kinetic modelling approaches compared and selected

Brain region	V <sub>T</sub> (ml/cm)		Slope	AIC	
	1TCM	2TCM		1TCM	2TCM
agranular frontal cortex	52 ± 12	54 ± 14	51 ± 12	-26 ± 9	-27 ± 14
anterior cingulate cortex	62 ± 11	73 ± 7	59 ± 11	-30 ± 9	-30 ± 15
auditory cortex	52 ± 13	54 ± 12	51 ± 11	-26 ± 7	-26 ± 10
caudolateral	53 ± 9	57 ± 8	53 ± 9	-28 ± 12	-24 ± 14
dorsolateral prefrontal area	75 ± 20	82 ± 23	65 ± 20	-35 ± 6	-34 ± 8
orbital prefrontal area	62 ± 11	64 ± 11	59 ± 10	-28 ± 5	-28 ± 11
parietal	49 ± 9	52 ± 10	50 ± 11	-25 ± 12	-26 ± 12
posterior cingulate cortex	53 ± 11	62 ± 9	54 ± 11	-37 ± 7	-39 ± 10
prefrontal area	49 ± 13	49 ± 15	49 ± 13	-15 ± 10	-16 ± 13
ventromedial cortex	49 ± 10	42 ± 8	50 ± 11	-24 ± 8	-24 ± 10
striatum	49 ± 13	70 ± 15	64 ± 12	-15 ± 7	-16 ± 13
visual cortex	43 ± 8	47 ± 7	43 ± 8	-11 ± 6	-9 ± 9
cingulate	70 ± 13	88 ± 14	67 ± 20	-20 ± 10	-14 ± 6
hippocampus	40 ± 12	49 ± 13	64 ± 13	-20 ± 12	-19 ± 17
thalamus	52 ± 9	55 ± 8	49 ± 8	-40 ± 13	-40 ± 17
pons	33 ± 5	40 ± 3	35 ± 4	-10 ± 7	-10 ± 10
corpus callosum	34 ± 5	42 ± 5	30 ± 4	-14 ± 10	-24 ± 15

Celen et al., ACS Chemical Neuroscience 2020

18

KU LEUVEN

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

## High-throughput, low dose PET imaging



High throughput imaging reduces:

- Costs
- Biological variability with higher group sizes

Low dose imaging reduces:

- Dose to operators
- **Radiation-induced effects in biological models**  
(50-500mGy threshold)
- Need for high volumetric activity

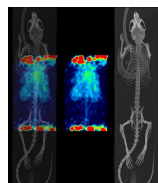
[illegible]

Aide et al., EJNMMI 2012  
Taschereau et al., Medical Physics 2007

KULLEIVEN

## MoSAIC: Nuclear Imaging Capabilities

- $\mu$ SPECT – Molecules  $\gamma$ -cube
- Allows the longitudinal assessment of radiolabelled compound uptake for a variety of existing and novel isotopes:
  - $^{99m}\text{Tc}$ ,  $^{111}\text{In}$ ,  $^{177}\text{Lu}$ ,  $^{161}\text{Tb}$ ,  $^{155}\text{Tb}$
- FOV selected via  $\mu$ CT scan for determination of uptake in selected organs/tumour



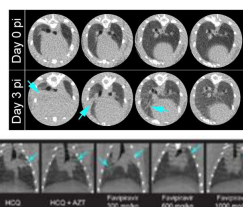
- [ $^{155}\text{Tb}$ ]-labelled compound
- 1 hour scan
- <1MBq injected



## MoSAIC: Nuclear Imaging Capabilities



- **μPET/PET/CT – Dual Molecubes β-cube**  
PET scanners and X-cube CT scanner
- High quality standalone μCT used as part of therapy assessment in a hamster model of COVID-19
- **Portable unit** installed in a BSL3+ facility at the Rega Institute

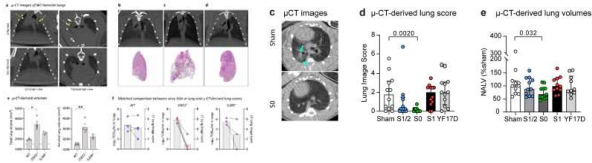


Kaptein et al., PNAS 2020

KULLEVEN

### MoSAIC: Nuclear Imaging Capabilities

- High quality standalone  $\mu$ CT used as part of COVID-19 therapy response monitoring and vaccine candidate assessment

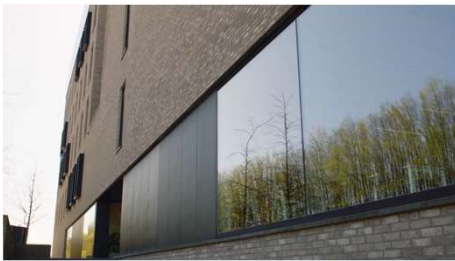


Boudewijns et al., Nature Communications 2020

Felipe-Sanchez et al., Nature 2021

KU LEUVEN

### $\mu$ CT: BL3+ Facility use



KU LEUVEN

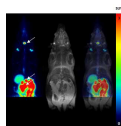
### MoSAIC: Nuclear Imaging Capabilities

- $\mu$ PET/MR (7.0T) – Bruker Albira Si78 PET insert, BioSpec 70/30 USR 7T MRI

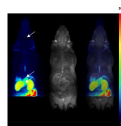


#### Simultaneous PET-MRI imaging

- Allows multiparameter longitudinal assessment in preclinical models
- Applications in Oncology, NeuroPET and Cardiology
- Superior mapping of organs for longitudinal biodistribution/blocking studies



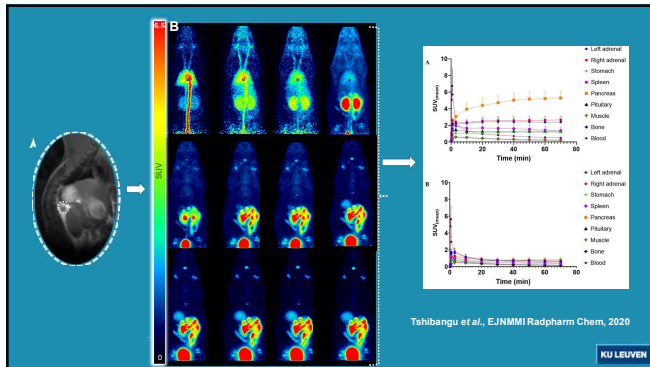
Pre-block  
High uptake in SSTR2-expressing regions



Post-block  
Reduced uptake in SSTR2-expressing regions

Tshibangu et al., EJNMMI Radpharm Chem, 2020

KU LEUVEN




---

---

---

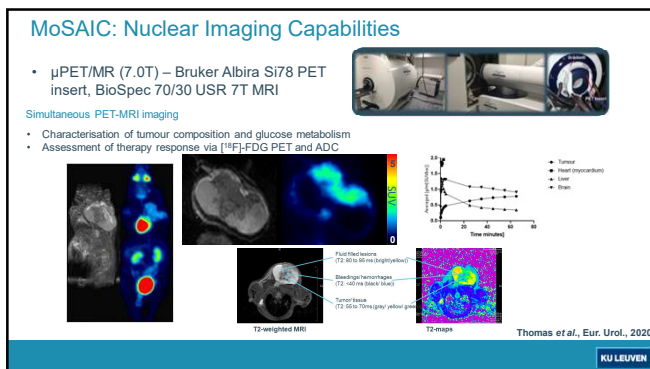
---

---

---

---

---




---

---

---

---

---

---

---

---

**KU LEUVEN**

### Performance characterization of simultaneous preclinical PET/MRI instrumentation at KU Leuven

**MIRaCle** MOLECULAR IMAGING RESEARCH AND CLINIC LEUVEN

---

---

---

---

---

---

---

---



## KUL PET-MRI setup



- **Bruker Biospec 70/30**  
BGA205 gradient with a bore size of 30 cm (ID), equipped with 20 cm ID actively shielded gradients (200 mT/m). Two quadrature birdcage transmit/receive radio-frequency (RF) coils tested for mouse (ID of 40 mm, Quad40) and rat (86 mm ID, Quad86) imaging.
- **Bruker Albira Si PET insert:**  
3 rings of monolithic LYSO crystal (50x50x10 mm<sup>3</sup>) detector blocks coupled to an array of 12x12 SiPMs with 3x3 mm<sup>2</sup> active area (4.2 mm pitch). PET data acquisition system uses 12-bit analog to digital converters, 250 ns integration window and a programmable coincidence window of 3, 5, 7 and 9 ns. Transaxial FOV 80 mm, axial FOV 150 mm. Temperature stabilized ( $\pm 0.2$  °C) using controlled air cooling in the range of 20-25 °C. PET electronics shielded from the RF field, without generating eddy currents arising from the switching gradient field, using a cavity made of 3 layers of 200  $\mu$ m overlaying carbon fiber sheets.

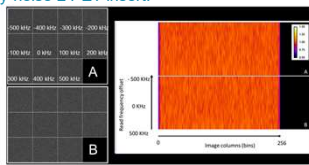
31

KU LEUVEN

## Study aims

- Assess the effect of the PET insert on MRI acquisition
  - Tests carried out based on manufacturer acceptance criteria
- Assess the effect of MRI acquisition on acquired PET data
  - Tests carried out to NEMA-NU4 standard where possible

### MRI radiofrequency noise $\pm$ PET insert:



MRI radiofrequency noise map  $\pm$  PET insert; A: -PET, B: +PET.

Geell et al., Phys.Med.Biol. 2020

32

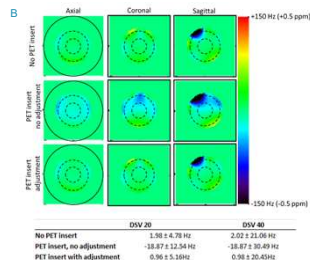
KU LEUVEN

## MRI Image quality, Signal to Noise Ratio and B<sub>0</sub> MRI field homogeneity mapping

A	coil	-PET		PET		Difference (%)	
		Short TR	Long TR	Short TR	Long TR	Short TR	Long TR
	SNR per mm <sup>3</sup>	2892	5248	2936	5154	-1.5	1.8
	SNR	142	1132	140	1108	-	-
	L-R symmetry (%)	0.1	0.3	0.1	0.2	0.0	-0.1
	Homogeneity (%)	0.7	0.5	0.6	0.5	-0.1	0
Quad 86	Reference power (W)	0.218	0.218	0.218	0.218	-	-
	Receiver gain (dB)	64	22.6	64	22.6	-	-
	Image Ghosting (%)	1.77 (MSMR)	1.65 (MSMR)	1.48 (FLASH)	1.56 (FLASH)	< 2.5	< 2.5
	SNR per mm <sup>3</sup>	1198	1992	1270	2032	-5.6	-2
	SNR	300	498	318	508	-	-
	L-R symmetry (%)	0.8	0.6	0.6	0.5	-0.2	-0.1
	Homogeneity (%)	0.8	1.9	0.7	2.7	-0.1	1.8
Quad 40	Reference power (W)	1.3	1.3	1.3	1.3	-	-
	Receiver gain (dB)	36	12.7	36	12.7	-	-
	Image Ghosting (%)	0.86 (MSMR)	0.84 (MSMR)	1.07 (FLASH)	1.07 (FLASH)	< 2.5	< 2.5
		0.79 (RARE)	0.79 (RARE)	0.79 (RARE)	0.79 (RARE)	-	-

A. MRI image quality metrics  $\pm$  PET insert in the FOV.

B. B<sub>0</sub> field maps  $\pm$  PET  $\pm$  adjustment of the center frequency and shims.



Geell et al., Phys.Med.Biol. 2020

33

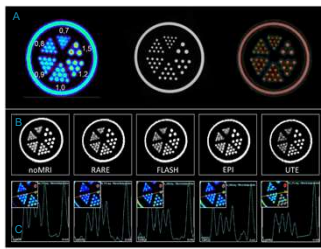
KU LEUVEN

## PET module performance



## 28 KU LEUVEN

## PET resolution: Derenzo phantom



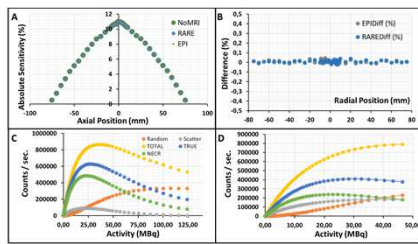
A: PET, T2-weighted MRI and fused images for 60 minutes/30 MBq [ $^{18}\text{F}$ ]-FDG acquisition.  
B: PET image of Derenzo phantom scanned for 20 minutes  $\pm$  simultaneous PET/MRI acquisition as indicated (5-10 MBq [ $^{18}\text{F}$ ]-FDG).  
C: Line profiles through the 0.9mm rods shown in B.  
All reconstructions carried out using MLEM/100 iterations/0.25 mm voxel size/partial volume correction.

Geell et al., Phys.Med.Biol. 2020

17

KU LEUVEN

## PET sensitivity, scatter fraction, count loss and random coincidence measurements (NECR):



A: Sensitivity Profile across the axial FOV with no MRI or simultaneous EPI and RARE MRI acquisition.

B: Variation in Sensitivity between EPI and RARE versus no MRI sequence

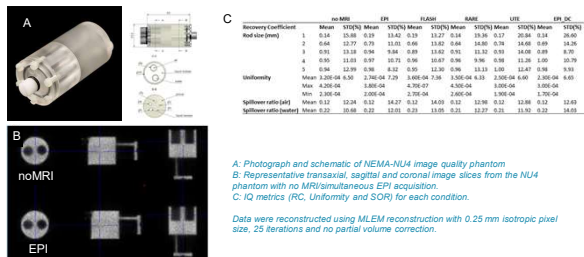
C and D: Count Rate performance for the NEMA mouse and rat phantoms respectively.  
Mouse Phantom peak @486 kcps, Rat Phantom peak @ 239 kcps (23MBq).

Geell et al., Phys.Med.Biol. 2020

18

KU LEUVEN

## PET linearity and image quality:



A: Photograph and schematic of NEMA-NU4 image quality phantom  
B: Representative transaxial, sagittal and coronal image slices from the NU4 phantom with no MRI/simultaneous EPI acquisition.  
C: IQ metrics (RC, Uniformity and SOR) for each condition.

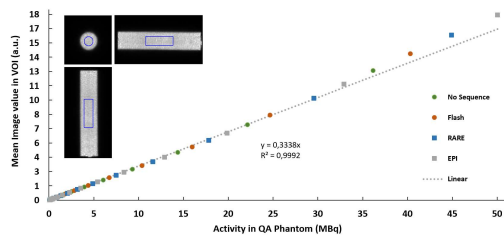
Data were reconstructed using MLEM reconstruction with 0.25 mm isotropic pixel size, 25 iterations and no partial volume correction.

Geell et al., Phys.Med.Biol. 2020

19

KU LEUVEN

### PET measurements: linearity



Linearity for quantitative PET imaging, 30 mm diameter / 140 mm length phantom filled with  $^{18}\text{F}$ , based on calibration range of 1–32 MBq. Average error =  $-1.17 \pm 1.48\%$ ,  $-1.17 \pm 1.52\%$ ,  $-0.89 \pm 1.64\%$  and  $-0.66 \pm 1.99\%$  for No Sequence, FLASH, RARE and EPI respectively.

Geell et al., Phys.Med.Biol. 2020

KU LEUVEN

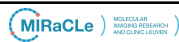
### Conclusions:

- The PET insert does not influence the MRI field homogeneity (center frequency shift of  $\sim 80$  Hz). No RF noise observed as a result of the PET insert.
- MRI image quality was preserved in the tested conditions.
- PET sensitivity (NEMA, centre FOV) is 11.0 % and is unaltered when EPI and RARE sequences are obtained.
- Noise equivalent count rate (NECR, NEMA): Mouse Phantom peak @486 kcps, Rat Phantom peak @ 239 kcps (23MBq).
- Image Quality (IQ, NEMA) comparable to state of the art systems. IQ is not significantly affected by MRI acquisition for the sequences tested.
- Spatial resolution (MLEM)  $< 1.0$  mm across the FOV and for all MRI sequences tested.
- Linearity: linear response obtained across a wide activity range, unaffected by MRI sequences tested.

41

KU LEUVEN

### Summary



- Preclinical imaging can support compound characterisation and ultimately translation at many stages, via enabling whole-body, longitudinal readouts
- High resolution (high throughput, low dose) PET and SPECT imaging is key to delivering on the potential of preclinical imaging
- Hybrid instruments allow true multiparameter imaging, enabling a wide range of readouts to be obtained in a single experiment

KU LEUVEN

## Acknowledgements


- Molecular Small Animal Imaging Centre (MoSAIC)
  - Jens Wouters, Greeje Vande Velde
- University of Hull PET Research Centre
  - Steve Archibald, Ben Burke
- Leeds Institute of Cardiovascular and Metabolic Medicine
  - Harry Tsoumpas, Marc Bailey
- Radiopharmaceutical Research, KU Leuven
  - Terence Tshibangu, Sofie Celen, Frederik Clerens, Julie Cornelis, Guy Bormans
- Nuclear Medicine and Molecular Imaging, KU/UZ Leuven
  - Michel Koole, Christophe Deroose, Kim Sertons, Koen Van Laere
- TRACE platform, KU Leuven
  - Maarten Albersen, Eleonora Leucci

PET MRI characterisation:  
 U. Himmelreich, **W. Gsell**, J. Wouters, S. Belderbos, J. Vandegaer, T. Lust, C. Deroose

Biomedical MRI group  
 C. Molinos, C. Cornecher, A. Nauwerth, T. Basse, T. Wokrina, R. Wissmann, P. Bruyndonckx, S. Junge, T. Greeb Heidenreich M

Precinical Imaging, Bruker BioSpin, Ettlingen, Germany  
 A.J. González, A. Aguilar, P. Conde, L. Hernández,  
 A. González-Montoro, S. Sánchez, K. Vidal, F. Sánchez,  
 J.M. Benlloch

Institute for Instrumentation in Molecular Imaging, i3M, Valencia, Spain



43

KU LEUVEN

---



---



---



---



---



---



---

# 小動物用SPECTによる 低エネルギー $\gamma$ 線放出核種画像化の試み

京都薬科大学・放射性同位元素研究センター 河嶋 秀和

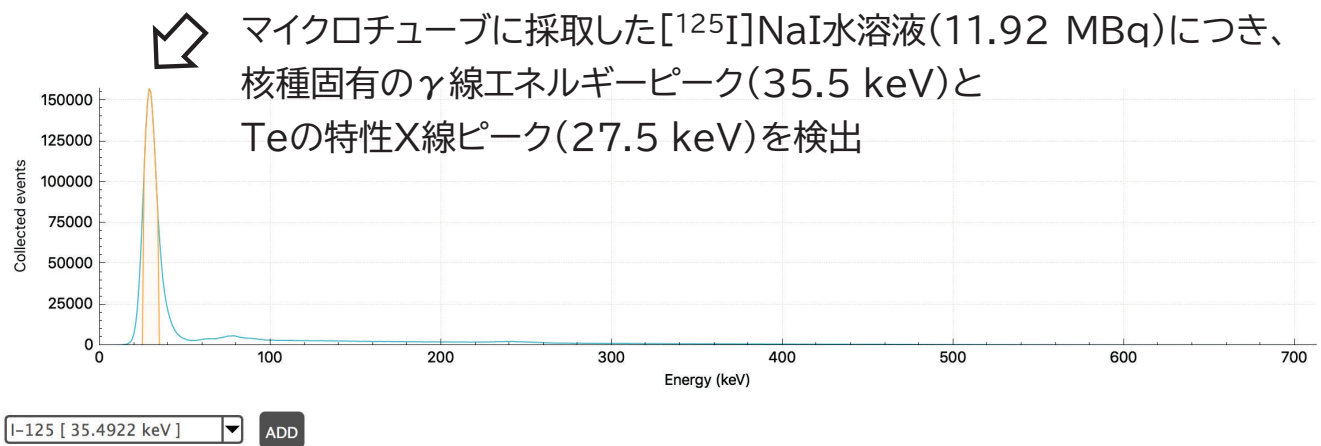
薬剤開発や診断・治療技術の研究を推進するにあたり、モデル動物を用いた検討が必要不可欠である。この目的において生体内での分子プロセス(動態)を可視化する分子イメージングが活用されており、インビボでは形態学的な観察と同時に機能情報のダイナミックな収集が求められる。SPECT(Single-photon emission computed tomography)は、生体に投与された放射性プローブ由来の $\gamma$ 線や特性X線を検出し、その分布を可視化する技術であるが、これにより生理機能や病態に関する体内の深部情報を二次元断層像として得られることから、臨床のみならず小動物イメージングにおける寄与が極めて大きい。

SPECTでは放射性プローブの体内位置情報を得るため、まず鉛やタングステン製のスリット(コリメータ)を装着し、特定の方向から来た $\gamma$ 線のみを検出部(シンチレータ)に到達させる。その後、 $\gamma$ 線の持つエネルギーをシンチレータにより光へと変換し、この光信号の分布をもとに画像を構築する。画質は主にコリメータとシンチレータに依存するが、一般的なSPECTでは50~350 keV程度のエネルギーの $\gamma$ 線の検出を想定しており、本学に導入されている装置もTc-99m(141 keV)やIn-111(171 keV, 245 keV)といった核種についての設定となっている。一方、SPECTの特性として、低エネルギー $\gamma$ 線を検出する場合、エネルギーの光変換効率が上がるため感度は高くなるものの、光散乱の問題から分解能が低くなる(画像が粗くなる)というデメリットが生じることが挙げられる。

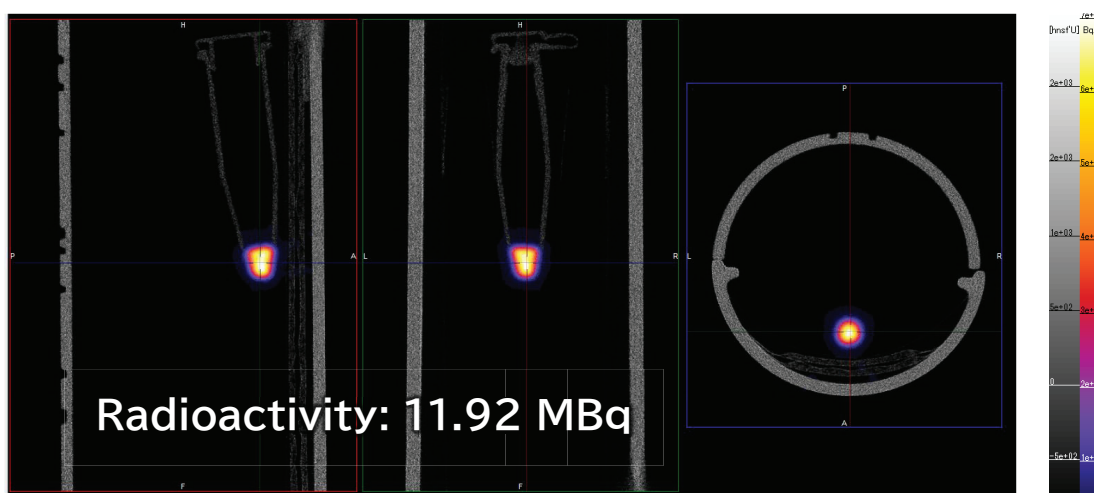
$\gamma$ 線放出核種のI-125は、その標識化合物を市販品として容易に入手できるだけでなく、新規合成した低分子やペプチド、高分子など種々の化合物に導入することも可能である。さらに、半減期が60日と長いのでプローブとしての経時的追跡に優れており、創薬や分子生物学の領域で利用されてきた。しかし、 $\gamma$ 線のエネルギーが35.5 keVと低く(娘核種であるTeから放出される特性X線のエネルギーは 27.5 keV)、小動物を対象としたSPECTイメージングにおいては透過性(体内吸収)こそ大きな問題にはならないと予想されるが、装置側の視点に立ち、本学のSPECTでどの程度精密な画像を取得できるか検討しておく必要があると考えた。以上を背景に、今回の講演では $^{125}\text{I}$ NaIおよびI-125標識化合物を投与したマウスの撮像結果を紹介するとともに、ブランディング事業と今後の研究への応用について、その可能性を示したい。



## I-125のエネルギーピーク設定



## I-125のSPECT撮像



### CT

Voxel size: 100  $\mu\text{m}$

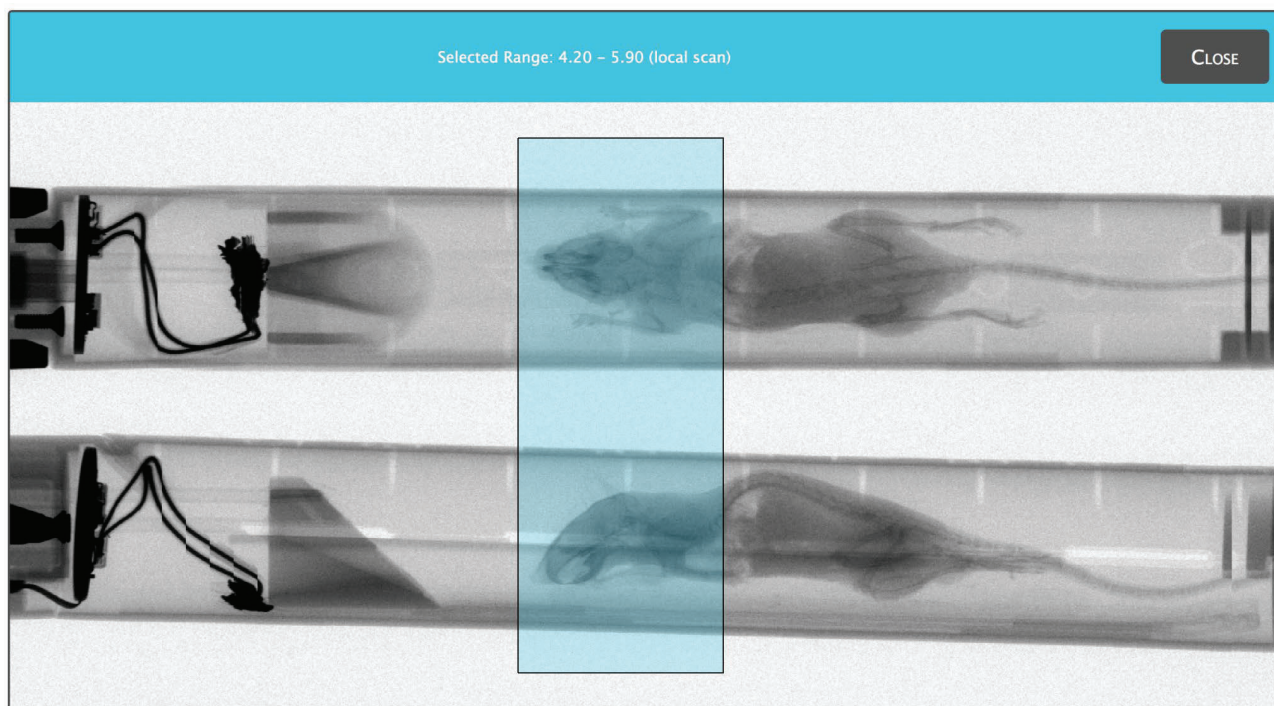
### SPECT

Resolution: 250  $\mu\text{m}$

Iteration: 20

Acquisition time: 60 min

## [<sup>125</sup>I]NaIを投与したマウスのSPECT撮像(CT)

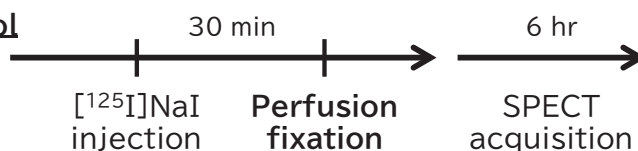


Animal: C57BL6/N, 6 w, male

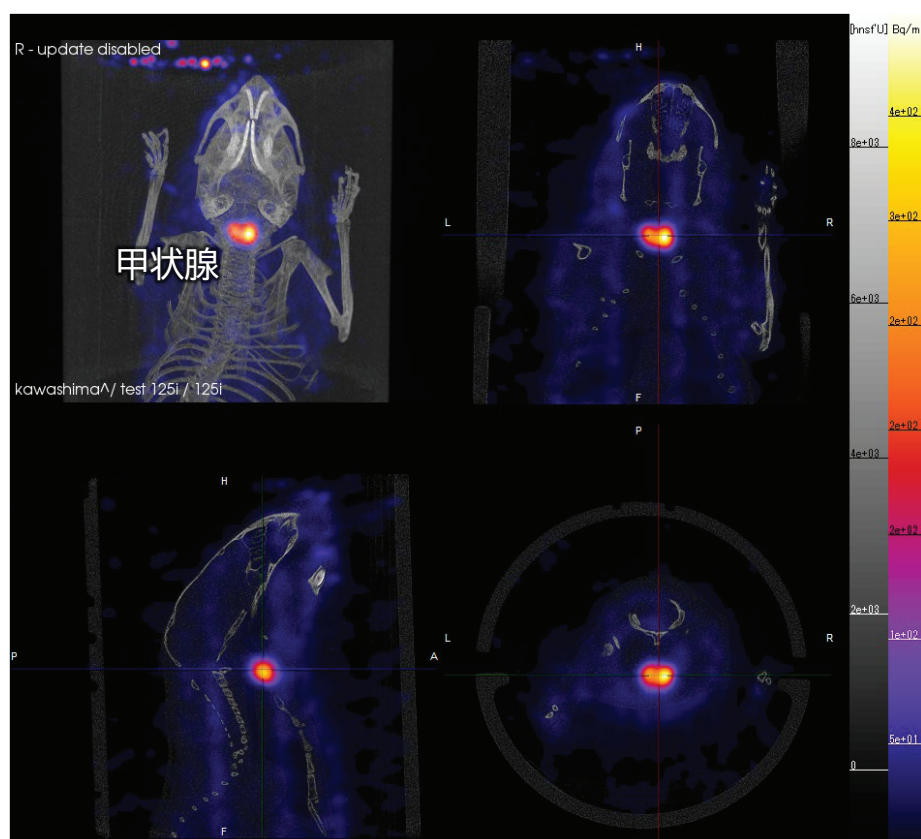
Body weight: 18.5 g

Dose: 1.45 MBq

### Protocol



## [<sup>125</sup>I]NaIを投与したマウスのSPECT画像



Animal: C57BL6/N, 6 w, male

Body weight: 18.5 g

Dose: 1.45 MBq

Acquisition time: 6 hr

### CT

Voxel size: 100  $\mu$ m

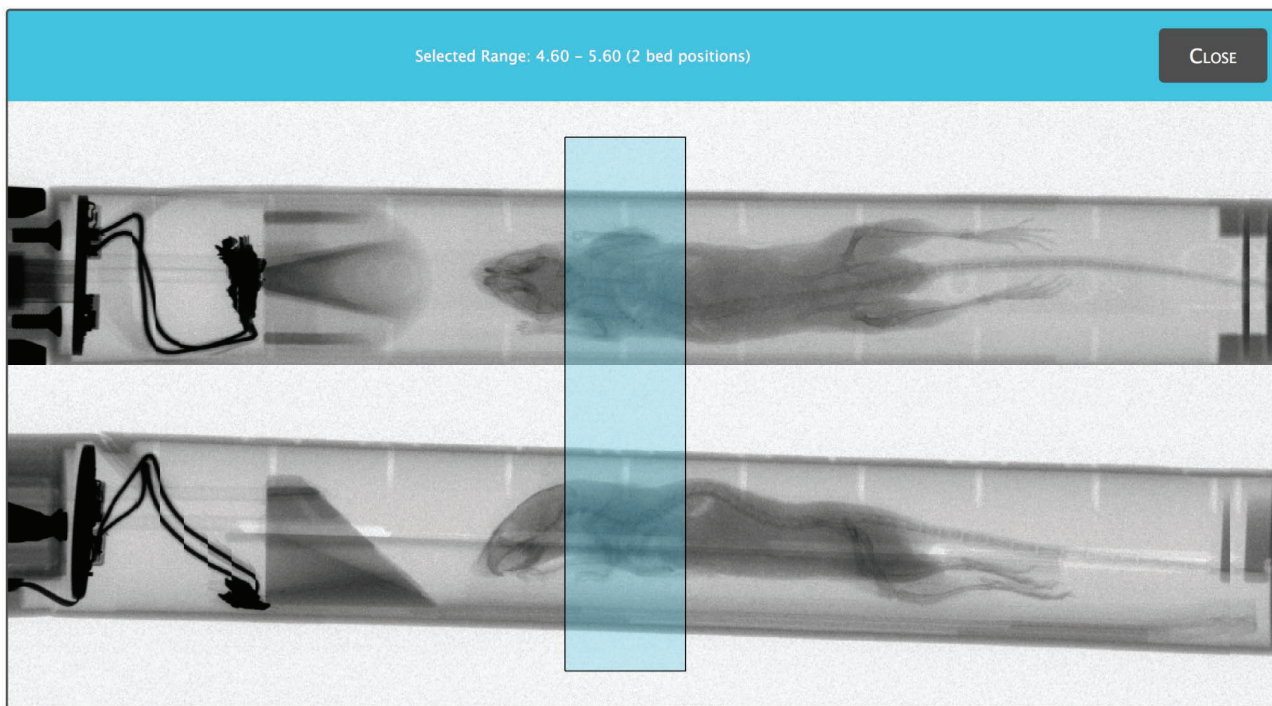
### SPECT

Resolution: 250  $\mu$ m

Iteration: 50



## $^{125}\text{I}$ -oxLDLを投与したマウスのSPECT撮像(CT)

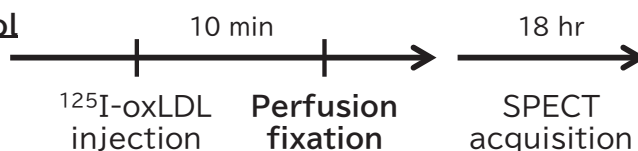


Animal: C57BL6/N, 6 w, male

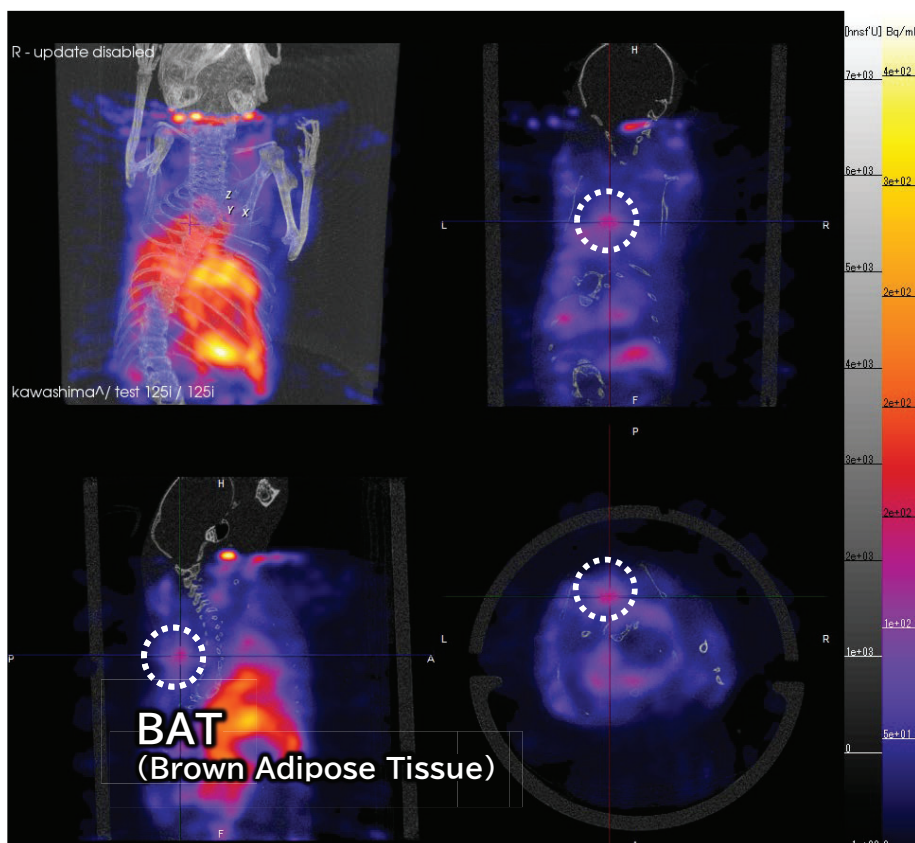
Body weight: 18.7 g

Dose: 1.18 MBq

### Protocol



## $^{125}\text{I}$ -oxLDLを投与したマウスのSPECT画像



Animal: C57BL6/N, 6 w, male

Body weight: 18.7 g

Dose: 1.18 MBq

Acquisition time: 18 hr

### CT

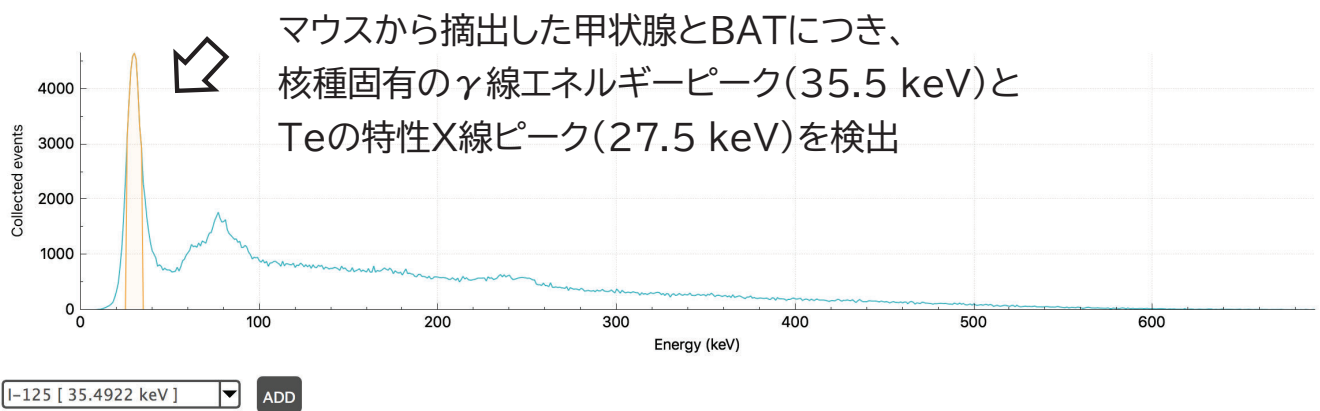
Voxel size: 100  $\mu\text{m}$

### SPECT

Resolution: 250  $\mu\text{m}$

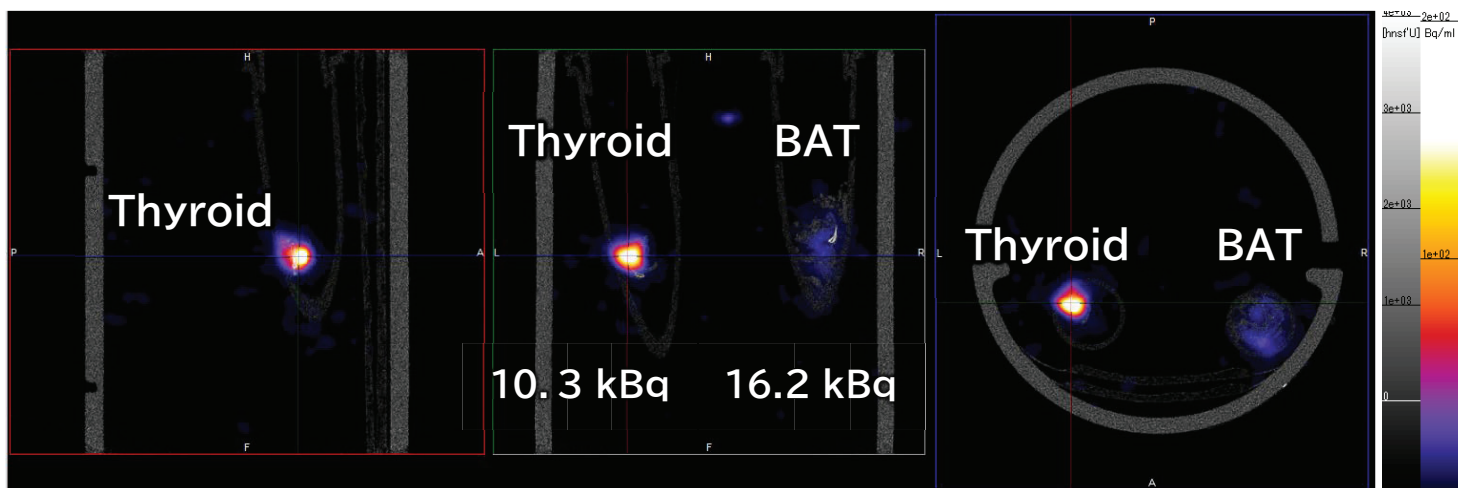
Iteration: 20

## I-125のエネルギーピーク設定



Radioactivity: 16.2 kBq (BAT)  
10.3 kBq (Thyroid)

## 摘出甲状腺( $[^{125}\text{I}]\text{NaI}$ )とBAT( $^{125}\text{I}$ -oxLDL)のSPECT画像



### CT

Voxel size: 100  $\mu\text{m}$

### SPECT

Resolution: 250  $\mu\text{m}$

Iteration: 20

Acquisition time: 2 hr

# がんラジオセラノスティクスを指向した 薬剤開発

京都薬科大学・代謝分析学分野 木村 寛之

「セラノスティクス(Theranostics)」とは、治療(Therapeutics)と診断(Diagnostics)を組み合わせた新しい医療技術であり、患者個々における病態像を画像診断の技術を用いて正確に捉えた上で、適切な治療を施すことを目指している。近年、セラノスティクスは特になん治療の領域で注目されている。

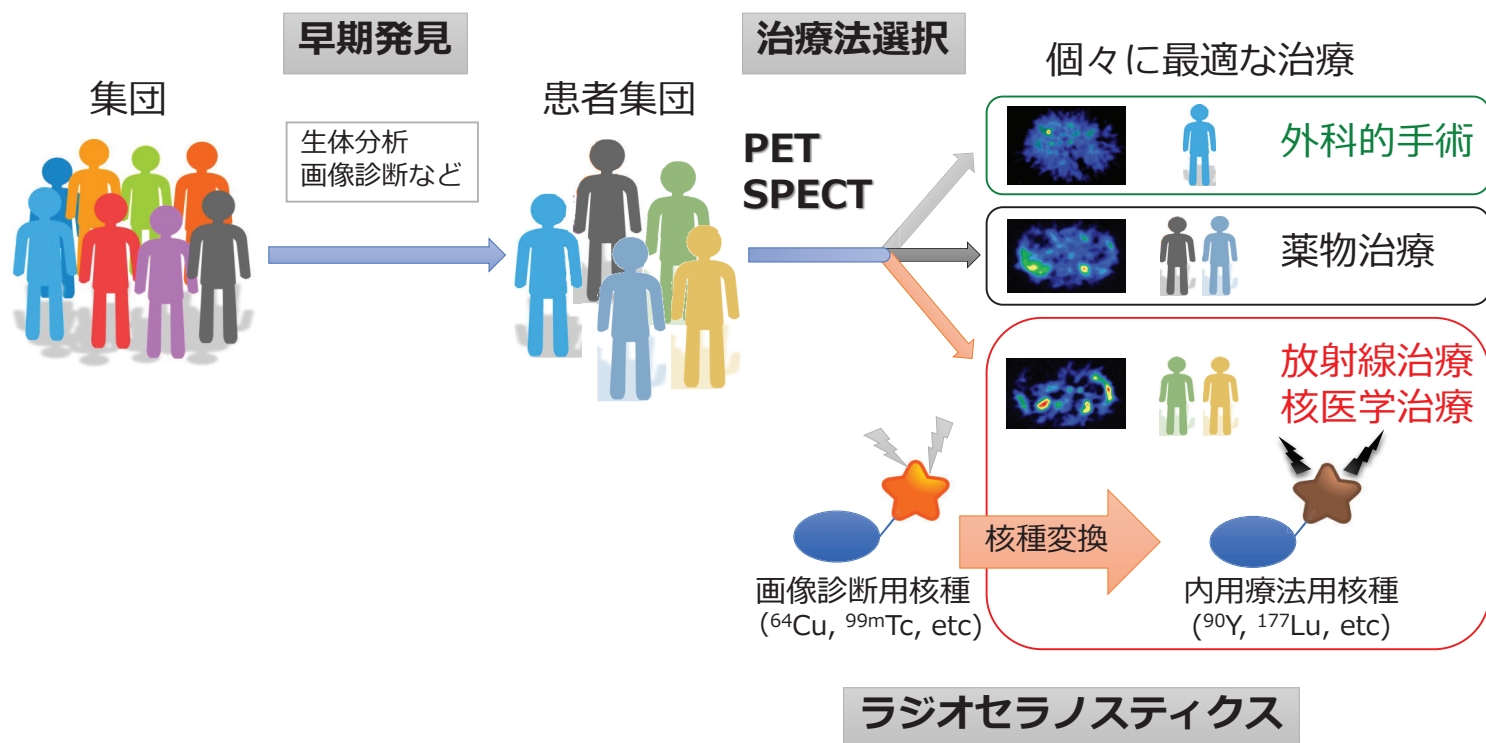
疾患の特長を捉えることのできる放射性プローブを用いた PET (positron emission tomography、陽電子放射型断層撮影) や SPECT (single photon emission computed tomography、単光子放射型断層撮影) 分子イメージング技術は、全身の疾患部位をくまなく詳細に三次元情報にして精査できる強力な画像診断法であり、非侵襲的に局所病変の分子病態を定量的評価できる唯一のアプローチである。得られた画像情報を治療に応用すれば患者個々への最適な治療を可能とする。近年、ラジオセラノスティクス (Radio-Theranostics) プローブの開発が積極的に行われている。PET や SPECT のように病巣を目で見えるようにできる診断用放射性薬剤を使った「分子イメージング技術」で“病気の診断”を行うとともに、同じ仕組みで治療用放射性薬剤を患部に送り込み病巣だけを狙った「放射性同位元素内用療法」で“病気の治療”ができるようにする方法である。

核医学の領域では、以前から放射性医薬品を利用した核医学画像診断と放射性同位元素内用療法を融合することで、ラジオセラノスティクスを実現している。既に医薬品として承認されている、I-123/I-131 カプセル(甲状腺疾患の診断と治療)や Y-90/In-111 イブリツモマブチウキセタン (B 細胞性非ホジキンリンパ腫の診断と治療)はこれに該当する薬剤と言える。現在、世界的に注目されているのが、神経内分泌腫瘍の細胞膜上に発現するソマトスタチン受容体を標的とした  $^{111}\text{In}$ -DTPA-Octreotide/ $^{177}\text{Lu}$ -Dotatate や、前立腺がんの細胞膜に発現する前立腺特異的膜抗原 (PSMA: Prostate specific membrane antigen) を標的とした  $^{68}\text{Ga}$ -PSMA /  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA である。

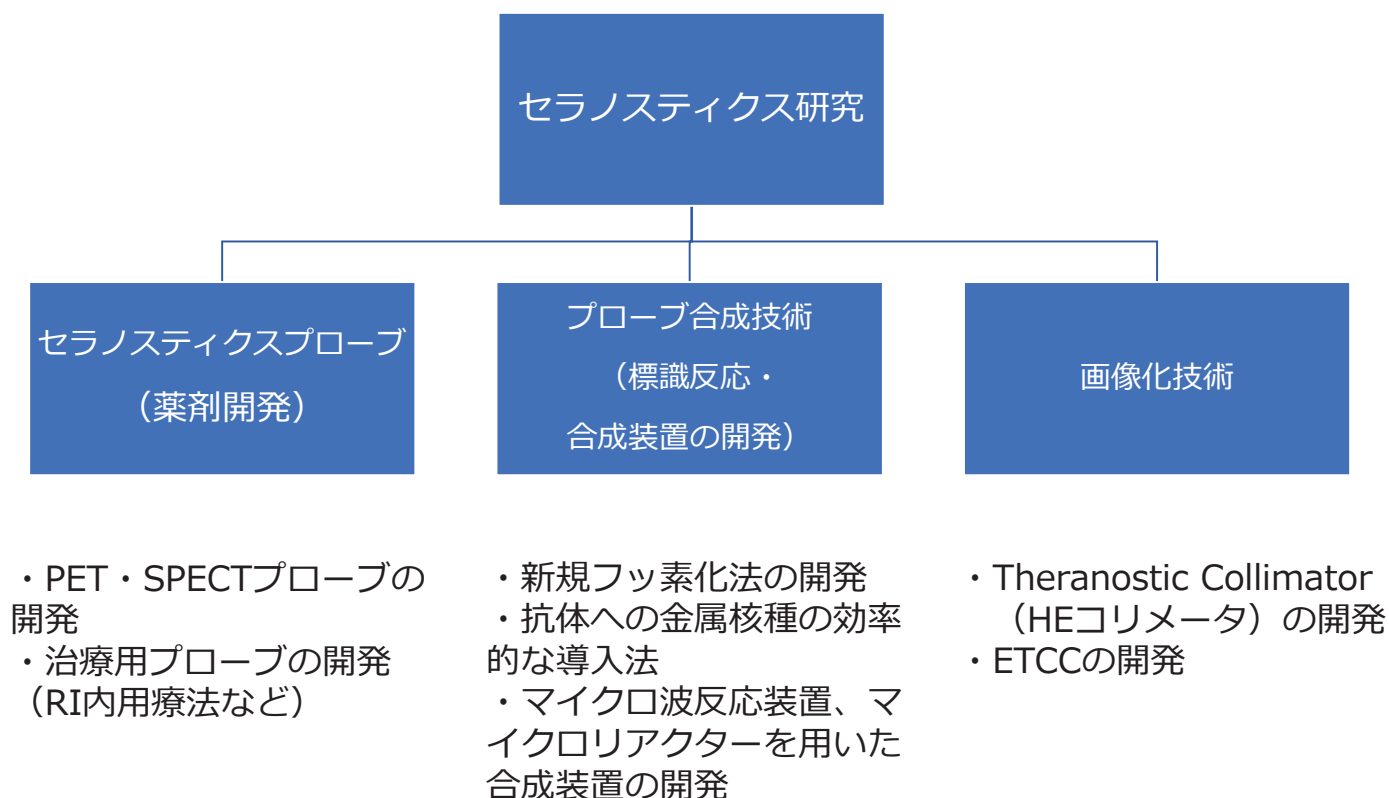
本シンポジウムでは、私立大学研究ブランディング事業で実施した前立腺がん、乳がん、肺がん、膵臓がんを標的としたがんセラノスティクスプローブについての開発状況と今後の展開について報告する。さらに、薬剤開発の中から生まれた ElectroWetting On Dielectric (EWOD) 技術を利用した標識合成技術や、F-18 標識ボロン酸誘導体を用いた F-18 標識法の開発についても報告する。

最後に、私立大学研究ブランディング事業を通して国内外の多くの研究機関や企業の方々と共同研究を実施できたことに感謝申し上げるとともに、プロジェクトにご協力いただいた方々に改めてお礼申し上げます。

# ラジオセラノスティクスへの応用と Imaging Based Precision Medicineの実現



## 本プロジェクトで進めている課題





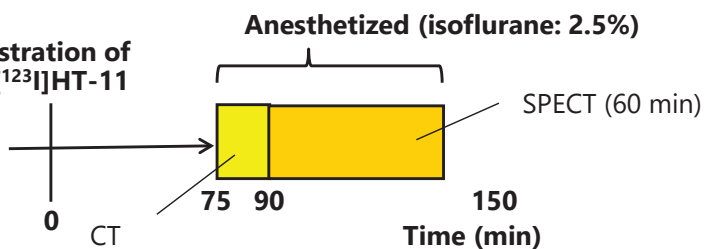
# EphA2受容体を標的としたイメージングプローブの開発



SPECT: γ-CUBE CT: X-CUBE  
(Molecubes company)

## Time Course

Intravenous administration of  $[^{123}\text{I}]\text{HT-11}$



Cell: U-87MG (Human Glioblastoma)

Animal: BALB/c nu/nu mouse (male)

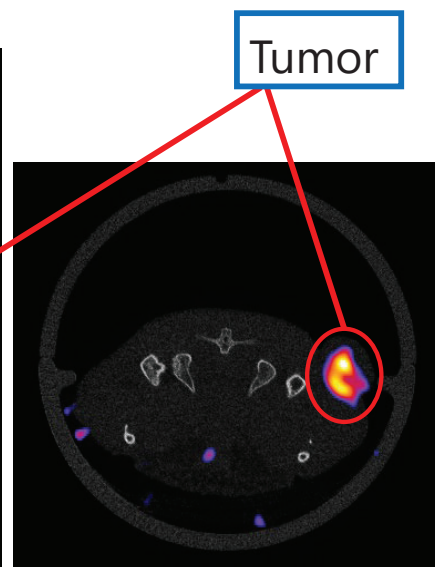
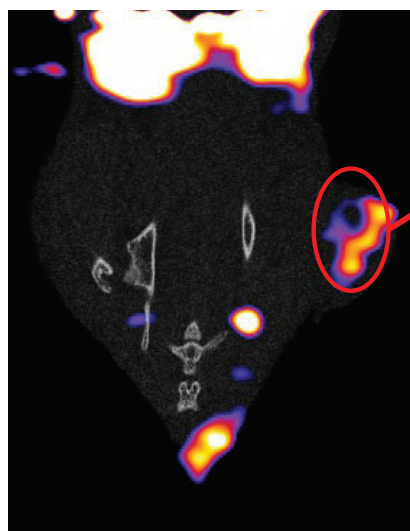
7 weeks 17.0 g

## Acquisition parameters for SPECT

- Collimator: GP mouse collimator
- Injected radioactivity: 14.5 MBq/100  $\mu\text{L}$
- Acquisition: 60 min after injection of  $[^{123}\text{I}]\text{HT-11}$
- Acquisition time: 60 min
- Reconstruction: 3D-MLEM

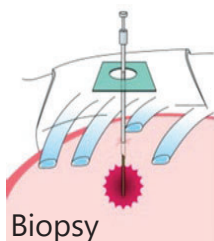
## Acquisition parameters for X-ray CT

- Tube voltage: 50 kV
- Tube current: 100  $\mu\text{A}$
- Reconstruction: ISRA



# EGFR (L858R/T790M)遺伝子変異を検出するイメージングプローブの開発

## ✓ EGFR遺伝子変異検査



- がんの確定診断には、組織を直接採取して検査する方法として生検（バイオプシー）が用いられている。
- しかし問題点として、患者への侵襲性が高く、また微小ながん組織を正確に採取できなかった場合に偽陰性と診断される可能性があることが挙げられる。

バイオプシーに代替する**非侵襲的**な検査法が必要とされている。

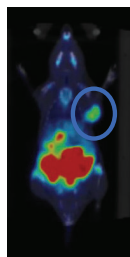
## ✓ イメージングバイオプシー

陽電子放射断層撮影法（PET）は、生体系における特定の分子を**非侵襲的**に検出を可能にする分子イメージング技術として注目されている。特に突然変異EGFRの存在を検出することが期待される。

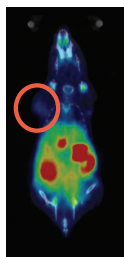
## ➤ 先行研究

3)

**H3255**  
(L858R)



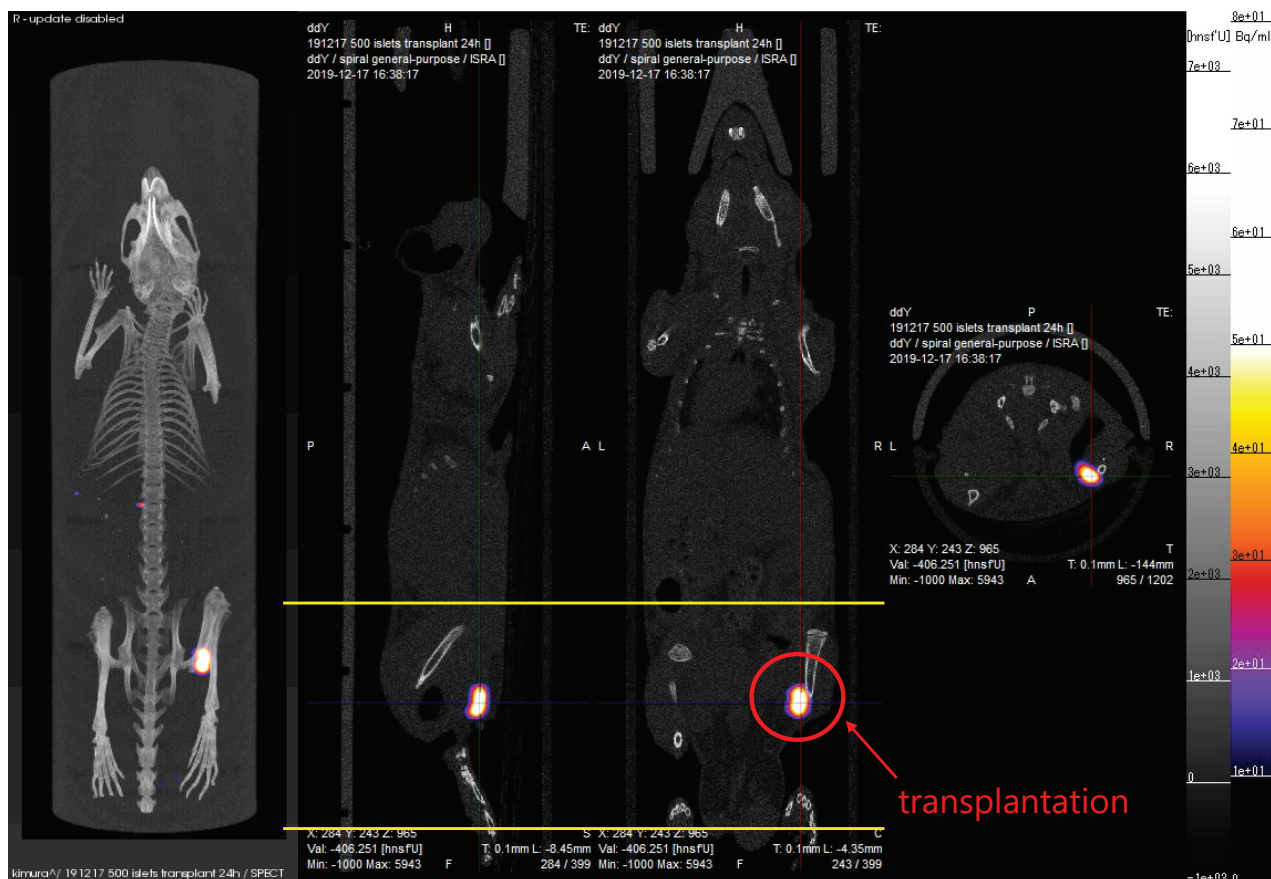
**H1975**  
(L858R/T790M)



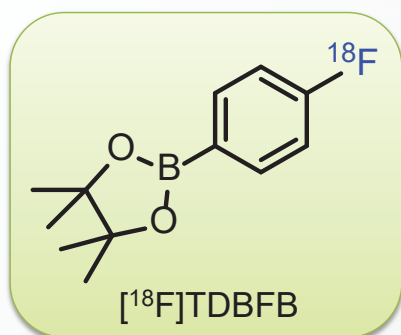
$[^{18}\text{F}]\text{APP-1}$  は、明瞭にH3255 腫瘍（1次変異）を描出した。

PET-CT image of  $[^{18}\text{F}]\text{APP-1}$

# 分子イメージング手法を用いた移植臓器の評価



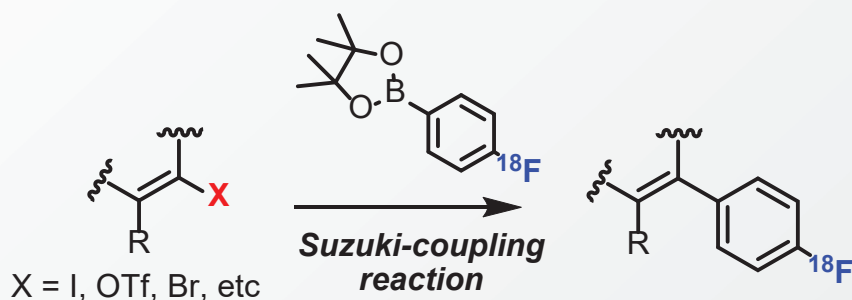
## ボロン酸誘導体を用いた $^{18}\text{F}$ 標識試薬の開発



①芳香環への $^{18}\text{F}$ 導入が容易となる

②鈴木カップリングの基質になりうる化合物は $^{18}\text{F}$ 導入が可能となる

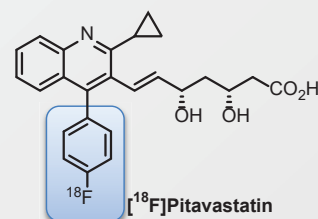
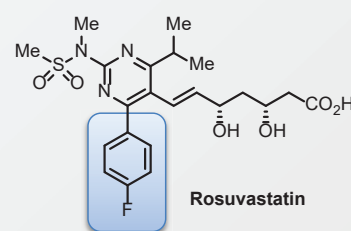
③前駆体へのボロン酸導入が不要となり、前駆体合成が簡便となる



③ More simple synthesis of precursor

① Easy  $^{18}\text{F}$  introduction to aromatic groups

② All substances of Suzuki-coupling reaction can be applied



特許出願済み

# パーキンソン病の病態解明に向けた $\alpha$ シヌクレインの凝集・線維化機構の解明

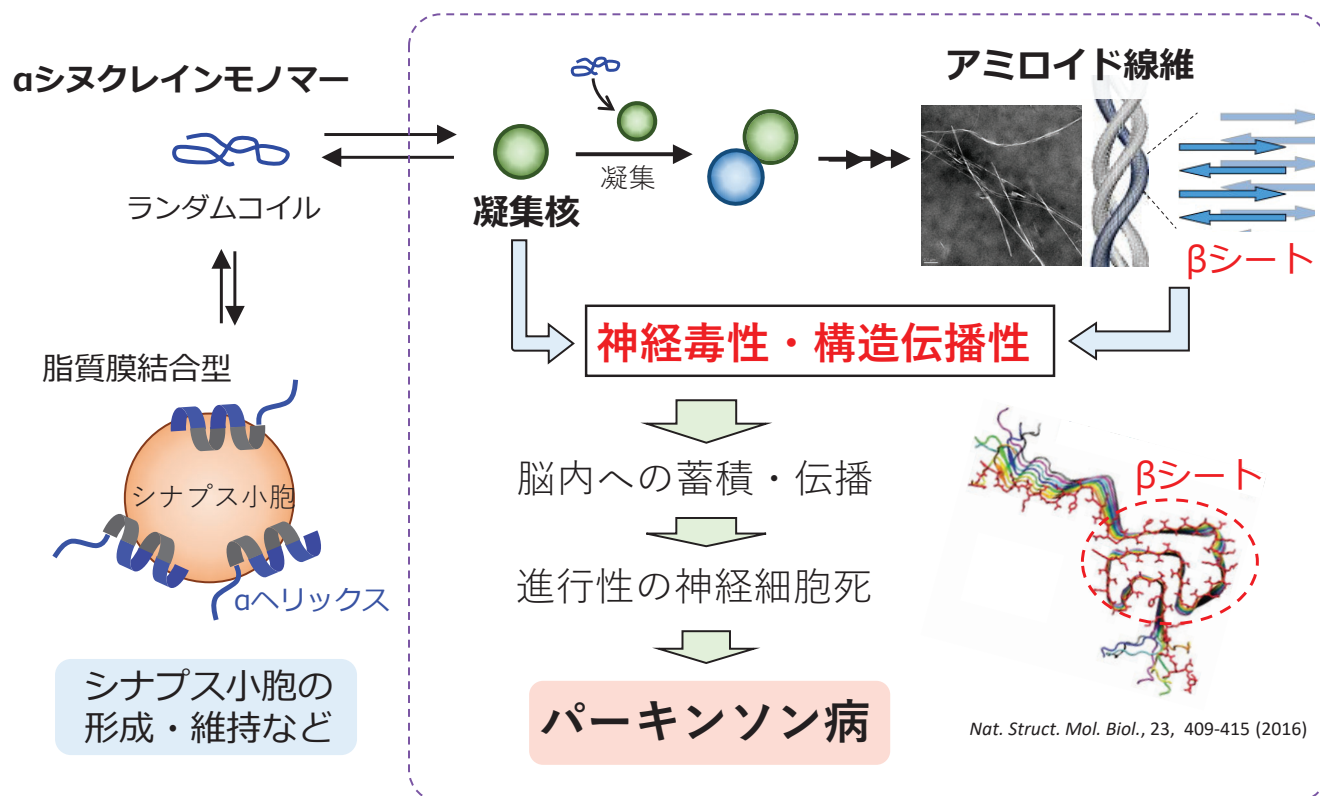
京都薬科大学・薬品物理化学分野 扇田 隆司

パーキンソン病の発症には、神経内での  $\alpha$  シヌクレインの凝集・線維化が深く関わる。異常構造をとった  $\alpha$  シヌクレインが形成する凝集核は、周囲の正常タンパク質を巻き込んで凝集し、アミロイド線維へと成長する。凝集核やアミロイド線維は高い神経毒性と構造伝播性を有しており、これらが脳内に蓄積・伝播することで、神経脱落が進行してパーキンソン病が発症する。アミノ酸 140 残基からなる  $\alpha$  シヌクレインには、パーキンソン病に関わる様々な点変異や C 末配列の欠損が知られている。 $\beta$  構造転移領域にある A53T 変異は、家族性パーキンソン病原因変異のうちで最も頻度が高く、発症年齢の若年化を引き起こす。また、負電荷に富む C 末 104-140 欠損は、パーキンソン病脳内で特異的に起こり神経毒性と構造伝播性を向上させる。本研究では、パーキンソン病に関連する A53T 変異と 104-140 欠損が、 $\alpha$  シヌクレインのアミロイド凝集・線維化に及ぼす影響を物理化学的に解析した。

透過型電子顕微鏡および全反射型蛍光顕微鏡での観察から、A53T 変異体は野生型 (WT) と同様のアミロイド線維を形成するが、104-140 欠損体は短い線維のクラスターを形成することが示された。生理的条件 (20  $\mu$ M  $\alpha$  シヌクレイン, pH 7.4, 37 °C) では、A53T 変異と 104-140 欠損はともに、線維形成量の顕著な増加と線維形成速度の上昇を引き起こした。線維形成反応の経時追跡データを Finke-Watzky の核形成-自己触媒線維伸長モデルで解析した結果、A53T 変異は核形成のみを顕著に促進するが、104-140 欠損は核形成と線維伸長の両過程を促進することが示された。そこで、線維形成速度の温度依存性を熱力学的に解析したところ、A53T 変異及び 104-140 欠損は核形成のエンタルピー障壁を低下あるいは消失させていること、さらに 104-140 欠損は線維伸長のエントロピー障壁も消失させていることが明らかとなった。また、線維形成速度の濃度依存性から、104-140 欠損は既存線維の表面で自己触媒的に新たな線維が形成される二次核形成を顕著に促進することが示唆された。

以上の結果より、A53T 変異はモノマーから凝集核への構造転移エンタルピー障壁を低下させることで、また、C 末 104-140 領域の欠損は核形成のエンタルピー障壁と線維伸長のエントロピー障壁を消失させることで、それぞれ  $\alpha$  シヌクレインの凝集・線維化を促進していることが明らかとなった。これらパーキンソン病関連変異や欠損による  $\alpha$  シヌクレインの凝集・アミロイド線維化機構に関する解析は、パーキンソン病の早期診断や治療に向けたターゲット分子の開発に有用な知見を提供すると考えている。

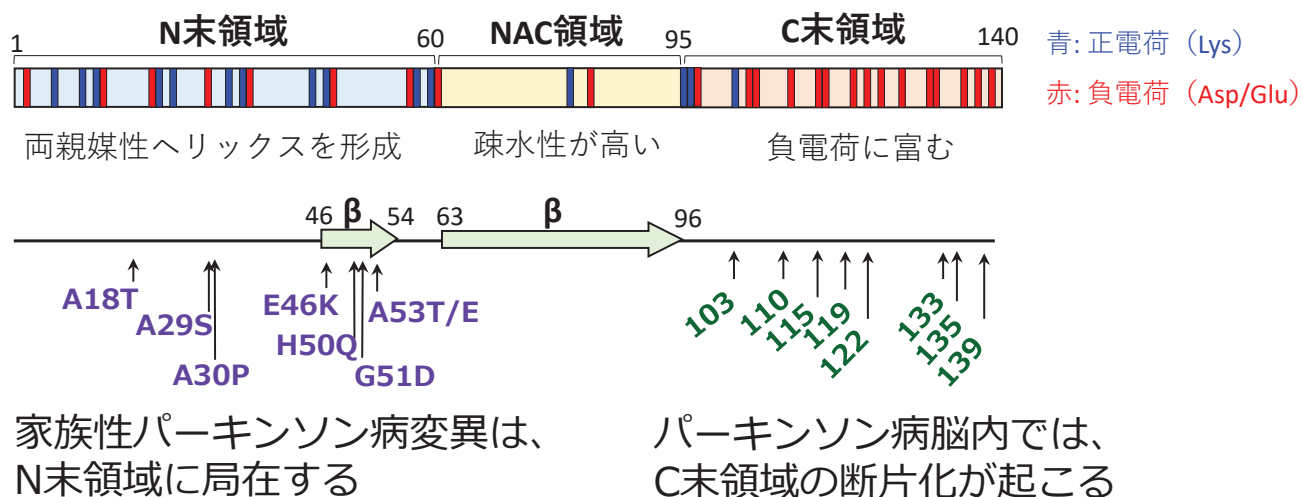
## 【αシヌクレインの凝集とパーキンソン病】



αシヌクレインのアミロイド凝集・線維化の制御は、パーキンソン病に対する有望な治療戦略である。

## 【αシヌクレインの構造】

\*NAC = Non amyloid β component

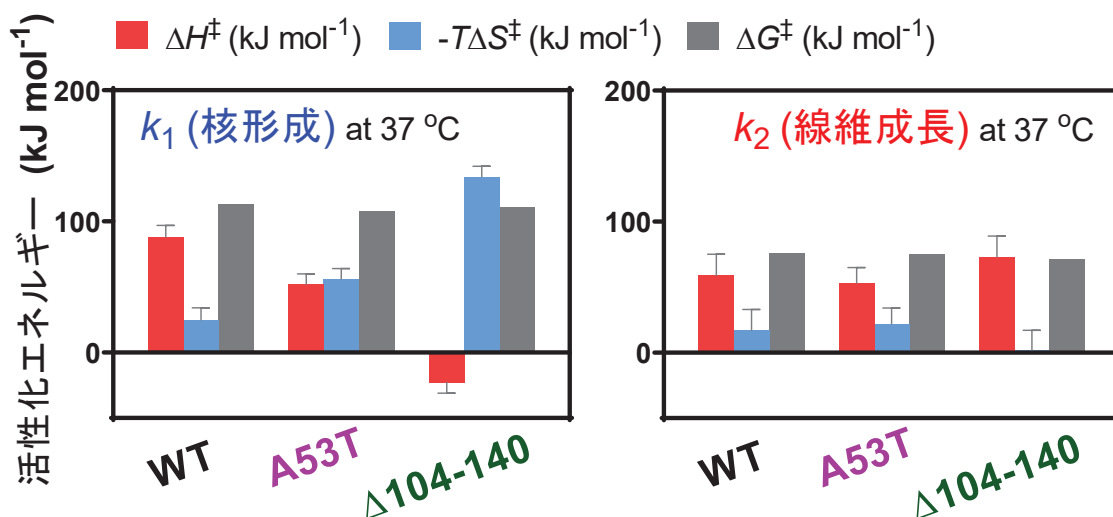


● **A53T変異**：最も頻度の高い変異であり、発症年齢を若年化する。

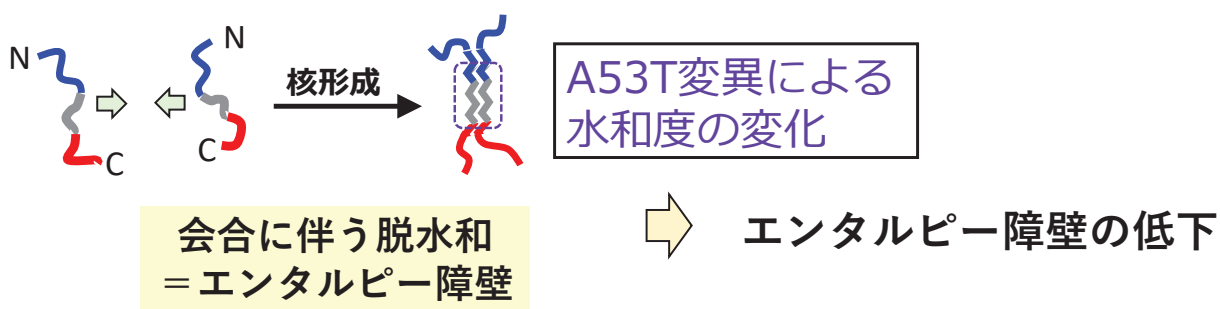
### ● 1-103フラグメント (Δ104-140)

：パーキンソン病脳内で特異的に生じるフラグメント。  
神経内で凝集しやすく、高い神経毒性と構造伝播性を示す。

## 【線維形成反応の熱力学的解析】

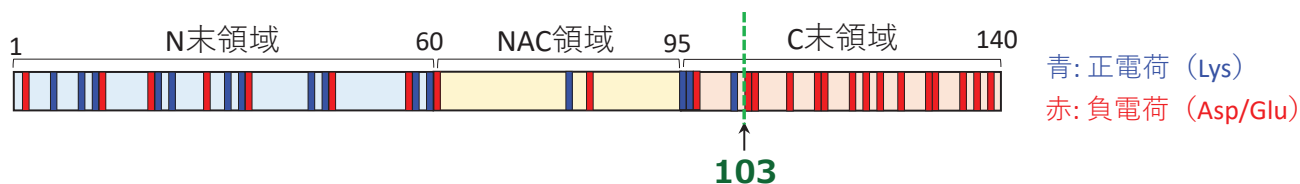


## 【核形成過程】

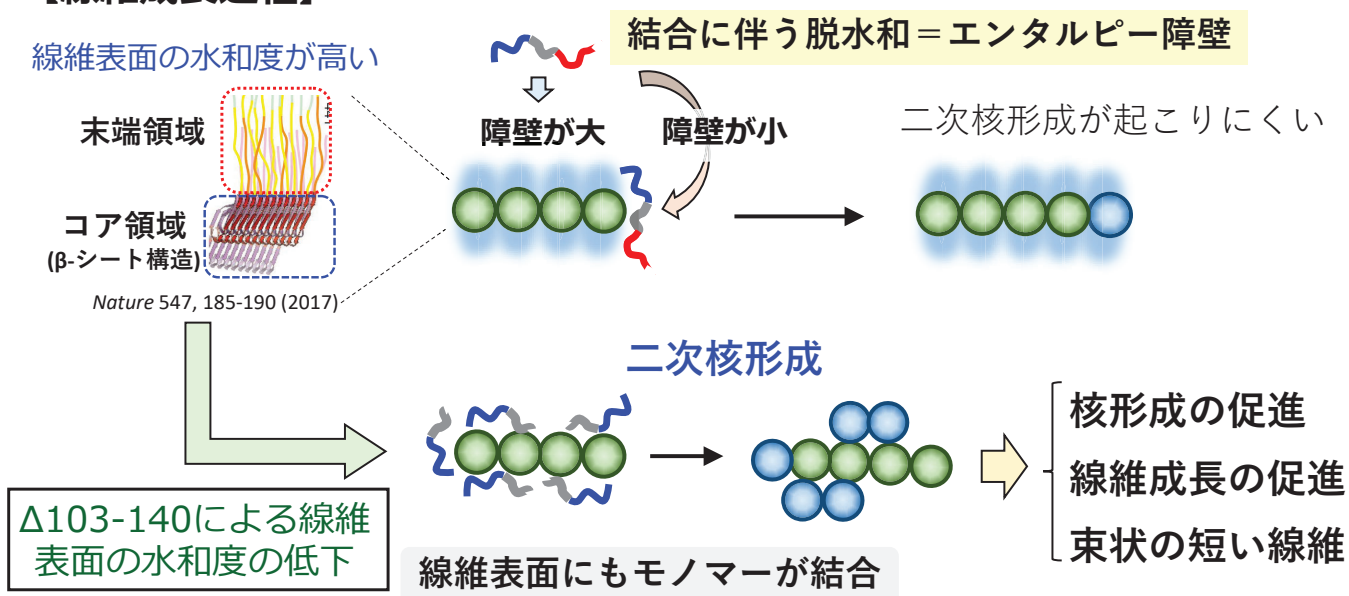


9

## 【104-140欠損による二次核形成の促進機構モデル】



## 【線維成長過程】





## ヒト iPS 細胞技術を応用したパーキンソン病に対する neurotheranostics の開発に向けて

### Towards development of neurotheranostics for Parkinson's disease by application with human iPSC technology

京都薬科大学統合薬科学系 西村 周泰

Kaneyasu Nishimura, PhD  
Division of Integrated Pharmaceutical Sciences,  
Kyoto Pharmaceutical University

超高齢化社会を迎えた日本。20 年後の 2040 年における 65 歳以上の高齢者数は、約 4,000 万人（人口の約 35%）に達すると試算されている。パーキンソン病は、中脳ドパミン神経が選択的に脱落する神経変性疾患であり、日本には約 16 万人の患者がいるとされている。発症初期は手の震えといった比較的軽度の症状を呈するが、重症化すると一人で日常生活を送ることができず、全面的な介助が必要となる難治性の疾患である。失った神経細胞を再生することができない我々ヒトにとって、この疾患を克服するには、まず第一に、ドパミン神経細胞の脱落を防ぐことが疾患予防の観点から重要である。一般的に運動症状が発症する頃には生存しているドパミン神経は 20%を下回っていると言われており、症状が発症してから予防策を講じても、もはや手遅れである<sup>1)</sup>。従ってパーキンソン病の発症を予防するには、ドパミン神経の脱落および、その脱落と強い相関のある分子の挙動をいち早く捉え、早期診断に役立てることが求められる。

このような背景のもと、我々は、パーキンソン病の病態発症と深い係わりのある  $\alpha$ -シヌクレイン (SNCA) タンパク質を標的として、SNCA タンパク質の脳内動態の可視化による早期診断法の開発を目指している。これまでに、人工的に合成したヒト SNCA タンパク質の preformed fibril (PFF) をマウス脳に直接注入することで作製したモデルマウスを用いて組織学的な解析を進めている。その結果、ヒト SNCA タンパク質の注入後に脳内を拡散していることが確認され、特に中脳ドパミン神経においては病態発症と深く関係のあるリン酸化シヌクレインの局在が確認された。さらに我々は、ヒト iPS 細胞を用いた *in vitro* 脳モデルを作製し、ヒト脳環境を模倣することで病態の理解を進めることを計画している。ヒト iPS 細胞から線条体および中脳黒質のオルガノイドをそれぞれ作製し、それらを融合させることで多領域融合オルガノイド (assembloid) の作製に成功している。今後はこの iPS 細胞由来脳オルガノイドモデルとマウスモデルを組み合わせながらヒト SNCA タンパク質に結合する化合物の探索を進め、病態のイメージングおよび解析を進める予定である。

また近年、再生医療的アプローチとして多能性幹細胞由来ドパミン神経前駆細胞を用いた細胞移植治療の開発が進んでいる。過去に行われた中絶胎児細胞移植におけるスタディーでは、レシピエントの脳細胞細胞から移植した神経細胞へ SNCA タンパク質の伝播が観察されており、長期的な治療効果を得るには、移植した細胞の状態をモニタリングし、治療効果の予測や治療方針決定に役立てる必要があると考えている<sup>2)</sup>。この課題に取り組むべく、現在、我々は移植細胞への SNCA タンパク質の伝播を再現できるモデル動物の作製を進めている。

本シンポジウムでは、これまでの取り組みについて発表し、本学が得意とするイメージング技術と iPS 細胞技術の融合を基軸に、今後の研究領域の発展に資するアイデアや共同研究の可能性について議論したい。

1) Schapira *et al.*, *Nat. Rev. Neurosci.*, **18**, 435-450 (2017)

2) Li *et al.*, *Nat. Med.*, **14**, 501-503 (2008)



# パーキンソン病



Sketched by William Richard, 1886

中脳黒質の**ドパミン神経**の選択的な脱落

正常脳

パーキンソン病脳



(日経サイエンス, 1997)

静止時振戦・無動・  
筋固縮・姿勢反射障害

65歳以上の1~3%が罹患

薬物治療

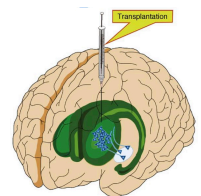


外科的治療  
(脳深部刺激療法)

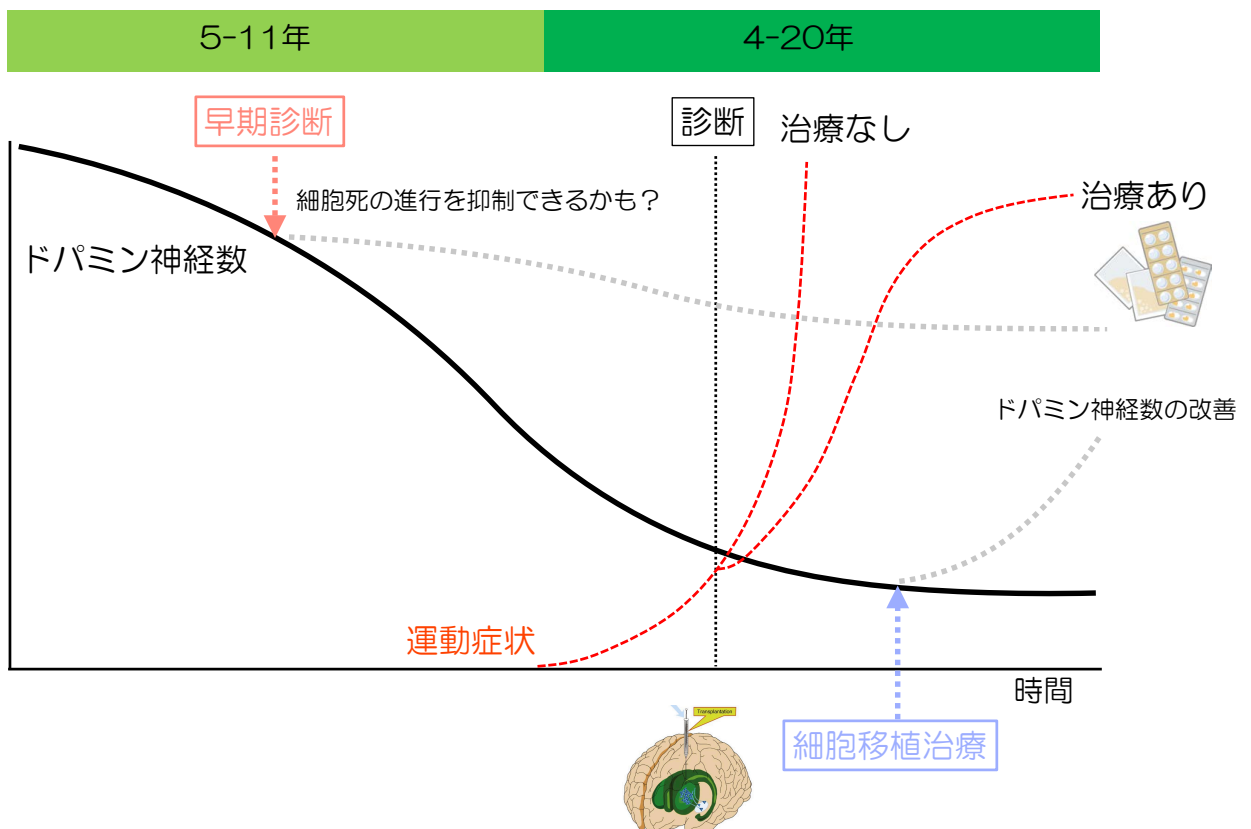


N/H

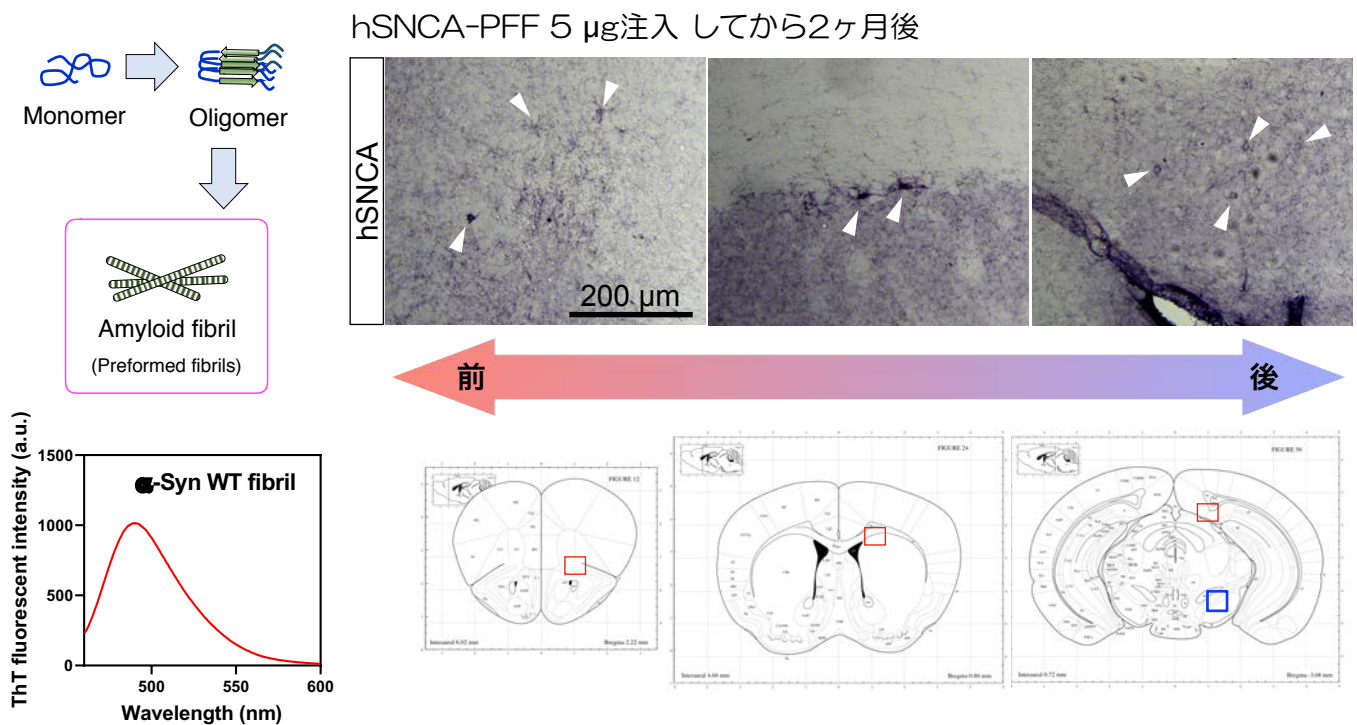
細胞移植治療



## パーキンソン病の進行

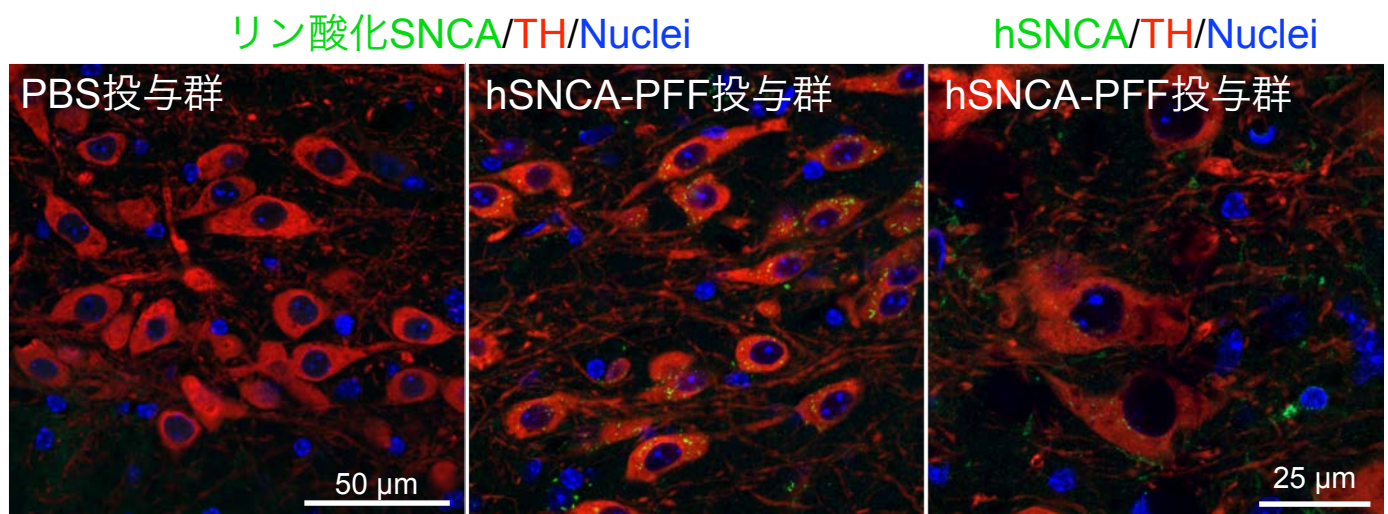


# マウス脳に注入したhSNCA-PFFの脳内伝播

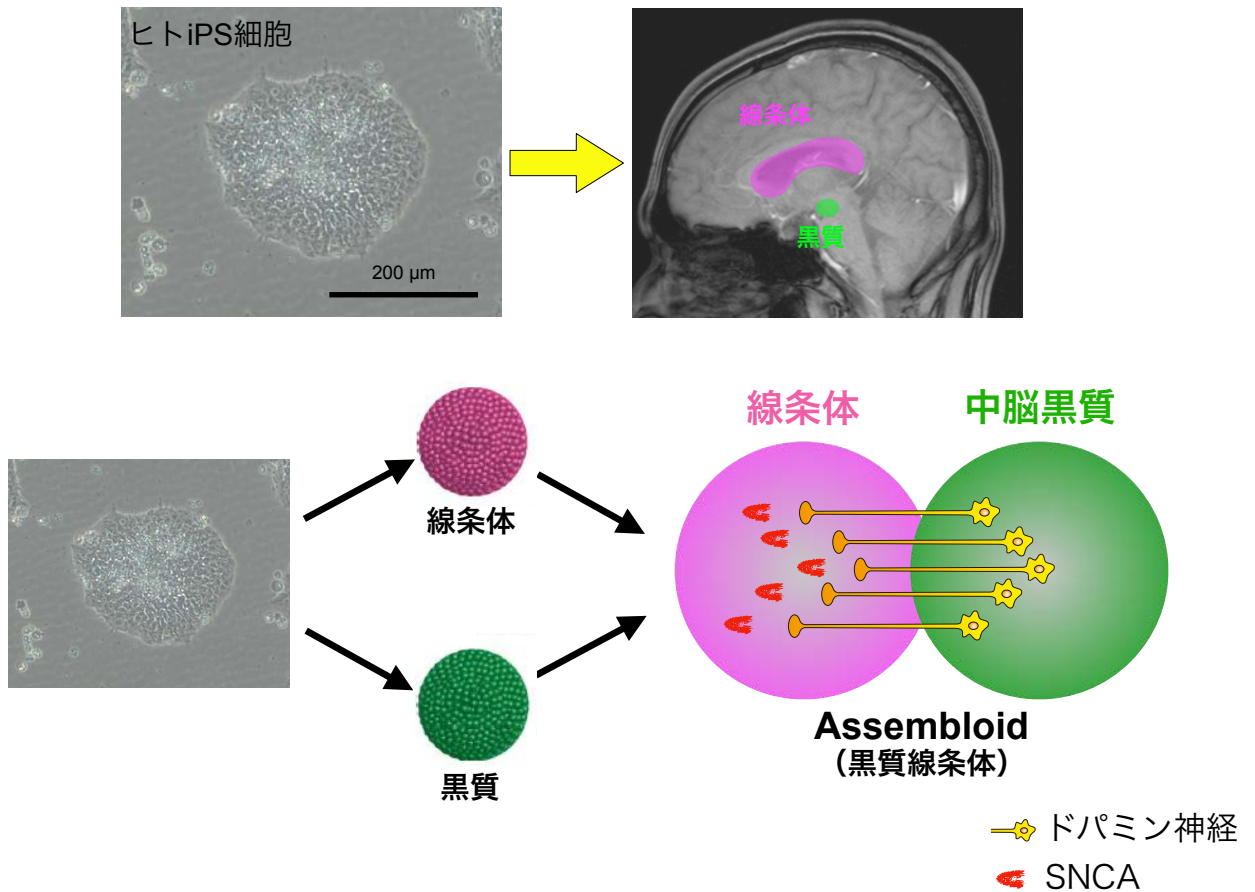


## 中脳黒質へのhSNCAの伝播

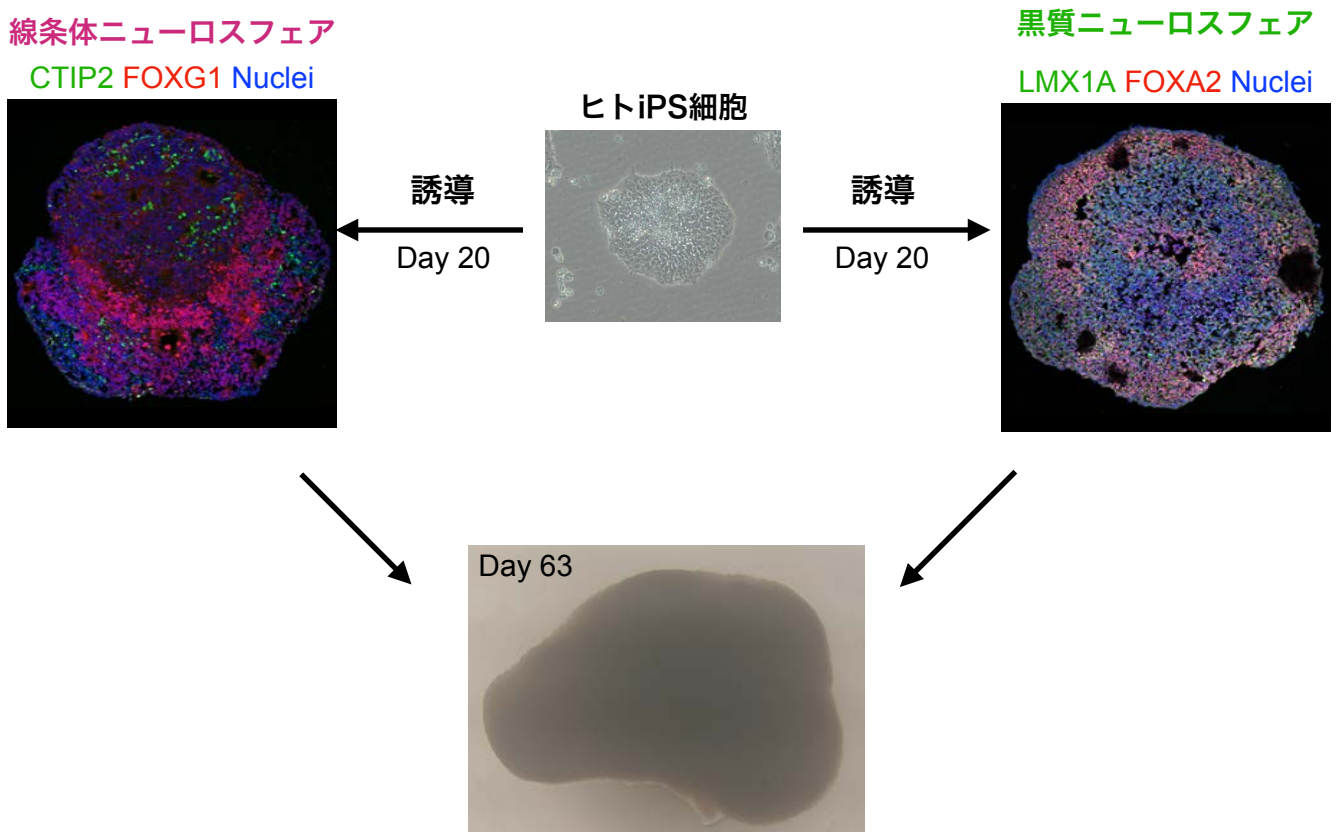
hSNCA-PFF 5  $\mu$ g注入してから2ヶ月後



## 複合領域脳オルガノイドを用いたin vitro脳モデルの作製

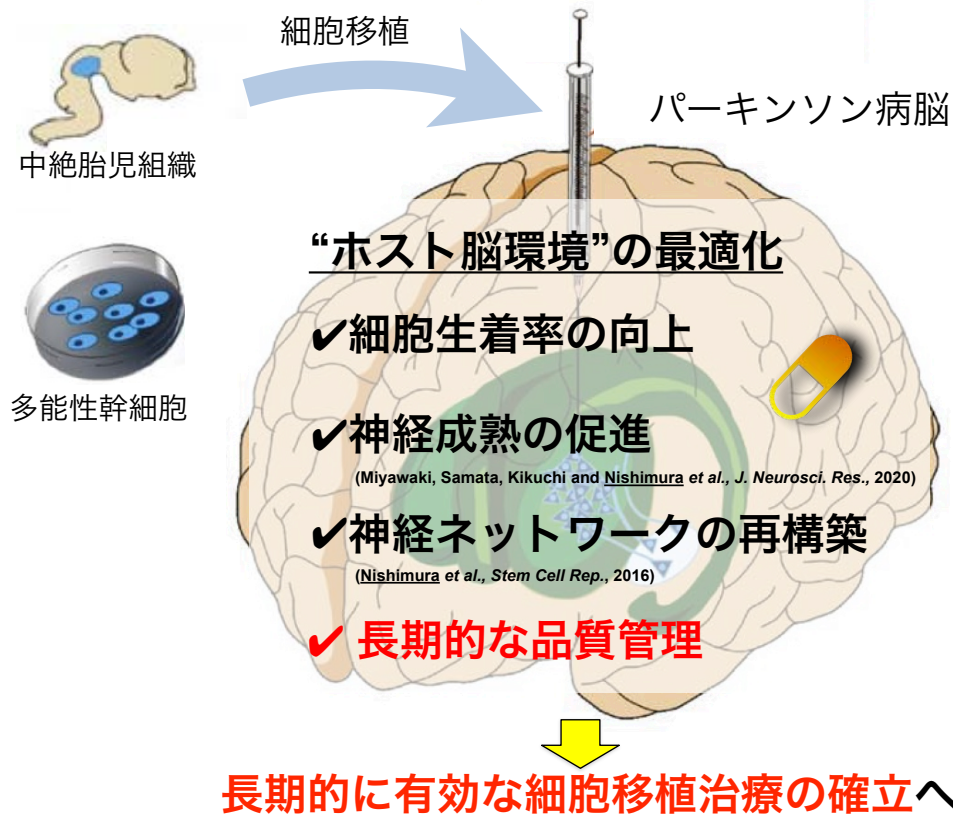


## 複合領域脳オルガノイドを用いたin vitro脳モデルの作製





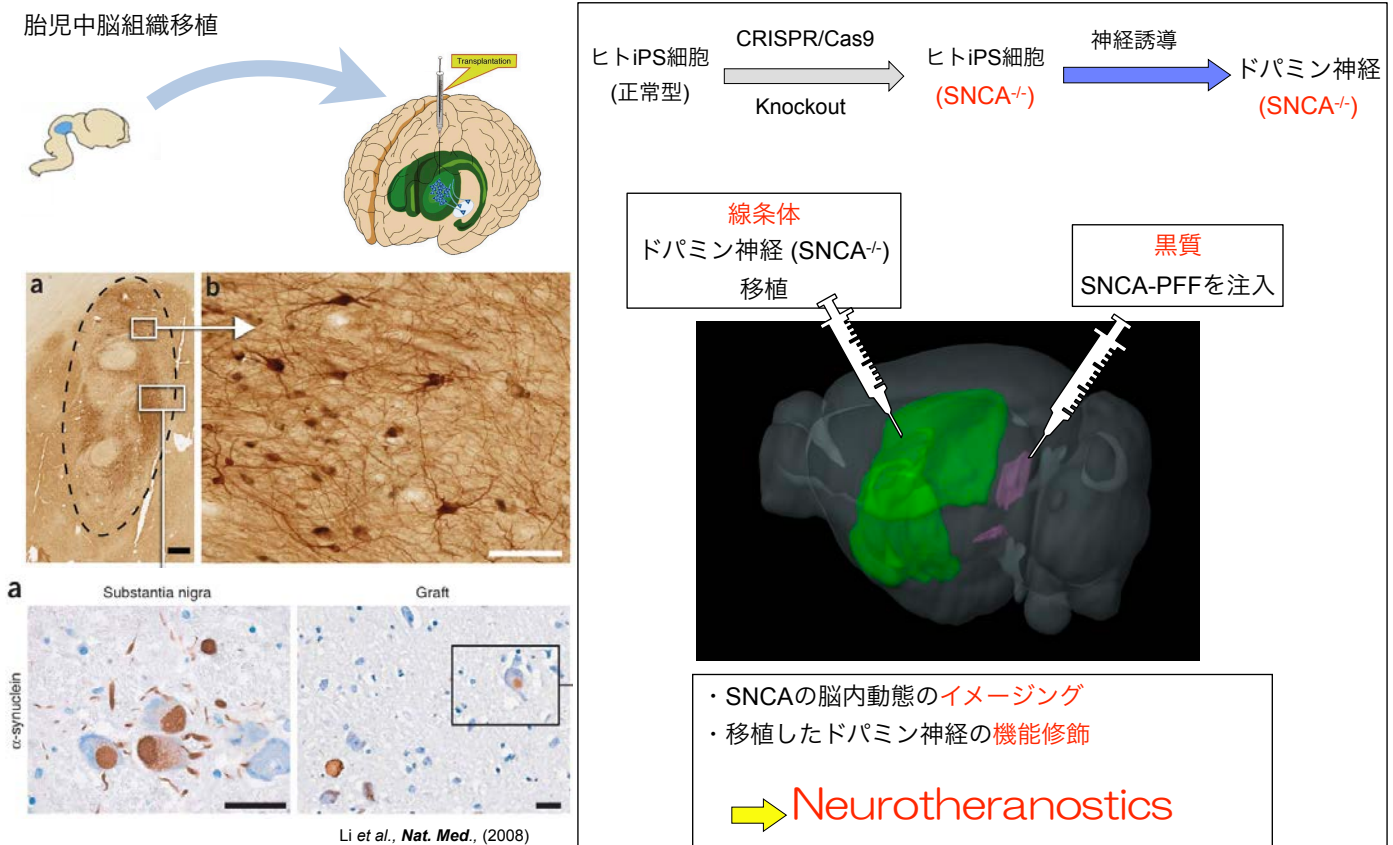
# パーキンソン病に対する細胞移植治療



Lindvall and Kokaia. *Trends in Pharmacol. Sci.*, (2009)

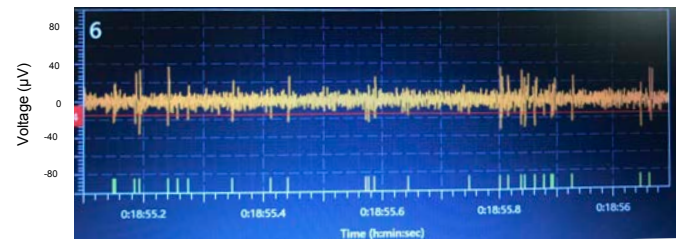
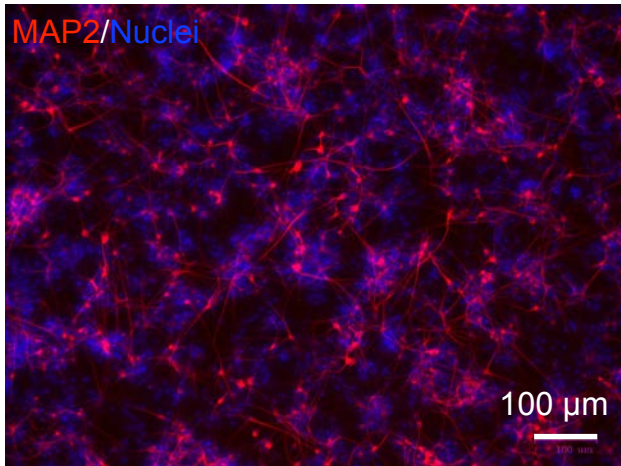
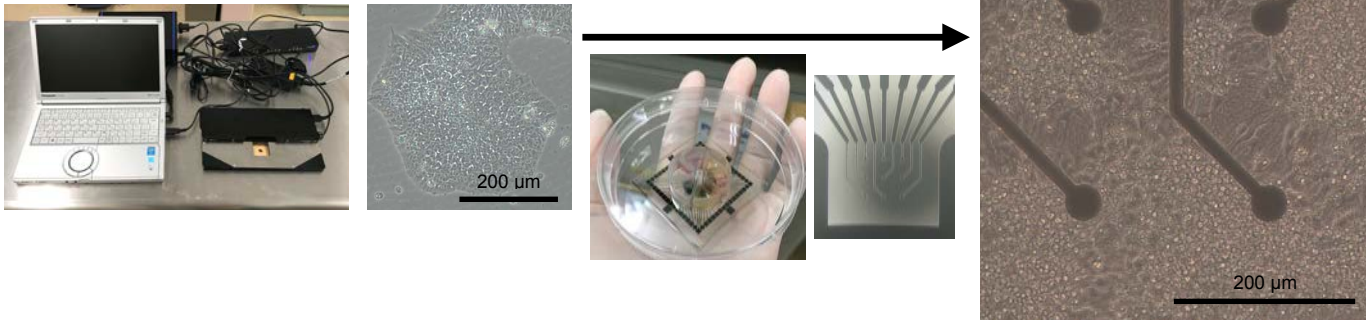
## Neurotheranostics:

### 移植したドパミン神経のモニタリングと品質管理



# マルチ電極アレイを用いた神経活動の解析系の導入

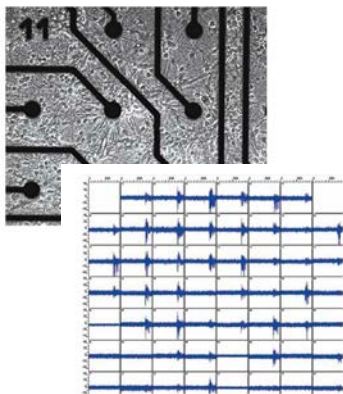
機器外観



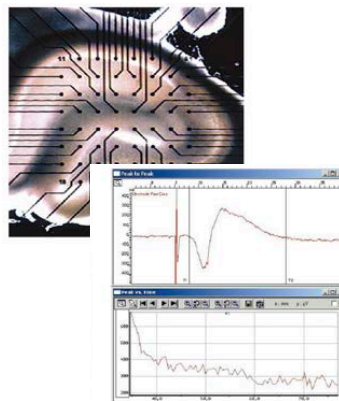
ぜひ多くの先生方にお使いいただければと思います！

## その他のアプリケーション（マルチ電極アレイ）

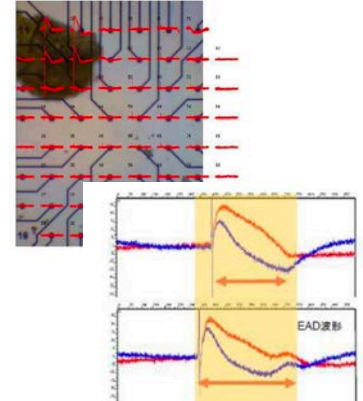
神経細胞機能解析



脳スライスの長期増強（LTP）



心筋細胞の機能評価



Contact: k-nishimura@mb.kyoto-phu.ac.jp

# パーキンソン病



Sketched by William Richard, 1886

中脳黒質の**ドパミン神経**の選択的な脱落

正常脳

パーキンソン病脳



(日経サイエンス, 1997)

静止時振戦・無動・  
筋固縮・姿勢反射障害

65歳以上の1~3%が罹患

薬物治療

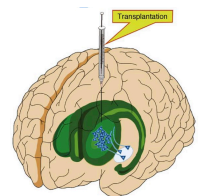


外科的治療  
(脳深部刺激療法)

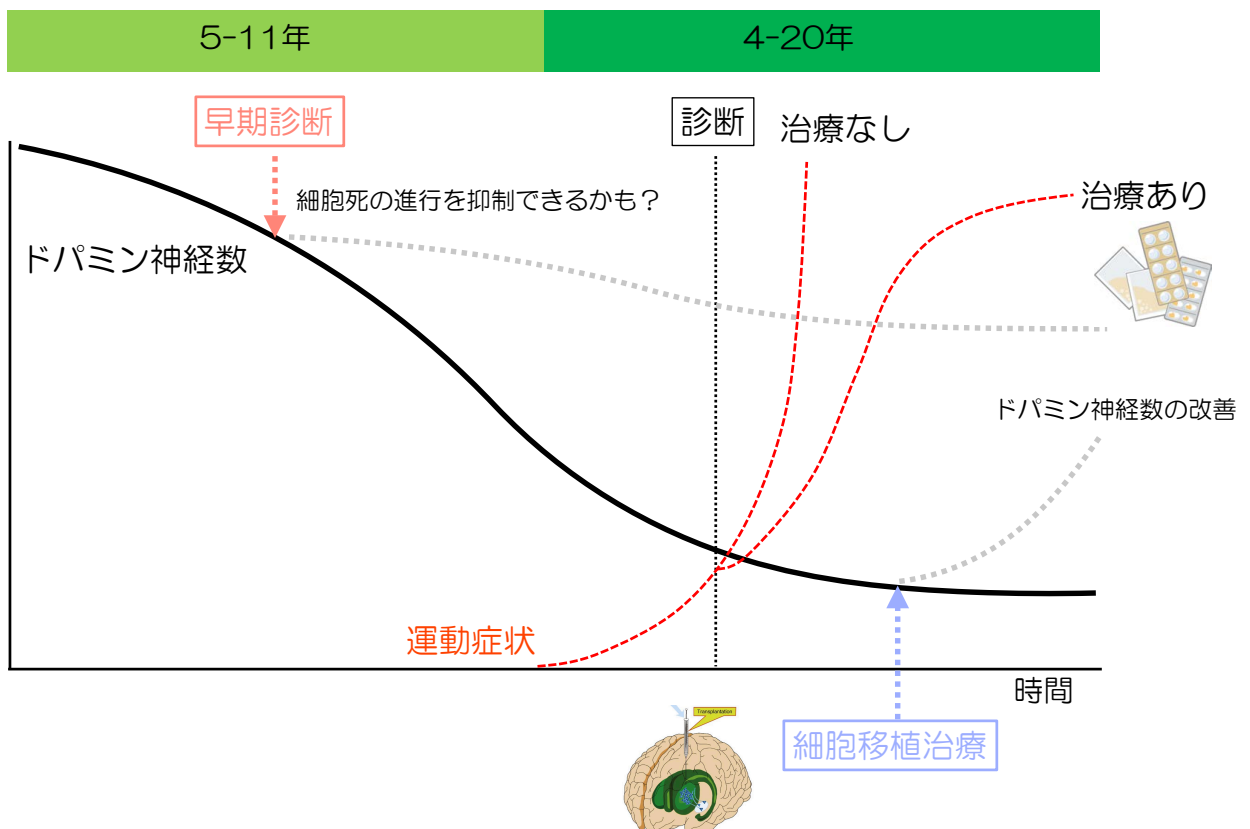


N/H

細胞移植治療

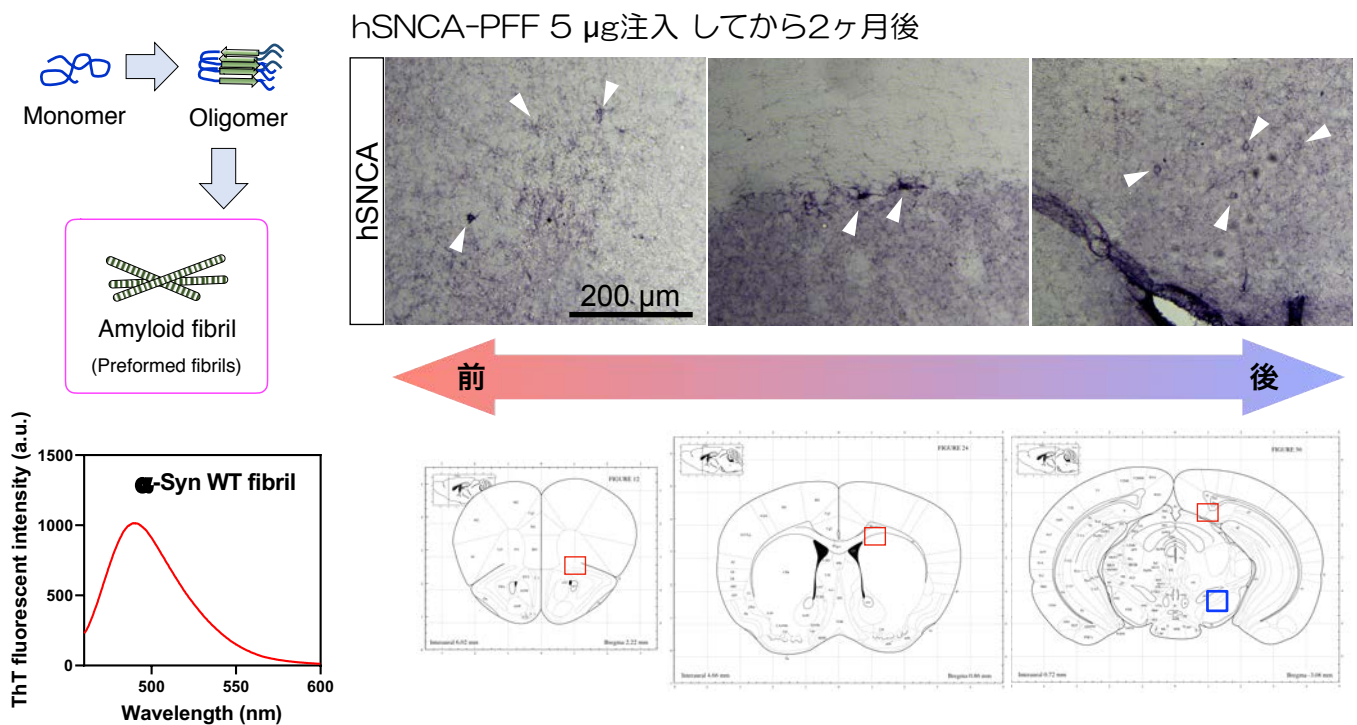


## パーキンソン病の進行



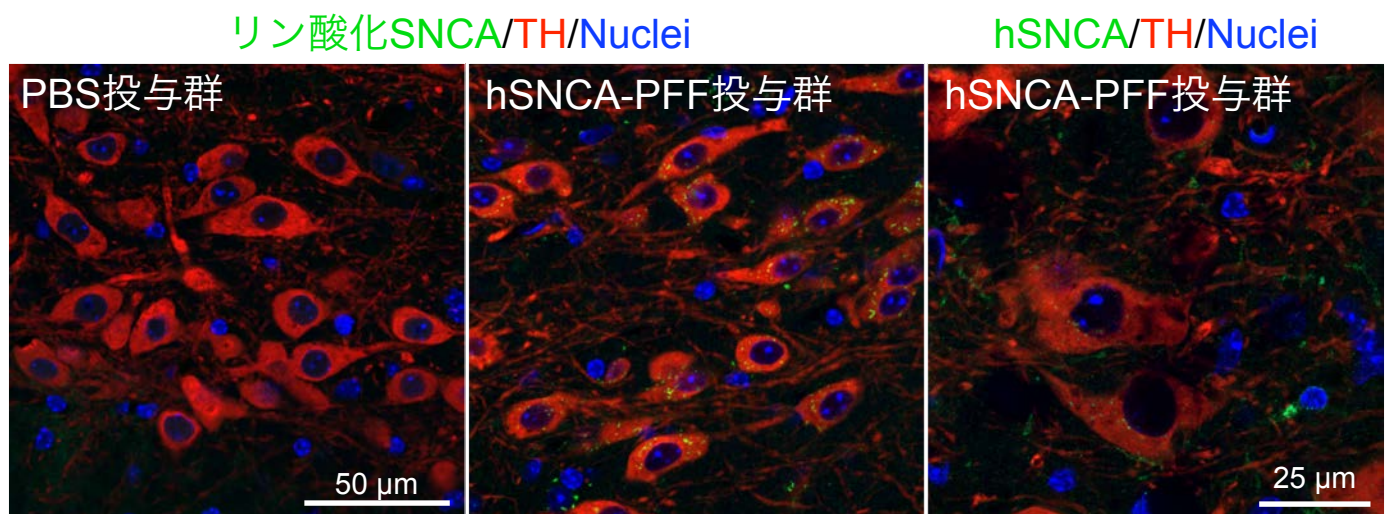


# マウス脳に注入したhSNCA-PFFの脳内伝播

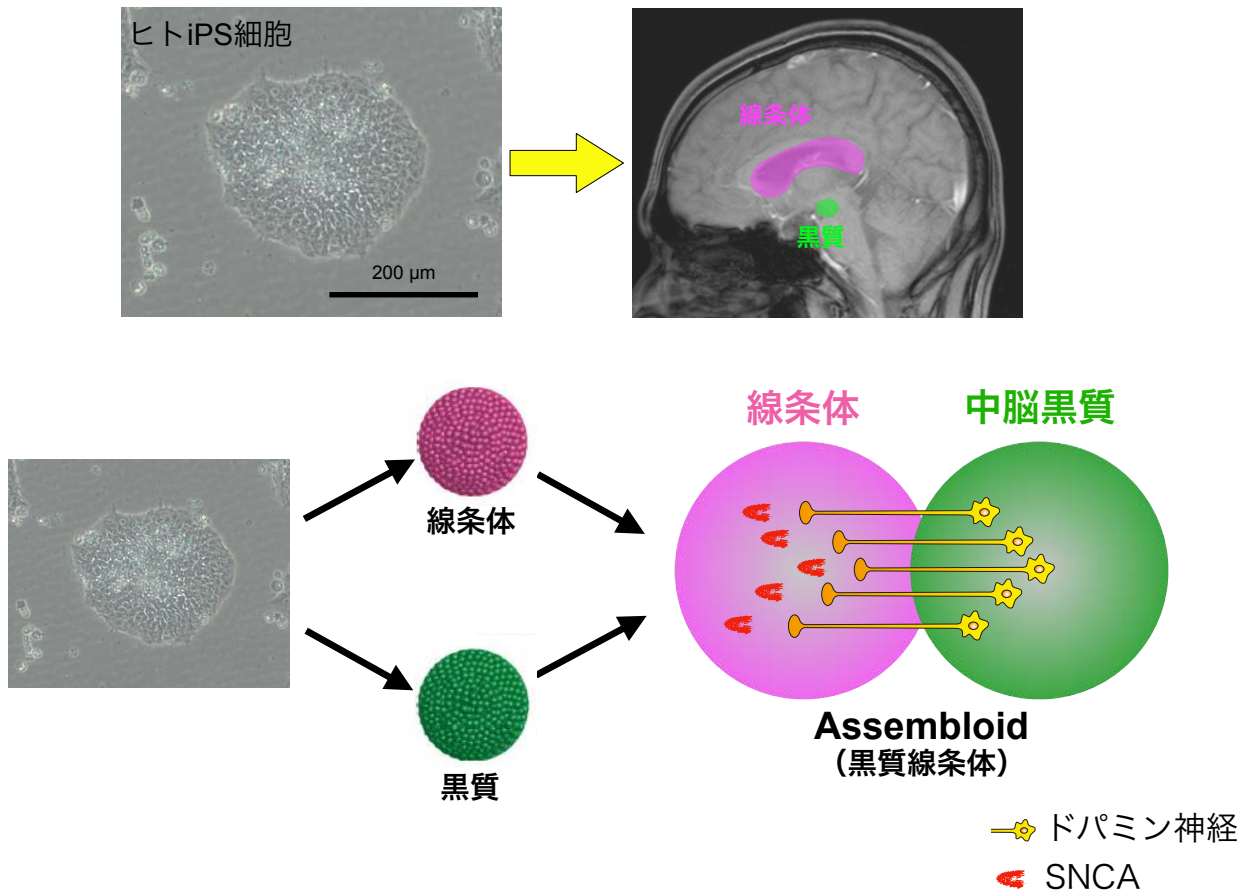


## 中脳黒質へのhSNCAの伝播

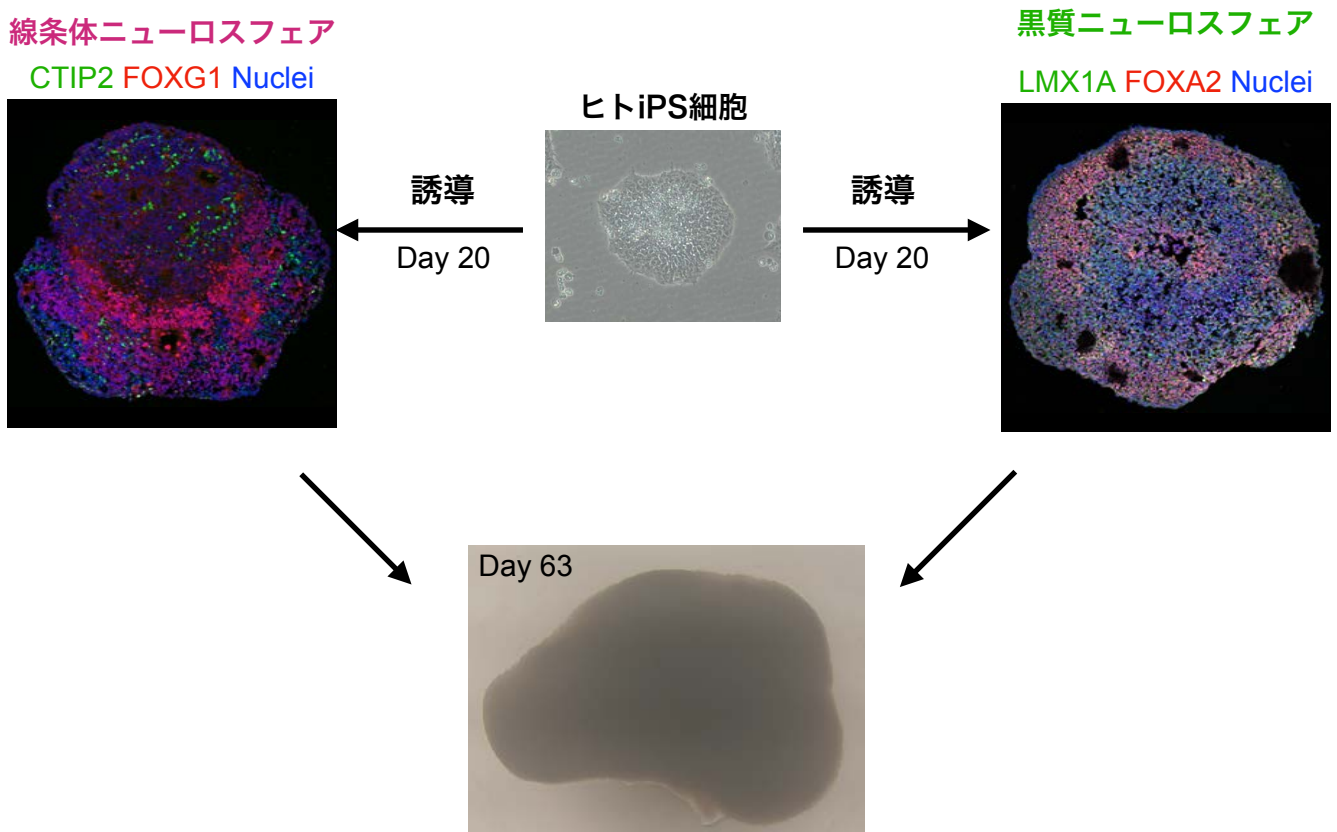
hSNCA-PFF 5  $\mu$ g注入してから2ヶ月後



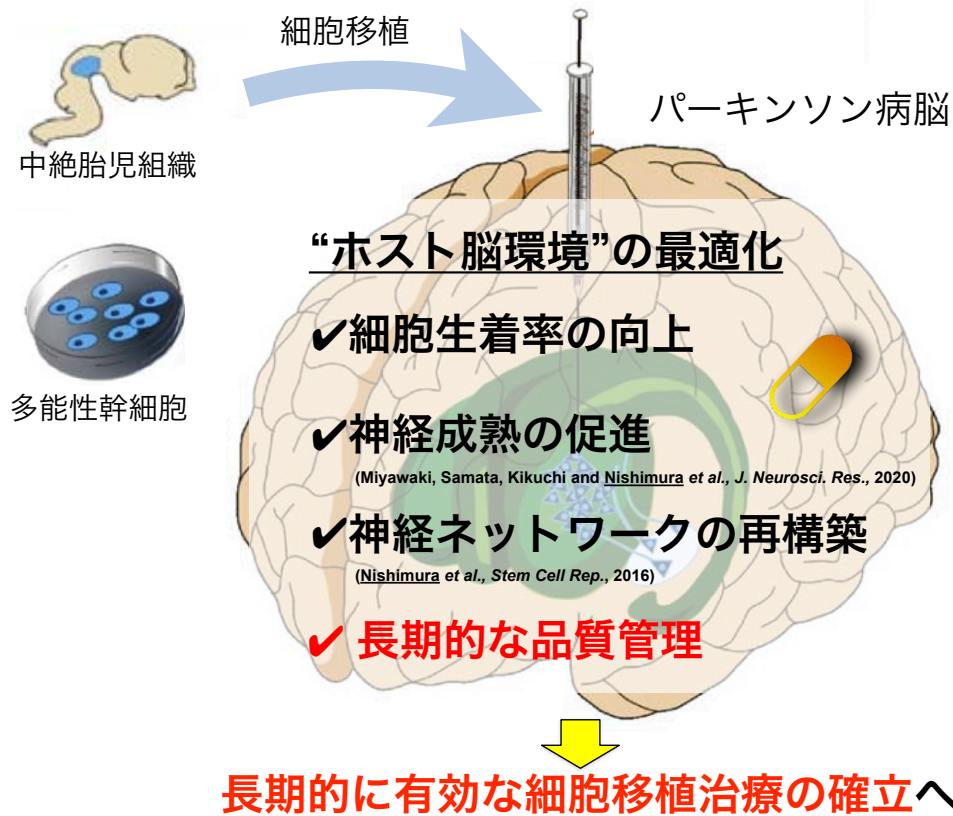
## 複合領域脳オルガノイドを用いたin vitro脳モデルの作製



## 複合領域脳オルガノイドを用いたin vitro脳モデルの作製



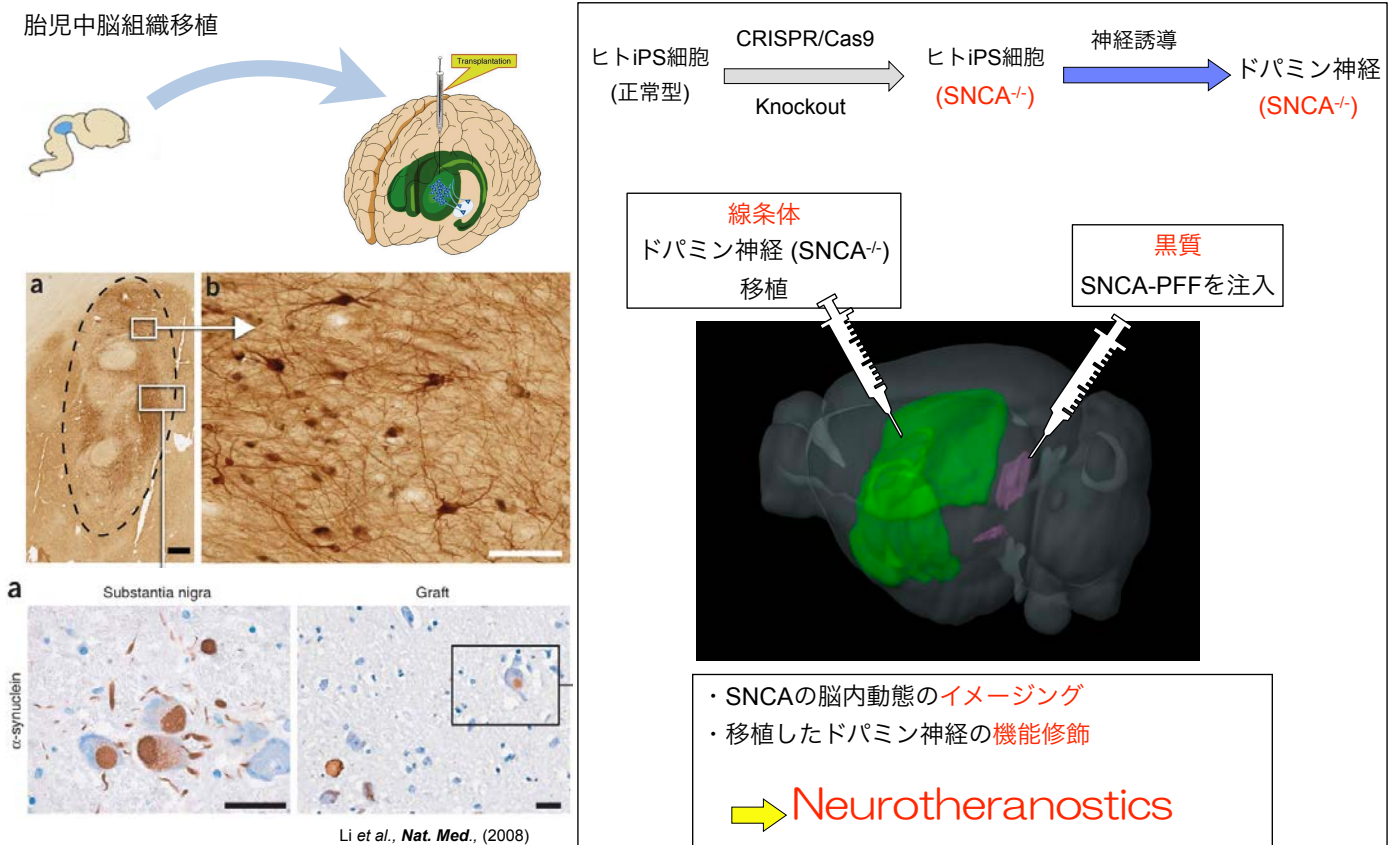
# パーキンソン病に対する細胞移植治療



Lindvall and Kokaia. *Trends in Pharmacol. Sci.*, (2009)

## Neurotheranostics:

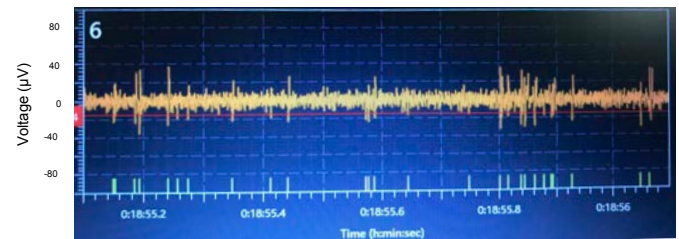
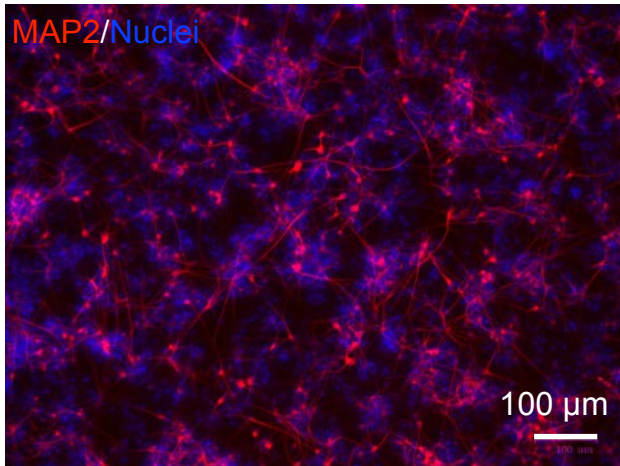
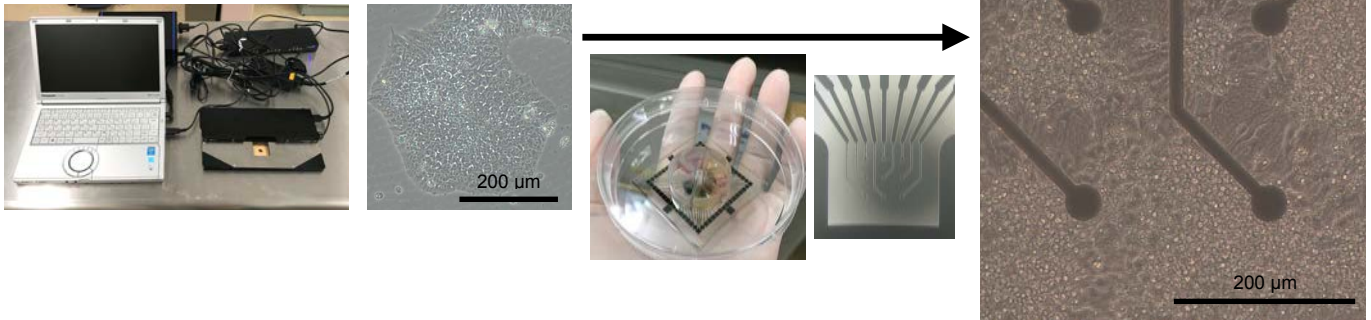
### 移植したドパミン神経のモニタリングと品質管理





# マルチ電極アレイを用いた神経活動の解析系の導入

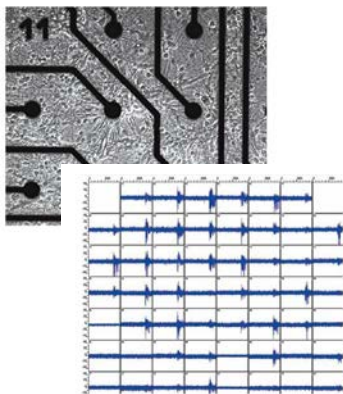
機器外観



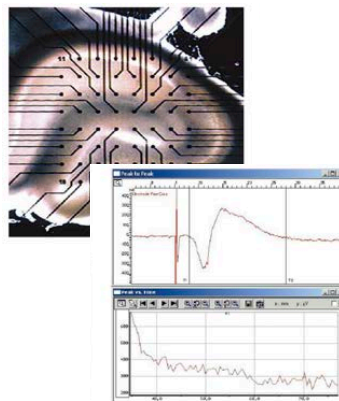
ぜひ多くの先生方にお使いいただければと思います！

## その他のアプリケーション（マルチ電極アレイ）

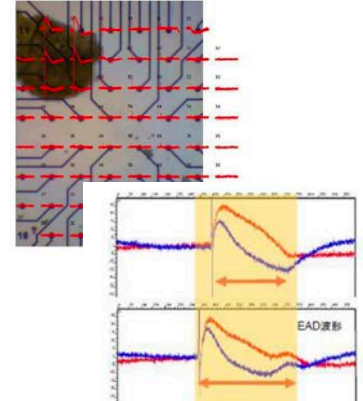
神経細胞機能解析



脳スライスの長期増強（LTP）



心筋細胞の機能評価



Contact: k-nishimura@mb.kyoto-phu.ac.jp

# Notch 受容体活性化における Context Dependency の機構解明に向けて

京都薬科大学基礎科学系一般教育分野 佐藤 毅

Notch シグナリングはショウジョウバエから哺乳動物まで広く保存されており、発生における細胞の運命決定、また成体では組織・器官の恒常性維持に関与する。従って、Notch シグナリングの破綻は様々な発生異常や疾患を引き起こす。ヒトには 4 種類の Notch 受容体、そのリガンドは 5 種類存在する。受容体の活性化は一般的には隣接した細胞間で生じる。活性化機構に関しては 1) リガンドの受容体への結合； 2) 2 種類の酵素による受容体の切断； 3) 受容体細胞質内ドメインの細胞内への放出と核への移行が順次生じると考えられている。

Notch シグナリングの研究において、最も興味をもたれているのは活性化における Context Dependency である。この Context Dependency に関して、興味深い事象が知られる。すなわち、Notch1 受容体のリガンド Dll1 と Dll4 は、それぞれ、筋形成を促進、阻害する。これは異なるリガンドが同種受容体に結合し、同様の機構で受容体細胞質内ドメインが細胞内へ放出され、核内移行するが、全く逆の機能発現が観察されるというものである。我々はこの機構の解明によって、当該シグナリングの分子機構におけるブラックボックスの中身を明らかにし、薬剤開発への新戦略の提唱を目指すこととした。

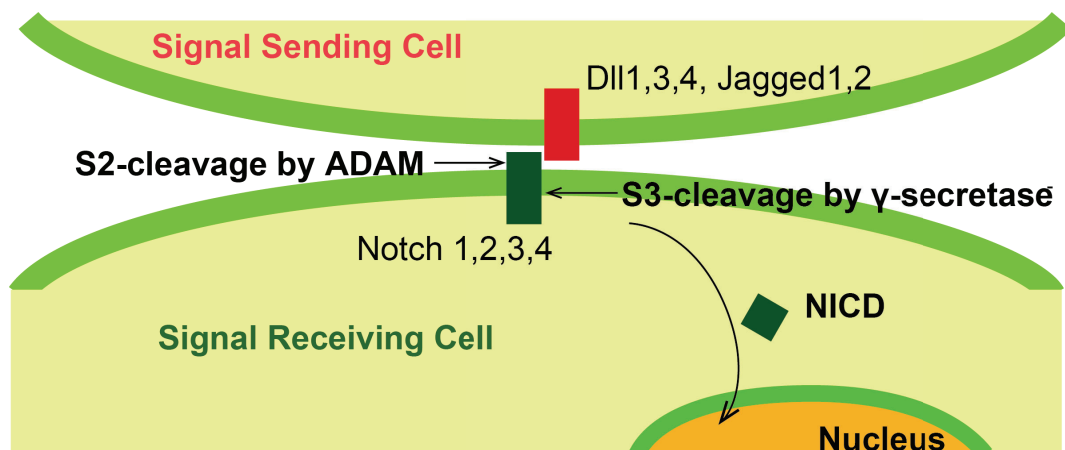
生体膜上における生物化学に興味を持つ我々が注目しているのは生体膜上における Notch 受容体の構造と Notch シグナリングにおける脂質の関与である。今回は後者に集中する。Notch リガンドの細胞外領域 N 末端には C2 ドメインと呼ばれる脂質結合領域が存在する (Suckling *et al.* *EMBO J.* 2017)。今回、Dll1 と Dll4 に関して、脂質との相互作用を分子動力学計算によってみていくこととした。その結果、C2 ドメインはガングリオシド(今回は GM1、GM3 を用いた)を介して、膜と結合することがわかった。Notch リガンドの C2 ドメインは、その構造中 1 番目と 2 番目の  $\beta$ -ストランドの間に存在するループ(B1-B2 loop)が脂質との相互作用に関与することが知られており(Suckling *et al.* *EMBO J.* 2017)、今回の計算では Dll1 に関しては、その再現性を得るという結果となった。一方、Dll4 に関しては、GM1 との相互作用は B1-B2 loop を介してのものであったが、GM3 との相互作用は、その構造中 2 番目と 3 番目の  $\beta$ -ストランドの間に存在するループ(B2-B3 loop)を介してのものだった。

本発表では、この計算結果と、Notch 受容体、そのリガンドの生化学的情報を合わせることで、上述の context dependency に関する考察を行う。

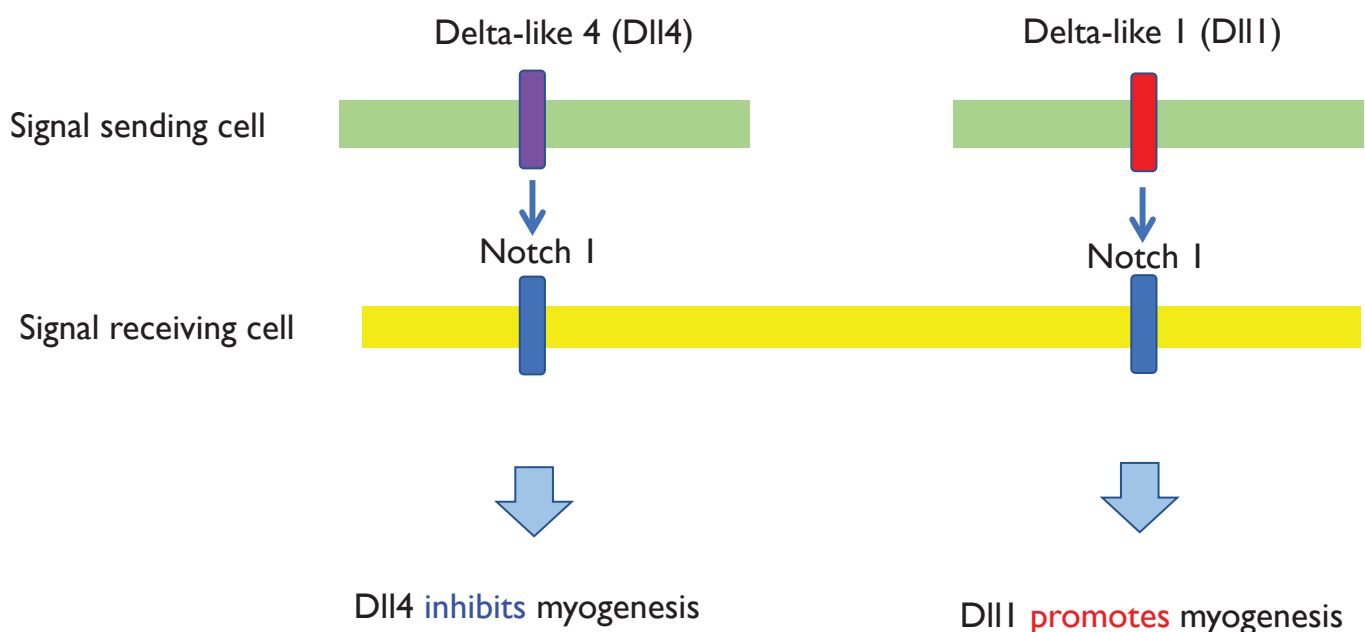


# Notch Signaling

- Four receptors and five ligands are known
- Receptors and ligands are single transmembrane proteins
- Occurs between juxtaposed cells
- Involves multiple cleavages of Notch receptor itself by ADAM (S2-cleavage) and then  $\gamma$ -secretase (S3-cleavage)
- Cleaved Notch intracellular domain (NICD) is released into the cell and reaches nucleus for gene expression

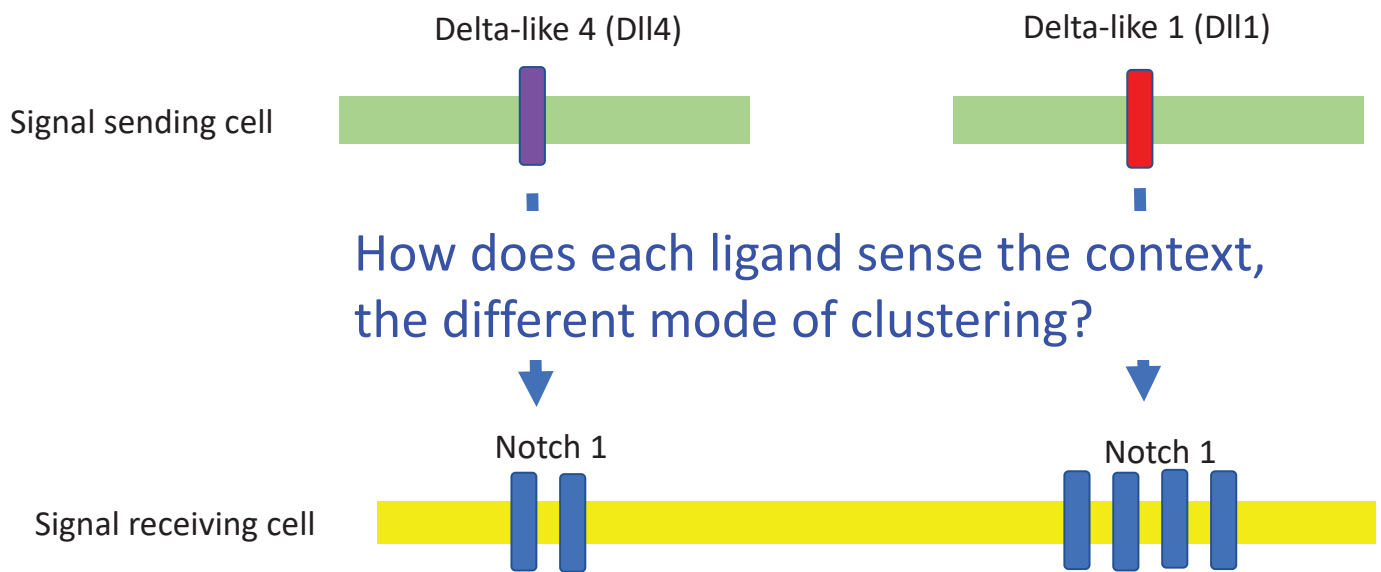


The biggest interest in our project:  
**Context Dependency**



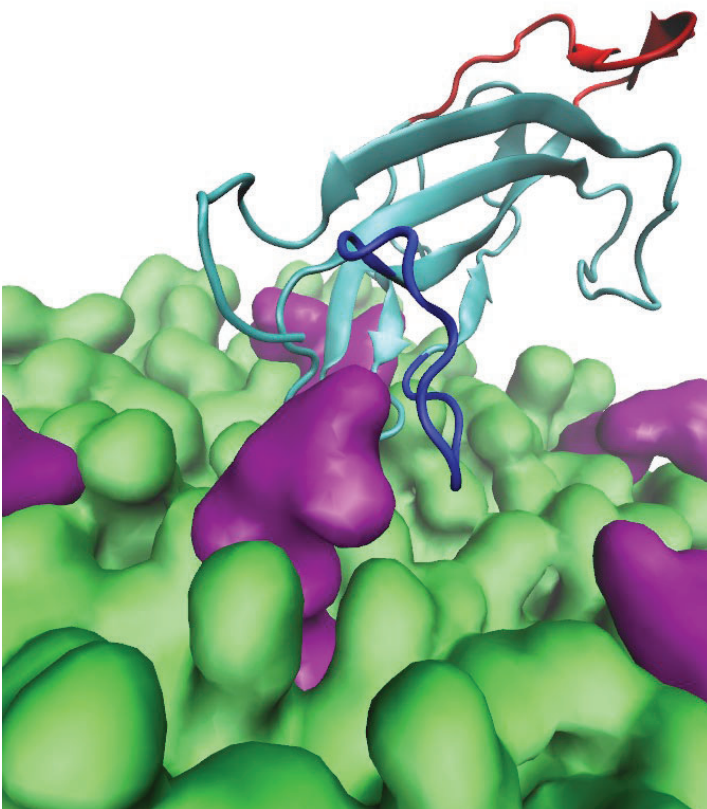
Notch ligands activate distinct target through the same receptor

Then the question is...



## Dll4 vs GM3

DOPC/GM3



All atom simulation  
FF: CHARMM 36  
Software: NAMD  
Duration: 250 us  
Temperature 298 K

# Notch 受容体を標的とする 核医学治療薬剤の開発

京都薬科大学共同利用機器センター 長谷川 功紀

様々な腫瘍の治療薬剤開発が行われているが、それでも未だ治療成績が低く、難治性腫瘍が存在する。その中で小細胞肺癌は、全肺がん中の 15%程度を占め、5 年生存率が 20%程度と低く、その治療法開発が求められている。小細胞肺癌の治療を困難とする理由の一つに腫瘍内不均一性が挙げられる。腫瘍は化学療法で効く細胞と効かない細胞が不均一に混在する。薬物治療により縮小した腫瘍でも、化学療法抵抗性細胞が残存し、そこから再び癌細胞が増殖すると考えられている。化学療法抵抗性細胞は代謝回転が悪く、FDG-PET での検出も困難である。そこで我々は、腫瘍内不均一性に着目し、化学療法抵抗性細胞に対し、診断・治療を行うための放射標識薬剤開発を行うこととした。

化学療法抵抗性細胞には Notch 受容体が高発現し、小細胞肺癌細胞の特徴である神経内分泌腫瘍への分化を抑制していることが報告されている。そこで我々は Notch 受容体に結合する低分子リガンド薬剤を創生し、さらに放射標識することで診断・治療を行える核医学治療薬剤開発を計画した。すでに Notch 受容体は、その内在性リガンドである DLL4 との共結晶が解析され、詳細な立体構造が報告されている。そこでその情報をもとに受容体に結合する可能性の高いペプチドを設計・合成し、また Notch 受容体への結合親和性を評価する方法の開発を行った。

Notch1 リガンドである DLL4 から受容体結合部位と考えられる 1 次構造を参考にペプチドを設計し合成を行った。結合親和性評価のために、タグとしてペプチドの N 末端アミノ基に FITC を導入した。結合親和性評価にはリコンビナント Notch 受容体を用いた。プレート表面にリコンビナント Notch 受容体を固定し、そこに FITC-ペプチドを反応させ、その結合量を抗 FITC 抗体により定量した。この方法を用い結合飽和アッセイを行い、現在結合能としては  $K_d$  値で  $2.3 \mu\text{M}$  のペプチドを得ることに成功している。このペプチドをさらに構造活性相関研究へと展開し、さらに結合能の高いペプチドを開発する。

また現在さらに小細胞肺癌細胞株を用い、ペプチドの阻害能評価法を開発している。小細胞肺癌細胞株からスフィアを形成させ、そこにペプチド添加し、Notch シグナルの抑制効果を明らかにする計画である。最終的には FITC を放射標識に置換することで、診断・治療を行うための放射標識薬剤へと発展させる予定である。

## 治療標的としてのNotch受容体

肺発生段階においてNotch経路が活性化されることで神経内分泌細胞への分化が抑制される

Basic helix-loop-helix transcription factors regulate the neuroendocrine differentiation of fetal mouse pulmonary epithelium. Ito T, Udaka N, Yazawa T, Okudela K, Hayashi H, Sudo T, Guillemot F, Kageyama R, Kitamura H. *Development*. **127**(18), 3913-21 (2000)

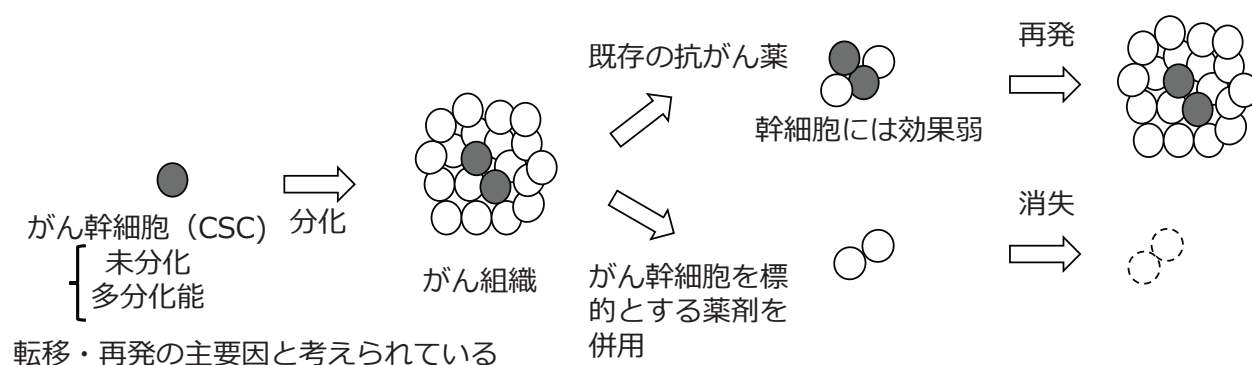
Notch活性化型-非神経内分泌性-小細胞肺癌細胞は成長が緩慢で化学療法に抵抗性を示し、神経内分泌腫瘍細胞に栄養的なサポートを行い、前駆細胞的役割を果たす

Notch1 controls cell **invasion** and **metastasis** in small cell lung carcinoma cell lines. Hassan WA, Yoshida R, Kudoh S, Hasegawa K, Niimori-Kita K, Ito T. *Lung Cancer*., **86**(3), 304-10.(2014)

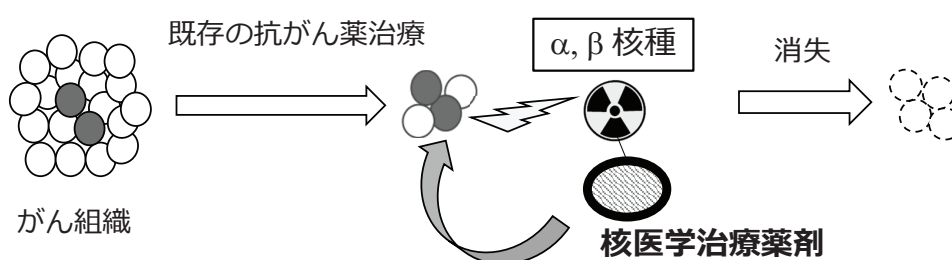
Notch1 controls cell **chemoresistance** in small cell lung carcinoma cells. Hassan WA, Yoshida R, Kudoh S, Kameyama H, Hasegawa K, Niimori-Kita K, Ito T. *Thorac Cancer*., **7**(1):123-8. (2016)

Intratumoural **heterogeneity** generated by Notch signalling promotes small-cell lung cancer. Lim JS, Ibaseta A, Fischer MM, Cancilla B, O'Young G, Cristea S, Luca VC, Yang D, Jahchan NS, Hamard C, Antoine M, Wislez M, Kong C, Cain J, Liu YW, Kapoun AM, Garcia KC, Hoey T, Murriel CL, Sage J. *Nature*., **545**(7654), 360-364. (2017)

## がん幹細胞 (cancer stem cell)を標的とする薬剤開発

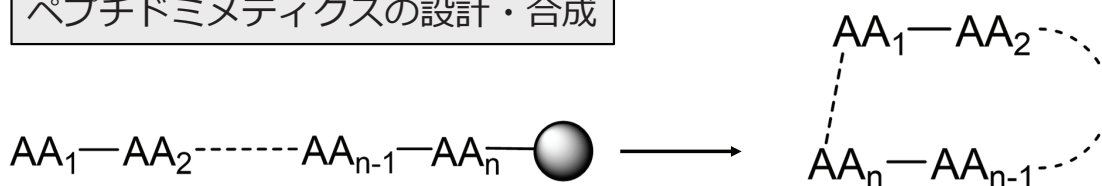


## がん幹細胞を標的とする核医学治療薬剤の開発

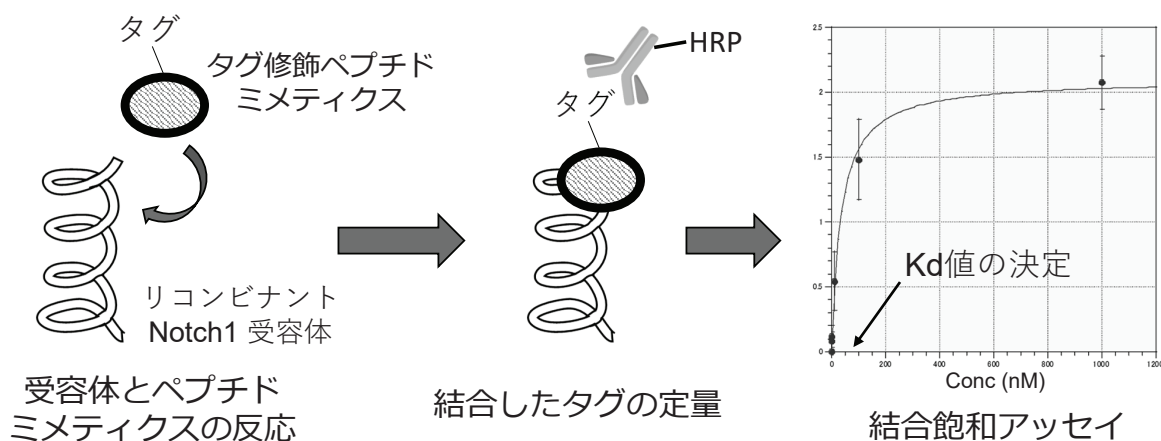


# ペプチドミメティクス設計・合成と Notch1 受容体への結合能評価系構築

## ペプチドミメティクス設計・合成

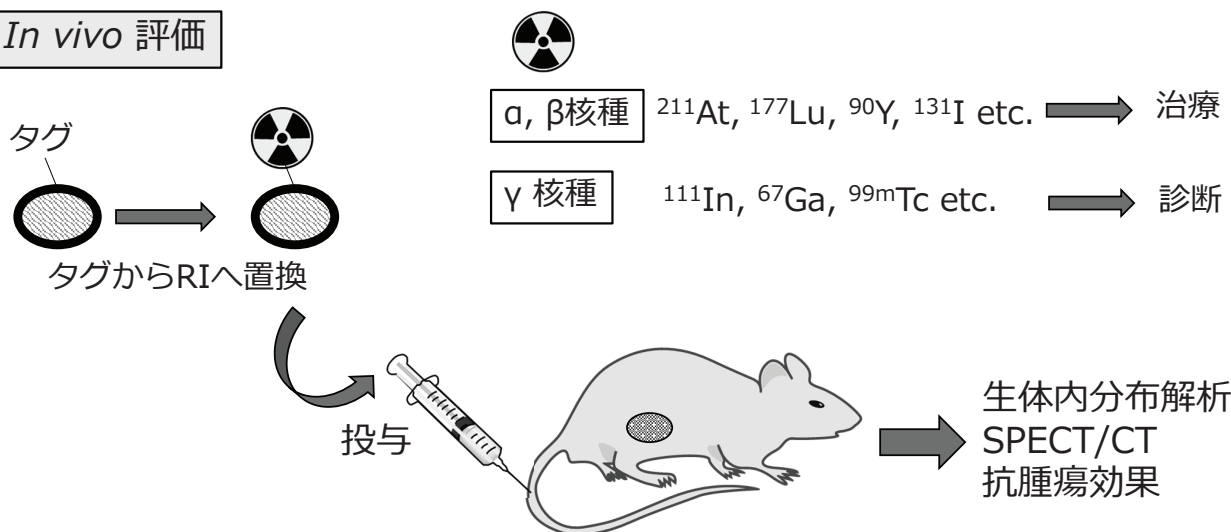


## リコンビナントNotch1受容体を用いたIn vitro 評価系の構築



## 最終目標

### In vivo 評価





京都薬科大学の研究力・教育力・活力を紹介

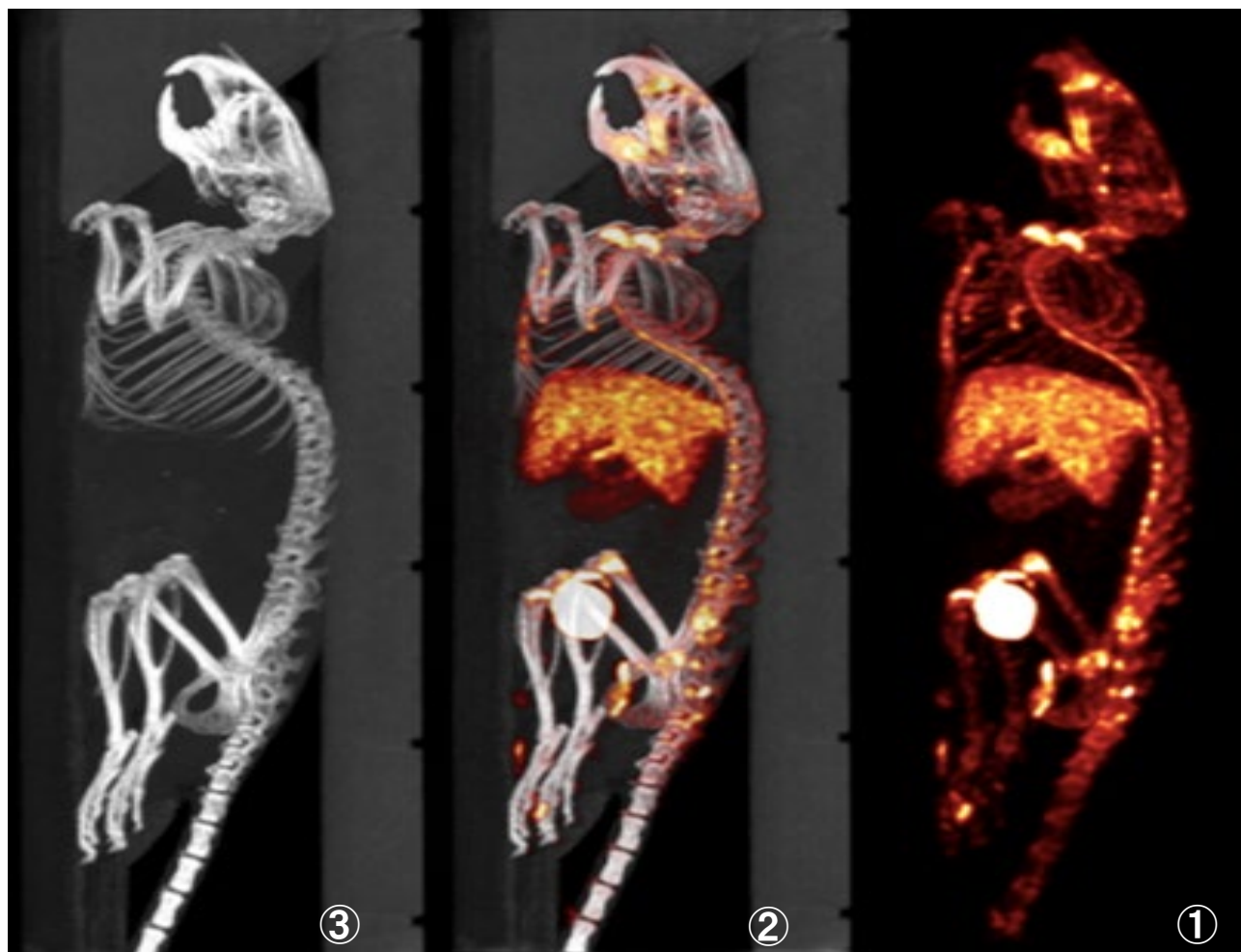
# NEWS LETTER

<Vol. 1>

文部科学省選定 2018年度私立大学研究ブランディング事業

## 「セラノスティクス」で、がん治療が変わる！

治療（Therapeutics）と診断（Diagnostics）を一体化した  
医（放射線医学）・薬（分子イメージング・治療薬）・工（医療機器）連携による最先端医療



▲ SPECT装置およびX線CT装置で撮影した画像例（MOLECUBES社提供）

- ① SPECT画像：形態学的変化ではとらえることが難しい病変の機能的変化を、病気を特異的に検出できる診断薬を用いることで、SPECT装置で画像化できる。
- ② SPECT画像にX線CT画像を重ね合わせた画像：SPECT画像だけでは位置情報が曖昧になる。それを補うために、位置情報を正確に把握できるX線CT画像（③）を重ね合わせることでより精度の高い診断が可能となる。左後肢の膝上あたりで光っている部分は、病巣に発現している標的分子に対して、投与した薬物が選択的に集積していることを示している。微細な病巣を発見できるだけでなく、病態を視覚的・定量的に確認することもできる。

2019年11月

社会を動かす薬学へ。



京都薬科大学

## このニュースレターのサマリー

### ● 見つけにくいがんや、薬が届きにくい臓器に発生するがんに対する治療法の確立が課題

がんは日本人の死因のトップで、年間約37万人が死亡している。一方で、新たな治療法や医療機器の研究・開発などが奏功し、がんの「5年相対生存率」は高まってきた。効果的ながん治療の第一歩は「早期発見」と「早期治療」である。しかし残念ながら、膵臓がん、胆のう・胆管がん、肝臓がん、肺がんといった「見つけにくいがん」や「薬が届きにくい臓器に発生するがん」は、依然として治りにくい。

今後のがん治療は、見つけにくいがんをどれだけ微細な段階で見つけられるか？他の臓器を傷つけることなく、標的とするがん細胞に対してのみ薬剤を届けられるか？が鍵を握っている。

参照ページ ▶ 4ページ 5ページ

### ● がんに対する新しい治療法として期待されている「セラノスティクス」

このがん治療の課題に対して、いま注目されているのが「セラノスティクス」だ。セラノスティクス(Theranostics)とは、治療(Therapeutics)と診断(Diagnostics)を一体化した新しい医療技術をさす。「診断」と「治療」を一体化するために欠かせないのは、「分子レベルで病巣を特定する」ことであり、その病態を「定量的に認識・分析できる」こと。そのために必要なのが「セラノスティクスプローブ」と「分子イメージング」技術である。おもにこの二つの技術から成り立つセラノスティクスは、まさに医(放射線医学)・薬(分子イメージング・治療薬)・工(医療機器)連携による最先端医療だ。

セラノスティクスによるがんの治療法が確立できれば、副作用なども軽減し、患者の生活の質(QOL)向上につながる。さらには、精密に分類された病態グループに用いる新たな治療薬の開発促進につながり、新薬開発の効率を大きく向上させ、創薬分野にも大きな影響を及ぼすことが期待されている。

参照ページ ▶ 6ページ 7ページ 8ページ

### ● 国内私立大学で唯一！セラノスティクス専用施設を整備した研究拠点を形成する京都薬科大学

京都薬科大学では、セラノスティクスの研究を進めるために、セラノスティクス専用研究施設を整備した「放射性同位元素研究センター(以下、RIセンター)」を中心とする研究拠点を形成。がんを対象とした先端的分子イメージング法の開発や、セラノスティクス創薬研究への応用を進めている。

ここでは、研究と臨床のそれぞれの領域において、京都4大学(京都薬科大学・京都府立医科大学・京都府立大学・京都工芸繊維大学)をはじめ、他大学の研究機関や附属病院、京都市中核病院、さらには、セラノスティクス先進地域であるヨーロッパの研究・医療機関であるドイツ・ヴェルツブルグ大学とベルギー・ゲント大学附属病院とも連携した活動が行われつつある。この事業は、文部科学省による「2018年度私立大学研究ブランディング事業」にも採択されている。

参照ページ ▶ 9ページ 10ページ 11ページ

### ● 放射線医療や核医学、デジタルサイエンス、AIまで、次世代医療の開発を担う「学際」的な人材を育成

さらに、この研究拠点は、今後のセラノスティクスを担える人材を育成するという狙いも持っている。本学の学生は、実際にRIセンターも利用し、在学中からセラノスティクス研究の現場を経験することができる。こうした経験を通じて学生は、薬学だけにとどまらず、放射線医療や核医学、デジタルサイエンス、人工知能(AI)などの学際的な知識を幅広く学ぶことができる。この研究拠点は、次世代医療の開発を担うことができる人材を育成するための教育システムそのものとなっている。

参照ページ ▶ 11ページ 12ページ 13ページ

## 目次

## 日本のがんの現状

ページ

年間約37万3000人が死亡、がんは日本人の死亡原因第1位だが、早期発見＆早期治療ができれば「不治の病」も「治る病気」に

4

## 日本のがん治療の課題

「見つけにくいがん・薬を届けにくいがん」にどう対処するか？  
見つけにくく届けにくいからこそ、早期発見＆早期治療が肝要

5

## セラノスティクス（Theranostics）とは？

治療（Therapeutics）と診断（Diagnostics）を一体化  
医（放射線医学）・薬（分子イメージング・治療薬）・工（医療機器）連携による最先端医療

6

## 先進地ヨーロッパと日本の現状

セラノスティクスをリードするヨーロッパでは、  
「診断」フェーズだけでなく、「治療」フェーズでの研究・治験が進む

8

## セラノスティクスでがん治療が変わる！

分子レベルで選択的・集中的に標的をとらえて診断・治療できる  
特にがん治療への応用・展開が進むセラノスティクス

8

## 京都薬科大学で進められているセラノスティクス研究

創薬とラジオセラノスティクス（Radio-Theranostics）研究拠点を形成  
2018年度私立大学研究ブランディング事業に採択

9

国内の私立大学では唯一！

セラノスティクス研究施設を整備した「放射性同位元素研究センター（RIセンター）」

10

ドイツ・ヴュルツブルグ大学とベルギー・ゲント大学附属病院と連携  
セラノスティクス先進国の機関との共同研究が進む

11

薬学をはじめ、放射線医療や核医学、デジタルサイエンス、AIまで  
次世代医療の開発を担える「学際」的な人材を育成

11

＜セラノスティクス研究の今後＞

前立腺がんにおいては、すでに臨床治験段階に至った研究も

12

＜セラノスティクス研究の今後＞

難治性がんの治療や、脳神経系疾患への応用の可能性も

12

担当教員が語る 京都薬科大学のセラノスティクス研究と人材育成

13

## 日本のがんの現状

## 年間約37万3000人が死亡、がんは日本人の死亡原因第1位だが、早期発見&amp;早期治療ができれば「不治の病」も「治る病気」に

男性は、肺、胃、大腸がんが多く、近年は前立腺がんが増加  
女性は大腸・結腸、膵臓、肺がんが多く、近年は乳がんが増加

がんは日本人の死亡原因のトップ（1位：悪性新生物〈がん〉）2位：心疾患 3位：脳血管性疾患）になっており、約3人に1人ががんによって死亡している（厚生労働省「平成29年（2017年）人口動態統計（確定数）」）。

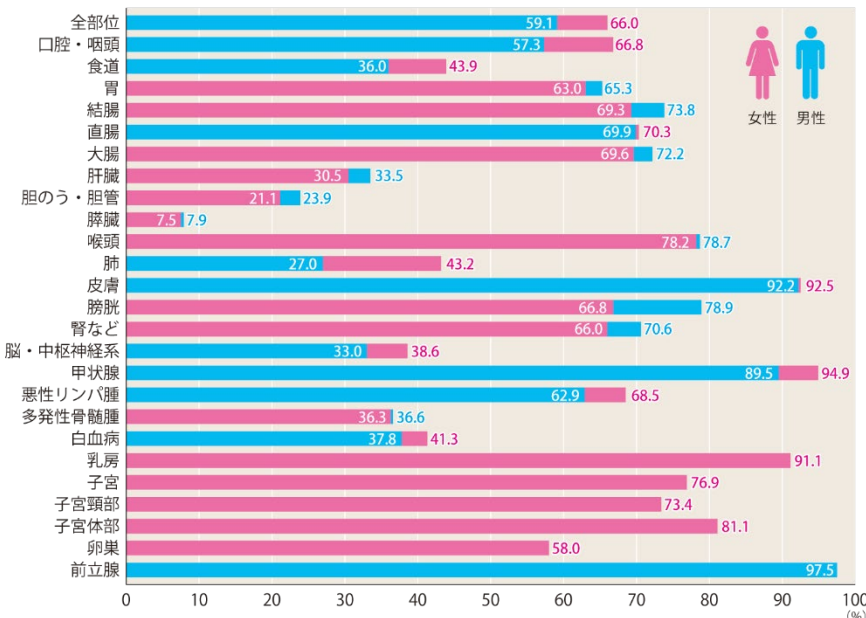
男女別にみると、男性では肺がん、胃がん、大腸がんが多く、近年は前立腺がんが増加傾向にある。女性では大腸がん、結腸がん、膵臓がん、肺がんなどが多く、近年は乳がんが増加傾向にある（右グラフ参照）。

男女ともに甲状腺がん、男性の前立腺がんや女性のがんなど、多くのがんで「5年相対生存率」は50%以上に

下のグラフは、がんの部位別にみた「5年相対生存率（※）」だ。すでに多くのがんで5年相対生存率は50%を超えている（2006年～2008年にがんと診断された人の5年相対生存率は、男女計で62.1%〔男性59.1% 女性66.0%〕）。かつては、がんと診断されれば、それは「死」を意味した。しかし今は、**早期発見・早期治療ができるなら、「治ることが見込める病気」**になってきている。

## ■がんの部位別にみた「5年相対生存率」

（男女ともに2006～2008年間の診断例）

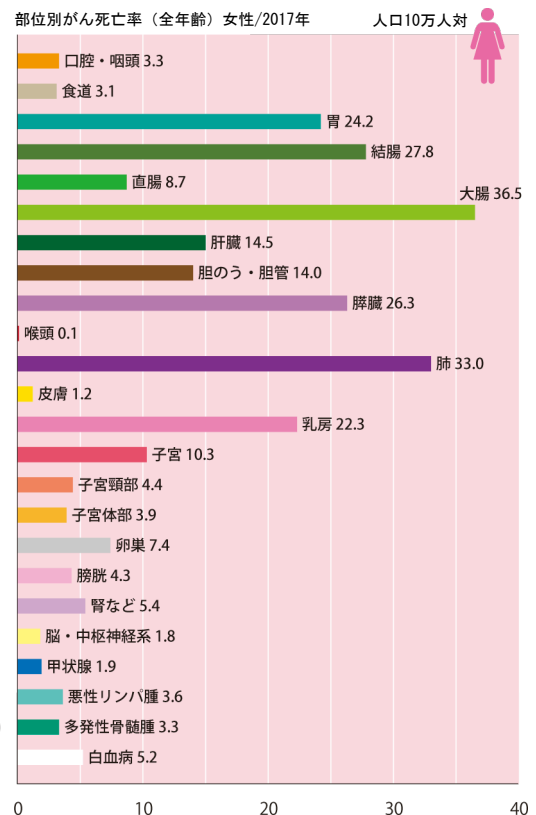
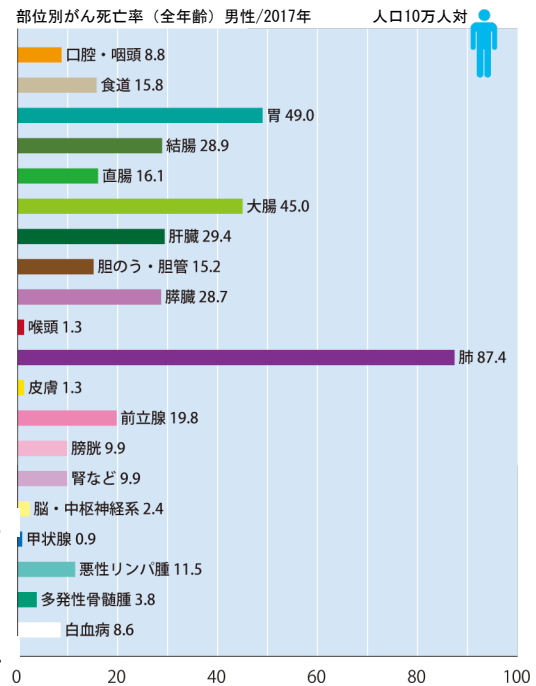


## ※5年相対生存率

がんと診断された人のうち5年後に生存している人の割合が、日本人全体で5年後に生存している人の割合に比べてどのくらい低いかで表す。100%に近いほど治療で生命を救えるがん、0%に近いほど治療で生命を救い難いがんであることを意味する

## ■部位別のがん死亡率

（1年間に人口10万人あたり何人死亡するか）



資料：国立がん研究センター がん対策情報センター「がん登録・統計」



## 日本のがん治療の課題

# 「見つけにくいがん・薬が届きにくいがん」にどう対処するか？ 見つけにくく届けにくいからこそ、早期発見&早期治療が肝要

膵臓、肝臓、胆のう・胆管など、  
「沈黙の臓器」の5年相対生存率は低い

がんは「治る病気」になりつつあるものの、それでも依然として「治りにくい⇨死に至る確率が高い」がんもある。膵臓がん、胆のう・胆管がん、肺がん、肝臓がんなどがそれだ。

なぜ、他の部位に起こるがんより治りにくいのか？大別すると、以下の二つの理由に集約される。

## <理由①> 見つけにくい

一つめは、これらの臓器で発生するがんは、「発見しにくい」点にある。

皮膚がんのように自分の目にも症状が見えるがんなら早期発見はたやすい。しかし、内臓系のがんは目には見えない。とはいえ、たとえば胃がんなら、食欲減退、胸やけといった「自覚症状」もあるため、早めの発見も可能だ。しかし、「沈黙の臓器」と呼ばれる膵臓、肝臓、胆のう・胆管などは、何かしらの病変が起こったとしても、自覚症状は少ない。また、肺がんや胃がんのレントゲンやバリウム検査などのような視覚化もしづらい。

これらのがんの多くは、腫瘍マーカーの血液検査での数値異常によって発見されることが多い。しかし、血液中に数値が現れるに至った段階では、臓器の病態が悪化していることが多い。

## <理由②> 標的病巣に薬剤を届けにくい

二つめの理由は、これらの臓器に対しては、抗がん剤などの薬剤を「選択的」に届けることが難しいことが挙げられる。

つまり、多くの場合は“他の臓器の機能に障害をきたす副作用を覚悟して投薬治療する”しかない状況なのだ。言い換えれば、「少ない投薬治療の選択肢で、かつ、他臓器への侵襲性が高い薬剤」に頼った治療をせざるを得ず、本来望む治療効果は得にくい状況が起きている。

切除、薬物療法、放射線治療、免疫療法etc.  
それぞれに長短を持つがんの治療法

もちろん、がんの治療法は投薬治療だけではない。その他にも、外科的切除や放射線治療、免疫療法などもある。さらには、それらを組み合わせて治療にあたることも多い。

しかし、それらの治療法には、進行度によってはその治療法が使えない、他の臓器の機能を害する副作用を伴う、体への負担が大きい、といったデメリットやリスクも抱えている。

例えば切除は、転移性の低い早期がんには有効だが、転移が認められた段階では必ずしも有効とは言えない。放射線照射も、被ばく量をコントロールするために回数制限があり、その間に効果がなければ続行できず、また、病巣以外の細胞へのダメージもある。免疫細胞を活性化させる免疫療法も、免疫細胞の活性化が原因で起こる免疫過敏による副作用も考えられる。一長一短だ。

## 治療の成否は、やはり「早期発見&早期治療」 その可能性を秘めているのが「セラノスティクス」

膵臓、胆のう・胆管、肺、肝臓などに発生する、見つけにくく薬を届けにくいがんこそ、早期発見&早期治療が肝要になる。

まだ微細な段階でがんを発見できれば、転移の可能性も低く、治療法の選択肢は増え、自ずと治療する率も高まる。また、他の臓器への侵襲性の低い治療法が採られるならば副作用も少なく、患者の術後の通常生活への復帰も早く、QOL向上にも貢献できる。

さらに大きな視点で見れば、患者の命を救うことはもちろんだが、医療費削減などにも貢献する。すなわち、難治性のがんの早期発見は、社会課題の解決に直結しているとも言える。

その難治性がんを含め、がんの早期発見と早期治療をなすうる有効なアプローチとして、いま注目をされているのが「セラノスティクス」なのだ。



## セラノスティクス (Theranostics) とは？

## 治療 (Therapeutics) と診断 (Diagnostics) を一体化

## 医 (放射線医学) ・薬 (分子イメージング・治療薬) ・工 (医療機器) 連携による最先端医療

患者一人ひとりの生体と病態を正確に診断し、  
最適な治療を施す

セラノスティクス (Theranostics) とは、治療 (Therapeutics) と診断 (Diagnostics) を一体化した新しい医療技術である。患者個々の病態像を正確にとらえたうえで、最適な治療を施す「プレシジョン・メディシン」をめざしている。

プレシジョン・メディシンとは、患者の細胞、遺伝子、受容体やたんぱく質発現などの特性を、最先端技術を用いて分子レベルで判別して精密にグループ化し、適切な投薬、治療と予防を提供する医療だ。2015年にアメリカのオバマ前大統領が一般教書演説で触れたことで一躍有名になった。

一人ひとりの生体レベルで最適化された治療が実現すれば、副作用なども軽減し、患者のQOL向上につながる。さらには、精密に分類された病態グループに用いる新たな治療薬の開発促進につながり、新薬開発の効率を大きく向上させ、創薬分野にも大きな影響を及ぼす。セラノスティクスは、そのプレシジョン・メディシンの推進に重要な役割を果たすと期待されている。

セラノスティクスを実現する技術は、  
「セラノスティクスプローブ」開発と「分子イメージング」

「診断」と「治療」を一体化するために欠かせないのは、「分子レベルで病巣を特定する」ことであり、その病態を「定量的に認識・分析できる」ことだ。

そのための技術が「セラノスティクスプローブ」の開発と「分子イメージング」である。

セラノスティクスは、おもにこの二つの技術から成り立っており、これは、医 (放射線医学) ・薬 (分子イメージング・治療薬) ・工 (医療機器) 連携による最先端医療ともいえる。

※1

**ナノ担体**：ナノレベルの担体 (キャリア)

**ミセル**：分子間力による多数の分子の集合体。界面活性剤などの分子またはイオンが数十個から数百個集まってつくるコロイド粒子

**リポソーム**：一つの分子上に親水性部分と疎水性部分とを持たせた分子から作られる複合体

※2

**MRI**：Magnetic Resonance Imaging (核磁気共鳴画像診断)

**PET**：Positron Emission Tomography (陽電子放射型断層撮影)

**SPECT**：Single Photon Emission Computed Tomography (単光子放射型コンピュータ断層撮影)

●セラノスティクスプローブとは？

分子レベルで病巣を発見し、  
薬剤を選択的・集中的に届けるナノ担体

イメージングプローブとは、「特定の物質を検出・画像化する化合物」をさす。たとえばがんなら、各部位で発生するがん細胞に発現する、がんの特徴的な物質に反応し、病巣を特定できる化合物だ。画像化する物質と治療物質を搭載して、体内を巡りながら標的とするがん細胞を発見してダメージを与える「監視と攻撃」の役割を担うのが、「セラノスティクスプローブ」である。このセラノスティクスプローブには、ミセルやリポソームなどのナノ担体 (※1) の開発が進められている。ナノ担体は、分子中に診断能をもつ物質と治療効果をもつ物質とを共存させることができるからだ。

●分子イメージングとは？

標的病巣に選択的に集積する化合物に対して、  
放射性同位元素を導入して視覚化する技術

セラノスティクスプローブが標的を発見し病巣に到達したとしても、それが「見える化」されなければ、診断も治療も進められない。その「見える化」する技術が、「分子イメージング」である。代表的な装置にはX線CT、MRI、PET、SPECT (※2)、超音波診断装置などがあり、利用するイメージング装置に応じて診断能を持つ物質がセラノスティクスプローブに導入される。

●ラジオセラノスティクスとは？

放射性薬剤が選択的・集中的に病巣に届き、  
一つで、診断と治療の二役を担うことができる

診断用放射性薬剤を使った「分子イメージング」で“診断”を行うとともに、同じ仕組みで治療用放射性薬剤を患部に送り込み、病巣だけを狙う放射性同位元素で“治療”もできるようにしたものが「ラジオセラノスティクス」である。すでに承認されている薬剤には、SPECTプローブの「<sup>111</sup>In-イブリツモマブチウキセタン」や、治療用の「<sup>90</sup>Y-イブリツモマブチウキセタン」などがある。

## セラノスティクス（Theranostics）とは？

■ セラノスティクス(ラジオセラノスティクス)の全体概念(イメージ) ■

### Precision Medicine

(プレジジョン・メディシン)

患者個人の詳細な生体情報を統合し、最適な治療法を選択する新しい医療アプローチ

### Imaging Based Precision Medicine

病変した局所の分子病態を、周囲を侵襲することなく、定量的に評価できるアプローチ

診断  
Diagnostics

セラノスティクス  
Theranostics

治療  
Therapeutics

治療用の放射性薬剤を患部に送り込み、診断と治療が同時にできるようにする

### 分子イメージング技術=可視化技術

SPECT

Single Photon Emission  
Computed Tomography  
単光子放射型断層撮影

MRI

Magnetic Resonance  
Imaging  
核磁気共鳴画像診断

PET

Positron Emission  
Tomography  
陽電子放射型断層撮影

X線CT

X線コンピューター  
断層撮影

使用するイメージング装置に応じて  
診断能を持つ物質を導入

放射性同位元素  
造影剤  
診断薬

### 放射性同位元素内用療法

<すでに医薬品として承認されている薬剤>

$^{111}\text{In}$ -イブリットモブチウキセタン（診断薬）

$^{90}\text{Y}$ -イブリットモブチウキセタン（治療薬）

など

放射性同位元素  
治療薬

病巣に薬剤を選択的・集中的に送達

ラジオセラノスティクスプローブ

診断薬

治療薬

セラノスティクスプローブ

病巣から出される特徴的な物質を検出するための化合物

届ける

Drug Delivery System

## 先進地ヨーロッパと日本の現状

## セラノスティクスをリードするヨーロッパでは、 「診断」フェーズだけでなく、「治療」フェーズでの研究・治験が進む

### 伝統的に放射線医療に長けるドイツ

#### 診断領域の課題はほぼクリアし、臨床治験が進む

世界的に見て、ラジオセラノスティクスの研究が進んでいるのはヨーロッパである。なかでもドイツは、放射線医療機器メーカーが集中していることからわかるように、世界の放射線医療を牽引している。

京都薬科大学が提携するドイツ・ヴュルツブルグ大学は、世界で初めてラジオセラノスティクスの臨床応用を始めた大学である。

ヨーロッパにおけるラジオセラノスティクスは、すでに診断領域での課題はほぼクリアされており、現在は、治療領域での課題に取り組んでいる。研究機関、病院、製薬企業などが連携して臨床治験を進めると同時に、新たなラジオセラノスティクス関連の薬剤の開発も進められている。

### 日本は、まだ治療核種を製造できていない段階 臨床を行える人材、病院の不足が遅れの要因に

一方、日本のラジオセラノスティクスは、まだ発展途上にある。なかでも治療用核種が製造できていない点でヨーロッパに遅れをとっており、現在、国も環境整備に注力している。独立行政法人日本医療研究開発機構（AMED）による平成29年度「医療研究開発革新基盤創成事業」では、製薬会社の日本メジフィジックス株式会社からの応募を採択。同社は大型サイクロトロンなどを備えた研究製造拠点を開設。

とはいえ現段階では、ラジオセラノスティクスに関する知見と技術を持ったスタッフ数が圧倒的に不足していることもあり、臨床治験を行える病院は少ない。今後日本でラジオセラノスティクスを進めるには、「人材」の裾野を広げることが喫緊の課題となっている。

## セラノスティクスでがん治療が変わる！

## 分子レベルで選択的・集中的に標的をとらえて診断・治療できる 特にがん治療への応用・展開が進むセラノスティクス

### 現在のがん治療法の「手が届かない」点を解決 30万人超が落命する重大疾病克服の可能性も

冒頭でも紹介したが、日本人の死亡原因のトップは、がんである。たしかに、がんの治療技術は確実に進化した。それでも、年間37万人以上が命を落とす重大な疾病であることには違いない。また、その治療過程においては、薬剤による副作用などもあり、患者の肉体的・精神的苦痛は小さくない。

この重大な疾病であるがんに対し、分子レベルで標的病巣を定め、一人ひとりの病態を診断・精査でき、選択的・集中的に治療薬を届けることで副作用も少ない治療法が確立されるなら、その社会的な貢献は計り知れないものがある。

セラノスティクスが注目されている理由は、そこにある。

### 生存率が低い転移性前立腺がん その転移したがん細胞にも有効な「LuPSMA」

ラジオセラノスティクスによるがん治療成功例として世界的に注目されているのが、転移性前立腺がんの治療だ。原発巣から遠隔部位に転移した前立腺がん患者の生存率は低い。前立腺がんの細胞膜には「前立腺特異的膜抗原（PSMA:Prostate specific membrane antigen）」という膜タンパク質が多く発現する。このPSMAを選択的に標的とする低分子リガンドにルテチウム-177という放射性同位元素を組み合わせたのが「ルテチウム-177 PSMA-617（LuPSMA）」である。

LuPSMAは正常細胞を傷つけることなく、転移したがん細胞に対し高線量の放射線を照射する。治験の結果、多くの患者で、転移したがん細胞の減少が見られ、完全に消滅した例も報告されている。

## 京都薬科大学で進められているセラノスティクス研究

創薬とラジオセラノスティクス（Radio-Theranostics）研究拠点を形成  
2018年度私立大学研究ブランディング事業に採択

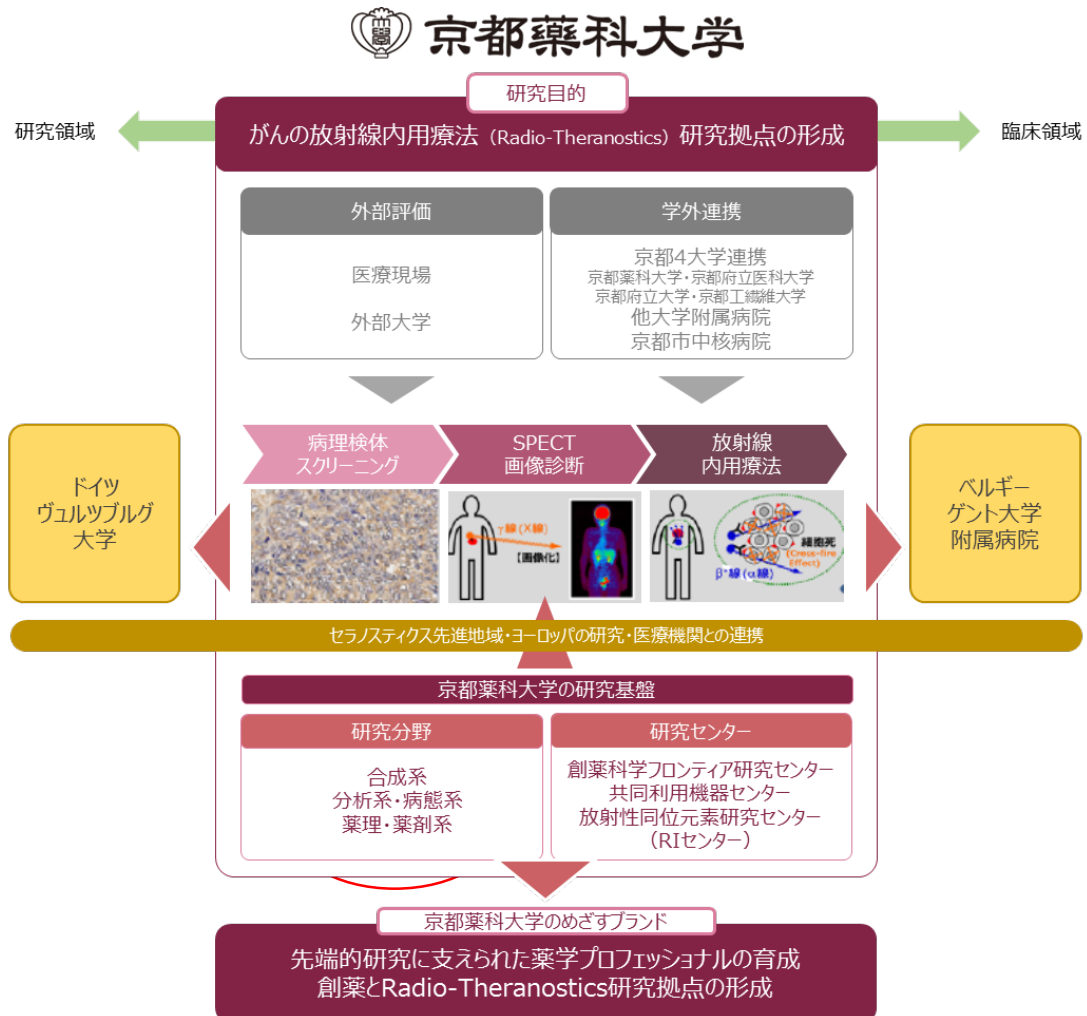
## 他大学や医療機関、セラノスティクス先進地域 ヨーロッパの研究・医療機関と連携した研究拠点を形成

京都薬科大学では、様々ながんの診断と治療を並行して行えるセラノスティクス創薬をめざす研究基盤を構築し、さらなる早期発見・早期治療につなげる先端的研究を進めている。これは、学内の各研究分野や、RIセンター、創薬科学フロンティア研究センター、共同利用機器センター、バイオサイエンス研究センターなどの研究センターが連携しながら進める研究活動で、がんを対象とした先端的分子イメージング法の開発や、セラノスティクス創薬研究への応用が進められている。

またこれは、研究と臨床のそれぞれ領域において、京都4大学（京都薬科大学・京都府立医科大学・京都府立大学・京都工芸繊維大学）をはじめ、他大学の研究機関や附属病院、京都市中核病院、さらには、セラノスティクス先進地域であるヨーロッパの研究・医療機関、ドイツ・ヴュルツブルグ大学とベルギー・ゲント大学附属病院とも連携して行われている。

この事業は、文部科学省による「2018年度私立大学研究ブランディング事業」にも採択されている。

## ■ 京都薬科大学の研究ブランディング事業の全体像（イメージ） ■





## 京都薬科大学で進められているセラノスティクス研究

## 国内の私立大学では唯一！ セラノスティクス研究施設を整備した「放射性同位元素研究センター（RIセンター）」

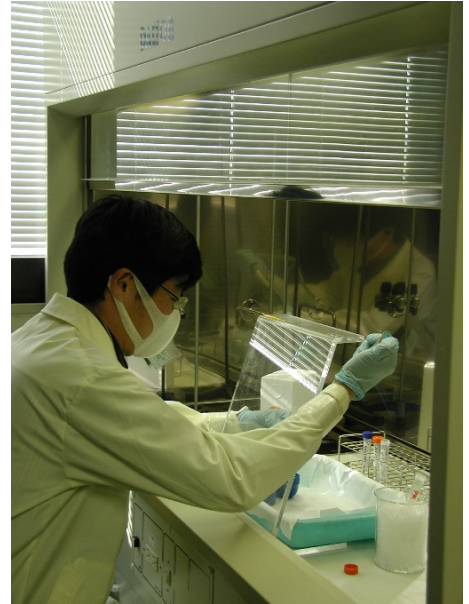
SPECTやX線CTを用いた「イメージング実験」と、  
治療核種を用いた「治療実験」の二つの実験を、一拠点で完結できる

京都薬科大学は、放射性同位元素（Radioisotope, RI）を用いた実験ができるRIセンターを有しており、さらにその中にセラノスティクス研究のための専用施設も整備している。このような総合的な施設を有する私立大学は、国内では他にはない。

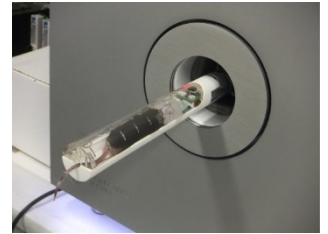
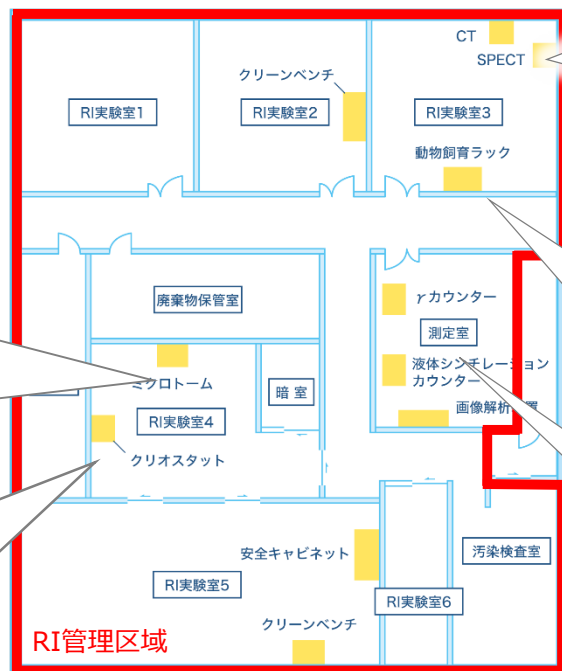
この施設の最大の特長は、SPECTやX線CTを用いた「イメージング実験」と、治療用核種を用いた「治療実験」の両方を一括して行えることである。

2018年6月には、ベルギー・MOLECUBES社製のSPECT装置およびX線CT装置を導入。同時に、RIセンターで扱える放射性同位元素を18核種から60核種へと大幅に拡充した。

さらには長期飼育が可能な動物飼育施設も完備した環境下で、セラノスティクスプローブの合成をはじめ、各種トレーサー実験（化合物の体内分布や細胞取込み量の測定、組織における受容体密度の定量など）や治療効果の経過観察を行っている。



### ■ 京都薬科大学RIセンター内の機器設置状況 ■



2018年6月に導入されたベルギー・MOLECUBES社製のSPECT装置、X線CT装置をはじめ、液体シンチレーションカウンター、ウェル型γカウンター、バイオイメージングアナライザー、超遠心機、高速液体クロマトグラフィー等の機器およびクリーンベンチや安全キャビネット等の機器を設置。遺伝子組換え生物を用いた実験も可能。生物系、分析系の分野を中心に、学内外の研究者が登録され、幅広い利用をめざしている。



## 京都薬科大学で進められているセラノスティクス研究

ドイツ・ヴュルツブルグ大学とベルギー・ゲント大学附属病院と連携  
セラノスティクス先進国の機関との共同研究が進む

京都薬科大学では、セラノスティクス研究を進めるにあたっては、研究先進地域であるヨーロッパのなかでとりわけ先端的知見を持った研究・臨床機関と連携している。

## ●ドイツ・ヴュルツブルグ大学

1402年創立以来、600年以上の歴史を誇るドイツの名門大学。現在は、10学部・学生数約29,000人を数える総合大学で「先進的ドイツの大学」の一つにあげられている。

第1回ノーベル物理学賞を受賞したレントゲン博士がX線を発見した大学としても有名だが、人間の血液型を発見しノーベル生理学・医学賞を受賞したカール・ラントシュタイナー博士も在籍した。伝統的に、放射線をはじめとした医学研究が盛んな大学である。世界に先駆けて、がん患者に対する新しい

ラジオセラノスティクスの臨床応用が進められた大学でもある。

## ●ベルギー・ゲント大学附属病院

1817年創立。総学生数約32,000人。そのなかで、14,000人以上の学生が大学院まで進む研究系大学で、ルーヴェン・カトリック大学と並び称されるベルギー最高峰の大学。

京都薬科大学では、脳に関する研究を加速するために、ゲント大学発のベンチャー企業・MOLECUBES社と、SPECT画像の高感度化をめざしたコリメーターを共同開発を進めている。このコリメーターの開発が進めば、現在京都薬科大学で進めているダウン症の原因解明や、パーキンソン病、アルツハイマー病に関する研究、新薬開発などへの利用が見込まれる。

薬学をはじめ、放射線医療や核医学、デジタルサイエンス、AIまで  
次世代医療の開発を担える「学際」的な人材を育成

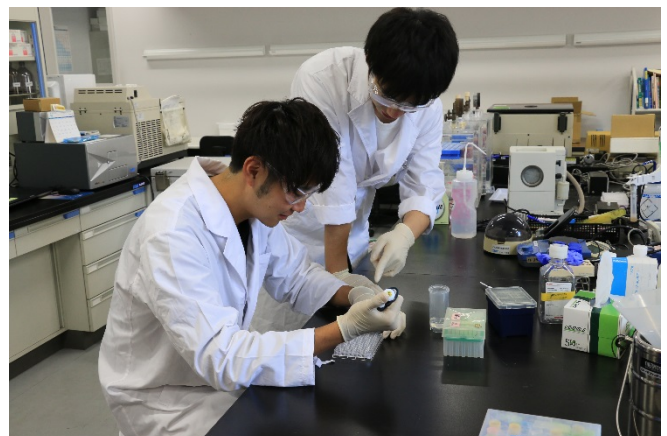
## 薬学だけにとどまらず、放射線医療や核医学、デジタルサイエンス、AIなどの学際的な知識を学ぶ

京都薬科大学が育成をめざす薬剤師は、幅広い科学的知見を基盤にして、豊かな人間性と高い専門性も併せ持つ「ファーマシスト・サイエンティスト」だ。そのためには学際領域を学ばねばならない。とりわけセラノスティクス研究は、医学・薬学・工学にまたがった知識を必要とする。

学生は3年次から研究室へ  
セラノスティクス研究の現場も経験

学生は、3年次からは自分が学びたい研究室に所属するが、それぞれの研究分野は、セラノスティクスの研究基盤となるRIセンターを通じて水平的に連携している。本学学生は、実際にこのRIセンターも利用し、在学中からセラノスティクス研究の現場を経験できる。

こうした経験を通じて学生は、薬学だけにとどまらず、放射線医療や核医学、デジタルサイエンス、AIなどの学際的な知識を幅広く学ぶことができる。この研究拠点は、次世代医療の開発を担うことができる人材を育成するための教育システムそのものとなっている。



## 京都薬科大学で進められているセラノスティクス研究

## &lt;セラノスティクス研究の今後&gt;

## 前立腺がんにおいては、すでに臨床治験段階に至った研究も

前立腺がんを高発現する膜抗原PSMAに着目し、PET用の診断薬「 $^{18}\text{F}$ -FSU880」を開発

京都薬科大学の教員が行ったセラノスティクスの研究のなかには、すでに臨床研究段階に至り、近い将来、一般診療においてもその成果が期待されているものもある。

その一つが、前立腺がんを検出するPETプローブ「 $^{18}\text{F}$ -FSU880」の開発だ。前立腺がんは、他のがんに比して、その細胞膜に膜抗原PSMA (Prostate specific membrane antigen) を多く発現する。これは前立腺がんにもみられる大きな特徴だ。

本学の木村寛之准教授と京都大学・佐治英郎名誉教授の研究チームでは、このPSMAを標的とした診断薬として、PET、SPECT用分子プローブの開発を行い、PETプローブ「 $^{18}\text{F}$ -FSU880」の開発に成功した。

## 京都大学との共同研究で、ラジオセラノスティクスプローブの開発にも着手

現在、 $^{18}\text{F}$ -FSU880は国内で臨床研究を行っており、今後国内においては一般診療にも普及することが見込まれている。さらに、これまでの研究で得た知見をもとに、PSMAを標的としたラジオセラノスティクスプローブ（診断能と治療効果を併せ持つプローブ）の開発にも着手。国立研究開発法人日本医療研究開発機構（AMED）の支援を受けて、京都大学医学部附属病院・中本裕士准教授らと共同で開発を進めている。

前立腺がんは再発・転移を経て悪性化し、特に転移後の治療は未だに困難だ。悪性度の高い前立腺がんにも高発現するPSMAを標的としたラジオセラノスティクスは、新しい治療法になると期待されている。

## &lt;セラノスティクス研究の今後&gt;

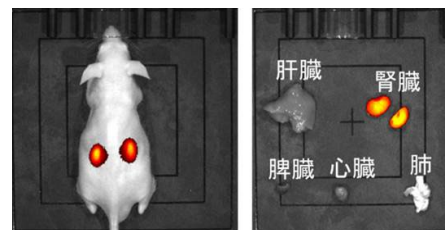
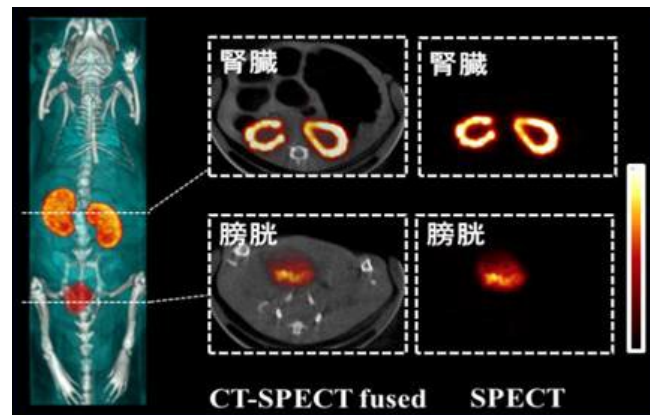
## 難治性がんの治療や、脳神経系疾患への応用の可能性も

腎臓に治療薬や診断薬を送達できる  
ナノ薬物担体の開発に成功

京都薬科大学で進めているセラノスティクスに関連する研究のなかには、従来の医療効果を大幅に改善する可能性を予見させる成果も上がっている。

2018年9月、本学の勝見英正准教授と山本昌教授、木村寛之准教授らの研究グループは、腎臓に治療薬や診断薬をピンポイントで送達できるナノ薬物担体の開発に成功した。これまでも、腎臓へ送達する薬物担体の研究・開発はなされてきたが、その多くは腎臓だけでなく、肝臓や脾臓などの標的臓器以外の部位へも移行し、腎臓にピンポイントで送達する薬物担体の開発は難しかった。今回開発したナノ薬物担体を利用すれば、治療が困難とされてきた「慢性腎不全」や「腎細胞がん」などの薬物治療・診断の大幅な改善と副作用の軽減が期待されている。

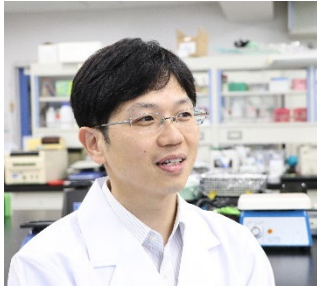
今後京都薬科大学では、こうした例にとどまらず、パーキンソン病などの脳神経系疾患に対するセラノスティクスアプローチの研究も進めていく予定だ。



<マウス静脈内投与後のセリン結合ナノ薬物担体の体内動態>  
(上)放射性同位元素で標識したセリン結合ナノ薬物担体のSPECT/CT画像  
(下)近赤外蛍光標識セリン結合ナノ薬物担体の蛍光画像  
オレンジ色部分に薬物が集積していることを示している。肝臓や脾臓などには影響せず、とりわけ腎臓(およびそこを経て排泄される膀胱)にのみ、薬物が集中していることがわかる

## 京都薬科大学で進められているセラノスティクス研究

## ■ 担当教員が語る 京都薬科大学のセラノスティクス研究と人材育成



木村 寛之 准教授

&lt;研究室&gt;

分析薬科学系 代謝分析学分野

&lt;専門領域&gt;

放射性医薬品、放射化学、生体分析、分子イメージング、画像診断、放射性同位元素内用療法、トランスレーショナルリサーチ

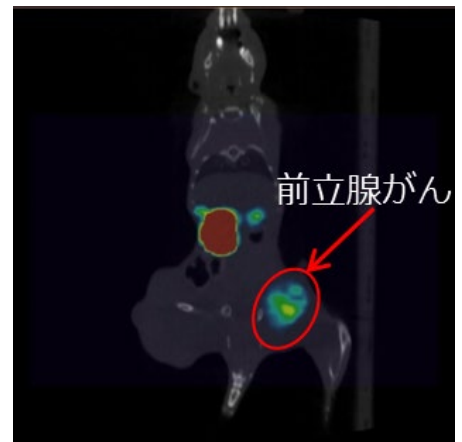
## 製薬企業・病院・国内外の大学や研究機関と連携した実践的研究を学生も研究に参加して、「次世代型薬剤師・研究者」を育成

京都薬科大学では、2018年6月、RIセンターに、ベルギーMOLECUBES社製のSPECT装置とX線CT装置を導入し、同時に、同研究センターで扱える放射性同位元素を18核種から60核種へと大幅に拡充しました。

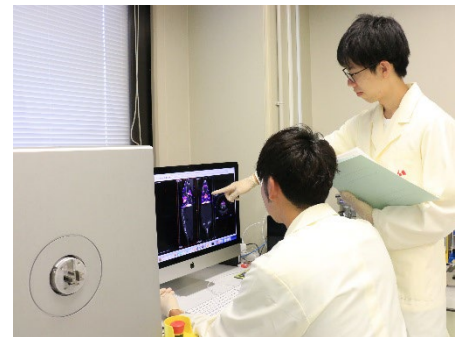
この研究センターを基盤として、がんを対象とした先端的分子イメージング法の開発や、前立腺がん、乳がん、肺がん、膵臓がんなどを対象とした精度の高い診断薬と治療薬の開発を行っています。

本学の研究活動の最大の特長は「外部連携」です。製薬企業・病院・国内外の大学や研究機関などと連携して、これまでにない創薬シーズを探し出し、本学から世界へ向けて、新しい医療を提供することをめざしています。すでに臨床治験段階に達している前立腺がんを早期に発見する診断薬「 $^{18}\text{F}$ -FSU880」などは、その好例です。共同研究を進めているドイツ・ヴュルツブルグ大学とは、研究成果の一部を国際科学誌でも発表しています。

また、これらの研究を「教育の場」として活用している点も、大きな特長の一つです。学部学生や大学院生がこの「セラノスティクス創薬研究」に加わり、新しい診断・治療法に対する深い理解と実践能力を身につけることで、次世代の医療現場を支えることができる薬剤師・研究者へと成長できると考えています。



前立腺がんに発現するPSMAを標的としたSPECT薬剤の開発を進めている。



## ■ 学生の声

横山 雄己さん  
(4年次生)

母や叔母が医療・介護の仕事に就いていた影響で、薬剤師の道を選びました。セラノスティクスは、入学後に知りました。多くの分野を学ばねばならず大変ですが、自分の視野が広がることを実感しています。将来は放射性医薬品を製造・研究するような、研究と現場を兼ねた仕事に就ければと思っています。

藤井 貴之さん  
(4年次生)

花粉症がひどく、こうした苦しみ悩む人の助けになりたいと薬学を選びました。RIセンターでの研究に参加し始めて「画像技術は面白い」と気づきました。以前にもまして工学系への興味が湧いています。ここで学んだイメージング技術を使える仕事に就くことも選択肢の一つになっています。



## 京都薬科大学で進められているセラノスティクス研究

## ■ 担当教員が語る 京都薬科大学のセラノスティクス研究と人材育成



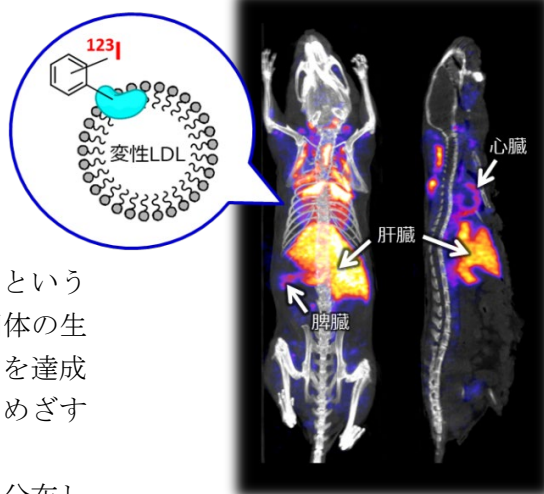
## 河嶋 秀和 准教授

＜研究室＞ 放射性同位元素研究センター(RIセンター)

＜専門領域＞ 放射性医薬品、分子イメージング、トランスレーショナルリサーチ

「特定の疾患を正確に診断し、効果的な治療へと結びつける」という広義のセラノスティクスを実践するには、その病態のみならず個体の生理的状态を分子レベルで熟知しておくことが大切です。この目的を達成するため、放射性分子プローブを用いた画像診断技術の構築をめざすとともに、その重要性を教育の場で広く伝えていきます。

生体で老廃物の除去を担うスカベンジャー受容体は全身に広く分布し、恒常性の維持に深く関与しています。「悪玉コレステロール」として知られるLDLの変性体を放射性同位元素にて標識し、マウスに静脈内投与すると、右図のように特徴的な放射能分布を示すSPECT/CT画像が得られました。今後はモデルマウスを用いて生活習慣病や悪性腫瘍をはじめとする様々な病気と脂質代謝異常との関連性を解き明かし、これら疾患の治療戦略に繋げたいと考えています。



## 放射性ヨウ素 (I-123) で標識した変性LDLの正常マウス体内分布

老廃物を除去するスカベンジャー受容体が発現している肝臓や脾臓の他、心臓のような筋肉等への分布も示唆された。運動生理学の視点からも、脂質代謝の改善が健康増進に寄与する知見が得られるかも知れない。

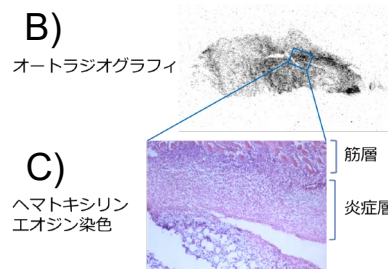
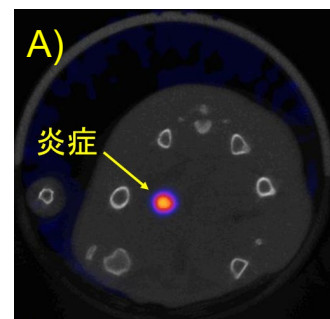


## 長谷川 功紀 准教授

＜研究室＞ 共同利用機器センター

＜専門領域＞ タンパク質科学、放射性薬剤学、組織細胞化学、病理学

セラノスティクス研究ではまず疾患部位に集積する薬剤を見つける必要があります。そのためには、疾患部位で起こる生化学的変化を理解し、変化に対して集積する性質を有する薬剤を開発することが必要です。私の研究は、炎症部位を可視化する放射性薬剤の開発を行っています。細菌感染や自己免疫疾患、そしてがんでも炎症は起こります。炎症の波及範囲を明確にすることは治療範囲を決めるのに重要です。炎症が起ると、その部位では血管が緩み、血液中の成分が漏出します。私はその変化に着目し、血液に多く含まれるアルブミンというタンパク質に結合する薬剤を開発しました。炎症部位へアルブミンが漏出すると、一緒に結合した薬剤も漏出し、炎症部位に薬剤が集積します。その薬剤に放射性同位元素を標識し、投与することで、SPECT/CTにより炎症部位を可視化することに成功しました（図 A）。今後は、この薬剤に治療薬剤を結合させ、セラノスティクス研究へとさらに進展する予定です。



**炎症部位を可視化する放射性薬剤の開発**  
我々が開発中の炎症に集積する放射性薬剤を用い、本学のSPECT/CT装置によりラットの大腿部の炎症部を可視化した（図 A）。炎症組織を取り出し、薄切後にオートラジオグラフィによりミクロレベルでの薬剤集積を確認した（図 B）。さらに薄切した組織をヘマトキシリンエオジン染色し、光学顕微鏡で炎症細胞浸潤のある部位と薬剤集積部位が一致することを確認した（図 C）。

＜本資料に関するお問い合わせ先＞

京都薬科大学 企画・広報課

谷垣 朱美

Tel:075-595-4691 Fax:075-595-4750

E-mail: [kikaku@mb.kyoto-phu.ac.jp](mailto:kikaku@mb.kyoto-phu.ac.jp)



「セラノステイクス」でがん治療が変わる！

社会を動かす薬学へ。



京都薬科大学

## 私立大学研究ブランディング事業

### 受容体特異的画像化技術を基盤とする

### がん放射線内用療法（radio-theranostics）研究拠点の形成

## News Letter Vol.1

### — はじめに —



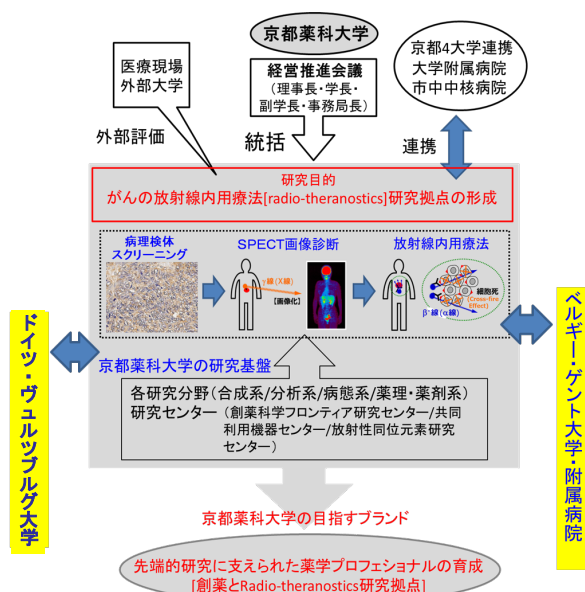
研究統括  
薬品化学分野

赤路 健一

京都薬科大学が数年前から独自に研究体制を整備してきたセラノスティクス研究が、文部科学省選定 2018 年度私立大学研究ブランディング事業に選定されました。研究タイトルは、「受容体特異的画像化技術を基盤とするがん放射線内用療法（radio-theranostics）研究拠点の形成」です。本事業は、本学のこれまでの研究実績のみならず大学全体のガバナンス体制を含めた事業推進組織が総体として評価され選定されたものであります。大学全体の研究基盤をさらに強化するとともに研究ガバナンス体制を確立するためにも有益な事業であり、特定の研究グループのみではなく本学のステークホルダーすべてにかかわってくる事業であります。この点を肝に銘じ、本事業だけにとどまらず、本学の将来の研究展開につながるプロトタイプ事業としなければなりません。このような観点から、本学のすべての研究者がそれぞれのお立場で本研究事業に参画いただけるよう、本研究事業で進めている内容を定期的に本ニュースレターで概説させていただく予定です。

本号では、セラノスティクス研究の概要と本学での研究基盤、当面の重点研究テーマ、これまでの進展などについて紹介させていただきます。文部科学省の事業としては3年計画の事業になりますが、この事業を起爆剤として本学から新しい研究領域が生まれることを大いに期待しております。これまで積み上げてきた本学の研究基盤は、このような新展開を可能にするだけの厚みを持つものであります。現時点での研究展開をできる限りオンタイムで紹介することで、本学の多様な研究基盤に基づく新たな研究展開のご提案を是非いただきたいと思っております。

事業開始にあたりご挨拶かたがた事業目的をご紹介させていただきました。なにとぞよろしくお願いいたします。



## ー各プロジェクト研究紹介ー

### 生体イメージング技術と iPS 細胞技術の融合によるパーキンソン病の病態解明と新規診断・治療法の開発



統合薬科学系

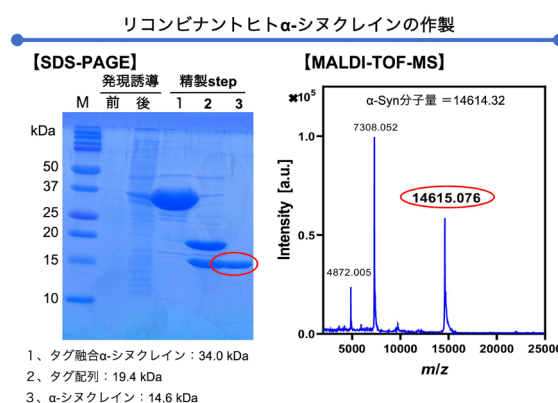
西村 周泰

超高齢化社会を迎えた日本。加齢そのものが危険因子となる疾患の一つにパーキンソン病が挙げられる。パーキンソン病は、中脳ドパミン神経が選択的に脱落する神経変性疾患であり、失った神経細胞を再生することができない我々ヒトにとっては、いかにして神経細胞の脱落を防ぐのか、そして機能再生的治療法を開発できるかが、今後の治療戦略を考える上で重要な課題である。

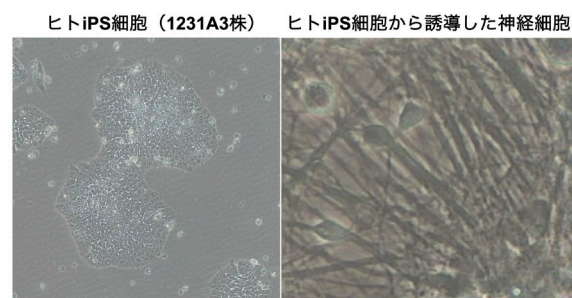
一般的にパーキンソン病症状が発症する頃には生存しているドパミン神経は 20%を下回っており、症状が発症してから予防策を講じて、もはや手遅れである。従ってパーキンソン病の発症を予防するには、ドパミン神経の脱落および、その脱落と強い相関のある分子の挙動をいち早く捉え、早期診断に役立てることが求められる。我々は、パーキンソン病の発症と深く関わりのある  $\alpha$ -シヌクレイン (SNCA) タンパク質を標的とし、病態の理解、早期診断法および機能再生的治療法の開発を目指して、統合薬科学系の高田和幸教授、薬品物理化学分野の斎藤博幸教授および扇田隆司助教と連携し、異分野共同でこの課題に取り組む。

現在、SNCA タンパク質の脳内動態を解析できる実験系の構築を行っている。具体的には、斎藤教授および扇田助教が合成した高純度の単量体ヒト SNCA タンパク質を、マウス脳に微量注入し時間経過とともに、脳内伝播、凝集・沈着およびリン酸化などの物性変化を捉える実験系の構築を

進めている。これに加え、代謝分析学分野の木村寛之准教授の協力を得て、SNCA タンパク質を選択的に認識する放射性プローブの開発も進めている。また、SNCA タンパク質の脳内動態の変化とドパミン神経の脱落を可視化するため、放射性同位元素研究センターの河嶋秀和准教授の協力のもと SPECT イメージングを行う予定である。このような生体イメージング技術をパーキンソン病の病態形成機序の解明に応用し、さらには、早期診断法の開発につなげる。



治療的発展としては、ヒト多能性幹細胞を用いた細胞移植治療に焦点をあてる。過去に行われた、中絶胎児細胞移植における剖検脳を用いたスタディーでは、移植した細胞への SNCA タンパク質の伝播が観察されており、長期的な治療効果を担保するには移植した細胞の“品質管理”の可視化が必要であると考えている。我々は、現在までにヒト iPS 細胞の培養系を本学に導入し、ドパミン神経細胞への安定的な誘導に成功している。今後、SNCA 遺伝子を欠損するヒト iPS 細胞を樹立し、この細胞から誘導したドパミン神経をモデル動物の脳へ移植し、移植細胞への SNCA タンパク質の



伝播を可視化する方法の開発を目指す。これにより、移植したドパミン神経細胞の時間・空間的な品質管理法の開発につなげたいと考えている。

## Notch 受容体を標的とする内用療法に基づく難治性腫瘍治療法の開拓



### 共同利用機器センター

#### 長谷川 功紀

がんは“不治の病”と言われて久しい。しかし近年になり様々ながんの治療標的が発見され

た。そして、それに対応する治療薬の開発が行われることで徐々に患者の生存率も向上してきている。しかしいまだに難治性のがんは存在している。がん治療の難しさの一つに、治療中のがん細胞が徐々に性質を変化させ、抗がん剤が効かないがん細胞が出現することが挙げられる。がん細胞は様な性質を持つ集団ではなく、異なる性質を持った集団、つまりは“不均一”である。そしてそれが治療抵抗性を生む原因の一つであることが判ってきた。そこで我々は腫瘍内不均一性に着目し、その原因となる因子を標的として治療薬を開発することを着想した。

腫瘍内不均一性を生じるメカニズムとして Notch シグナルの関与が報告されている。難治性腫瘍の一つに、小細胞肺癌がある。通常、Notch シグナルは肺発生の際に活性化を受けることで前駆細胞の神経内分泌細胞への分化を抑制する。小細胞肺癌は神経内分泌腫瘍の特徴を有しているので通常は Notch シグナルが不活化されている。しかし、小細胞肺癌の集団の中では Notch シグナルが活性化されることでその集団の中に非神経内分泌細胞の特徴を有する細胞が出現する。この特徴の異なる細胞が化学療法に対して抵抗性を示し、そして再び増殖することが再発の原因となると考えられている。そこで我々は腫瘍内不均一性を有する難治性腫瘍の治療標的として

Notch 受容体を選択した。研究計画としては、①まずは Notch 受容体に結合する薬を開発する、②さらに薬に対し透過性の高い診断用放射性核種を標識し、治療効果予測を行うための放射性薬を開発する、③細胞傷害性の高い治療用放射性核種を標識した治療薬を開発し、難治性腫瘍の根治療法開発を目指す。

本研究プロジェクトでは、メンバーとして構造生物学分野に長けた本学一般教育分野の佐藤毅教授、ペプチド創薬に長けた本学薬品化学分野の小林数也准教授、低分子薬剤合成に長けた本学共同利用機器センターの服部恭尚講師、タンパク質科学に長けた本学一般教育分野の朝比奈裕子助教、そして標識合成に長けた放射性同位元素研究センターの河嶋秀和准教授が一丸となり、様々な領域から一つの目標に対してアプローチを行い、研究を遂行する。

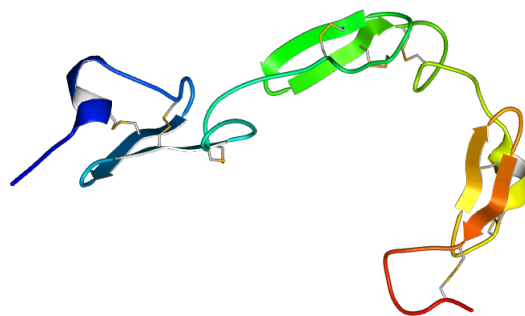


図 Notch 受容体のリガンド結合部位の構造

まずは Notch 受容体に結合する薬を開発を行う。革新的受容体標的創薬を展開するため、ワークステーションを用いたシミュレーションを駆使し、Notch 受容体の活性化機構を計算科学的に解析する。さらにその実証研究として、解析結果から標的結合薬の分子設計を行う。次に本学が伝統的に培ってきたペプチド創薬の技術を駆使し、設計された薬の合成を行う。また新規薬の Notch 受容体への親和性を確認するために評価系を構築し、合成が完了した薬を順次評価する。この結果を再びシミュレーションへとフィードバックするサイクルを繰り返すことで最良の薬を導出する。高い親和性を示す薬候補に診断用放射性核種を標識し、腫瘍を担持させたモデル動物を用いて SPECT 撮像により薬の体内動態を評価する。標的部位以外へ集積する薬は副作用を起



こす可能性が高い。よって臓器集積性の評価を行うことでそれらの問題を未然に回避することができる。腫瘍集積性の高い薬剤を選択し、さらに治療用放射性核種を標識することで最終目的となる難治性腫瘍治療のための薬剤を見出す。

## がんセラノスティクスを目指した化合物創製とイメージング研究



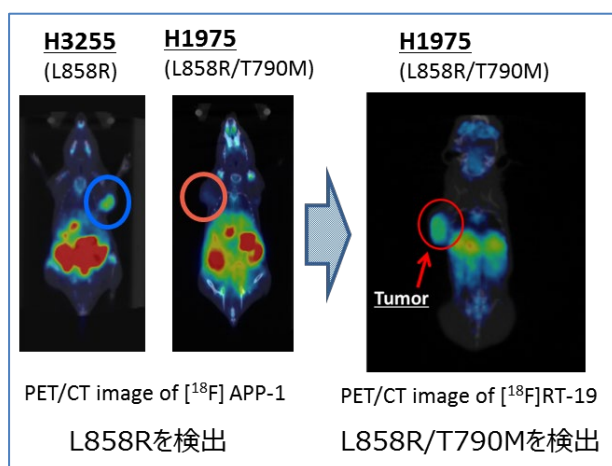
### 代謝分析学分野

木村 寛之

本プロジェクトの目的は、がんのセラノスティクス（診断と治療の融合）を可能にする化合物創製とその高度化利用にある。具体的には、分子イメージング技術を用いてがんの早期発見、性状の特異的・効率的な把握を行い、有効な治療法へと結びつけるワークフローの構築を行う。特に、脳腫瘍、肺がん、前立腺がん、乳がん、膵がんを対象疾患として、臨床上でも有効となり得る画像診断法・治療法の研究を進める。本研究を通し、画像診断と治療を融合させた、新しいがん治療の個別化、効率化を目指す。同時に、本学におけるセラノスティクス研究の基盤を構築すると共に、次世代の薬学教育への貢献や、医療現場におけるがん診断・治療を担っていく若い人材の育成を行う。

今回は、先行している肺がんの研究について報告する。本研究では、EGFR 遺伝子変異の検出を可能とする陽電子放射型断層撮影（PET）、単一光子放射型コンピュータ断層撮影（SPECT）用分子イメージングプローブの開発と、EGFR-TKI の治療効果予測や治療効果判定などを定量評価しうる分子イメージング法の確立を進めている。我々のこれまでの研究において、1 次変異体 EGFR（L858R）を描出可能な PET 用分子イメージングプローブとし  $[^{18}\text{F}]$ APP-1 と  $[^{18}\text{F}]$ FTP2 を報告してきた。現在、2 次変異体 EGFR（L858R/T790M）を描出する分子イメージングプローブとして、有望な化合物である  $[^{18}\text{F}]$ RT-19 を見出すことに成功しており、現在は

より詳細な *in vivo* 評価を進めている。これまでの研究において、計算科学的手法を用いた EGFR-TKI 薬剤設計法を独自に構築しており、 $[^{18}\text{F}]$ RT-19 の誘導化や新規薬剤の開発も進めている。最適な候補化合物が得られた場合には、代表的な EGFR-TK 選択的阻害剤である PD153035 及び gefitinib の存在・非存在下で、合成した新規誘導体の EGFR-TK リン酸化阻害能及びヒト由来肺がん細胞に対する *in vitro* における取り込みを測定し、EGFR-TK に対する結合特性の評価を行う。本研究で開発する画像診断法は、治療前に EGFR-TKI 適応患者を選別することで、gefitinib による重篤な副作用の危険性を回避することや、的確な治療戦略決定に寄与することで、医療経済効果が期待できる可能性がある。また EGFR の発現と活性度の定量的画像解析法により EGFR-TKI の治療効果予測・予後予測も可能となり、gefitinib 以外の肺がんの分子標的治療にも応用可能な画像診断として期待できる。本研究の成果は、画像診断情報を基にした個々の体質に合わせた予防・治療を可能とする効果的・効率的な個別化医療（オーダーメイド医療）の実現に寄与できると共に、がんの増殖メカニズムとその診断・治療という臨床をつなぐがんのトランスレーショナルリサーチの一翼を強力に推進することが期待される。



また、海外との研究連携として、ドイツ・ヴュルツブルク大学と共同研究を進めており、既に国際共著論文でその成果を報告している（研究業績集参照）。



## 生体イメージング手法を用いた糖タンパク質の機能評価と関連疾患の解明に向けた試み



放射性同位元素  
研究センター

河嶋 秀和

褐色脂肪や骨格筋に発現する糖タンパク質の CD36

は脂肪酸を細胞内に輸送するトランスポーターであり、全身の脂質代謝を担っている。また、特定の酸化リポタンパク質を認識するスカベンジャー受容体として、動脈硬化病巣における炎症応答や不安定プラーク形成への関与も示唆されている。このように、生体ホメオスタシスの維持とともにその機能の破綻が様々な疾患の要因となっていることから、CD36 の生理学的意義を追求し、さらにはコントロールすることが関連疾患の予防・創薬・治療領域に大きく貢献すると期待される。そこで、本学に導入された SPECT, CT を活用し、生理的あるいは病的状態における CD36 の働きを明らかにすることで糖尿病や肥満に代表される代謝性疾患（生活習慣病）の制圧に向けた展開を図りたいと考えている。

本研究の基盤研究として、酸化 LDL (oxLDL) が生体スカベンジャー受容体に広く認識され細胞内に輸送されることを背景とし、放射性ヨウ素-123 標識 oxLDL ( $^{123}\text{I}$ -oxLDL) の体内動態を評価した実績がある。すなわち、まず酸化剤を用いて [ $^{123}\text{I}$ ]I を酸化し、oxLDL に対する求電子置換反応により  $^{123}\text{I}$ -oxLDL を作製した。 $^{123}\text{I}$ -oxLDL および蛍光標識 oxLDL (DiI-oxLDL) を混合後、健常 C57BL/6 マウスに静脈内投与し、作製した組織切片における局在性を画像で比較するとともに、 $^{123}\text{I}$ -oxLDL の体内放射能分布の経時変化をシンチカメラで Dynamic planar 撮像した。その結果、切片画像上、 $^{123}\text{I}$ -oxLDL と DiI-oxLDL はともに肝臓および脾臓に高く集積し、さらに蛍光顕微鏡観察により、スカベンジャー受容体発現組織マクロファージが分布している肝小葉間組織あるいは脾

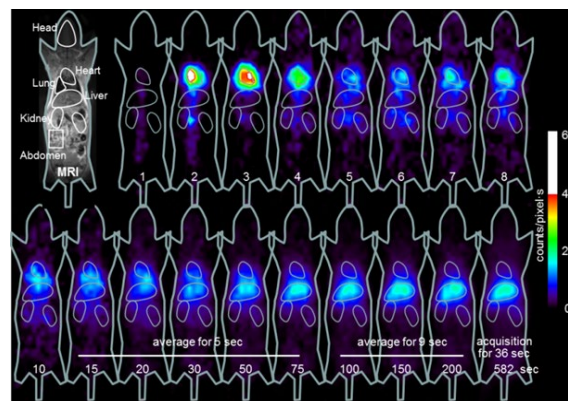


図1  $^{123}\text{I}$ -oxLDL を尾静脈より投与したマウスの Dynamic planar 画像

臓辺縁帯部に局在することを認めた。また、インビボイメージにて  $^{123}\text{I}$ -oxLDL は投与後 2 分で主に肝臓に集積し、放射能はその他の臓器でも速やかに定常状態に移行することが明らかとなった（図 1）。投与 10 分後における肝臓への放射能集積は 40.8% Injected Dose であり、一方、肝臓と同等の放射能 (39.3% Injected Dose) が主要臓器を取り除いた体部に残存していた。そこで、 $^{123}\text{I}$ -oxLDL の体内分布をより詳細に調べる目的で、本プローブを静脈内投与し投与 10 分後に脱血・灌流固定処置したマウスに対して SPECT/CT を用いた撮像を行ったところ、肝臓や脾臓の他、肩甲骨の周囲に特徴的な放射能集積を認めた。解剖学的な考察および DiI-oxLDL を用いた検討から、これは褐色脂肪組織に分布した  $^{123}\text{I}$ -oxLDL に由来することが示された（図 2）。

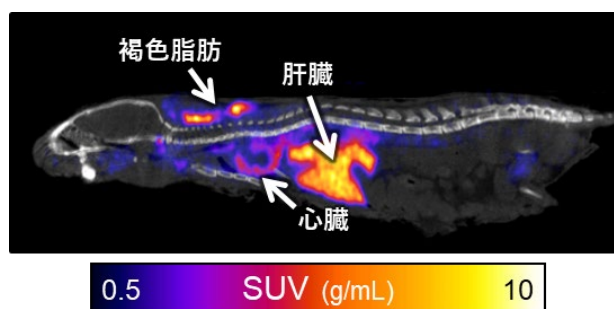
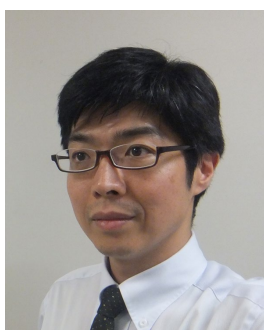


図2  $^{123}\text{I}$ -oxLDL を静脈内投与後、脱血・灌流固定したマウスの SPECT/CT 画像

これらの結果は、生体ホメオスタシスに関わる組織が老廃物である oxLDL を能動的に取り込んでいることを示唆し、これら組織の機能を評価する

SPECT プローブとして  $^{123}\text{I}$ -oxLDL が有用である可能性を示している。また、同時に行った検討において、静脈内投与された  $^{123}\text{I}$ -oxLDL の数十%は骨格筋に対して全身性に分布するという興味深い知見も得ており、「筋肉の活性化により血中老廃物のクリアランスを高める」という運動生理学的側面から見た生活習慣病予防の証明に繋がる可能性も考えられる。以上を背景とし、褐色脂肪組織や心筋、骨格筋に CD36 が高発現しているという既存データを結び付け、今後、本学のプロジェクトを通じて CD36 と関連分子の各種疾患への関与について明らかにしたい。

## —SPECT 用コリメーターの 開発状況に関する報告—

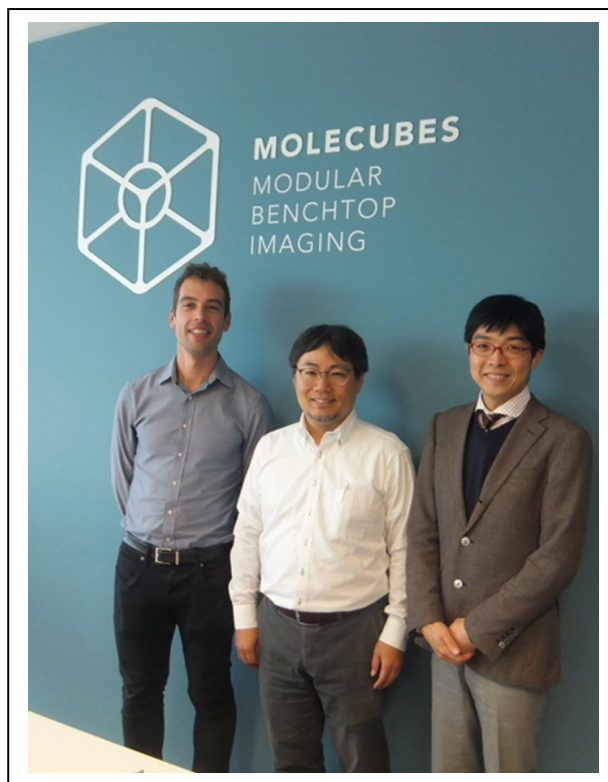


放射性同位元素  
研究センター

河嶋 秀和

本学に導入されている SPECT, CT の製造元である MOLECUBES 社（ベルギー）を 10 月に共同利用機器センターの長谷川先生と訪問した（写真）。ここで開発途中の SPECT 用コリメーター（特定の方向から放出される  $\gamma$  線のみを検出器に到達させるスリット構造の装着器具）につき、その開発状況を検分してきたので以下に報告する。

現在、本学の SPECT に装着されているマウス撮像用のコリメーターは汎用 (General Purpose: GP) 型であり、その空間分解能（空間上、異なるものとして認識可能な 2 点間の最小距離）は  $500\ \mu\text{m}$  である。MOLECUBES 社とは、今後本学において脳を対象とした Theranostics 研究を推進することを考慮し、高分解能 (High-resolution: Hi-Res) 用コリメーターの共同開発 (MOLECUBES 社が製作し、本学で詳細な性能評価を実施する) に着手している。すなわち、「マウスへの最大投与放射能を 17



MBq、脳への取込みを  $0.34\ \text{MBq}$  (移行率 2%)」という試算の下、基底核といった微小構造の描出を目標としたコリメーターの作製を試みるものである。予備検討は既に進められており、会議の場で提示されたプロトタイプの様態を下表に示す。これによると、GP コリメーターと比較し Hi-Res コリメーターでは空間分解能が 1.6 倍に向上しているが、その一方で約 84% の感度の低下を認める結果であった。換言すると、同じ放射能強度の画像を得るために 6 倍以上の放射能を投与しなければならないことを意味しており、本学で規定されている放射性同位元素の使用許可量を考慮すると、そもそも画像として得られない可能性が高く現実的でないという結論に至った。実際、帰国後に代謝分析学分野の木村先生が  $^{123}\text{I}$ -ioflupane (Dopamine transporter イメージング薬) を用いて GP コリメーターで検討された結果、 $4\ \text{MBq}$  投与、30 分間撮像という条件でマウス線条体を充分

	ピンホール径 (mm)	感度 (%)	再構成後の 空間分解能 (mm)
GP	0.75	0.16	0.5
Hi-Res	0.3	0.026	0.314

に描出できたこともあり、Hi-Res コリメーターの開発は一時留保したいという結論に至った。

一方、GP コリメーターでは比較的エネルギーの低い $\gamma$ 線 (<200 keV 程度) を対象とした SPECT 画像の取得が想定されており、新たなコリメーターで F-18 のような PET 核種 (511 keV) や I-131 (364 keV) の画像化が実現すれば研究の幅が大きく広がるものと期待される。また、特に本学では Radio-theranostics 研究を展開する上で、対象となる放射性同位元素から放出される高エネルギー (High-energy : Hi-E)  $\gamma$  線の直接計測が有用であると予想されることから、先述の Hi-Res コリメーターよりも Hi-E コリメーターの入手を優先させるべきかと思われた。MOLECUBES 社としても Hi-E コリメーターは既に開発を進めている状況で、F-18 を用いた検討において空間分解能は一定水準に達しているが画質 (均一性) に改善の余地があるらしく、このあたりの性能評価に関して同社への協力を継続できればと考えている。

また、今回の訪問に際しては、Leuven カトリック大学に設置されている同社製 PET の使用実例を実地で見学する機会を得た。マウスの Dynamic 撮像 (尾静脈から F-18 製剤を投与後、体内動態を連続的に追跡する) を間近で拝見できたが、SPECT と同様に簡便で使いやすく、CT との重ね合わせも容易なため魅力的な装置であるという印象だった。ただし、設置される実験室の室温を厳密にコントロールする必要があること、また PET 核種を製造するサイクロトロンを本学が有していないことがボトルネックになると考える。MOLECUBES 社はヨーロッパを中心におよそ 50 施設に画像化モダリティの導入実績があるが、その大半が PET および CT となっている。こうした状況下、本学では多くの SPECT 核種を使用できることを鑑み、先に述べた Hi-E コリメーターの活用も踏まえた上で、SPECT を用いた研究・教育を推進する方向性も広く協議しながら将来的な PET の導入に関して慎重に議論すべきであろう。

## — 欧州核医学会参加報告 —



共同利用機器センター

長谷川 功紀

2019 年 10 月 12 日～16 日  
までスペイン・バルセロナ  
で開催された欧州核医学会

(EANM' 19) に参加してきたので、その概要について報告する。学会の参加者数は 6500 人程度であり、参加者は基礎から臨床まで幅広い研究者、そして臨床医で構成されていた。基礎と言っても発表される内容はすでに臨床試験の準備段階に入っているものが多く、臨床に近い基礎研究という内容が多かった。欧州の核医学研究は世界の中で最先端を走っており、本邦に比較し診断だけでなく治療にも様々な展開を見せていた。発表内容として、基礎的分野では新規核種製造、用量設定、放射線防護、新規薬剤開発、そして臨床系分野に関しては甲状腺、循環器系、脳腫瘍など臓器または疾患ごと多岐に分類されセッションが開催されていた。また最近さまざまなところで話題に挙がる人工知能を用いた機械学習についてもいくつか発表があった。以下、著者の興味を引いた話題について各論的に紹介する。

核種製造については、Ac-225 の話題が多く発表されていた。背景として、すでに  $\beta$  線放出核種である Lu-177 を用いた核医学治療が欧州では高い頻度で行われている。薬剤の一例としては、前立腺がんが集積する PSMA に Lu-177 標識した薬剤が多く報告されており、転移腫瘍に対しても効果を発揮する。しかしすべての前立腺がんにも効果があるわけではない。そこで  $\beta$  線よりも細胞傷害性の高い  $\alpha$  線放出核種である Ac-225 が開発され、その結果、Lu-177 が効かない患者に対しても著効を示し、腫瘍を消退させることが報告された。しかし、Ac-225 の製造は容易ではなく、様々な問題が解決されていない。今回、ロシアとカナダから年間製造量として 99 GBq が予定されているとの報告があった。今までは供給量が少なく研究も容易



ではなかったが、徐々に環境が整備され始めていることを実感した。Ac-225 に関しては患者 1 人に対する投与量設定に関して、いまだ基準が整っていない。そのことも学会では話題になっており、セッションでは多くの聴衆が興味を持って講演を聞いていた。結論として、いまだ投与量設定に必要なデータとして、例えば娘核種の生体内分布や反跳の影響などが不十分であり、今後の基礎研究の進展を待って基準設定は行われるとのことであった。上記の状況から、Ac-225 は容易に汎用される核種になるには時間を要することが予想された。一方、新しい核種として Tb-161 の報告があった。Tb-161 は  $\beta$  線放出核種である。現在使われている Y-90、Lu-177 と細胞傷害性を比較し、より高い効果があるとのことだった。また核種製造も Ac-225 より容易であり、今後の臨床研究の結果に興味を持たれる。

薬剤の効果予測に関しても EANM' 19 では多くの報告があった。話題としては免疫療法が多かった。背景として PD-1 抗体、PD-L1 抗体が上市され臨床展開されている。しかし効果を示す患者の割合は小さく、いかに有効な患者を選択するかが重要となってきた。そこで発表されていた戦略としては PD-1 抗体に Zr-89 標識し、PET を用いて腫瘍への集積性を評価する方法が発表されていた。また PD-L1 に対するトレーサーも開発されていた。さらに PD-1 抗体を投与した後、FDG を用いて炎症を評価し、抗体による治療の継続可否を判定する試みも発表されていた。様々な新規治療薬が開発されているが、今後はいかに患者選択を行い、無駄な投薬を抑えるかが医療経済的にも重要であり、そこに核医学的アプローチが有効である良い例だと感じた。薬学部として、薬の開発とともに、コンパニオン診断薬の重要性を感じた。

薬剤開発の発表としては、すでに臨床研究において効果が明らかな薬剤に対し、さらに改良を加える研究が多く発表されていた。例えば背景として、腫瘍随伴線維芽細胞に集積し、高い腫瘍検出能を発揮する Ga-68 標識 FAPI がある。Ga-68 標識は比較的容易であり、基礎～初期の臨床研究を展開する上では重要な標識法である。しかし Ga-68 標識は 1 回に 3 人程度の患者分しか合成できない。それに対し F-18 標識は一度に 10 人分に相当する

薬剤を合成可能である。そこで大規模な臨床研究への展開に際し、Ga-68 標識薬剤を F-18 標識薬剤へ置換する試みが報告されていた。Ga-68 ジェネレーターは日本で入手しにくい。しかし F-18 標識体であれば本邦でも合成可能である。日本で臨床研究を行うためにも F-18 標識薬剤が開発されることは重要と考えられる。

以上、様々な研究報告が EANM' 19 では行われていた。核医学分野で欧州は日本の 20 年先を進んでいると言われている。確かに設備面や、法整備に関していまだ日本では未熟な点もある。しかし薬学的アプローチとして、効果予測のためのトレーサー開発や F-18 標識薬剤の開発など、本学でも十分に世界の最先端と渡り合えることのできる分野もあると感じた。また紙面では省略したが、EANM' 19 に参加し欧州の研究者とのネットワーク構築もできた。本学の創薬研究に関する強みと、欧州の先進的な面を組み合わせることで、他に類を見ない研究を展開できる可能性も感じた。EANM' 19 で得た情報を参考に、今後さらなる研究を展開し、健康科学技術の発展に貢献できたらと思う。



学会場入口の看板

## —2018 年度業績—

### 著書

1. Hidekazu Kawashima: Characteristics of Ibritumomab as Radionuclide Therapy Agent. In *Resistance to Ibritumomab in Lymphoma*, Makoto Hosono, Jean-François Chatal, Eds., Springer Nature, Berlin, 79–97 (2018).

### 英文総説

1. Yuki Takechi-Haraya, Hiroyuki Saito: Current Understanding of Physicochemical Mechanisms for Cell Membrane Penetration of Arginine-rich Cell Penetrating Peptides: Role of Glycosaminoglycan Interactions. *Curr. Protein Pept. Sci.* **19**, 623-630 (2018).

### 和文総説

1. 河西翔平、高田和幸: 認知症の克服に向けた幹細胞の応用, *アグリバイオ*, **2**, 79-83 (2018).
2. 河西翔平、高田和幸: 脳老化タンパク質除去と幹細胞の応用, 月刊細胞臨時増刊号, **50**, 37-40 (2018).
3. 矢野恒夫、長谷川功紀、蜂須賀暁子、深瀬浩一、平林容子: アルファ線核医学治療のための薬剤開発の考察 (その 1), *医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス*, **49**, 676-684 (2018).
4. 矢野恒夫、長谷川功紀、佐藤達彦、蜂須賀暁子、深瀬浩一、平林容子: アルファ線核医学治療のための薬剤開発の考察(その 2) *医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス*, **50**, 122-134 (2019).

### 英文原著

1. Chiharu Mizuguchi, Mitsuki Nakamura, Naoko Kurimitsu, Takashi Ohgita, Kazuchika Nishitsuji, Teruhiko Baba, Akira Shigenaga, Toshinori Shimanouchi, Keiichiro Okuhira, Akira Otake, and Hiroyuki Saito: Effect of phosphatidylserine and cholesterol on membrane-mediated fibril formation by the N-terminal amyloidogenic fragment of apolipoprotein A-I. *Sci. Rep.* **8**, 5497 (2018).
2. Galnya Gorbenco, Valeriya Trusova, Chiharu Mizuguchi, and Hiroyuki Saito: Lipid bilayer interactions of amyloidogenic N-terminal fragment of apolipoprotein A-I probed by Förster resonance energy transfer and molecular dynamics simulations. *J. Fluoresc.* **28**, 1037-1047 (2018).
3. Hirokazu Kameyama, Kenji Uchimura, Taro

Yamashita, Kaori Kuwabara, Mineyuki Mizuguchi, Shang-Cheng Hung, Keiichiro Okuhira, Tomohiro Masuda, Tomoki Kosugi, Takashi Ohgita, Hiroyuki Saito, Yukio Ando, and Kazuchika Nishitsuji: The accumulation of heparan sulfate S-domains in kidney transthyretin deposits accelerates fibril formation and promotes cytotoxicity *Am. J. Pathol.* **189**, 308-319 (2019).

4. Takashi Ohgita, Yuki Takechi-Haraya, Ryo Nadai, Mana Kotani, Yuki Tamura, Karin Nishikiori, Kazuchika Nishitsuji, Kenji Uchimura, Koki Hasegawa, Kumiko Sakai-Kato, Kenichi Akaji, and Hiroyuki Saito: A novel amphipathic cell-penetrating peptide based on the N-terminal glycosaminoglycan binding region of human apolipoprotein E. *BBA – Biomembranes*, **1861**, 541-549 (2019).
5. Nobuyuki Tanaka, Shintaro Katayama, Aparna Reddy, Kaneyasu Nishimura, Naoya Niwa, Hiroshi Hongo, Koichiro Ogiwara, Takeo Kosaka, Ryuichi Mizuno, Eiji Kikuchi, Shuji Mikami, Ayako Miyakawa, Ernest Arenas, Juha Kere, Mototsugu Oya, and Per Uhlén. Single-cell RNA-seq analysis reveals the platinum resistance gene COX7B and the surrogate marker CD63. *Cancer Med.*, **7**, 6193-6204 (2018).
6. Shohei Kawanishi, Kazuyuki Takata, Shouma Itezono, Hiroko Nagayama, Sayaka Konoya, Yugo Chisaki, Yuki Toda, Susumu Nakata, Yoshitaka Yano, Yoshihisa Kitamura, and Eishi Ashihara: Bone-marrow-derived microglia-like cells ameliorate brain amyloid pathology and cognitive impairment in a mouse model of Alzheimers disease. *J. Alzheimers. Dis.*, **64**, 563-585 (2018).
7. Kazuyuki Takata, Takahide Amamiya, Hiroaki Mizoguchi, Shohei Kawanishi, Eriko Kuroda, Risa Kitamura, Aina Ito, Yuki Saito, Manami Tawa, Tomofumi Nagasawa, Haruka Okamoto, Yuko Sugino, Shigehiko Takegami, Tatsuya Kitade, Yuki Toda, William R Kem, Yoshihisa Kitamura, Shun Shimohama, and Eishi Ashihara: Alpha7 nicotinic acetylcholine receptor-specific agonist DMXBA (GTS-21) attenuates amyloid- $\beta$  accumulation through suppression of neuronal  $\gamma$ -secretase activity and promotion of microglial amyloid- $\beta$  phagocytosis and ameliorates cognitive impairment in a mouse model of Alzheimer's disease. *Neurobiol. Aging*, **62**, 197-209 (2018).
8. Ryo Maeda, Takeshi Sato, Kenji Okamoto, Masataka Yanagawa, and Yasushi Sako: Lipid-protein interplay in dimerization of juxtamembrane domains of epidermal growth factor receptor. *Biophys. J.* **114**,



- 893-903 (2018).
9. Saori Ohtani, Satoshi Fujita, Koki Hasegawa, Hiromasa Tsudae, Morio Tonogi, and Masayuki Kobayashi: Relationship between the fluorescence intensity of rhodamine-labeled orexin A and the calcium responses in cortical neurons: An in vivo two-photon calcium imaging study. *J. Pharmacol. Sci.*, **138**, 76-82 (2018).
  10. Younosuke Sato, Akira Matsuo, Shinji Kudoh, Liu Fang, Koki Hasegawa, Yohei Shinmyo, and Takaaki Ito: Expression of draxin in lung carcinomas. *Acta Histochem. Cytochem.*, **51**, 53-62 (2018).
  11. Mikihiro Ichikawa, Shinya Yamamoto, Chisato Ishihara, Shuhei Nonobe, Yasunao Hattori, Koji Umezawa, Hiroshi Fujii, and Hidefumi Makabe: Synthesis of epigallocatechin trimer, (epigallocatechin)<sub>2</sub>-epicatechin, and (epigallocatechin)<sub>2</sub>-catechin via a Lewis acid mediated one-pot condensation and their antitumor activities in prostate cancer cells. *Tetrahedron*, **74**, 3534-3542 (2018).
  12. Yuki Miyazawa, Yasunao Hattori, and Hidefumi Makabe. Synthesis of (+)-altholactone, (+)-7-epi-altholactone, (–)-etharvensin, and (+)-alumheptolide-A using Pd-catalyzed carbonylation. *Tetrahedron Lett.*, **59**, 4024–4027 (2018).
  13. Haruka Sekiguchi, Tomoko Kuroyanagi, David Rhinds, Kazuya Kobayashi, Yuka Kobayashi, Hiroaki Ohno, Nikolaus Heveker, Kenichi Akaji, Nobutaka Fujii, and Shinya Oishi: Structure–activity relationship study of cyclic pentapeptide ligands for atypical chemokine receptor 3 (ACKR3). *J. Med. Chem.* **61**, 3745–3751 (2018).
  14. Yuka Kobayashi, Masaru Hoshino, Tomoshi Kameda, Kazuya Kobayashi, Kenichi Akaji, Shinsuke Inuki, Hiroaki Ohno, and Shinya Oishi: Use of a compact tripodal tris(bipyridine) ligand to stabilize a single-metal-centered chirality: stereoselective coordination of iron(II) and ruthenium(II) on a semirigid hexapeptide macrocycle, *Inorg. Chem.* **57**, 5475–5485 (2018).
  15. Kouji Ohnishi, Yasunao Hattori, Kazuya Kobayashi, and Kenichi Akaji: Evaluation of a non-prime site substituent and warheads combined with a decahydroisoquinolin scaffold as a SARS 3CL protease inhibitor, *Bioorg. Med. Chem.* **27**, 425-435 (2019).
  16. Risako Kameda, Takuto Sohma, Kazuya Kobayashi, Ryosuke Uchiyama, Kazuto Nosaka, Hiroyuki Konno, Kenichi Akaji, and Yasunao Hattori: Convergent synthesis of trans-2,6-disubstituted piperidine alkaloid, (–)-iso-6-spectaline by palladium-catalyzed cyclization, *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*, **67**, 253-257 (2019).
  17. Hiroyuki Kimura, Yu Ogawa, Hiroyuki Fujimoto, Eri Mukai, Hidekazu Kawashima, Kenji Arimitsu, Kentaro Toyoda, Naotaka Fujita, Yusuke Yagi, Keita Hamamatsu, Takaaki Murakami, Atsushi Murakami, Masahiro Ono, Yuji Nakamoto, Kaori Togashi, Nobuya Inagaki, and Hideo Saji: Evaluation of <sup>18</sup>F-labeled exendin(9-39) derivatives targeting glucagon-like peptide-1 receptor for pancreatic β-cell imaging. *Bioorg. Med. Chem.*, **26**, 463-469 (2018).
  18. Atushi Nakano, Hidekazu Kawashima, Yoshinori Miyake, Tsutomu Zeniya, Akihide Yamamoto, Kazuhiro Koshino, Takashi Temma, Tetsuya Fukuda, Yoshiko Fujita, Akemi Kakino, Shigehiko Kanaya, Tatsuya Sawamura, and Hidehiro Iida: <sup>123</sup>I-Labeled oxLDL is widely distributed throughout the whole body in mice, *Nucl. Med. Mol. Imaging*, **52**, 144-153 (2018).
  19. Hiroki Shikanai, Nobuhiro Oshima, Hidekazu Kawashima, Shin-ichi Kimura, Sachiko Hiraide, Hiroko Togashi, Kenji Iizuka, Kazue Ohkura, and Takeshi Izumi: N-methyl-D-aspartate receptor dysfunction in the prefrontal cortex of stroke-prone spontaneously hypertensive rat/Ezo as a rat model of attention deficit/hyperactivity disorder. *Neuropsychopharmacol. Rep.*, **38**, 61-66 (2018).
  20. Hiroyuki Kimura, Saki Yamauchi, Hidekazu Kawashima, Kenji Arimitsu, Yusuke Yagi, Yuji Nakamoto, Kaori Togashi, Masahiro Ono, and Hideo Saji: Synthesis and evaluation of a [<sup>18</sup>F]formyl–Met–Leu–Phe derivative: A positron emission tomography imaging probe for bacterial infections. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **28**, 2949-2952 (2018).
  21. Takashi Temma, Hidekazu Kawashima, Naoya Kondo, Makoto Yamazaki, Kazuhiro Koshino, and Hidehiro Iida: One-pot enzymatic synthesis of L-[3-<sup>11</sup>C]lactate for pharmacokinetic analysis of lactate metabolism in rat brain. *Nucl. Med. Biol.*, **64-65**, 28-33 (2018).
  22. Yuichi Hatsukawa, Takehito Hayakawa, Kazuaki Tsukada, Kazuyuki Hashimoto, Tetsuya Sato, Masato Asai, Atsushi Toyoshima, Toru Tanimori, Shinya Sonoda, Shigeto Kabuki, Hiroyuki Kimura, Atsushi Takada, Tetsuya Mizumoto, and Seiya Takaki: Electron tracking compton camera imaging of technetium-95m. *PLOS ONE*, **13**:e0208909 (2018).
  23. Matthias Hoffmann, Xinyu Chen, Mitsuru Hirano, Kenji Arimitsu, Hiroyuki Kimura, Takahiro Higuchi, and Michael Decker: <sup>18</sup>F-Labeled derivatives of

- irbesartan for angiotensin II receptor PET imaging. *ChemMedChem*, **13**, 2546-2557 (2018).
24. Tomomi Nobashi, Tsuneo Saga, Yuji Nakamoto, Yoichi Shimizu, Sho Koyasu, Takayoshi Ishimori, Masao Watanabe, Hiroyuki Kimura, and Kaori Togashi: Enhanced intestinal 2-deoxy-2-[<sup>18</sup>F]fluoro-D-glucose uptake under metformin is not fully suppressed by loperamide. *Endocrine Regulations*, **52**, 185-191 (2018).
  25. Satoru Matsuura, Hidemasa Katsumi, Hiroe Suzuki, Natsuko Hirai, Hidetaka Hayashi, Kazuhiro Koshino, Takahiro Higuchi, Yusuke Yagi, Hiroyuki Kimura, Toshiyasu Sakane, and Akira Yamamoto: L-serine-modified polyamidoamine dendrimer as a highly potent renal targeting drug carrier. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **115**, 10511-10516 (2018).
  26. Keita Hamamatsu, Hiroyuki Fujimoto, Naotaka Fujita, Takaaki Murakami, Hiroyuki Kimura, Hideo Saji, and Nobuya Inagaki: Establishment of a method for in-vivo SPECT/CT imaging analysis of <sup>111</sup>In-labeled exendin-4 pancreatic uptake in mice without the need for nephrectomy or a secondary probe, *Nuclear Medicine and Biology*, **64-65**, 22-27 (2018).
  27. Daiko Matsuoka, Hiroyuki Watanabe, Yoichi Shimizu, Hiroyuki Kimura, Yusuke Yagi, Ryoko Kawai, Masahiro Ono, and Hideo Saji: Structure-activity relationships of succinimidyl-Cys-C(O)-Glu derivatives with different near-infrared fluorophores as optical imaging probes for prostate-specific membrane antigen, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **26**, 2291-2301 (2018).
  28. Ryuichi Nishii, Tatsuya Higashi, Shinya Kagawa, Chio Okuyama, Yoshihiko Kishibe, Masaaki Takahashi, Tomoko Okina, Norio Suzuki, Hiroshi Hasegawa, Yasuhiro Nagahama, Koichi Ishizu, Naoya Oishi, Hiroyuki Kimura, Hiroyuki Watanabe, Masahiro Ono, Hideo Saji, and Hiroshi Yamauchi: <sup>18</sup>F-FPYBF-2, a new F-18 labelled amyloid imaging PET tracer - Biodistribution and radiation dosimetry assessment of first-in-man <sup>18</sup>F-FPYBF-2 PET imaging -. *Annals of Nuclear Medicine*, **32**, 256-263 (2018).
  29. Akira Makino, Anna Miyazaki, Ayaka Tomoike, Hiroyuki Kimura, Kenji Arimitsu, Masahiko Hirata, Yoshiro Ohmomo, Ryuichi Nishii, Hidehiko Okazawa, Yasushi Kiyono, Masahiro Ono, and Hideo Saji: PET probe detecting non-small cell lung cancer susceptible to epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor therapy, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **26**, 1609-1613 (2018).
  30. Tatsuya Higashi, Ryuichi Nishii, Shinya Kagawa, Yoshihiko Kishibe, Masaaki Takahashi, Tomoko Okina, Norio Suzuki, Hiroshi Hasegawa, Yasuhiro Nagahama, Koichi Ishizu, Naoya Oishi, Hiroyuki Kimura, Hiroyuki Watanabe, Masahiro Ono, Hideo Saji, and Hiroshi Yamauchi: <sup>18</sup>F-FPYBF-2, a new F-18 labelled amyloid imaging PET tracer- First experience in 61 volunteers and 55 patients with dementia -, *Annals of Nuclear Medicine*, **32**, 256-263 (2018).

#### 学会発表

#### 国際学会

1. Kazuchika Nishitsuji, Kenji Uchimura, Taro Yamashita, Hirokazu Kameyama, Kaori Kuwabara, Mineyuki Mizuguchi, Shang-Cheng Hung, Keiichiro Okuhira, Takashi Ohgita, Hiroyuki Saito, Yukio Ando: HS S-domains that accumulate in ATTR amyloidosis patients accelerate and mediate formation and cytotoxicity of transthyretin fibrils. Society for Glycobiology Annual Meeting 2018 (New Orleans, USA), 2018.11.
2. Yuki Sugiyama, Seikou Nakamura, Hiroki Fukuda, Masato Yoshizawa, Shiori Tamai, Yuki Toda, Kazuyuki Takata, Eishi Ashihara: A novel coumarin-based compound inhibits invasion and migration of murine osteosarcoma cells in vitro. The 18th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology (Kyoto), 2018.7.1-6.
3. Mako Tomogane, Teruki Shimizu, Masatsugu Miyashita, Yusuke Sano, Daiki Shimizu, Keigo Amari, Ryosuke Wakabayashi, Yuki Toda, Kazuyuki Takata, Eishi Ashihara: The expression levels of PD-L1 in cancer cells affect γδT cell cytotoxicity. The 18th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology (Kyoto), 2018.7.1-6.
4. Keigo Amari, Reina Kume, Mako Tomogane, Ryosuke Wakabayashi, Yuki Toda, Kazuyuki Takata, Eishi Ashihara: Irradiation increased mRNA transcripts of hematopoiesis-related molecules in bone marrow-derived mesenchymal stem cells. The 18th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology (Kyoto), 2018.7.1-6.
5. Eriko Kuroda, Kazuyuki Takata, Syohei Kawanishi, Yuki Toda, Eishi Ashihara: Differentiation of microglia-like cells from mice hematopoietic stem cells in peripheral blood for therapeutic strategy against Alzheimer's disease. The 18th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology (Kyoto), 2018.7.1-6.
6. Kazuyuki Takata, Shohei Kawanishi, Eriko Kuroda,

Shigehiko Takegami, Tatsuya Kitade, Yuki Toda, Yoshihisa Kitamura, Shun Shimohama, and Eishi Ashihara: Alpha7 nicotinic acetylcholine receptor-specific stimulation ameliorates cognitive impairment in a mouse model of Alzheimer's disease via suppression of neuronal  $\gamma$ -secretase activity and promotion of microglial amyloid- $\beta$  phagocytosis The 18th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology (Kyoto), 2018.7.1-6.

7. Takeshi Sato: Function of transmembrane-juxtamembrane region of EGFR,. Symposium in the 56<sup>th</sup> annual meeting of the Biophysical Society of Japan, "Regulation of the signal transduction in cell membrane via localization and clustering of receptors" (Okayama. Japan), 2018.9.
8. Kazuya Kobayashi, Minami Takata, Yusuke Morioka, Mika Miyazaki, Masahiko Hosomi, Kaho Morikawa, Sayaka Yoneda, Honami Ooe, Yukako Yamazaki, Takaaki Mizuguchi, Yasunao Hattori, Kenichi Akaji: Synthesis and evaluation of EGF receptor dimerization inhibitors containing a N-methylated amino acid or a photoreactive group. 10th International Peptide Symposium, Kyoto, Japan, 2018,12.
9. Takuya Otani, Kazuya Kobayashi, Yasunao Hattori, Kenichi Akaji: Design and synthesis of peptide-based macrocyclic BACE1 inhibitors with optimal cross-linking structure for hydrophobic interaction. 10th International Peptide Symposium, Kyoto, Japan, 2018,12
10. Kazuya Kobayashi, Daiki Joho, Chinami Taniguchi, Misaki Tanaka, Rani Kimura, Kaho Komurasaki, Yuki Kawasaki, Yasunao Hattori, Kenichi Akaji: Synthesis and evaluation of novel BACE1 inhibitors based on the N-amidino nitrogen-containing ring structure. 256th ACS National Meeting (Boston, USA), 2018.8.
11. Yusuke Yagi, Hiroyuki Kimura, Kenji Arimitsu, Hiroyuki Yasui, Masahiro Ono, Hideo Saji: Comparison of [<sup>18</sup>F]PTV-F1 and [<sup>18</sup>F]pitavastatin as a PET probe for evaluation of hepatic organic anion transporting polypeptides function. The Society of Nuclear Medicine and Molecular Imaging 2018 Annual Meeting, Philadelphia, USA. 2018.06
12. Kenji Arimitsu, Hiroyuki Kimura, Yusuke Yagi, Kazuhiro Koshino, Mitsuru Hirano, Takahiro Higuchi, Hiroyuki Yasui: Synthesis and in vivo evaluation of fluorine-18 labeled streptozotocin derivative as a pancreatic beta-cell imaging probe. 256th American Chemical Society National Meeting

& Exposition, Boston, USA. 2018.08.

#### 国内学会

1. 扇田隆司、灘井亮、田村悠樹、小谷真奈、田中翔子、原矢佑樹、西辻和親、内村健治、長谷川功紀、加藤くみ子、赤路健一、斎藤博幸: アルギニンペプチドの両親媒性が細胞膜透過性に及ぼす影響. 日本膜学会第40年会(東京), 2018.5.
2. 扇田隆司、服部恵美、古谷優樹、森田いずみ、大山浩之、小林典裕、斎藤博幸: ApoA-I アミロイド構造を特異的に認識する新規モノクローナル抗体の開発. 第 6 回日本アミロイドーシス研究会学術集会(松本), 2018.8.
3. 扇田隆司、服部恵美、古谷優樹、森田いずみ、大山浩之、小林典裕、斎藤博幸: 新規モノクローナル抗体を用いた ApoA-I 高次構造変化の検出. 第 16 回次世代を担う若手のためのフィジカル・ファーマフォーラム(三浦), 2018.9.
4. 水口智晴、中川美穂、堀内爽加、藤田かほ、扇田隆司、奥平桂一郎、斎藤博幸: 欠損変異体を用いたアポ A-I アミロイド線維形成過程の解明. 第 91 回日本生化学会大会(京都), 2018.9.
5. 扇田隆司、古谷優樹、服部恵美、森田いずみ、大山浩之、小林典裕、斎藤博幸: ApoA-I アミロイド線維検出のための新規構造特異抗体の開発. 第91回日本生化学会大会(京都), 2018.9.
6. 中川美穂、藤田かほ、堀内爽加、水口智晴、扇田隆司、斎藤博幸: Iowa 変異型アポ A-I のアミロイド形成過程における各線維化領域の役割. 第 68 回日本薬学会近畿支部大会(姫路), 2018.10.
7. 栗光直子、中村光希、水口智晴、島内寿徳、斎藤博幸: アポ A-I アミロイド形成に対するホスファチジルエタノールアミンの影響. 第 68 回日本薬学会近畿支部大会(姫路), 2018.10.
8. 服部恵美、中川美穂、原田航吉、古谷優樹、扇田隆司、森田いずみ、大山浩之、小林典裕、斎藤博幸: 抗 ApoA-I 線維モノクローナル抗体の反応特異性の評価. 第 68 回日本薬学会近畿支部大会(姫路), 2018.10.
9. 水口智晴、栗光直子、扇田隆司、島内寿徳、斎藤博幸: Iowa 変異型アポ A-I の脂質膜相互作用・アミロイド線維化に及ぼすリン脂質組成の影響. 膜シンポジウム 2018(神戸), 2018.11.

10. 小谷真菜、田村悠樹、扇田隆司、原矢佑樹、西辻和親、内村健治、長谷川功紀、加藤くみ子、赤路健一、斎藤博幸: ApoE 糖鎖結合ドメイン改変型両親媒性アルギニンペプチドの細胞膜透過機構. 日本薬学会第 139 年会(千葉), 2019.3.
11. 坂井美冴、藤田かほ、堀内爽加、水口智晴、扇田隆司、斎藤博幸: Iowa 変異型アポA-I のアミロイド線維形成過程に関する速度論的・熱力学的解析. 日本薬学会第139年会(千葉), 2019.3.
12. 錦織花梨、長谷川功紀、原矢佑樹、扇田隆司、加藤くみ子、赤路健一、斎藤博幸: 両親媒性環状ペプチドの細胞膜透過機構解明に向けたペプチドの合成. 日本薬学会第 139 年会(千葉), 2019.3.
13. 水口智晴、藤田かほ、堀内爽加、扇田隆司、斎藤博幸: 部位特異的蛍光標識によるアポ A-I アミロイド線維詳細構造の評価. 日本薬学会第 139 年会 (千葉) , 2019.3.
14. 西村周泰、高橋淳: ヒト iPS 細胞由来ドパミン神経前駆細胞移植に対するエストラジオール誘導体の影響. 日本薬学会第 139 年会 (千葉) , 2019.3.20-23.
15. 堀井流、高田和幸、細木誠之、戸田侑紀、丸中良典、芦原英司: 糖尿病モデルラットにおける脳内 pH 低下とアミロイド  $\beta$  産生増加に対するプロボリスの改善作用. 日本薬学会第 139 年会 (千葉) , 2019.3.20-23.
16. 西村周泰、高橋淳: ヒト iPS 細胞由来ドパミン神経前駆細胞移植におけるシナプス形成の促進. 第 92 回日本薬理学会年会(大阪), 2019.3.14-16.
17. 高田和幸、黒田絵莉子、北村佳久、下濱俊、芦原英司: 神経細胞、ミクログリアならびに骨髄由来ミクログリア様細胞に対するアルツハイマー病の治療標的としてのニコチン受容体の作用. 第 92 回日本薬理学会年会 (大阪) , 2019.3.14-16.
18. 河西翔平、地寄悠吾、戸田侑紀、中田晋、矢野義孝、北村佳久、芦原英司、高田和幸: アルツハイマー病モデルマウス海馬へのマウス骨髄由来ミクログリア様細胞移植によるアミロイド  $\beta$  の除去ならびに認知機能障害の改善. 第 92 回日本薬理学会年会 (大阪) , 2019.3.14-16.
19. 西村周泰、高田和幸: ドパミン神経の再生と医療への応用を目指して～モデル動物から多能性幹細胞へ～. 平成 30 年度 第 4 回 The Cutting Edge『けいはんな研究シーズ発表会』(京都) , 2019.2.13.
20. 河西翔平、黒田絵莉子、戸田侑紀、芦原英司、高田和幸: 末梢血に含まれる造血幹細胞を利用した認知症治療法開発を目指した基礎研究. 平成 30 年度 第 4 回 The Cutting Edge『けいはんな研究シーズ発表会』(京都) , 2019.2.13.
21. 黒田絵莉子、戸田侑紀、芦原英司、高田和幸: マウス末梢血造血幹細胞由来ミクログリア様細胞の機能解析. 第 37 回日本認知症学会学術集会 (札幌) , 2018.10.12-14.
22. 西村周泰、高橋淳: エストラジオール誘導体を用いたヒト iPS 細胞由来ドパミン神経前駆細胞移植におけるシナプス形成の促進. 第 12 回次世代を担う若手医療薬科学シンポジウム (札幌) , 2018.9.15-16.
23. 末吉真梨、高田和幸、河西翔平、黒田絵莉子、武上茂彦、北出達也、戸田侑紀、北村佳久、下濱 俊、芦原英司:  $\alpha 7$  ニコチン受容体特異的刺激による  $\gamma$ -セクレターゼ活性の抑制とミクログリアの食食機能促進およびアルツハイマー病モデルマウスにおける認知機能改善. 第 12 回次世代を担う若手医療薬科学シンポジウム (札幌) , 2018.9.15-16.
24. 黒田絵莉子、戸田侑紀、芦原英司、高田和幸: マウス末梢血から採取した造血幹細胞を用いたミクログリア様細胞への分化誘導とその機能解析. 第 61 回日本神経化学学会大会 (神戸) , 2018.9.6-8.
25. 戸田侑紀、吉村亮介、板原多勇、宇野智子、中田晋、山田佳菜枝、今井悠莉、高田和幸、芦原英司: DJ-1 は神経膠芽種幹細胞の維持に寄与する. 次世代を担う創薬・医療薬理シンポジウム 2018 (福岡) , 2018.8.25.
26. 國府谷彩香、高田和幸、藤野友理子、河西翔平、大石晃弘、石原慶一、戸田侑記、長澤一樹、秋葉聡、安井裕之、芦原英司: アルツハイマー病モデルマウスにおける金属元素量の脳内変動とアミロイド  $\beta$  蓄積および認知記憶障害との関連性の解析. 次世代を担う創薬・医療薬理シン



ポジウム 2018 (福岡), 2018.08.25.

27. 戸田侑紀、吉村亮介、板原多勇、宇野智子、中田晋、山田佳菜枝、今井悠莉、高田和幸、芦原英司: 神経膠芽種幹細胞における DJ-1 の機能. 生体機能と創薬シンポジウム 2018 (福岡), 2018.08.23-24.
28. 佐藤陽之輔、松尾颯、工藤信次、長谷川功紀、伊藤隆明. 肺癌における新しいガイドランス分子であるドラキシンについて. 第 108 回日本病理学会総会 (東京), 2018.5.
29. 長谷川功紀、工藤信次、伊藤隆明. 低分子リガンドを用いたエストロゲン受容体検出法の開発. 第 59 回日本組織細胞化学会総会・学術集会 (宮崎), 2018.9.
30. 山本慎也、市川幹広、石原知里、野々部修平、服部恭尚、梅澤公二、藤井博、真壁秀文. エピガロカテキン重合体の合成研究. 第 60 回天然有機化合物討論会 (久留米), 2018, 9.
31. 服部恭尚、小松侑加、加藤真央、大江宏樹、相馬琢人、亀田理沙子、大西康司、葛山昌伴、真壁秀文、小林数也、赤路健一. mono-THF 型バンレイシ科アセトゲニン類のピロリジン型誘導体ならびにピペリジンアルカロイド *ent-iso-6-spectaline* の合成研究. 第 60 回天然有機化合物討論会 (久留米), 2018,9.
32. 小林数也、大谷拓也、石沢克康、井関梨紗、北嶋太志、進藤尚加、大川晃汰、井尻咲、服部恭尚、赤路健一. ペプチド型 BACE1 阻害剤を基盤とした構造最適化研究. 第 68 回日本薬学会近畿支部総会・大会 (姫路), 2018,10.
33. 田中美咲、木村蘭希、小紫香穂、谷口智奈美、小林数也、服部恭尚、赤路健一. 疎水性官能基に着目した N-アミジノピロリジン型 BACE1 阻害剤の開発研究. 第 68 回日本薬学会近畿支部総会・大会 (姫路), 2018,10.
34. 大西康司、三谷勇人、嶋本康広、小林数也、服部恭尚、赤路健一. 新規相互作用部位を有するアザ-デカリン型 SARS 3CL プロテアーゼ阻害剤の設計と合成、阻害活性評価. 第 44 回反応と合成の進歩シンポジウム (熊本), 2018, 11.
35. 大谷拓也、小林数也、服部恭尚、赤路健一: 最適架橋構造の同定を目指した大環状 BACE1 阻害剤の開発研究. 日本薬学会第 139 年会 (千葉), 2019.3.
36. 吉澤慎一郎、足尾真美、越野裕貴、山中優季、山本侑人、小林数也、服部恭尚、赤路健一: オクタヒドロイソクロメン型 SARS 3CL プロテアーゼ阻害剤の設計と合成、阻害活性評価ならびに立体化学. 日本薬学会第 139 年会 (千葉), 2019.3.
37. 亀田里紗子、相馬琢人、古田善宏、葛山昌伴、小林数也、服部恭尚、赤路健一: パラジウム触媒による立体選択的環化反応を用いた *ent-iso-6-spectaline* の合成. 日本薬学会第 139 年会 (千葉), 2019.3.
38. 木村蘭希、田中美咲、小紫香穂、谷口智奈美、小林数也、服部恭尚、赤路健一: 疎水性官能基に基づく N-アミジノピロリジン型 BACE1 阻害剤の設計と構造活性相関研究. 日本薬学会第 139 年会 (千葉), 2019.3.
39. 島恭平、岸本翔、大西康司、吉澤慎一郎、小林数也、服部恭尚、赤路健一: 1 位置換基を有するデカヒドロイソキノリン型 SARS 3CL プロテアーゼ阻害剤の設計と合成剤の開発研究. 日本薬学会第 139 年会 (千葉), 2019.3.
40. 大西康司、三谷勇人、嶋本康広、小林数也、服部恭尚、赤路健一: 新規相互作用部位を有するアザ-デカリン型 SARS 3CL プロテアーゼ阻害剤および誘導体の合成と阻害活性評価. 日本薬学会第 139 年会 (千葉), 2019.3.
41. 藤原采耶花、大西康司、吉澤慎一郎、濱本風彩、小林数也、服部恭尚、赤路健一: 新規相互作用部位を有するオクタヒドロイソクロメン型 SARS 3CL プロテアーゼ阻害剤の設計と合成. 日本薬学会第 139 年会 (千葉), 2019.3.
42. 河嶋秀和、中野厚史、三宅義徳、銭谷 勉、越野一博、天満 敬、沢村達也、飯田秀博: 酸化 LDL のマウス体内動態: 高分解能 SPECT/CT を用いた検討. 日本薬学会第 139 年会 (千葉), 2019.3.
43. 石神有梨、有光健治、屋木祐亮、河嶋秀和、安井裕之、木村寛之: がんへの集積性向上を指向した新規白金錯体の開発研究. 日本薬学会第 139 年会 (千葉), 2019.3.
44. 戸田力也、井上遥加、有光健治、屋木祐亮、河嶋秀和、安井裕之、木村寛之: 線維芽細胞増殖因子受容体 1 (FGFR1) 標的核医学分子イメー



ジングプローブの開発. 日本薬学会第 139 年会 (千葉), 2019.3.

45. 宮本佳美、桶谷亮、田中未紗、屋木祐亮、有光健治、河嶋秀和、安井裕之、木村寛之: 分子イメージング手法を用いた移植膵島の生着率と機能性の評価. 日本薬学会第 139 年会 (千葉), 2019.3.
46. 有光健治, 木村寛之, 屋木祐亮, 佐治英郎, 安井裕之:  $^{18}\text{F}$  標識 STZ 誘導体の体内分布に関する基礎的評価. 日本薬学会第 138 年会 (金沢), 2018.03.
47. 屋木祐亮, 木村寛之, 志水陽一, 有光健治, 中本裕士, 富樫かおり, 安井裕之: 共振空洞型マイクロ波反応装置を用いた  $^{68}\text{Ga}$  錯体形成反応の基礎評価. 日本薬学会第 138 年会 (金沢), 2018.03.
48. 桶谷 亮, 木村寛之, 宮本佳美, 田中未紗, 有光健治, 屋木祐亮, 河嶋秀和, 安井裕之: 移植膵島量の定量評価を目的とした分子イメージング法の開発とマウス膵島単離法の確立. 第 68 回日本薬学会近畿支部総会・大会 (姫路), 2018.10.
49. 屋木祐亮, 有光健治, 平野圭市, 安井裕之, 木村寛之: F-18 標識ボロン酸誘導体を用いた新規 F-18 標識法の開発. 第 41 回フッ素化学討論会 (弘前), 2018.10.
50. 木村寛之, 志水陽一, 渡邊裕之, 佐賀恒夫, 中本裕士, 石守崇好, 富樫かおり, 小野正博, 佐治英郎: 第 58 回日本核医学会学術総会 (宜野湾), 2018.11.
51. 有光健治, 屋木祐亮, 越野一博, 平野 満, 樋口隆弘, 安井裕之, 木村寛之: 放射性フッ素標識ストレプトゾトシン誘導体の GLUT2 標的型  $\beta$  細胞イメージングプローブとしての基礎的評価. 第 58 回日本核医学会学術総会 (宜野湾), 2018.11.
52. 屋木祐亮, 有光健治, 平野圭市, 安井裕之, 木村寛之: F-18 標識ボロン酸誘導体による鈴木カップリング反応を用いた新規 F-18 標識法の開発. 第 58 回日本核医学会学術総会 (宜野湾), 2018.11.
53. 木村寛之, 有光健治, 屋木祐亮: 乳癌 PET の現状と将来の可能性「新しい診断薬の候補と可能

性について」. 第 58 回日本核医学会学術総会 (宜野湾), 2018.11.

54. 木村寛之:  $^{18}\text{F}$  製剤の設計と標識合成の基礎.  $^{18}\text{F}$  製剤の設計と標識合成の基礎. 第 28 回日本心臓核医学会総会・学術大会. (東京), 2018.07.

その他

講演

1. 高田和幸: 脳免疫の活性化から迫る認知症の新規治療戦略の開発と iPS 細胞の応用, 第 86 回みやぎ薬剤師学術研修会 (仙台), 2019.3.30.
2. 高田和幸: 脳の免疫とアルツハイマー病, 平成 30 年度 第 4 回 The Cutting Edge『けいはんな研究シーズ発表会』(京都), 2019.2.13.
3. 高田和幸: iPS 細胞と再生医療. 第 9 回 Home Coming Day 京都薬科大学京薬会 (京都), 2018.11.4.
4. 高田和幸: iPS 細胞と再生医療. 公益財団法人京都産業 21 京都次世代ものづくり産業雇用創出プロジェクト「次世代医療を理解するーライフサイエンス第 1 回基礎講座」(京都), 2018.9.18.

シンポジウム

1. 高田和幸: ミクログリアの発生過程から迫る認知症治療戦略の開発, 日本薬学会第 139 年会 (千葉), 2019.3.20-23.
2. 高田和幸: 幹細胞由来ミクログリア様細胞を用いた認知症細胞治療戦略. 第 37 回日本認知症学会学術集会 (札幌), 2018.10.12-14.
3. 高田和幸: 幹細胞由来免疫細胞を用いた認知症の治療戦略. 第 61 回日本神経化学学会大会 (神戸), 2018.9.6-8.

ワークショップ

1. 高田 和幸: iPS 細胞を用いた神経免疫学的アプローチによるアルツハイマー病克服への挑戦. 第 59 回日本組織細胞化学会総会 (宮崎), 2018.9.29-30. (誌上開催)

成果発表会

1. 高田和幸: アルツハイマー病の病態コントロー

ルを目指した新たな neurotheranostics の開発に  
むけて、京都薬科大学 平成 30 年度文部科学省  
私立大学研究ブランディング事業 キックオフ  
シンポジウム（京都）, 2019.3.27.

2. 河嶋秀和: 京都薬科大学セラノスティクス事業の  
展開に向けた現状. 平成 30 年度文部科学省 私  
立大学研究ブランディング事業 キックオフシ  
ンポジウム（京都）, 2019.3.27.
3. 高田和幸、戸田侑紀、西村周泰、下濱俊、芦原  
英司: 認知症の克服に向けた脳ニコチン受容  
体刺激の機能解析. 第 8 回 4 大学連携研究フォ  
ーラム（京都）, 2018.11.20.
4. 長谷川功紀、服部恭尚、工藤信次、伊藤隆明. 低  
分子リガンドを用いたエストロゲン受容体検  
出法の開発. 文部科学省私立大学戦略的研究基  
盤形成支援事業「新規分子標的治療薬創薬に向  
けた大学発ベンチャー基盤の確立」 Annual  
Meeting (京都), 2018,9.
5. 大谷拓也、小林数也、赤路健一、服部恭尚. 疎水  
性空間に対する最適架橋構造を有するペプチ  
ド性大環状 BACE1 阻害剤の探索. 文部科学省  
私立大学戦略的研究基盤形成支援事業「新規分  
子標的治療薬創薬に向けた大学発ベンチャー  
基盤の確立」 Annual Meeting (京都), 2018,9.
6. 吉澤慎一郎、足尾真美、越野裕貴、山中優季、  
小林数也、赤路健一、服部恭尚. オクタヒドロ  
イソクロメン骨格構築を基盤とする縮環型  
SARS 3CL プロテアーゼ阻害剤の合成. 文部科  
学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業「新  
規分子標的治療薬創薬に向けた大学発ベンチ  
ャー基盤の確立」 Annual Meeting (京都), 2018,9.
7. 若林亮介、芦原英司、服部恭尚、小林数也、赤  
路健一. Wnt/ $\beta$ -catenin 経路阻害剤の探索、文部  
科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業  
「新規分子標的治療薬創薬に向けた大学発ベ  
ンチャー基盤の確立」 Annual Meeting (京都),  
2018,9.

#### 会誌

1. 高田和幸: iPS 細胞と再生医療, 京薬会誌, 149,  
3-6 (2019) .

#### 解説書

1. 高田和幸: iPS 細胞と再生医療, iPS 細胞や再生  
医療分野の理解を深めるための人材育成事業  
基礎講座テキスト〈学術研究用〉, pp.7-25 (2019) .

#### News Letter Volume 1

2019 年 12 月 編集・発行

文部科学省

私立大学研究ブランディング事業

「受容体特異的画像化技術を基盤とするがん放射線内用療法（radio-theranostics）  
研究拠点の形成」

News Letter 編集委員

〒607-8414 京都市山科区御陵四丁野町 1

Tel: 075-595-4616

FAX: 075-595-4616

私立大学研究ブランディング事業  
受容体特異的画像化技術を基盤とする  
がん放射線内用療法（radio-theranostics）研究拠点の形成  
*News Letter Vol.2*

— はじめに —



研究統括  
副学長

赤路 健一

京都薬科大学が文部科学省から選定された私立大学研究ブランディング事業「受容体特異的画像化技術を基盤とするがん放射線内用療法（radio-theranostics）研究拠点の形成」がいよいよ本格的に活動を始めました。すでにニュースレター第1号冒頭で述べさせていただきましたが、本事業は本学のこれまでの研究実績のみならず大学全体のガバナンス体制を含めた事業推進組織が総体として評価され選定されたものです。特定の研究グループのためではなく、本学の教職員・学生・保護者・卒業者等を含めた本学のステークホルダーすべてにかかわってくる事業であります。この点を肝に銘じ、本事業だけにとどまらず、本学の将来の研究展開につながるプロトタイプ事業とすべく活動を始めております。

本事業の大きな目的の一つである国際交流推進に関しては、2020年はじめから猛威を振るっている新型コロナウイルスの世界的な感染拡大で提携大学等との交流が一部滞っている状況です。大変残念な状況ですが、2020年2月26日にすでにヴェルツブルク大学とは交流協定を締結済みであり、小規模ではありましたが非常に有益な意見交換会を実施することができました。гент大

学とも実質的な研究打合せを始めておりましたので、新型コロナウイルスの感染状況が一段落した際には直ちに本格的な交流事業を再開できるように体制を整えております。本ニュースレターでも木村先生と河嶋先生がその状況の一端を紹介されておられますので、ぜひご参照ください。

一方、基礎研究としては長谷川先生の「Notch 受容体を標的とする難治性腫瘍治療法の開発」に関する研究、西村先生の「パーキンソン病の病態解明と新規治療薬開発」に関する研究を本ニュースレターで紹介いただいております。これら二つの研究は、萌芽的ではありますが大変意欲的で斬新な研究です。一方で、単一の研究室のみでは効果的な研究の推進がきわめて困難な多岐にわたる内容を含有する研究であり、まさに本事業のような全学的取り組みの下で研究を進めることに大きな意義があります。本事業計画年度内に一定の方向性が見えてくることを大いに期待しております。これら二つの研究のみならず、本学のすべての研究者がそれぞれのお立場で本ブランディング研究事業に参画いただける新たな研究の方向性を見出すべく、本研究事業で進めている研究の進展状況を引き続き本ニュースレターで概説させていただく予定です。

文部科学省の事業としては3年計画の事業になりますが、この事業を起爆剤として本学から新しい研究領域が芽生えることを大いに期待しております。これまで積み上げてきた本学の多様な研究基盤に基づく新たな研究展開のご提案を是非いただきたいと思っております。引き続きなにとぞよろしくお願いいたします。

## ー各プロジェクト研究紹介ー

### Notch 受容体を標的とする内用療法に基づく難治性腫瘍治療法の開拓



共同利用機器センター  
長谷川 功紀

近年、様々な薬剤が開発され腫瘍の治療効果は飛躍的に向上している。しかしまだ5年生存率が20%を下回る腫瘍も存在する。そのような難治性腫瘍をターゲットに我々は治療法開拓に向けた挑戦的研究プロジェクトを開始した。

まず難治性腫瘍として、小細胞肺癌をターゲットにした。小細胞肺癌は、肺がんの約20%を占め、本邦において年間2000～3000人程度が罹患する。様々な治療法が開発され、生存率は伸びているが、それでも5年生存率は20%程度と低く、さらなる治療法開発が求められている。小細胞肺癌の治療を困難にする原因の一つに腫瘍細胞の不均一性が挙げられる。小細胞肺癌は化学療法が初期に著効する。しかししばらくすると再発し、抗がん剤に対し抵抗性を有するようになる。この抵抗性の原因に不均一性が関与している。抗がん剤は投与され、多くの小細胞肺癌細胞の効果を示すが、しかし一部の細胞は性質が変化し、化学療法抵抗性細胞になる。この化学療法抵抗性細胞からまた増殖が起こり再発につながる。不均一化の機序についてはすでに研究が進展しており、そこにはNotchシグナルの関与が報告されている。小細胞肺癌は神経内分泌腫瘍の性質を有する。Notchシグナルの活性化は神経内分泌腫瘍分化を抑制する。すなわち小細胞肺癌はNotchシグナルが活性化し、神経内分泌腫瘍への分化が抑制されることで非小細胞肺癌様の細胞が産生される。その結果、

小細胞肺癌組織は不均一な腫瘍になる。また非小細胞肺癌様の細胞は化学療法に抵抗性を有することも報告されている。よって我々は、Notchをターゲットとして、腫瘍の質的診断を可能にし、また治療へとつなげるためのプローブ・薬剤開発を行うこととした。そこでまずNotchへ結合し、シグナル伝達を阻害する薬剤開発を1つ目の目標とした。

一方、Notchシグナルの活性化機構は複雑である。Notch受容体には、複数のリガンド(DLL1, 2, 4, およびJAG1, 2)が存在することが知られている。Notch受容体は発生の段階で重要な働きをするが、リガンドによってまったく反対の作用が生じる。よってリガンド毎に異なった受容体活性化メカニズムによって制御されていると考えられる。そこで我々は、受容体活性化メカニズムの詳細な解明と、それによる創薬への応用を2つ目の目標とした。

まず1つ目の目標であるNotchシグナルの阻害薬剤開発であるが、すでにNotch1受容体とそのリガンドであるDLL4との複合体の結晶構造が報告されている。そこでそれを参考にDLL4の部分ペプチドを合成し、そのNotch1受容体への結合能を評価した。まず相互作用部位としてはDLL4の185から204残基に着目し、Fmoc固相合成法によりDLL4(185-204)を合成した。親和性を評価するためにN末端にポリエチレングリコールリンカーを介してFITC (fluorescein isothiocyanate) をタグとして修飾した。得られたFITC-DLL4(185-204)の親和性を、recombinant NOTCH1を用いて評価した。評価法としては96穴プレートにrecombinant NOTCH1を固定し、そこに濃度を振っ

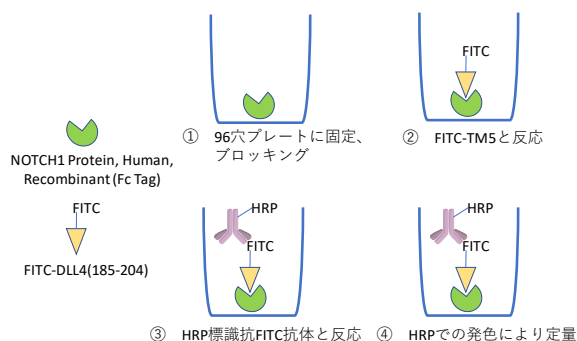


図1 NOTCH1 への結合能評価法



た FITC-DLL4 (185-204)を反応させ、洗浄後に抗 FITC 抗体を用いて定量を行うことで結合飽和曲線を求めた。その結果、FITC-DLL4(185-204)の親和性 (Kd) は  $2.3\mu\text{M}$  であることが判った (図 1)。今後はこの得られた FITC-DLL4 (185-204)の機能評価を行い、またさらに親和性の高いペプチドミミックの合成に着手する予定である。

一方、Notch 受容体を標的とした新たな治療法の開発を目指すために、我々はそのシグナリング機構の分子機構の解明に向けた研究を行っている。Notch シグナリングは、細胞の生存とアポトーシスといった二者択一の細胞運命の決定が細胞種によって異なることなどに見られるように context dependent であるとされ、この context dependency 存在下でのシグナリング機構の解明が喫緊の課題である。最近、Notch 受容体リガンド DLL1 と 4 とでは受容体活性化に伴う細胞のレスポンスが異なることが示された<sup>1</sup>。その報告では DLL1 が Notch1 受容体に結合することで、細胞膜からの細胞内ドメイン (NICD)の放出 (受容体の活性化) はパルス的に生じるが、一方、DLL4 の同受容体への結合は NICD の放出を持続的に生じさせることが示された。その結果、DLL1 の結合は筋形成を示すが、DLL4 の結合は筋形成を阻害する。Notch シグナリングにおいては上述の膜内切断によって放出される NICD は、そのまま核内に移行し転写に参与するため、NICD が切断の後に修飾を受けることは知られていない。つまり、異なるリガンドが同種受容体に結合し、その結果、同種タンパク質断片が細胞内に放出されるが、その放出様式が異なることで、異なる遺伝子発現が生じるのである。この放出様式、ダイナミクスに差異を与える context とは何か、その機構はどのようなものか？この分子機構を明らかにしていくことが本研究の目的である。

ヒト Notch リガンドには、その細胞外領域の N 末端には C2 domain という脂質相互作用部位が存在する<sup>2</sup>(図 2)。5 種類の Notch リガンドの C2 domain はリポソームと結合することが示され、さらに興味深いことにこのリポソーム-リガンド結合は Notch 受容体-リガンド結合にも影響されることが示された(特異的脂質の同定

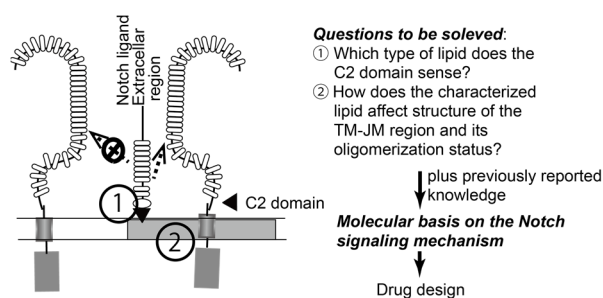


図 2 本研究における作業仮説 (リガンドは細胞外領域のみを示す。)

には至っていない)<sup>2,3</sup>。その報告そのものは、それら相互作用、すなわち、物性を明らかにしたものだが、Notch シグナリング研究における prototype であるショウジョウバエに関する研究では、直接的、または間接的にどのように関与しているかは不明であるが、ガングリオシドがシグナリングに影響を与えることが報告されている<sup>4</sup>。つまり、Notch シグナリングはタンパク質間相互作用のみならず、そこにガングリオシド等の脂質も絡んだ複雑な機構で成り立っていると言えるだろう。

我々は活性化機構に関して一つの可能性を考えた。すなわち、リガンドの C2 domain が結合相手の受容体周辺に存在する脂質を検知する sensor として働き、その環境 (context) における受容体を認識、活性化するというものである。つまり、Notch 受容体活性化における context は特異的脂質と受容体の相互作用の結果生じる受容体の存在様式[構造、会合状態(clustering)]によって与えられる。

細胞膜組成は細胞種等、様々な原因、環境によって異なる。さらに、細胞膜組成は膜タンパク質全般の構造や存在様式に大きな影響を与える。では、脂質はこの存在様式にどのように影響を与えるのか。この点はまさに本研究において探究するところであるが、脂質の影響を大きく受ける部位として、第一に考えるべきは受容体の膜貫通ドメイン (TM)、そして膜近傍 (juxtamembrane: JM) 部位である。そこで、本研究では、Notch 受容体活性化の context dependency を解明すべく、Notch リガンド C2 domain の認識脂質の同定と、その脂質を含む脂



表 1 粗視化モデルによる C2 domain と脂質二重層の結合実験

Protein	Lipid						Results
	Outer Leaflet				Inner Leaflet		
DII1	POPC	Cholesterol		POPC	POPS	Cholesterol	Not Bound
	POPC	Cholesterol	<b>GM1</b>	POPC	POPS	Cholesterol	<b>Bound</b>
	POPC	Cholesterol	<b>GM3</b>	POPC	POPS	Cholesterol	<b>Bound</b>
DII4	POPC	Cholesterol		POPC	POPS	Cholesterol	Not Bound
	POPC	Cholesterol	<b>GM1</b>	POPC	POPS	Cholesterol	<b>Bound</b>
	POPC	Cholesterol	<b>GM3</b>	POPC	POPS	Cholesterol	<b>Bound</b>

質二重層環境中における Notch 受容体 TM-JM 部位の構造物性の解明を目指すこととした。

我々はこれまで上皮増殖因子受容体(EGFR)等の受容体型チロシンキナーゼの構造生物学的研究を固体 NMR 等の分光学的手法を用いて行ってきたが<sup>5-7</sup>、本研究においては分子動力学 (Molecular Dynamics:MD) simulation を導入し、C2 domain が相互作用する脂質の探索を行うこととした。生体内には数多くの種類の脂質が存在するが、まず、形質膜の outer leaflet に存在するガングリオシドである GM1、GM3 を研究対象とし、DLL1、DLL4 の二種類のリガンドの C2 domain との結合を観察することとした。C2 domain の初期構造は、それぞれ Burgess<sup>8</sup>、Lea<sup>3</sup>らのグループによって報告されたものを用いた。一方、1-Palmitoyl-2-oleoyl-sn-glycero-3-phosphocholine (POPC)、cholesterol、GM1 または GM3 を含んだ脂質二重層の構築、さらに C2 domain をその脂質二重層から 20 Å 離して置いた計算を行う際の初期条件の構築はウェブサービス CHARMM-GUI<sup>9</sup> 上において行った。力場は MARTINI<sup>10</sup> を使い、時間刻みは 20 fs、計算時間は 2-3 μs、温度および圧力は 1 bar、303 K で一定とした。計算はプログラムパッケージ GROMACS 2018 を用いた。結果を表 1 に示す。定量的解析には至っていないが、C2 domain は GM1、GM3 を含んだ脂質二重層に結合することがわかった。まず、特筆すべき点は DLL4 の C2 domain と GM3 入り脂質二重層との結合である。図 3 に示すように GM3 分子は C2 domain 上にあるくぼみの中に入り込んでいるかのように見える。その他の場合にはこのような構造は観

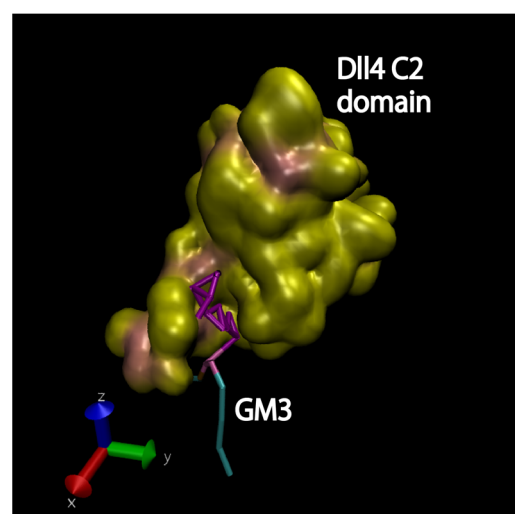


図 3 DLL4 の C2 domain と GM3 の結合

察されず、いずれもガングリオシドは C2 domain の表面に接しているかのように観察された。ただ、この「接しているかのように見える場合」であっても、ガングリオシド分子は C2 domain に対して結合と解離を繰り返すのではなく、特定の結合部位に留まるという現象が見られた。解離定数を求める等の定量的解析を行うことでガングリオシドと C2 domain の結合における特異性等の議論を行う必要がある。

次に Notch 受容体の TM-JM 部位に関して述べる。リガンド側の C2 domain が脂質 sensor として機能するのであれば、その「sense された」脂質は Notch 受容体に対して、どのような影響を与えうるのか。Notch 受容体のような膜タンパク質において、脂質から最も大きな影響を受けるのは TM-JM 部位である。もちろん、その他の細胞外、細胞質内も少なからず脂質から影

表 2 粗視化モデルにおける Notch TM-JM 配列の会合解析

Protein	Lipid						Results
	Outer Leaflet				Inner Leaflet		
2 TM-JM	POPC	Cholesterol		POPC	POPS	Cholesterol	Dimerized
	POPC	Cholesterol	<b>GM1</b>	POPC	POPS	Cholesterol	Dimerized
	POPC	Cholesterol	<b>GM3</b>	POPC	POPS	Cholesterol	Dimerized
4 TM-JM	POPC	Cholesterol		POPC	POPS	Cholesterol	Clustered as one
	POPC	Cholesterol	<b>GM1</b>	POPC	POPS	Cholesterol	<b>Dimerized (2 dimers)</b>
	POPC	Cholesterol	<b>GM3</b>	POPC	POPS	Cholesterol	<b>Dimerized (2 dimers)</b>

響を受けるはずであるが、 $\gamma$ -secretase の基質であり amyloid- $\beta$  の前駆体である amyloid precursor protein (APP) に関しては、その TM-JM 部位の構造解析は多くの有益な情報を与えた<sup>11</sup>。本研究においては、Notch 受容体 TM-JM 部位の脂質二重層中における構造、特にガングリオシド等の脂質が与える影響に関して詳細な解析も行う。まず、粗視化 MD simulation によって、GM1、GM3 が TM-JM 配列の脂質二重層中における会合にどのような影響を与えうるのかを解析していくこととした。Notch 受容体 TM-JM 部位の初期構造は Sanders らのグループによって報告された単量体とし、それを分子グラフィックソフト Pymol において、それぞれ 2 分子、4 分子を一つの pdb ファイル納め、実際の計算の初期条件とした。これら TM-JM 配列ペプチドの膜への埋め込みは、上述の通り、CHARMM-GUI 上において行った。温度等の条件も上述の通りである。

表 2 に現段階における結果を簡単にまとめた。GM1、GM3 が混入した脂質二重層中において Notch 受容体 TM-JM 配列 2 分子を存在させた場合、それらの分子は会合し二量体を形成した。また、系内に 4 分子存在させた場合は、GM1、GM3 入りの系においては、2 つの二量体形成が観察された。

これまでの実験で TM-JM 配列の物性としてわかったことは、理論的計算において Notch TM-JM 配列は脂質二重層中において会合するということである。この結果は、TOXCAT システムにおいて、Notch TM 配列が大腸菌の膜中で二量体を形成することが示されたことに矛盾しない<sup>12</sup>。そして注目すべき点は、GM1、GM3

といった脂質の存在に依存しながらその会合状態が異なる点である。大きな cluster の形成と二量体を単位とした会合体が context dependency を作り上げるのか、まだ推測の段階ではあるが、今後の展開に期待をしたい。

今後は C2 domain と脂質の相互作用、TM-JM 配列の挙動の両解析において、全原子モデルでの MD simulation を行い、これまで観察された事象を評価、さらに詳細な解析を行う。粗視化モデルにおいては、タンパク質の二次構造が固定されている点など構造解析を行う上での制約があるため、現象を高分解能に捉えていくためには全原子モデルにおける計算が不可欠である。さらに、次の段階として、C2 domain、Notch TM-JM 配列を分子生物学的または合成化学的に調製し、NMR を中心とした各種分光学的手法によって構造解析を行うことで、Notch シグナリングの分子機構の解析を進めていく。

#### 参考文献

1. Nandagopal, N. *et al.* Dynamic Ligand Discrimination in the Notch Signaling Pathway. *Cell* **172**, 869-880.e19 (2018).
2. Chillakuri, C. R. *et al.* Structural Analysis Uncovers Lipid-Binding Properties of Notch Ligands. *Cell Rep.* **5**, 861-867 (2013).
3. Suckling, R. J. *et al.* Structural and functional dissection of the interplay between lipid and Notch binding by human Notch ligands. *EMBO J.* **36**, 2204-2215 (2017).
4. Hamel, S., Fantini, J. & Schweisguth, F. Notch ligand activity is modulated by glycosphingolipid membrane composition in *Drosophila melanogaster*. *J. Cell Biol.* **188**,

- 581–594 (2010).
5. Matsushita, C. *et al.* Transmembrane helix orientation influences membrane binding of the intracellular juxtamembrane domain in Neu receptor peptides. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **110**, 1646–1651 (2013).
  6. Sato, T., Pallavi, P., Golebiewska, U., McLaughlin, S. & Smith, S. O. Structure of the membrane reconstituted transmembrane-juxtamembrane peptide EGFR(622-660) and its interaction with Ca<sup>2+</sup>/Calmodulin. *Biochemistry* **45**, 12704–12714 (2006).
  7. Tamagaki, H. *et al.* Coupling of transmembrane helix orientation to membrane release of the Juxtamembrane Region in FGFR3. *Biochemistry* **53**, 5000–5007 (2014).
  8. Kershaw, N. J. *et al.* Notch ligand delta-like1: X-ray crystal structure and binding affinity. *Biochem. J.* **468**, 159–166 (2015).
  9. Wu, E. L. *et al.* CHARMM-GUI Membrane Builder toward realistic biological membrane simulations. *J. Comput. Chem.* **35**, 1997–2004 (2014).
  10. Marrink, S. J., Risselada, H. J., Yefimov, S., Tieleman, D. P. & De Vries, A. H. The MARTINI force field: Coarse grained model for biomolecular simulations. *J. Phys. Chem. B* **111**, 7812–7824 (2007).
  11. Sato, T. *et al.* A helix-to-coil transition at the  $\epsilon$ -cut site in the transmembrane dimer of the amyloid precursor protein is required for proteolysis. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **106**, 1421–1426 (2009).
  12. Vooijs, M., Schroeter, E. H., Pan, Y., Blandford, M. & Kopan, R. Ectodomain shedding and intramembrane cleavage of mammalian Notch proteins is not regulated through oligomerization. *J. Biol. Chem.* **279**, 50864–50873 (2004).

## 生体イメージング技術と iPS 細胞技術の融合によるパーキンソン病の病態解明と新規診断・治療法の開発



統合薬科学系  
西村 周泰

パーキンソン病は、中脳黒質のドパミン神経が選択的に変性脱落する神経変性疾患の1つであり、日本には約16万人、世界では約700万人の患者がいるとされている。発症者の多くは65歳以上の高齢者であることから、超高齢化社会を迎えた日本にとって、パーキンソン病の予防法および根治治療法の確立は患者本人のQOL向上や介助に携わる患者家族および医療従事者の負担軽減の観点からも喫緊の課題となっている。一般的にパーキンソン病の運動症状が発症するころには、残存しているドパミン神経細胞は20%を下回っているとされており、発症してから神経保護の予防策を講じていても手遅れであると考えられる。従ってパーキンソン病の発症を予防するには、ドパミン神経の脱落および、その脱落の前段階として起こる病態的变化をいち早く捉え、早期診断法を開発することが求められる。このような背景のもと、本プロジェクトでは、薬品物理化学分野の斎藤博幸教授、扇田隆司助教および統合薬科学系の高田和幸教授と協働して、パーキンソン病の発症と深く関わりのある $\alpha$ -シヌクレイン (SNCA) タンパク質を標的とし、イメージング技術を用いた病態の可視化と多能性幹細胞技術を融合させた研究領域を創成し、核医学的な介入による病態の調節により、パーキンソン病の早期診断および治療的介入法 (neurotheranostics) の確立を目指す。

パーキンソン病の病理所見として、残存ドパミン神経にはレビー小体と呼ばれる細胞質内封入体が形成されることが知られている。またSNCAはこのレビー小体の主要構成成分であることや、

SNCA の点変異 (A30P、E46K、A53T など) は家族性パーキンソン病の原因であることが知られており、SNCA とパーキンソン病態の関連が指摘されている。また SNCA タンパク質はパーキンソン病が発症する前段階から、凝集、蓄積およびリン酸化など、コンフォメーションを変化させながら脳内を伝播することが明らかになってきている。従って、ドパミン神経が脱落を始める前に起こる SNCA のダイナミックな凝集構造変化を放射性同位元素で標識した化合物を用いたイメージングにより可視化することができれば、パーキンソン病の早期診断および神経脱落の予防法開発の一助になると考えられる。本研究テーマでは、SNCA の脳内伝播を再現できる動物モデル、培養細胞モデルの作製および SNCA 結合および凝集抑制能を有する化合物のスクリーニング系の開発を進めている。

まず SNCA の脳内伝播を *in vivo* で評価できるモデルマウスの作出を行った。薬品物理化学分野の斎藤教授および扇田助教によって作製されたりコンビナントヒト SNCA モノマー (詳細は後述する) を C57BL/6 マウスの線条体に微量注入し、経時的な脳内動態の変化の観察を試みた。まず予備検討として、注入 1 週間後におけるヒト SNCA タンパク質の挙動を、抗ヒト SNCA 抗体を用いて観察したところ、注入部位の周辺にヒト SNCA タンパク質のシグナルが確認された。また注入部位周辺において、抗リン酸化 SNCA 抗体による染色像も確認された。しかしながら、注入 4 週間後においては、脳のいずれの脳部位においてもヒト SNCA に由来するシグナルは確認できなかった。このことから、注入したヒト SNCA は 4 週間のあいだに脳内で分解・除去されたと考えられる。今後は、ヒト SNCA の preformed fibril (PFF) を注入することで、脳内伝播様式の再検討を行う予定である。

また、この他に *in vitro* での細胞モデルの作製も検討している。ヒト iPS 細胞から 3 次元神経誘導法を用いて黒質線条体経路の脳オルガノイドモデルの作製を試みた。中脳ドパミン神経細胞の起源領域である腹側中脳のオルガノイドと中脳ドパミン神経の投射先である線条体の前駆領域である lateral ganglionic eminence (LGE) のオルガノ

イドをそれぞれ誘導し、両者を融合させることにより黒質-線条体オルガノイドの作製を進めている (図 1A)。これまでに、誘導 16 日目において、腹側中脳のオルガノイドでは *FOXA2* の発現が、LGE のオルガノイドでは *GSH2* の高い発現確認されており、腹側中脳領域および LGE 領域の作り分けに成功している (図 1B)。今後、作製したオルガノイドのサイズや融合のタイミングなどの検討を行い、黒質線条体経路の脳オルガノイドモデルを確立し、SNCA 伝播のメカニズム解明に向けた細胞モデルの構築を目指す。

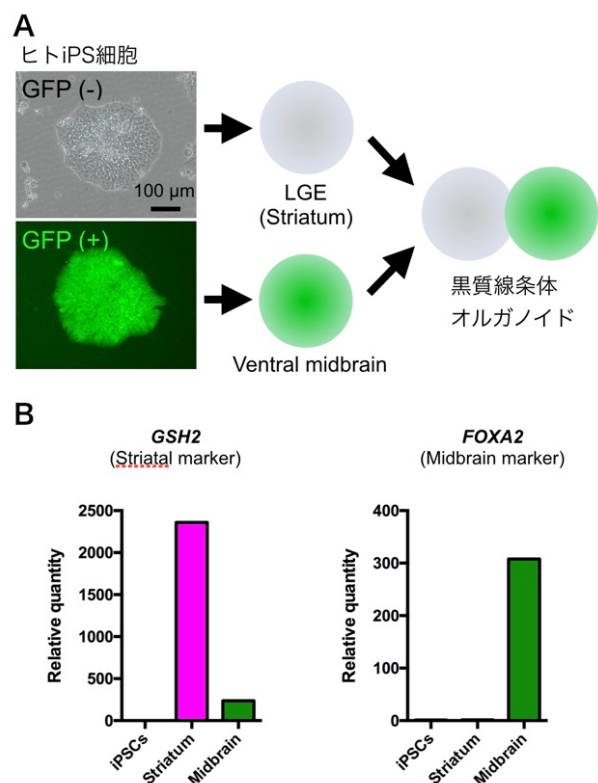


図 1. ヒト iPS 細胞からの黒質線条体オルガノイドの作製

また、代謝分析学分野の木村寛之准教授の協力のもと、SNCA に結合する化合物の探索も進めている。近年、anle138b 誘導体が SNCA を含む線維化タンパク質に結合能を有することが明らかとなった。この化合物を基軸として官能基の改変などを行い、SNCA に対する結合特異性が高く、線維化阻害能を有する化合物の探索を進める予定である。そして、この化合物スクリーニングを行



うために、斎藤教授および扇田助教により、SNCAの線維化機構の解析系の確立を進めている。一般的に、神経内タンパク質であるSNCAの凝集は、アミロイド線維を形成する過程で惹起される。このSNCAのアミロイド線維形成機構の解明に向けて、リコンビナントヒトSNCAタンパク質を用いた線維形成反応の*in vitro*解析を行った。

まず、SNCA水溶液にビーズを入れて、37°Cで3日間振とうすることで、人工的にアミロイド線維を調製した。調製した試料を原子間力顕微鏡で観察すると、図2のような線維状凝集物が認められ、アミロイド線維特異的蛍光色素であるチオフラビンT (ThT) が反応し、円偏光二色性スペクトル測定にてアミロイド線維に特徴的な $\beta$ シート構造の形成が確認できた。したがって、この条件でSNCAがアミロイド線維を形成することが確認できた。

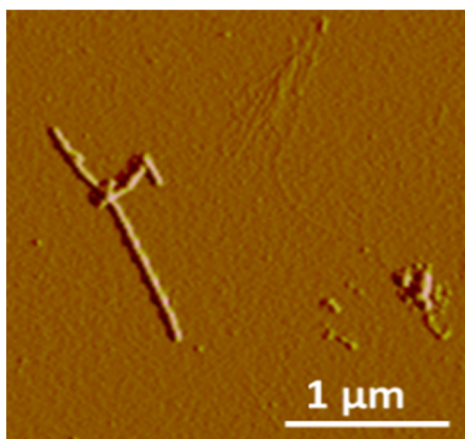


図2.  $\alpha$ -シヌクレインアミロイド線維の原子間力顕微鏡画像

次に、ThT 蛍光強度の経時的測定により、SNCAのアミロイド線維形成過程を追跡した。その結果、図3に示すようなシグモイド型の蛍光強度変化が観測された。アミロイド線維の形成は、構成タンパク質が会合して核が生じる過程と、核に単量体が順次結合して線維へと伸長する過程の二段階で進行する。ThTは核に反応しないため、蛍光強度が上昇するまでの期間は核形成過程に、ThT 蛍光が直線的に上昇する期間は線維伸長過程に対応する(図3)。

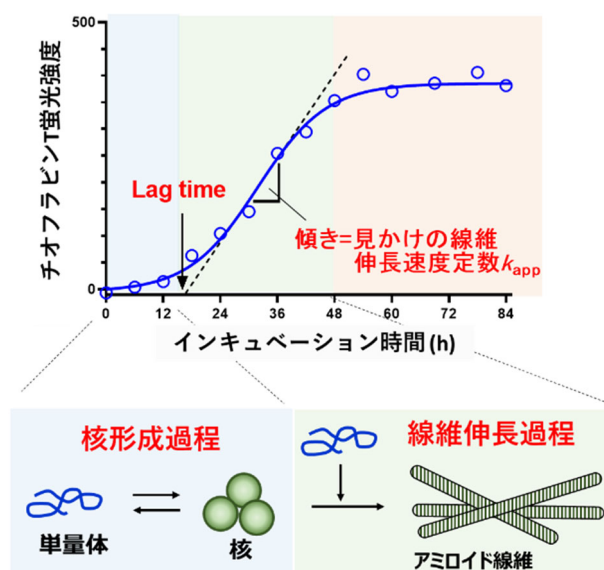


図3. チオフラビンT 蛍光測定による $\alpha$ -シヌクレインアミロイド線維形成評価

このモデルに基づいてデータを解析して、各過程の起こりやすさを反映するパラメータ、lag timeと見かけの線維伸長速度定数  $k_{app}$  を導出し、各過程に対する各種要因の影響を評価した。まず、SNCAの初期濃度の影響を調べたところ、濃度依存的に核形成速度は上昇したが、線維伸長速度は一定であったことから、水溶液中では核形成過程が律速であることが示唆された。次に、神経内でSNCAが結合するシナプス小胞を模倣した人工脂質膜小胞の共存下で実験を行ったところ、小胞に結合したSNCA濃度に依存して、核形成過程と線維伸長過程の両方が促進された。結合濃度依存的な線維伸長過程の促進は、脂質膜上に形成された核に対して水中の単量体が結合する伸長過程だけでなく、膜に結合した単量体が二次元的に会合する伸長過程の存在を示唆する(図4)。

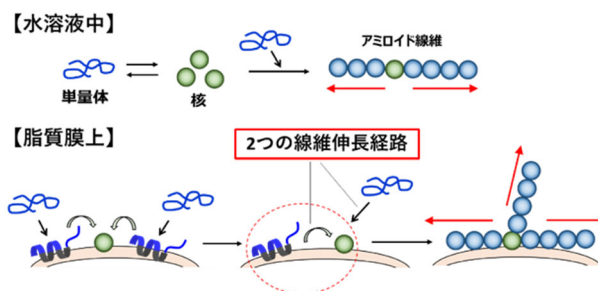


図4. 水溶液中と脂質膜上での $\alpha$ -シヌクレインのアミロイド線維形成のモデル図



今後、この分子機構の詳細について、より詳細な解析を進めていき、SNCA への結合能および線維化阻害能を有する化合物を探索できる解析系の確立を目指す。

また予備検討として、マウスを用いてパーキンソン病モデルの作製を行った。ドパミン神経毒である 6-hydroxydopamine (6-OHDA) を C57BL/6 マウスの左側の内側前脳束 (medial forebrain bundle; MFB) に 5  $\mu$ g 微量注入することで片側性パーキンソン病モデルの作製を行った。モデル作製から 4 週間後において薬剤誘発旋回運動を指標に、パーキンソン病モデルの作製を評価した。その結果、作製したパーキンソン病モデルは平均して 771.8 $\pm$ 175.2 回/90 分 (4 匹) の回転数を示し、いずれの個体も一般的なパーキンソン病モデルの基準である 540 回/90 分を満たしていた。

さらに予備検討として、木村寛之准教授および放射性同位元素研究センターの河嶋秀和准教授の協力のもと、上記で作製した片側性パーキンソン病モデルマウスにおけるドパミン神経の SPECT イメージングを行った。ドパミン神経の標識には  $^{123}\text{I}$  イオフルパン (ドパミントランスポーターのリガンド) を用いて、1 個体あたり 21 MBq となるように尾静脈注射により投与し、吸入麻酔下において CT および SPECT の撮像を行った (図 5)。

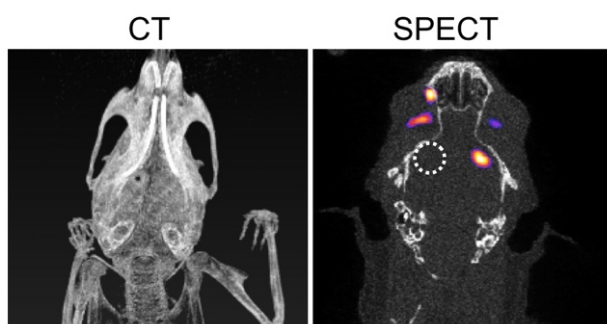


図 5. パーキンソン病モデルマウスにおける  $^{123}\text{I}$  イオフルパンを用いた線条体ドパミン神経の撮像。白破線は脱落部を示す。

その結果、作製したパーキンソン病モデルマウスはいずれも正常側の線条体では  $^{123}\text{I}$  イオフルパンのシグナルが検出されたのに対し、傷害側の線条体では、 $^{123}\text{I}$  イオフルパンのシグナルは検出され

なかった。このことから、片側性パーキンソン病モデルマウスが作製できたこと、および  $^{123}\text{I}$  イオフルパンを用いた SPECT 撮像により、生きたままドパミン神経の脱落の有無を確認できることが示された。

プロジェクト開始から約半年が経過し、それぞれの研究リソースの立ち上げや実験系の至適化の目処が立ちつつある。今後、化合物の合成および誘導、セルフリー系での候補化合物の探索、細胞モデルおよび動物モデルを用いた生体イメージングおよび分子機構の解明という一連のパイプラインの整備を進めていく。また本プロジェクトの発展および完遂させるためには、さらなる研究グループの参画による相乗的な取り組みが必要であると考えている。多分野が協働してプロジェクトを進めていく研究土壌も合わせて醸成していきたいと考えている。

## がんセラノスティクスを目指した化合物創製とイメージング研究



代謝分析学分野  
木村 寛之

セラノスティクス (Theranostics) とは、治療 (Therapeutics) と診断 (Diagnostics) を一体化した新しい医療技術であり、患者個々の病態像を正確にとらえたうえで、最適な治療を施す「プレジジョン・メディシン」への応用が進められている。プレジジョン・メディシンとは、患者の細胞、遺伝子、受容体やたんぱく質発現などの特性を、最先端技術を用いて分子レベルで判別して精密にグループ化し、適切な投薬、治療と予防を提供する医療である。一人ひとりの生体レベルで最適化された治療が実現すれば、副作用なども軽減し、患者の QOL 向上につながる。さらには精密に分類された病態グループに用いる新たな治療薬

の開発促進につながり、新薬開発の効率を大きく向上させ、創薬分野にも大きな影響を及ぼすと考えられている。セラノスティクスは、そのプレシジョン・メディシンの推進に重要な役割を果たすと期待されている。

京都薬科大学では、セラノスティクス専用研究施設を整備した「放射性同位元素研究 (RI) センター」を中心に研究基盤の構築を進めている。特に、がんや中枢神経疾患などを対象とした先端的分分子イメージング法の開発や、セラノスティクス創薬研究への応用を進めている。

我々のグループでは、以下の3つの領域においてセラノスティクス研究を進めている。

1. セラノスティクスプローブ開発 (薬剤開発) : 陽電子放射型断層撮影 (PET) ・単光子放射型コンピュータ断層撮影 (SPECT) 用プローブの開発、治療用薬剤の開発 (RI 内用療法用薬剤など)

2. プローブ合成技術開発 (標識反応、合成装置開発) : 新規フッ素化法の開発、マイクロ波反応装置やマイクロリアクターを用いた合成装置の開発

3. 画像化技術開発 : ベルギーMolecubes 社の SPECT 装置 ( $\gamma$ -cube) を用いた撮像条件の最適化、 $\gamma$ -cube 専用の高エネルギー用コリメータの開発、次世代高感度ガンマ線3DカメラであるElectron-tracking compton gamma-ray camera (ETCC) の開発

以下に各領域における研究成果を報告する。

### 1. セラノスティクスプローブ開発 (薬剤開発)

前立腺がん、乳がん、肺がん、膵がんなどを対象として、セラノスティクスプローブの開発を進めている。本稿では、その中でも研究が進んでいる線維芽細胞増殖因子受容体 1 (FGFR1) を標的としたプローブ開発について進捗状況を報告する。

線維芽細胞増殖因子受容体 1 (FGFR1) を標的としたプローブ開発

受容体型チロシンキナーゼの一種として知られている線維芽細胞増殖因子受容体ファミリー (FGFR1-4) は細胞外リガンド結合ドメイン、膜貫通ドメイン、および細胞質キナーゼドメインからなり、リガンドである FGF が結合すると Tyr-653

および Tyr-654 への自己リン酸化を介して RAS/MAPK 経路、PI3K/AKT 経路などを活性化させ、細胞の分化、増殖、アポトーシスの抑制に関与する (図 1)。また、他のチロシン残基、例えば Tyr-766 へのリン酸化は PLC- $\gamma$  や Crk などの他の細胞増殖シグナルを活性化することが報告されている。中でも、FGFR1 は肺がん、乳がんをはじめとする様々ながんにおいて過剰発現が認められ、腫瘍の増悪を助長していることが示唆されている。そのため、近年では新たながん治療のための標的として注目され、FGFR チロシンキナーゼを阻害する分子標的薬 (FGFR-TKI) の開発が進められている。本研究では、FGFR1 に対する PET プローブを開発することで FGFR1 高発現腫瘍のイメージングを行えるようにするだけでなく、がんの進行度と FGFR1 の発現との関連を解明し、さらに FGFR1 特異的プローブの構造から更なる FGFR チロシンキナーゼ阻害薬の開発へと繋げることを目的としている。

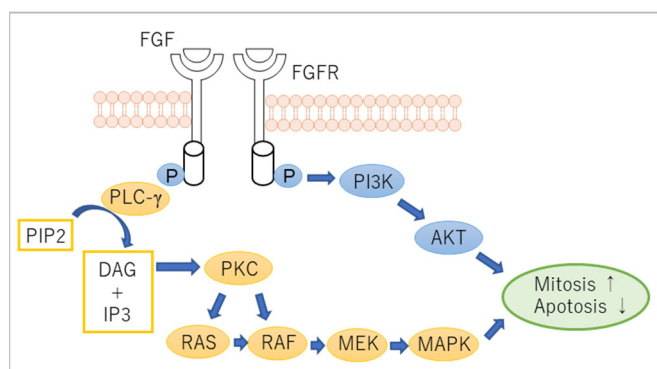


図 1 FGFR とその下流シグナル

FGFR1 に対して強い阻害活性を示す AZD4547 を母体化合物とする、誘導体  $[^{18}\text{F}]$ 9 を設計・合成した (図 2)。

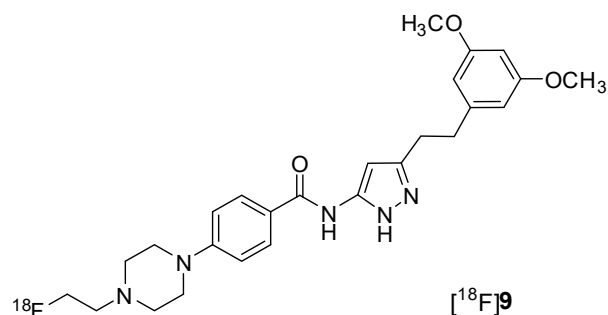


図 2  $[^{18}\text{F}]$ 9 の構造

合成した化合物 9 の FGFR1 に対する阻害活性評価を実施したところ、AZD4547 ( $IC_{50}=56.2 \pm 5.4$  nM) よりも阻害活性は低下するものの、FGFR1 に対して阻害活性を有していることが示された ( $IC_{50}=172.6 \pm 44.2$  nM)。そこで、インビボでの評価を進めることとした。

担癌モデルマウスを作製するにあたり、FGFR1 高発現がん細胞種として報告されている H520 細胞の導入を検討した。H520 細胞および H520 細胞の担癌モデルマウスから摘出した腫瘍における FGFR1 の発現をウェスタンブロッティングにより評価した画像を図 3 に示す。H520 細胞およびその担癌腫瘍に FGFR1 (理論分子量：90-115 kDa) のバンドが観察され、FGFR1 が発現していることを確認した。

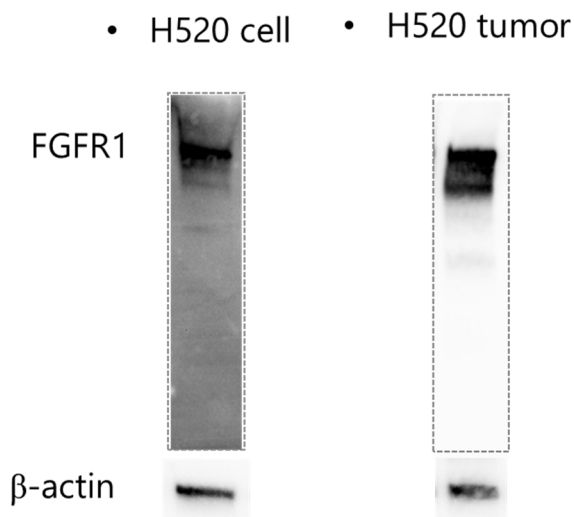


図 3 H520 細胞と担癌腫瘍における FGFR1 の発現

次に、 $^{18}F$  標識体の合成を検討した。非放射性標識体 9 の合成条件をもとに、2 段階の反応によって  $^{18}F$  9 を合成した (図 4)。合成した  $^{18}F$  9 は高速液体クロマトグラフにより分析し、非放射性標識体 9 と同様の保持時間であることを確認した。

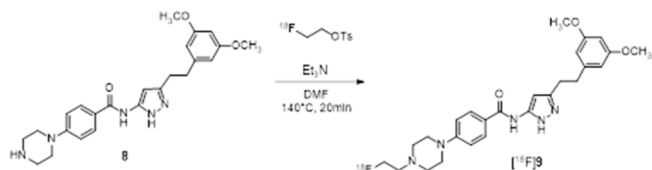


図 4  $^{18}F$  9 の標識合成

最後に、 $^{18}F$  9 を H520 細胞担癌モデルマウスに投与し、各臓器の時間ごとの  $^{18}F$  9 の集積量を測定した。表 1 に腫瘍/血液比、腫瘍/筋肉比、腫瘍/肺比を示す。腫瘍/筋肉比および腫瘍/肺比が比較的高く、 $^{18}F$  9 は FGFR1 高発現腫瘍に集積し、滞留することが示された。

	60 min	120 min
腫瘍/血液	0.86	1.10
腫瘍/筋肉	1.91	2.08
腫瘍/肺	1.17	1.28

表 1  $^{18}F$  9 の腫瘍対臓器集積比

AZD4547 と化合物 9 の FGFR1 に対する結合様式を解析する目的で、MOE を用いたドッキングシミュレーションを実施した (図 5)。

AZD4547 と化合物 9 の FGFR1 に対する結合様式に類似性が見られ、活性の維持が予測された。また、AZD4547 のピペラジン環周囲には FGFR1 との間に間隙が存在し、AZD4547 のピペラジン環窒素原子上へのフルオロエチル基導入の妥当性が支持された。しかしながら、インビトロにおける FGFR1 に対する阻害活性評価の結果より、化合物 9 の阻害活性は AZD4547 よりも低下していたため、現在ドッキングシミュレーションの再解析と、阻害活性の向上を目指した誘導体の再設計を進めている。

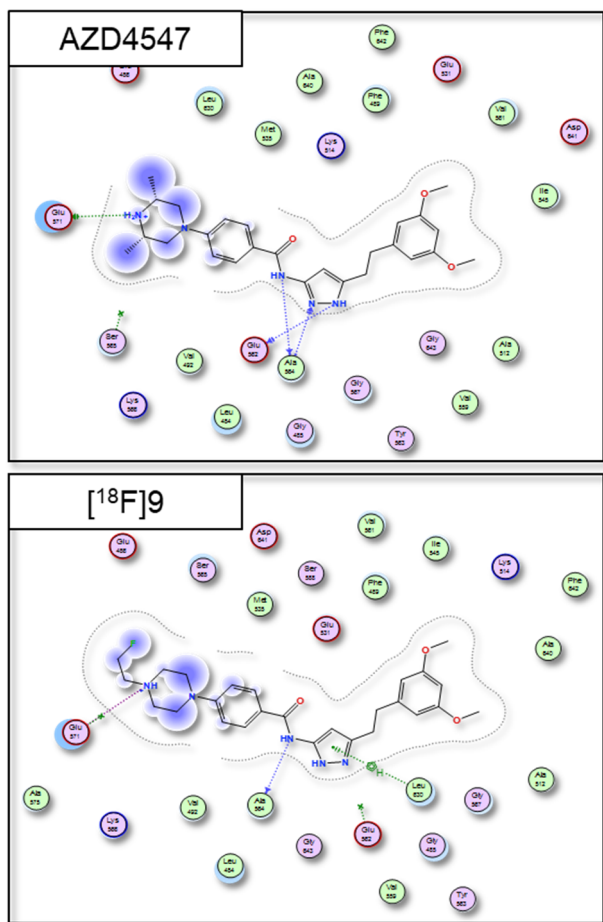


図5 FGFR1 に対する結合予測

## 2. プローブ合成技術開発

プローブ合成技術に関しては特許出願中のため、本稿での詳細な記載は控えさせていただきます。

## 3. 画像化技術開発

本学に導入した Molecubes 社の  $\gamma$ -cube の性能評価を実施した (図6)。販売されている附属のコリメータとして、マウス用コリメータ (GP mouse collimator、FOV 12x32mm) とラット用コリメータ (GP rat collimator、FOV 24x60mm) の2種類あるが、以下の性能評価ではマウス用コリメータを用いた (図7)。



図6 CT: X-CUBE SPECT:  $\gamma$ -CUBE

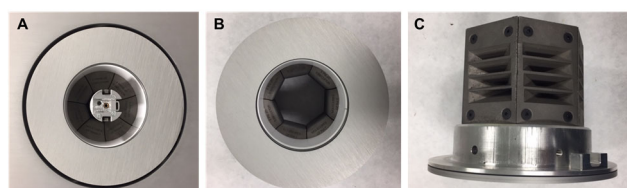


図7 A : GP mouse collimator、B : GP rat collimator、C : GP rat collimator を横から見た写真

図8に示す評価用ファントムに、 $^{99m}\text{TcO}_4^-$ を10MBq 充填して撮像を行った。撮像は、15分、30分、45分、1時間、2時間でそれぞれ撮像し、画像再構成は以下の条件で実施した。

画像再構成：

- $^{99m}\text{Tc}$  energy window (141 keV  $\pm$  10 %)
- 3D maximum likelihood-expectation maximization algorithm (500 iterations)

なお、本研究では散乱線補正および減弱補正は行っていない。

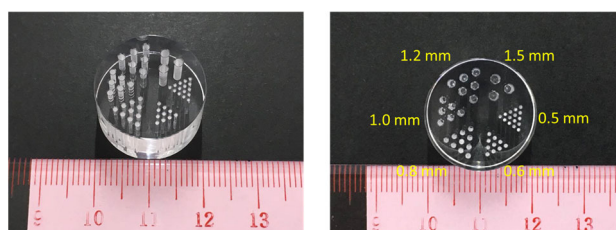


図8 評価用ファントム

撮像実験の結果より、撮像時間 15 分でも直径 0.8 mm の穴は明瞭に描出されており、撮像時間を 2 時間まで延ばすと直径 0.6 mm の穴まで明瞭に描出された (図9)。今回の検討では、10MBq を充填して撮像した結果のみであるため、今後は充填する RI の量を変えて評価を行う。さらに、 $^{123}\text{I}$ 、



$^{111}\text{In}$ 、 $^{67}\text{Ga}$  でも同様の検討を行う予定である。

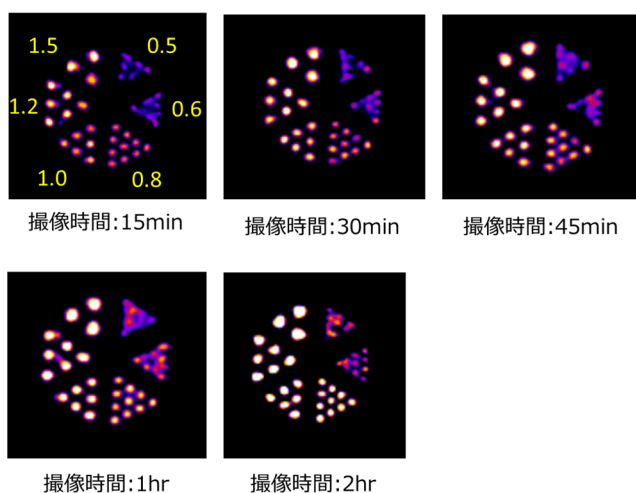


図 9 評価用ファントムでの撮像結果

上記での検討結果を踏まえ、次にインビゴでの撮像評価をマウスを用いて実施した。イメージングプローブとしては、 $^{123}\text{I}$ -iofulupane と  $^{123}\text{I}$ -IMP を用いた。図 1 0 には、 $^{123}\text{I}$ -iofulupane の SPECT 画像を示す。 $^{123}\text{I}$ -iofulupane を 26 MBq 投与 60 分後から、30 分間撮像を行ったところ、線条体への集積を明瞭に描出することができた。さらに、投与量を 4 MBq まで減らしても、線条体への集積を描出することができた。

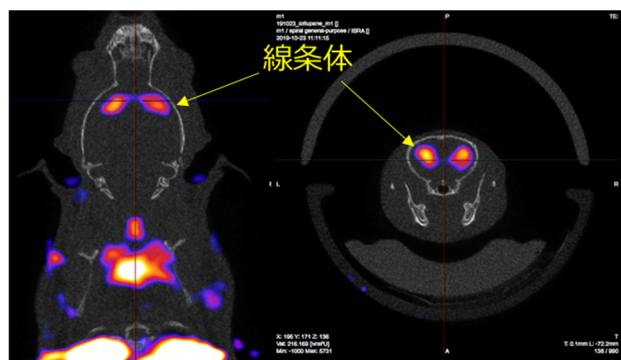


図 1 0  $^{123}\text{I}$ -iofulupane の SPECT 画像

図 1 1 には、 $^{123}\text{I}$ -IMP の SPECT 画像を示す。 $^{123}\text{I}$ -IMP を 29 MBq 投与 60 分後から、30 分間撮像を行ったところ、脳への集積を明瞭に描出することができた。さらに、生体内で  $^{123}\text{I}$ -IMP から脱離した  $^{123}\text{I}$  の甲状腺への集積も明瞭に描出することができた。

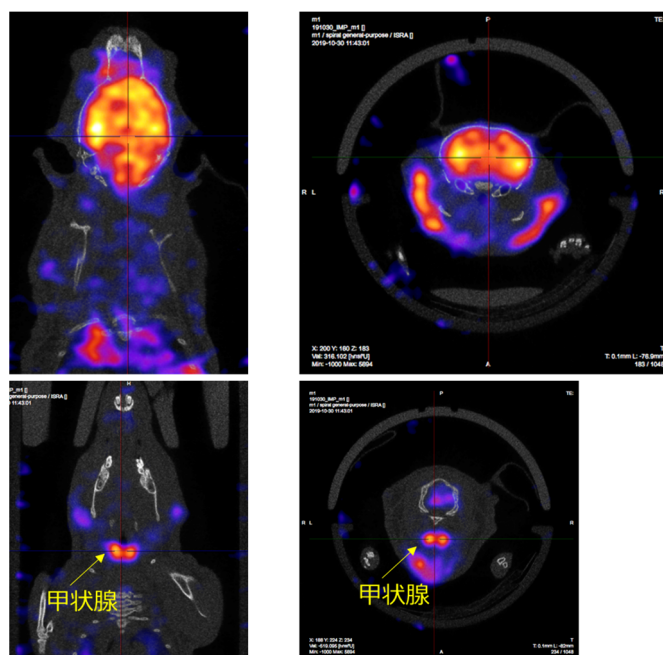


図 1 1  $^{123}\text{I}$ -IMP の SPECT 画像

以上の結果より、定量性も含めたさらなる性能評価が必要であるが、Molecubes 社の  $\gamma$ -cube が小動物のイメージング研究に有用であることが示された。さらに我々は、治療用核種での画像化を目指し、Molecubes 社と共同で  $\gamma$ -cube 専用の高エネルギー用コリメータの開発を検討している。

本学におけるセラノスティクス研究を開始して数年が経過し、徐々に学内でも浸透しつつあるがその重要性が広く認知されるまでには至っていない。しかしながら、最適な診断と治療の融合は今後の医療において重要な役割を果たすと考えられるため、セラノスティクス研究の発展は必要不可欠である。さらに我々は、学部学生や大学院生が「セラノスティクス創薬研究」に加わることで、新しい診断・治療法に対する深い理解と実践能力を身に付けた次世代型薬剤師と研究者の育成にも努めていきたい。

本稿で紹介した研究成果は、京都薬科大学・代謝分析学分野の所属学部学生や大学院生、助教の有光健治博士、博士研究員の屋木祐亮博士による多大な努力の賜物であり、敬意を表するとともに、ここに深く感謝の意を表します。



## セラノスティクス研究の推進に向けた イメージング技術の基盤形成



放射性同位元素研究  
センター  
河嶋 秀和

様々な疾患の病態解明が分子レベルで進む中、生体医工学領域の技術をその分析系に組み込むことで個体における分子生物学的プロセスの空間的・時間的变化を *in vivo* にて可視化、生命現象の理解を深める「生体分子イメージング」の重要性は広く認知されるに至り、基礎医学・薬学研究の一手段として定着した（図1）。さらに、現在の臨床では、この手法を基軸として対象疾患の性状を患者個人個人で的確に診断しつつ、効果的な治療へと展開させる「診断と治療の融合」：セラノスティクス（Theranostics）が潮流となっている。本学においても「受容体特異的画像化技術を基盤とするがん放射線内用療法（radio-theranostics）研究拠点の形成」が平成30年度の私立大学研究ブランディング事業（文部科学省）に採択された。事業の名称に含まれる「Radio-

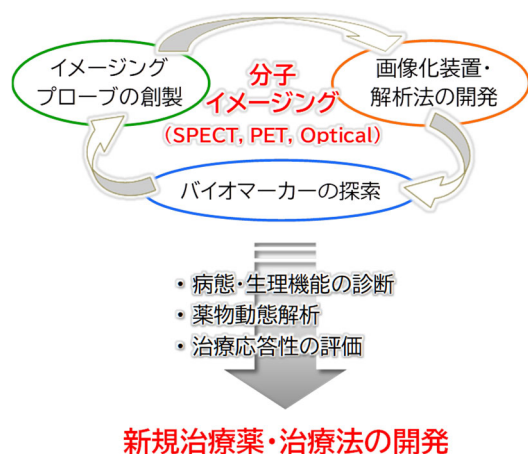


図1 分子イメージング技術の医療への貢献

theranostics」はセラノスティクスの一形態であり、主に悪性腫瘍を標的とする。すなわち、がん選択的に集積する化合物に対して診断（生体透過

性）あるいは治療（細胞殺傷性）に適した放射線を放出する放射性同位元素（Radioisotope：RI）を導入、適切に相互変換させることで診断と治療の一体化を実現し、微小がんのみならず、全身に転移したがんの根本的治療を期待するものである。

その一方で、セラノスティクスは「ある疾患に対して最適な治療を施すためのアプローチとなる高精度診断を実施すること」とも定義できる。これは取りも直さず対象となる疾患が悪性腫瘍に限定されないことを意味し、近年では Neuro-theranostics（神経系領域）や Cardiovascular-theranostics（循環器系領域）、さらに Metabol-theranostics（代謝系領域）等の新造語も生まれている。多岐にわたる疾患の病態像を詳細に探るため複数の機能性分子に注目し、これらの動態や相互作用を可視化、*in vivo* で同時に測定する目的においては Single-photon emission computed tomography (SPECT) が非常に優れたツールとなることから、今後、本学セラノスティクス研究は当センター内に設置された小動物用 SPECT 装置を用いた各種モデル動物での評価を中心に、X 線 CT にて取得される形態画像の解析、さらに *in vitro*,

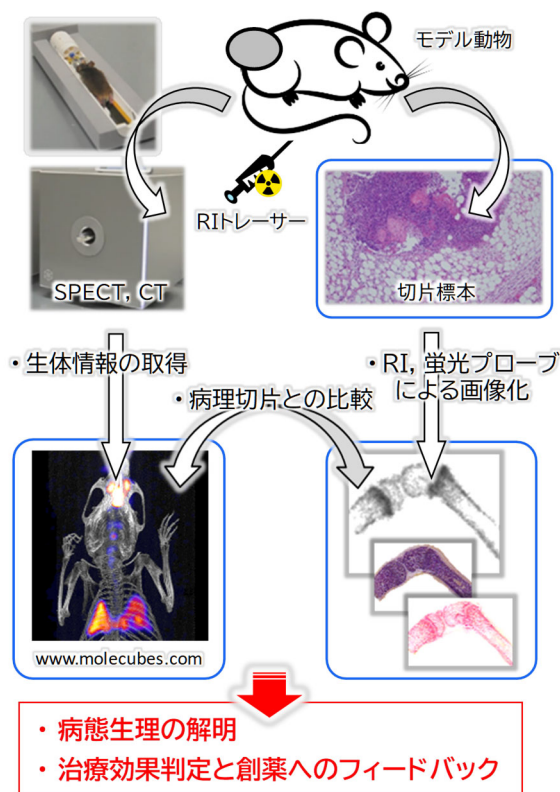


図2 セラノスティクス創薬研究

ex vivo 実験と組み合わせながら展開してゆくものとする（図 2）。

以下、「セラノスティクス」をキーワードとした当該ブランディング事業において本学が現在目指している「疾患の診断から治療へ通じる分野横断的研究の確立」に向けた整備状況について X 線 CT, SPECT 装置を中心に概説するとともに、その基盤研究として試みた ① I-123 標識酸化 LDL, ②  $^{201}\text{Tl}$  塩化タリウムを用いた動物の撮像例を紹介する。

#### SPECT による 2 核種同時撮像実験

SPECT はエネルギーが異なる  $\gamma$  線や X 線を弁別して画像化できるという特徴を持つ。したがって、例えばある個体にそれぞれ異なる核種からなる複数の放射性トレーサーを投与した場合、それらの体内分布を同時に、かつ別々に追跡することが可能である。ここでは、本学に導入されている小動物用 SPECT 装置（MOLECUBES 社製  $\gamma$ -CUBE）に対して異なる 2 種類の放射性同位元素を含む水溶液を調製し、検出エネルギーを該当する核種固有の数値に設定した際に得られる画像の見え方について検証した。

まず、 $\text{Na}[^{99\text{m}}\text{Tc}]\text{TcO}_4$  (Tc-99m の光子エネルギーピーク：141 keV) と  $^{111}\text{In}\text{InCl}_3$  (In-111 の光子エネルギーピーク：23.2 keV, 171 keV, 245 keV) の水溶液（各 5 MBq）を調製し、別々のシリンジに充填した。マウスコリメーターを装着した SPECT 装置にてこのファントムを撮像し、得られたエネルギーピークを図 3 に示す。ここで、それぞれの放射性同位元素に該当するエネルギーピークを個別に選択し、画像再構成した結果、Tc-99m のみ、あるいは In-111 のみが画像化できた。なお、Tc-99m と In-111 のエネルギーピークを認識させるよう設定すると、双方が重ね合わせられた画像として描出された（図 4）。

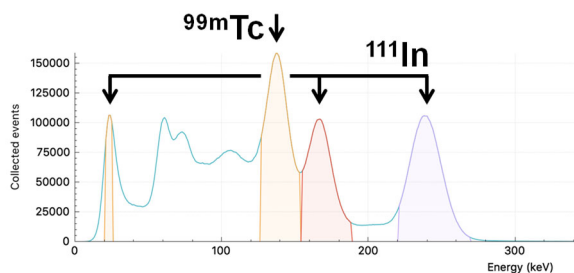


図 3 Tc-99m と In-111 のエネルギーピーク

#### Coronal Transverse

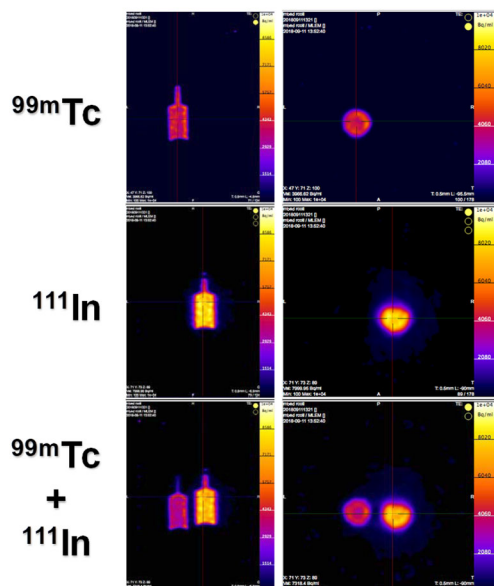


図 4 2 核種同時イメージング ( $^{99\text{m}}\text{Tc}$  と  $^{111}\text{In}$ )

また、 $\text{Na}[^{99\text{m}}\text{Tc}]\text{TcO}_4$  と  $^{201}\text{Tl}\text{TlCl}$  (Tl-201 の光子エネルギーピーク：70.8 keV, 80.3 keV) の水溶液を別々のマイクロチューブに分注し、同様の検討を行ったところ、両者を個別に描出できた（図 5）。

このように、エネルギーの異なる  $\gamma$  線や X 線を放出する複数の核種を識別、画像化できるモダリティの活用は、セラノスティクス研究を進める上で極めて有用と考えられる。

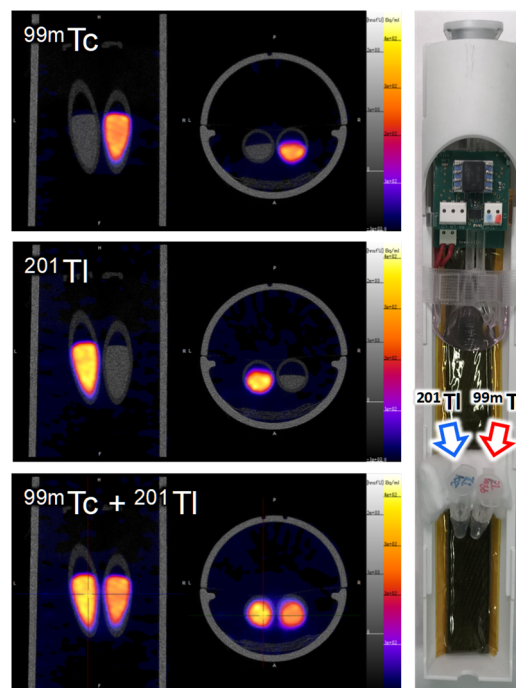


図 5 2 核種同時イメージング ( $^{99\text{m}}\text{Tc}$  と  $^{201}\text{Tl}$ )

## I-123 標識酸化 LDL ( $^{123}\text{I}$ -oxLDL) の体内動態解析

褐色脂肪や肝臓、骨格筋の細胞膜に存在する糖タンパク質の一つ、CD36 は長鎖脂肪酸を細胞内に輸送するトランスポーターであり、全身の脂質代謝を担うとともに、近年では悪性度の高いがん細胞での発現も報告されている。また、特定の酸化リン脂質や酸化リポタンパク質を認識するスカベンジャー受容体として、動脈硬化病巣における炎症応答や細胞のアポトーシス、不安定プラーク形成への関与も示唆されている。このように、生体ホメオスタシスの維持とともにその機能の破綻が様々な疾患の要因となっていることから、CD36 の生理学的意義を明らかにし、さらにはコントロールすることが関連疾患の予防・創薬・治療領域に大きく貢献すると期待される。そこで、本研究では、生理的あるいは病的状態における CD36 の働きにつきイメージング手法を用いて考査し、糖尿病や肥満に代表される代謝性疾患（生活習慣病）や転移性腫瘍の制圧に向けた展開を図ることを目的とした。

基盤データとして酸化 LDL (Oxidized low-density lipoprotein: oxLDL) が Lectin-like oxLDL receptor-1 (LOX-1) や CD36 等のスカベンジャー受容体による認識後、細胞内に輸送されることを背景に、放射性ヨウ素  $^{123}\text{I}$  標識 oxLDL ( $^{123}\text{I}$ -oxLDL) の体内動態を  $\gamma$ -CUBE にて基礎検討した。まず、Chloramine-T を用いて [ $^{123}\text{I}$ ]I $^-$  を酸化し、oxLDL 構成タンパク質 (ApoB-100) に対する求電子置換反応にて  $^{123}\text{I}$ -oxLDL を作製した (図 6)。

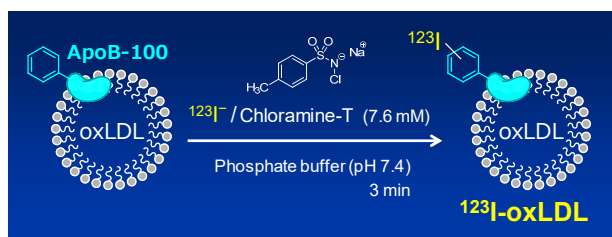


図 6  $^{123}\text{I}$  による oxLDL の直接標識反応

この  $^{123}\text{I}$ -oxLDL を覚醒下および麻酔下の C57BL6/N マウス (雄性, 6 週齢) マウスに静脈内投与し、体内動態を比較した。麻酔の影響を調べる個体には、Medetomidine, Midazolam, Butorphanol 三種混合麻酔を  $^{123}\text{I}$ -oxLDL 投与の 30 分前に腹腔内投与した。 $^{123}\text{I}$ -oxLDL 投与 10 分後、頸椎脱臼により

安楽死させ、灌流固定した後に X 線 CT および Static-SPECT 撮像を実施した。その結果、覚醒下のマウスでは肝臓や脾臓の他、左右肩甲骨の間に存在する褐色脂肪組織 (Brown adipose tissue: BAT) への特徴的な放射能集積を認めたが、麻酔下では  $^{123}\text{I}$ -oxLDL の BAT への移行が顕著に抑制された (図 7)。

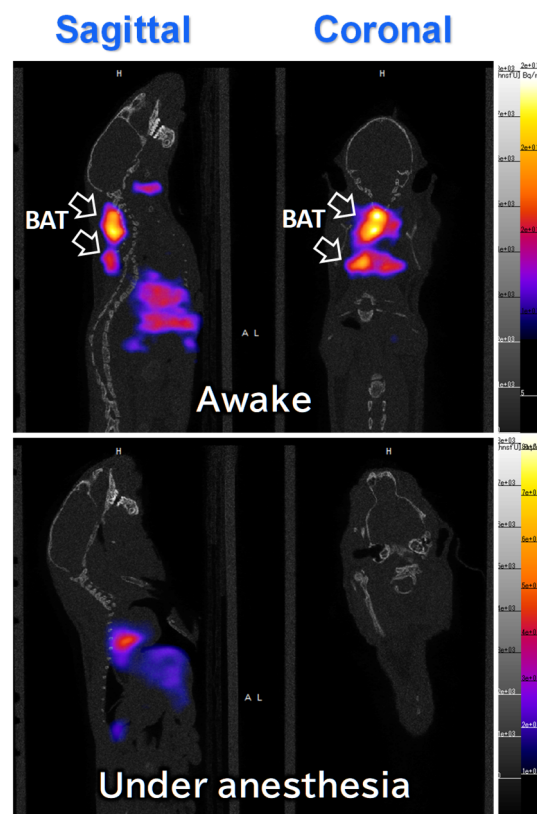


図 7  $^{123}\text{I}$ -oxLDL の BAT への集積における麻酔の影響

一方、心筋脂肪酸代謝診断薬剤である [ $^{123}\text{I}$ ]15-(4-ヨードフェニル)-3(R,S)-メチルペンタデカン酸 ( $^{123}\text{I}$ -BMIPP) も、その心筋細胞への取込みには CD36 による能動輸送が関与することが知られている。そこで、同様に麻酔処置したマウスに  $^{123}\text{I}$ -BMIPP を静脈内投与し SPECT 撮像したが、BAT における放射能分布の消失は確認されなかった (図 8)。同じ取込み機構を介した 2 つの放射性トレーサーでこのような挙動の相違が生じることは興味深く、生理的に CD36 が発現している心筋や骨格筋での検討と合わせ、交感神経系の関与や運動生理学的視点に立った老廃物 (生理活性物質) 除去という側面から CD36 機能の解析を展開したいと考えている。



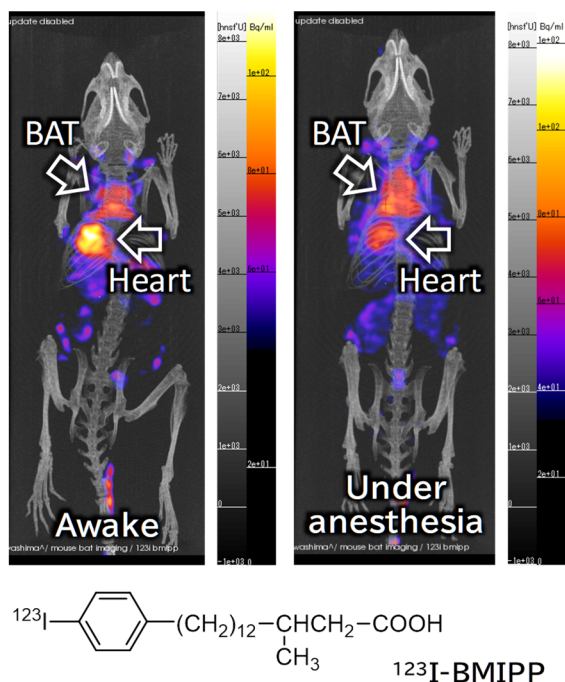


図 8  $^{123}\text{I}$ -BMIPP の BAT への集積

#### $^{201}\text{Tl}$ 塩化タリウムを用いた心筋梗塞モデル動物の心筋血流量の評価

虚血性心疾患に対する新たな治療法として、線維芽細胞やヒト人工多能性幹細胞 (hiPSC) から作製した細胞シート移植が再生医療の一環として注目されており、実用化に向けた研究が進められている。移植後における心機能評価には非侵襲的な *in vivo* 生体可視化手法が適していることから、現在、心筋細胞に発現する機能性タンパク質を標的としたプローブの開発を試みており、これと並行して冠動脈完全閉塞術によるモデル動物の作製と評価を行った。

まず、施術手技を確立させる目的で、動物には Sprague-Dawley ラット (雄性, 6 週齢) を選択した。麻酔下で人工呼吸器に接続、開胸し、冠動脈左前下行枝を結紮した個体につき 14 日後に心筋血流量診断薬剤である  $^{201}\text{Tl}$ TlCl を静脈内投与した。X 線 CT および SPECT 撮像にて確認した結果、結紮した部位にて血流分布の低下が示された (図 9)。また、撮像終了後に摘出した心臓の摘出した心臓の外見的所見では、心尖部の蒼白化、左心室壁の菲薄化が確認された。さらに、切片試料を作製し、オートラジオグラフィ (ARG) を行ったところ、集積放射能の分布に SPECT 画像との一致を認めた。各種染色による組織学的検証からも

心筋組織の壊死を認めたことから、冠動脈の結紮により適切な心筋梗塞モデル動物が作製できたものと判断した。

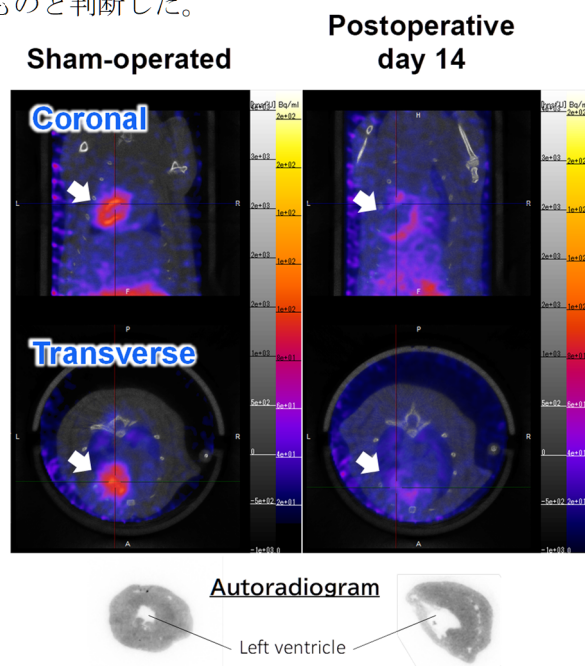


図 9 心筋梗塞モデルラットにおける心筋血流画像

今後は Sprague-Dawley ラットで安定してモデル作製が可能となり次第、免疫不全ラット (F344-*rnu/rnu*) にて同様の施術を行う。心筋梗塞モデルに細胞移植治療を施し、研究対象とするタンパク質の発現を定量するとともに、心機能の評価する複数の放射性トレーサーを用いて治療効果を総合的に判定する。

以上、本学でセラノスティクス研究を推進するに向け、その基盤技術としてのイメージングモダリティ (X 線 CT, SPECT 装置) の活用について例示した。冒頭にも述べたように、セラノスティクスでは患者一人一人の生体情報を統合しながら最適な治療法を選択できるため、精密医療 (Precision medicine) を体現しうる手段として注目されている。本学においても種々の疾患を対象として診断から治療へとシームレスに結び付ける基礎研究を早期に確立するため、分野・センター間、さらには国内外の大学や病院、研究機関と連携を取ってゆくことが重要になると考える。

## —2019 年度業績—

### 著書

1. Yusuke Yagi, Hidekazu Kawashima, Kenji Arimitsu, Koki Hasegawa, Hiroyuki Kimura: Chapter 6. Single-Photon Emission Computed Tomographic Imaging in Live Animals., Handbook of In Vivo Chemistry in Mice From Lab to Living System., Katsunori Tanaka, Kenward Vong (Editor), pp.151-184, Wiley-VCH (2020)
2. Koki Hasegawa, Hidekazu Kawashima, Yusuke Yagi, Hiroyuki Kimura: Chapter 7. Radiotherapeutic Applications., Handbook of In Vivo Chemistry in Mice From Lab to Living System., Katsunori Tanaka, Kenward Vong (Editor), pp.185-208, Wiley-VCH (2020)

### 英文原著

1. Takashi Ohgita, Yuki Takechi-Haraya, Ryo Nadaï, Mana Kotani, Yuki Tamura, Karin Nishikiori, Kazuchika Nishitsuji, Kenji Uchimura, Koki Hasegawa, Kumiko Sakai-Kato, Kenichi Akaji, Hiroyuki Saito: A novel amphipathic cell-penetrating peptide based on the N-terminal glycosaminoglycan binding region of human apolipoprotein E. *Biochim. Biophys. Acta - Biomembranes*, 1861(3), 541-549 (2019).
2. Daisuke Matsuoka, Motoshi Kamiya, Takeshi Sato, Yuji Sugita: Role of the N-Terminal Transmembrane Helix Contacts in the Activation of FGFR3. *J. Comput. Chem.* **2020**, 41, 561-572
3. Yujia Qing, Hiroko Tamagaki-Asahina, Sandra A. Ionescu, Mira D. Liu, Hagan Bayley: Catalytic site-selective substrate processing within a tubular nanoreactor. *Nat. Nanotechnol.* **2019**, 14, 1135-1142
4. Shin-ichiro Yoshizawa, Yasunao Hattori, Kazuya Kobayashi, Kenichi Akaji. Evaluation of an octahydroisochromene scaffold used as a novel SARS 3CL protease

inhibitor. *Bioorg. Med. Chem.* 28(4), 115273 (2020).

5. Daisuke Mori, Hiroyuki Kimura, Hidekazu Kawashima, Yusuke Yagi, Kenji Arimitsu, Masahiro Ono, and Hideo Saji: Development of  $^{99m}\text{Tc}$  radiolabeled A85380 derivatives targeting cerebral nicotinic acetylcholine receptor: Novel radiopharmaceutical ligand  $^{99m}\text{Tc}$ -A-YN-IDA-C4. *Bioorg. Med. Chem.* **27**, 4200-4210 (2019).
6. Hiroyuki Kimura, Masashi Ueda, Hidekazu Kawashima, Kenji Arimitsu, Yusuke Yagi, and Hideo Saji: Synthesis and biological evaluation of  $\text{Tc-}^{99m}$ -cyclopentadienyltricarbonyl-technetium-labeled A-85380: An imaging probe for single-photon emission computed tomography investigation of nicotinic acetylcholine receptors in the brain. *Bioorg. Med. Chem.* **27**, 2245-2252 (2019).
7. Tsuneo Saga, Yuji Nakamoto, Takayoshi Ishimori, Takahiro Inoue, Yoichi Shimizu, Hiroyuki Kimura, Shusuke Akamatsu, Takayuki Goto, Hiroyuki Watanabe, Kosuke Kitaguchi, Masao Watanabe, Masahiro Ono, Hideo Saji, Osamu Ogawa, and Kaori Togashi: Initial evaluation of PET/CT with  $^{18}\text{F}$ -FSU-880 targeting prostate-specific membrane antigen in prostate cancer patients. *Cancer Sci.*, **110**(2), 742-750 (2019).
8. Yusuke Yagi, Yoichi Shimizu, Kenji Arimitsu, Yuji Nakamoto, Takahiro Higuchi, Kaori Togashi, Hiroyuki Kimura: Efficient gallium-68 radiolabeling reaction of DOTA derivatives using a resonant-type microwave reactor. *J. Label. Compd. Radiopharm.*, **62**(3), 132-138 (2019).
9. Hiroyuki Kimura, Yusuke Yagi, Mutsumi Mikamo, Kazuya Maeda, Shinya Kagawa, Kenji Arimitsu, Tatsuya Higashi, Ryuichi Nishii, Masahiro Ono, Yuji Nakamoto, Kaori Togashi, Hiroyuki Kusuhara, Hideo Saji: Evaluation of transporter-mediated



- hepatobiliary transport of newly developed  $^{18}\text{F}$ -labeled pitavastatin derivative, PTV-F1, in rats by PET imaging. *Drug Metab. Pharmacokinet.*, **34**(5), 317-324 (2019).
10. Rudolf A. Werner, Kazuhiro Koshino, Kenji Arimitsu, Constantin Lapa, Mehrbod S. Javadi, Steven P. Rowe, Naoko Nose, Hiroyuki Kimura, Kenji Fukushima, Takahiro Higuchi: Stability of distribution of F18 flurpiridaz after transient coronary occlusion in pigs. *JACC Cardiovasc. Imaging.*, **12**(11 Pt. 1), 2269-2271 (2019).
  11. Xinyu Chen, Alexander Fritz, Rudolf A. Werner, Naoko Nose, Yusuke Yagi, Hiroyuki Kimura, Steven P. Rowe, Kazuhiro Koshino, Michael Decker, Takahiro Higuchi: Initial evaluation of AF78: a rationally designed fluorine-18-labelled PET radiotracer targeting norepinephrine transporter. *Mol. Imaging Biol.*, (2019). [Epub ahead of print]
  12. Naotaka Fujita, Hiroyuki Fujimoto, Keita Hamamatsu, Takaaki Murakami, Hiroyuki Kimura, Kentaro Toyoda, Hideo Saji, Nobuya Inagaki: Noninvasive longitudinal quantification of  $\beta$ -cell mass with [ $^{111}\text{In}$ ]-labeled exendin-4. *FASEB J.*, **33**(11), 11836-11844 (2019).
  13. Yusuke Yagi, Hiroyuki Kimura, Haruka Okuda, Masahiro Ono, Yuji Nakamoto, Kaori Togashi, Hideo Saji: Evaluation of [ $^{18}\text{F}$ ]pitavastatin as a positron emission tomography tracer for in vivo organic transporter polypeptide function. *Nucl. Med. Biol.*, **74-75**, 25-31 (2019).
  14. Hidemasa Katsumi, Rie Takashima, Hiroe Suzuki, Natsuko Hirai, Satoru Matsuura, Hiroyuki Kimura, Masaki Morishita and Akira Yamamoto: S-nitrosylated l-serine-modified dendrimer as a kidney-targeting nitric oxide donor for prevention of renal ischaemia/reperfusion injury. *Free Radic. Res.*, (2019). [Epub ahead of print]
  15. Takashi Ui, Masashi Ueda, Yusuke Higaki, Shinichiro Kamino, Kohei Sano, Hiroyuki Kimura, Hideo Saji, Shuichi Enomoto: Development and characterization of a  $^{68}\text{Ga}$ -labeled A20FMDV2 peptide probe for the PET imaging of  $\alpha\text{v}\beta 6$  integrin-positive pancreatic ductal adenocarcinoma. *Bioorg. Med. Chem.*, **28**(1), 115189 (2020).
  16. Rudolf A. Werner, Thorsten Derlin, Constantin Lapa, Sara Sheikbahaie, Takahiro Higuchi, Frederik L. Giesel, Spencer Behr, Alexander Drzezga, Hiroyuki Kimura, Andreas K. Buck, Frank M. Bengel, Martin G. Pomper, Michael A. Gorin, and Steven P. Rowe:  $^{18}\text{F}$ -labeled, PSMA-targeted radiotracers: Leveraging the advantages of radiofluorination for prostate cancer molecular imaging. *Theranostics*, **10**(1), 1-16 (2020).
  17. Chiharu Mizuguchi, Miho Nakagawa, Norihiro Namba, Misae Sakai, Naoko Kurimitsu, Ayane Suzuki, Kaho Fujita, Sayaka Horiuchi, Teruhiko Baba, Takashi Ohgita, Kazuchika Nishitsuji, Hiroyuki Saito. Mechanisms of aggregation and fibril formation of the amyloidogenic N-terminal fragment of apolipoprotein A-I. *J. Biol. Chem.* **294** (36), 13515-13524 (2019).
  18. Galyna Gorbenko, Valeriya Trusova, Todor Deligeorgiev, Nikolai Gadjev, Chiharu Mizuguchi, Hiroyuki Saito. Two-step FRET as a tool for probing the amyloid state of proteins. *J. Mol. Liquids*. **294**, 111675 (2019).
  19. Kumiko Sakai-Kato, Kohki Yoshida, Takashi Ohgita, Yuki Takechi-Haraya, Yosuke Demizu, Hiroyuki Saito. Refining calibration procedures of circular dichroism spectrometer to improve usability. *Anal. Sci.* **35** (11), 1275-1278 (2019).
  20. Yuki Toda, Ryosuke Yoshimura, Masao Itahara, Yuri Imai, Kanae Yamada, Tomoko Uno, Susumu Nakata, Shigekuni Hosogi, Kazuyuki Takata, and Eishi Ashihara. DJ-1 contributes to self-renewal of stem cells in the

U87-MG glioblastoma cell line. *Anticancer Res.*, **39** (11), 5983-5990 (2019).

21. Mamiko Yano, Souichi Nakashima, Shiori Kasa, Seikou Nakamura, Kaneyasu Nishimura, Yoshimi Oda, Kazuyuki Takata, Hisashi Matsuda. Accelerative effects of carbazole-type alkaloids from *Murraya koenigii* on neurite outgrowth and their derivative's in vivo study for spatial memory. *J. Nat. Med.*, **74** (2) 448-455 (2020).
22. Kenjiro Matsumoto, Ayuka Deguchi, Aoi Motoyoshi, Akane Morita, Urara Maebashi, Tomohiro Nakamoto, Shohei Kawanishi, Mari Sueyoshi, Kaneyasu Nishimura, Kazuyuki Takata, Makoto Tominaga, Tsutomu Nakahara, and Shinichi Kato. Role of transient receptor potential vanilloid subtype 4 in the regulation of azoymethane/dextran sulphate sodium-induced colitis-associated cancer in mice. *Eur. J. Pharmacol.*, **867**, 172853 (2020).
23. Eriko Kuroda, Kazuyuki Takata, Kaneyasu Nishimura, Hikaru Oka, Mari Sueyoshi, Mayu Aitani, Atsushi Kouda, Shiho Satake, Chiaki Shima, Yuki Toda, Susumu Nakata, Yoshihisa Kitamura, and Eishi Ashihara. Peripheral blood-derived microglia-like cells reduce brain A $\beta$  burden and ameliorates cognitive impairment in a mouse model of Alzheimer's disease. *J. Alzheimer Dis.*, **73** (1), 413-429 (2020).

#### 和文原著

1. 福島和人、高野祥子、長谷川功紀、野上宗伸、日向信之、樋口隆弘: 国内未承認 RI 内用療法に関する海外動向ならびに国内導入に向けた臨床サイドから見たニーズ・問題点に関する調査研究. *核医学*. **56**(1), 77-79 (2019)

#### 英文総説

1. Takashi Ohgita, Hiroyuki Saito. Biophysical mechanism of protein export by bacterial type III secretion system. *Chem.*

*Pharm. Bull (Current Topics)*. **67** (4), 341-344 (2019).

#### 和文総説

1. 木村寛之: がんの早期発見・早期治療を目指したセラノティクス創薬. *PHARM STAGE*, 通巻 **211** 号, 62-65 (2019).
2. 扇田隆司. 細菌Ⅲ型分泌装置による細胞膜を超えたタンパク質輸送. *膜MEMBRANE*. **44** (3), 101-104 (2019).
3. 高田和幸、西村周泰、下濱俊: アルツハイマー病治療薬開発標的としての  $\alpha 7$  ニコチン受容体サブタイプの機能, *日本神経薬学会誌*, **3**, 12-17 (2019).
4. 矢野恒夫、長谷川功紀、角永悠一郎、樺山一哉、小田敬、上野悟史、蜂須賀暁子、平林容子、深瀬浩一: アルファ線核医学治療のための薬剤開発の考察 (その 3). *医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス*. **50**(12), 749-763 (2019).

#### 学会発表

##### 国内学会

1. 田村悠樹、小谷真菜、扇田隆司、原矢佑樹、西辻和親、内村健治、長谷川功紀、加藤くみ子、赤路健一、斎藤博幸: ApoE 由来アルギニンペプチドの細胞膜透過における糖鎖依存性の評価. 日本膜学会第 41 年会 (東京), 2019.
2. 長谷川功紀、井上康輝、工藤信次、伊藤隆明: タモキシフェン誘導体を用いた肺がんのリガンド誘導体染色. 第 60 回日本組織細胞化学会総会・学術集会 (兵庫), 2019. 9
3. 朝比奈(玉垣)裕子, 佐藤毅: FGFR3 の膜貫通部位に存在するチロシン残基と膜貫通部位の配向, 第 92 回日本生化学会, 横浜, 2019.09.
4. Hiroko Tamagaki-Asahina, Takeshi Sato: Conserved tyrosine residues involve in the orientation of the transmembrane region in FGFR3, 第 56 回ペプチド討論会, 東京, 2019.10.
5. 若林亮介、服部恭尚、羽立祐貴、戸田侑紀、細木誠之、芦原英司: 新規 Wnt/ $\beta$ -catenin 経路阻害剤の急性骨髄性白血病に対する抗腫瘍効果. 日本薬学会第 140 年会 (京都), 2020. 3.

6. 齋藤恵里佳、安東友繁、服部恭尚、長谷川功紀:  $^{67}\text{Ga}$  標識 Reactive Black 5 を利用した炎症巣の SPECT イメージング、日本薬学会第 140 年会 (京都), 2020.3.
7. 宮村美佳、許千春、小林数也、服部恭尚、赤路健一: ヘテロ原子含有アミド置換基を有するデカヒドロイソキノリン型 SARS 3CL プロテアーゼ阻害剤の合成と評価. 第 69 回日本薬学会関西支部総会・大会 (神戸), 2019.10.
8. 木村明穂、大谷拓也、菊池真理、小林数也、服部恭尚、赤路健一: P1-P3 側鎖間に疎水性架橋構造を導入したペプチド性 BACE1 阻害剤の合成研究. 第 69 回日本薬学会関西支部総会・大会 (神戸), 2019.10.
9. 森川夏穂、森岡佑介、安東友繁、小林数也、服部恭尚、赤路健一: EGF レセプターの二量化アーム配列に光官能基を導入した環状ペプチドの評価. 第 69 回日本薬学会関西支部総会・大会 (神戸), 2019.10.
10. Takuya Otani, Kazuya Kobayashi, Yasunao Hattori, Kenichi Akaji: Evaluation of the ring size of macrocyclic inhibitors for BACE1. 第 56 回ペプチド討論会 (東京), 2019.10.
11. 吉澤慎一郎、足尾真美、越野裕貴、山中優季、山本侑人、小林数也、服部恭尚、赤路健一: オクタヒドロイソクロメン型 SARS 3CL プロテアーゼ阻害剤の立体選択的合成と阻害活性評価. 第 45 回反応と合成の進歩シンポジウム (倉敷), 2019.10.
12. 小林数也、森川夏穂、米田沙也夏、大江保奈美、森岡佑介、細見証彦、安東友繁、服部恭尚、赤路健一: EGF レセプターの二量化阻害を指向した光反応基含有環状ペプチドの合成と評価. 第 37 回メディシナルケミストリーシンポジウム (東京), 2019.11.
13. 内海慈乃、木村明穂、大谷拓也、小林数也、服部恭尚、赤路健一: アリアル型架橋構造を有するペプチド性 BACE1 阻害剤の合成研究. 日本薬学会第 140 年会 (京都), 2020.3.
14. 竹中千里、清水勇帆、三谷勇人、岩本みつぎ、大西康司、小林数也、服部恭尚、赤路健一: アザ - デカリン骨格にアミノメチル基を導入した SARS 3CL プロテアーゼ阻害剤の設計と合成. 日本薬学会第 140 年会 (京都), 2020.3.
15. 古川武典、木村寛之、鳥本英恵、屋木祐亮、河嶋秀和、有光健治、安井裕之: Erythropoietin-producing hepatocellular (Eph) A2受容体を標的としたSPECTイメージングプローブの探索. 第3回日本核医学会分科会 放射性薬品科学研究会, 第19回放射性医薬品・画像診断薬研究会 (岡山), 2019.11.
16. 田中未紗、木村寛之、宮本佳美、桶谷亮、河嶋秀和、安井 裕之: 分子イメージング手法を用いた移植脾臓の評価. 日本薬学会第 140 年会 (京都), 2020.3.
17. 古川武典、木村寛之、鳥本英恵、屋木祐亮、河嶋秀和、有光健治、安井裕之: EphA2 受容体を標的とした SPECT イメージングプローブの開発. 日本薬学会第 140 年会 (京都), 2020.3.
18. 吉岡綾音、勝見英正、福井美奈子、高木千聖、山下修吾、湯谷玲子、田中晶子、古林呂之、木村寛之、河嶋秀和、森下将輝、坂根俊康、山本 昌: アスパラギン酸修飾ナノキャリアを利用した治療用放射性核種の骨標的化による骨転移抑制. 日本薬学会第 140 年会 (京都), 2020.3.
19. Marina Omokawa, Kenji Arimitsu, Yusuke Yagi, Yuki Naito, Hiroyuki Yasui, Hiroyuki Kimura: Synthesis of cancer theranostic probe by sugar-linked platinum complex. 第 29 回金属の関与する生体関連反応シンポジウム (豊中), 2019.05.
20. 有光健治、面川真里奈、安井裕之、木村寛之: 腫瘍特異性を指向した FDG 結合型プラチナ錯体の合成と NMR 解析. 第 20 回若手 NMR 研究会 (蒲郡), 2019.08.
21. 有光健治、屋木祐亮、越野一博、樋口隆弘、安井裕之、木村寛之: ストレプトゾトシンの構造を基にした GLUT2 標的分子イメージングプローブの開発. 第 38 回日本糖質学会年会 (名古屋), 2019.08.
22. 古川武典、木村寛之、屋木祐亮、有光健治、戸田力也、河嶋秀和、安井裕之、佐治英郎、瀧 真清: 同位体標識アミノ酸を用いた新規ペプチド標識法の開発とイメージングプローブへの応用. 第 17 回次世代を担う若手のためのフィジカル・ファーマフォーラム (大津), 2019.09

23. 関口紗里、木村寛之、中田 晋、谷口浩也、安井裕之：イメージング技術を用いた抗体医薬品の治療効果評価法の開発。日本薬学会第 140 年会（京都），2020.03.
24. 屋木祐亮、木村寛之、前田和哉、小野正博、楠原洋之、安井裕之、佐治英郎：pitavastatin を母核とした生体内 OATP 機能解析用 PET イメージングプローブの開発。日本薬学会第 140 年会（京都），2020.03.
25. 高田和幸、黒田絵莉子、河西翔平、植野文貴、西村周泰、戸田侑紀、北村佳久、下濱俊、芦原英司：マウス骨髄由来細胞からの TGF- $\beta$ 1 の分泌によるミクログリアの A $\beta$  食食の促進。NEURO2019（新潟），2019.7.
26. 西村周泰、高橋淳：インテグリン  $\alpha$ 5 $\beta$ 1 を介したヒト iPS 細胞由来ドーパミン神経前駆細胞移植におけるシナプス形成の促進。NEURO2019（新潟），2019.7.
27. 植野文貴、高田和幸、黒田絵莉子、河西翔平、末吉真梨、西村周泰、戸田侑紀、北村佳久、下濱俊、芦原英司：アルツハイマー病細胞治療戦略の開発を目指した骨髄由来細胞が分泌する液性因子のミクログリアへの作用解析。次世代を担う創薬・医療薬理シンポジウム 2019（東京），2019.8.
28. 高田和幸、黒田絵莉子、河西翔平、末吉真梨、植野文貴、西村周泰、戸田侑紀、北村佳久、下濱俊、芦原英司：骨髄造血幹細胞由来ミクログリア様細胞から分泌される TGF- $\beta$ 1 による内在性ミクログリアの A $\beta$  食食の促進。生体機能と創薬シンポジウム 2019（東京），2019.8.
29. 西村周泰、高橋淳：幹細胞由来神経移植と性ホルモン薬を組み合わせたパーキンソン病治療法の検討。生体機能と創薬シンポジウム 2019（東京），2019.8.
30. 扇田隆司、中川美穂、坂井美冴、南波憲宏、鈴木彩音、藤田かほ、堀内爽加、水口智晴、斎藤博幸：ApoA-I アミロイド線維形成における各構造領域の役割に関する物理化学的解析。第 7 回日本アミロイドーシス研究会学術集会（東京），2019.8.
31. Kazuchika Nishitsuji, Kenji Uchimura, Taro Yamashita, Kaori Kuwabara, Hirokazu Kameyama, Mineyuki Mizuguchi, Keiichiro Okuhira, Takashi Ohgita, Hiroyuki Saito, Yukio Ando: Heparan sulfate S-domains that accumulate in kidney transthyretin deposits accelerate fibril formation and promote cytotoxicity. 第 92 回日本生化学会大会（横浜），2019.9.
32. 南波憲宏、中川美穂、坂井美冴、鈴木彩音、扇田隆司、斎藤博幸：熱力学的解析による Iowa 変異型 ApoA-I の線維化機構の解明。第 69 回日本薬学会関西支部大会（神戸市），2019.10.
33. 中野未悠、水口智晴、扇田隆司、斎藤博幸：ApoA-I アミロイド形成過程に及ぼす ApoE の濃度依存的影響。第 69 回日本薬学会関西支部大会（神戸），2019.10.
34. 田中翔子、平松彩羅、原田航吉、扇田隆司、斎藤博幸：パーキンソン病原因タンパク質  $\alpha$ -シヌクレインの作製と物性評価。第 69 回日本薬学会関西支部大会（神戸），2019.10.
35. Yuki Tamura, Mana Kotani, Takashi Ohgita, Yuki Takechi-Haraya, Kazuchika Nishitsuji, Kenji Uchimura, Koki Hasegawa, Kumiko Sakai-Kato, Kenichi Akaji, Hiroyuki Saito: A NOVEL AMPHIPATHIC CELL-PENETRATING PEPTIDE BASED ON THE N-TERMINAL GLYCOSAMINOGLYCAN BINDING REGION OF HUMAN APOLIPOPROTEIN E. 第 56 回ペプチド討論会（東京），2019.10.
36. 水口智晴、栗光直子、中川美穂、扇田隆司、斎藤博幸：Iowa 変異型アポ A-I のアミロイド線維形成機構の解明。第 69 回日本薬学会関西支部大会（神戸），2019.10.
37. 黒田絵莉子、西村周泰、戸田侑紀、芦原英司、高田和幸：ミクログリアに対する骨髄造血幹細胞由来ミクログリア様細胞から分泌される TGF- $\beta$ 1 の作用解析。第 136 回日本薬理学会近畿部会（大阪），2019.11.
38. 黒田絵莉子、西村周泰、中田晋、戸田侑紀、北村佳久、芦原英司、高田和幸：末梢血造血幹細胞由来ミクログリア様細胞の機能解析とアルツハイマー病モデルマウスへの移植による治療効果の解析。第 46 回日本脳科学会（滋賀），2019.11.
39. 西村周泰、高田和幸：ドーパミン神経の機能再生を目指した創薬研究。第 9 回 4 大学連携研究フォーラム（京都），2019.11.
40. 黒田絵莉子、西村周泰、戸田侑紀、中田晋、北村佳久、芦原英司、高田和幸：末梢血からのミクログリア様細胞の調製とアルツハイマー病モデルマウス海馬内への移植によるアミロイ



ド B の減少と認知記憶機能の改善. 第 93 回日本薬理学会年会 (横浜), 2020. 3.

41. 栗光直子、水口智晴、藤田かほ、堀内爽加、扇田隆司、島内寿徳、斎藤博幸: ホスファチジルエタノールアミンは Iowa 変異型アポ A-I の線維化を促進する. 第 140 回日本薬学会 (京都), 2020.3.
42. 松井早希、岡田圭祐、竹内美紗紀、扇田隆司、原矢佑樹、西辻和親、内村健治、長谷川功紀、加藤くみ子、赤路健一、斎藤博幸: ポリプロリン II ヘリックス構造によるアルギニンペプチドの細胞膜透過性の亢進. 第 140 回日本薬学会 (京都), 2020.3.
43. 南波憲宏、中川美穂、木村美月、坂井美冴、扇田隆司、斎藤博幸: ApoA-I アミロイドのエントロピー駆動型核形成における線維化領域の寄与. 第 140 回日本薬学会 (京都), 2020.3 (誌上開催).
44. 中野未悠、鎌田真央、水口智晴、扇田隆司、斎藤博幸: アポ A-I 線維形成におけるアミロイド共存タンパク質アポ E の二相性効果. 第 140 回日本薬学会 (京都), 2020.3.
45. 黒田絵莉子、西村周泰、中田晋、戸田侑紀、芦原英司、高田和幸: 末梢血中へ動員した造血幹細胞から分化誘導したマクロファージによるアミロイド B 除去および認知機能改善作用の解析. 第 140 回日本薬学会 (京都), 2020.3.
46. 平尾みなみ、中嶋聡一、矢野真実子、西村周泰、尾田好美、中村誠宏、高田和幸、松田久司: カルバゾール誘導体の神経新生促進への可能性と空間記憶力への作用. 第 140 回日本薬学会 (京都), 2020.3.
47. 栗垣衣里奈、小林真実、上村祐介、濱野咲佳、高畑祐香、吉本和佳、西村周泰、高田和幸、安川岳志、森本博俊、魚住嘉伸、長澤一樹: うつ様行動を誘発する社会敗北ストレスに対するマウスの感受性決定要因としての海馬ミクログリア及び腸内細菌叢の役割. 第 140 回日本薬学会 (京都), 2020.3.

#### 成果発表会

1. 芦原英司、服部恭尚、赤路健一: Wnt/ $\beta$ -catenin 経路阻害剤の探索. 文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業「新規分子標的治療薬創薬に向けた大学発ベンチャー基盤の確立」Annual Meeting (京都), 2020. 3.
2. 芦原英司、戸田侑紀、中村誠宏、長谷川功紀、山下正行. クマリン系化合物を基礎としたがん転移抑制薬の創製. 文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業「新規分子標的治療薬創薬に向けた大学発ベンチャー基盤の確立」Annual Meeting (京都), 2020. 3.
3. 吉岡希恵、坂井京子、戸田侑紀、芦原英司、阿部祥子、服部恭尚、山本玲美加、田中聡美、河嶋秀和、中村誠宏. MLL 関連白血病細胞株に対して選択的に抗腫瘍効果を示す化合物の探索. 文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業「新規分子標的治療薬創薬に向けた大学発ベンチャー基盤の確立」Annual Meeting (京都), 2020. 3.
4. 若林亮介、芦原英司、服部恭尚、赤路健一. 新規 Wnt/ $\beta$ -catenin 経路阻害剤による殺細胞作用機序の探究. 文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業「新規分子標的治療薬創薬に向けた大学発ベンチャー基盤の確立」Annual Meeting (京都), 2020. 3.
5. 福本晴菜、安東友繁、服部恭尚、長谷川功紀. 上皮成長因子受容体 (EGFR) を標的とした細胞溶解薬剤の開発. 文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業「新規分子標的治療薬創薬に向けた大学発ベンチャー基盤の確立」Annual Meeting (京都), 2020. 3.
6. Hidekazu Kawashima, Koki Hasegawa: Perspective on the investigation using CUBE system in KPU –towards the establishment of theranostics. Molecubes User Meeting (Barcelona), 2019.10.14.
7. 小谷真菜、田村悠樹、扇田隆司、原矢佑樹、西辻和親、内村健治、長谷川功紀、加藤くみ子、赤路健一、斎藤博幸: ApoE 糖鎖結合ドメインに基づいた新規細胞膜透過ペプチドの開発. 第 9 回 4 大学連携研究フォーラム (京都), 2019.11.
8. 小林数也、赤路健一: 相互作用解析に基づくペプチド性及び低分子 BACE1 阻害剤の開発研究. 文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業「新規分子標的治療薬創薬に向けた大学発ベンチャー基盤の確立」Annual Meeting (京都), 2020.3.
9. 服部恭尚、赤路健一、小林数也、大西康司: アザ-デカリン骨格を有する SARS 3CL プロテアーゼ



阻害剤の創製. 文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業「新規分子標的治療薬創薬に向けた大学発ベンチャー基盤の確立」Annual Meeting (京都), 2020.3.

10. 大谷拓也、小林数也、赤路健一、服部恭尚: 大環状 BACE1 阻害剤の環サイズ及び架橋構造の最適化. 文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業「新規分子標的治療薬創薬に向けた大学発ベンチャー基盤の確立」Annual Meeting (京都), 2020.3.

#### 講演

1. 赤路健一: Design and evaluation of functional molecules interacting with Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR). Presentation topic for 2019 Research Day and International Conference at National Taiwan University (Taipei), 2019.5.
2. 高田和幸: 幹細胞由来ミクログリア様細胞とアルツハイマー病の細胞治療戦略, 第 46 回日本脳科学会 (滋賀), 2019.11.
3. 赤路健一: アミノ酸・ペプチド化学に基づくプロテアーゼ阻害剤の設計と評価. 有機合成新春講演会 (大阪), 2020.1.
4. 木村寛之: 「Trends in research and development of PET probes for cancer imaging」. 浜松医科大学大学院 PET 学講義 (浜松), 2019.12.

#### ワークショップ

1. 高田和幸: ミクログリアの発生・起源と脳疾患細胞治療への応用. 第 35 回 Wako ワークショップ (東京), 2019.11.

#### News Letter Volume 2

2020 年 5 月 編集・発行

文部科学省

私立大学研究ブランディング事業

「受容体特異的画像化技術を基盤とするがん放射線内用療法 (radio-theranostics) 研究拠点の形成」

News Letter 編集委員

〒607-8414 京都市山科区御陵四丁野町 1

Tel: 075-595-4616

# 私立大学研究ブランディング事業

## 受容体特異的画像化技術を基盤とする

### がん放射線内用療法（radio-theranostics）研究拠点の形成

## News Letter Vol.3

### — はじめに —



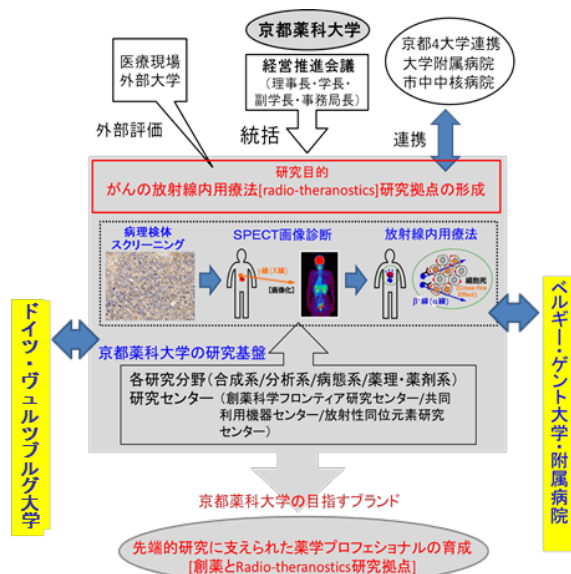
研究統括  
副学長

赤路 健一

本学が文部科学省から選定された 2018 年度私立大学研究ブランディング事業「受容体特異的画像化技術を基盤とするがん放射線内用療法（radio-theranostics）研究拠点の形成」が本年度で最終年度を迎え、2021 年 3 月をもって事業がいったん終了いたします。本事業は本学のこれまでの放射性医薬品研究の実績と大学全体のガバナンス体制を含めた事業推進組織が総体として評価され選定された事業です。本事業でこれまで進めてきた研究概要は本 NEWS LETTER vol.3 やこれまでのブランディングシンポジウム等で随時紹介してまいりましたが、別途大部の報告書としてまとめております。一瞥いただければお分かりいただけると思いますが、新しいがん放射線内用療法を目指した先端的研究の端緒となる研究が多く含まれており、本事業がこれらの新たな展開の大きな契機になったことよく表していると感じております。また、これらの研究業績のほとんどは学内のみならず海外を含めた学外との共同研究体制を基盤とするものです。本事業が特定の学内研究グループのみではなく本学のステークホルダー

を含む多くの方々にかかわる事業であったことが結果的に大学全体の研究基盤をさらに強化する結果につながったと考えております。

このような観点から、本事業が本学の将来の研究展開につながるプロトタイプ事業としなければなりません。文部科学省の事業としては本年度で終了となりますが、本事業で積み上げてきた本学の研究基盤は新たな研究展開を可能にするだけの厚みを十分に持つものであります。同時に、このような展開を可能とする大学からの継続的支援を得るためにも十分な成果を積み上げていくことが事業参加者の責務であろうと考えております。本事業成果を起爆剤として本学から新しい研究領域が生まれることを大いに期待しております。



最後に、これまでのご支援に厚く御礼申し上げますとともに、引き続き本学の関係各位からの温かいご支援をお願いいたしまして挨拶とさせていただきます。なにとぞよろしくお願いいたします。

## ープロジェクト成果報告ー



共同利用機器センター

長谷川 功紀

平成 30 年度に“受容体特異的画像化技術を

基盤とするがん放射線内用療法 (radio-theranostics) 研究拠点の形成”という内容で私立大学研究ブランディング事業に採択され、研究を邁進してきた。事業計画には薬剤集積部位の可視化による適応可能症例の迅速診断法の開発が挙げられている。筆者らは最近、それに関する成果を *ChemMedChem*, **15**(18), pp 1699 – 1705 (2020)に報告したので紹介する。

細胞膜上に存在する受容体は薬剤標的として選ばれることが多い。近年では、受容体選択的薬剤の開発も多く行われている。しかし、その効果は受容体を発現する疾患にしか発揮しない。そこで薬剤開発と同時に重要となるのが、疾患組織に標的受容体が発現しているか評価し、治療適応症例として診断する薬剤（コンパニオン診断薬）の開発である。現在、乳がんの治療で用いられる受容体選択的薬剤 Trastuzumab は、その標的である HER2 受容体発現を治療前に必ず確認する。そこで用いられている診断法は、免疫組織化学染色法および FISH (Fluorescence in situ hybridization) 法である。FISH 法は煩雑で、熟練した技術を要する。一方、免疫組織化学染色法は操作が簡便であるが、検出精度が高い抗体が必要である。そこで、筆者

らはそれらに代わる簡便で、高精度の受容体検出法開発を行った。

免疫組織化学染色法では受容体に結合する抗体を検出に用いる。しかし、近年、筆者らは受容体のリガンド結合能を利用し、リガンド誘導体を染色剤として用い、受容体検出する方法を開発し、その方法をリガンド誘導体染色法と名付けた (図 1)。本法ではタグ標識リガンドを反応させ、切片上の受容体に結合後、タグを認識する抗体を用いて発色させ標的受容体を染色・可視化する。タグとしてはフルオレセイン (FITC) を用いる。

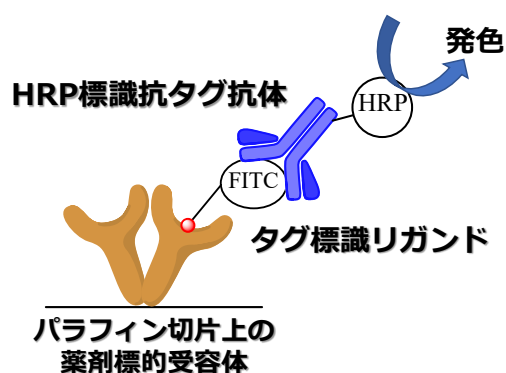
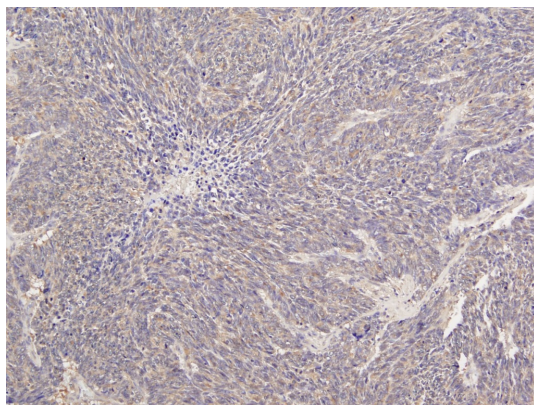


図 1 リガンド誘導体染色法

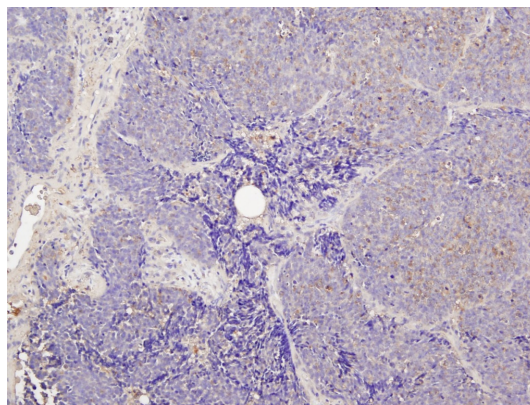
本論文では標的受容体として、Kiss1 受容体を選んだ。Kiss1 受容体は、kisspeptin をリガンドとし、肺がんや甲状腺がんなどに高発現することが報告されている。そしてその発現強度と転移能が相関することも報告され、薬剤標的として注目されている。しかし、Kiss1 受容体は検出精度の高い抗体が無い。そこで筆者らはリガンド誘導体染色法を応用し、kisspeptin を用いて Kiss1 受容体の検出法を開発した。

まず染色薬剤となる FITC-kisspeptin を化学合成した。次に Kiss1 受容体を高発現するがん組織を明らかにするため、ヒト癌細胞株を用いてスクリーニングを行った。その結果、肺がん、甲状腺癌に由来する癌細胞株で発現を確認した。そこで次に癌細胞株に相当する手術検体として、肺腺癌、肺扁平上皮癌、小細胞肺癌、甲状腺髄様癌の病理切片を 4 症例ずつ入手し、リガンド誘導体染色を行った。その結果、肺腺癌、肺扁平上皮癌、小細胞肺癌、甲状腺髄様癌と全例において染色された。





均一に発現（2症例）



不均一に発現（2症例）

図2 小細胞肺癌病理切片の染色結果

また染色の結果、肺腺癌、肺扁平上皮癌、甲状腺髄様癌は4例とも腫瘍組織に一様に強く染色された。それに対し、肺小細胞癌は2例が不均一に染色された(図2)。この結果、ヒト癌細胞株で Kiss1 受容体発現が確認された腫瘍のうち、小細胞肺癌の手術検体は不均一な発現であることが判った。このことは、Kiss1 受容体を治療標的とした場合、肺小細胞癌では限定的な効果しかない症例があることを意味する。

以上の結果、治療前に適応可能症例を確認することは重要であり、本法を用いればそれが簡便に行えることが分かった。また本法は抗体ではなく化学合成が可能なりガンド誘導体を用いる。よって均質で、比較的多量に、そして安価に検出薬剤が供給可能であり、免疫組織化学染色に替わる方法として期待できる成果と考えられる。

次に、ブランディング事業では本学を国際研究拠点として展開すべく、ドイツ・ヴュルツブルク大学と連携体制を構築し共同研究に邁進してきた。筆者らは最近、ヴュルツブルク大学の樋口隆弘教授と研究を進め、その成果を *Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals*. **64**(1), pp 40–46, (2021) に報告したので紹介する。

樋口教授は2-フルオロ ( $^{18}\text{F}$ ) デオキシソルビトール (FDS) が体内のどの組織にも吸収されず、迅速に腎排泄される性質を利用し、PET (陽電子画像診断法) で腎機能評価を行う方法を開発している。用いられる薬剤の FDS は、最も汎用される PET 薬剤である 2-フルオロ ( $^{18}\text{F}$ ) デオキシグルコ

ース (FDG) を還元し合成される。FDG は製薬会社からデリバリーで購入でき、PET 薬剤を合成しない施設でも利用可能である。そこで誰でも、合成設備がなくても、簡便に FDG から FDS を調製する方法が開発できれば、どの施設でも腎機能検査が可能となる。そこで簡便な合成法の開発に筆者らは取り組んだ。

合成を困難にしている要因は、微量な還元剤を測り取ること、反応後に余剰な還元剤を処理し、pH 調整を行うことが挙げられる。そこでそれらの問題を解決すべく、固相に担持された還元剤を用い、反応後にろ過操作のみで余剰な還元剤を取り除き、緩衝液を加えるだけで pH 調整を行える方法を開発した (図3)。

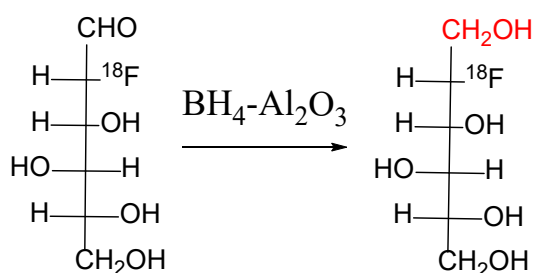


図3 FDG から FDS への還元

還元剤として、陰イオン交換樹脂およびアルミナ担体を用いた2種類の固相担持  $\text{BH}_4$  を検討した。その結果、FDG は陰イオン交換樹脂担持  $\text{BH}_4$  には吸着し、まったく FDS を得られなかった。陰イオン交換樹脂は糖類を吸着する作用が報告さ

れており、FDG も同様に吸着されたと考えた。一方、アルミナ担持  $\text{BH}_4$  は 2 分の攪拌で FDS への還元反応が終了し、ろ過操作のみで還元剤を除去できた。ろ液はリン酸緩衝液と混ぜるだけで pH 調整は簡便に達成された。これらの結果、合成時間は 10 分以内となり、従来法に比べ半分程度の時間で FDS 合成が可能となった。

以上の結果、簡便な FDS 合成法を開発することに成功した。

## がんセラノスティクスを目指した化合物創製とイメージング研究

### 代謝分析学分野

木村 寛之



「セラノスティクス (Theranostics)」とは、治療 (Therapeutics) と診断 (Diagnostics) を組み合わせた新しい医療技術であり、患者個々における病態像を画像診断の技術を用いて正確に捉えた上で、適切な治療を施すことを目指している。近年、セラノスティクスは特にがん治療の領域で注目されている。

京都薬科大学では、セラノスティクス専用研究施設を整備した「放射性同位元素研究 (RI) センター」を中心に研究基盤の構築を進めている。特に、がんや中枢神経疾患などを対象とした先端的分分子イメージング法の開発や、セラノスティクス創薬研究への応用を進めている。

疾患の特徴を捉えることのできる放射性プローブを用いた PET (positron emission tomography、陽電子放射型断層撮影) や SPECT (single photon emission computed tomography、単光子放射型断層撮影) 分子イメージング技術は、全身の疾患部位をくまなく詳細に三次元情報にして精査できる強力な画像診断法であり、非侵襲的に局所病変の分子病態を定量的評価できる唯一のアプローチ

である。得られた画像情報を治療に応用すれば患者個々への最適な治療を可能とする。近年、ラジオセラノスティクス (Radio-Theranostics) プローブの開発が積極的に行われている。PET や SPECT のように病巣を目で見えるようにできる診断用放射性薬剤を使った「分子イメージング技術」で“病気の診断”を行うとともに、同じ仕組みで治療用放射性薬剤を患部に送り込み病巣だけを狙った「放射性同位元素内用療法」で“病気の治療”ができるようにする方法である。

核医学の領域では、以前から放射性医薬品を利用した核医学画像診断と放射性同位元素内用療法を融合することで、ラジオセラノスティクスを実現している。既に医薬品として承認されている、I-123/I-131 カプセル (甲状腺疾患の診断と治療) や Y-90/In-111 イブリツモマブチウキセタン (B 細胞性非ホジキンリンパ腫の診断と治療) はこれに該当する薬剤と言える。現在、世界的に注目されているのが、神経内分泌腫瘍の細胞膜上に発現するソマトスタチン受容体を標的とした  $^{111}\text{In}$ -DTPA-Octreotide/ $^{177}\text{Lu}$ -Dotatate や、前立腺がんの細胞膜に発現する前立腺特異的膜抗原 (PSMA: Prostate specific membrane antigen) を標的とした  $^{68}\text{Ga}$ -PSMA/ $^{177}\text{Lu}$ -PSMA である。

我々のグループでは、以下の 3 つの領域においてセラノスティクス研究を進めている。

1. セラノスティクスプローブ開発 (薬剤開発): 陽電子放射型断層撮影 (PET)・単光子放射型コンピュータ断層撮影 (SPECT) 用プローブの開発、治療用薬剤の開発 (RI 内用療法用薬剤など)
  2. プローブ合成技術開発 (標識反応、合成装置開発): 新規フッ素化法の開発、マイクロ波反応装置やマイクロリアクターを用いた合成装置の開発、Electro Wetting On Dielectric (EWOD) 技術を利用した標識合成技術の開発
  3. 画像化技術開発: ベルギー Molecubes 社の SPECT 装置 ( $\gamma$ -cube) を用いた撮像条件の最適化、 $\gamma$ -cube 専用の高エネルギー用コリメータの開発、次世代高感度ガンマ線 3D カメラである Electron-tracking compton gamma-ray camera (ETCC) の開発
- さらに私立大学研究ブランディング事業では、国際共同研究 (ドイツ、ベルギーなど) に力を入れてプロジェクトを進めてきた。



本稿では、前回の NEWSLETTER で紹介できなかった、プローブ合成技術の開発と新規 F-18 標識法の開発について報告する。

## 放射性プローブ合成技術の開発

分子イメージング技術は組織/細胞レベルにおいて生化学的・分子生物学的なプロセスの可視化を可能とし、基礎研究・臨床研究・創薬研究などへの応用が期待されている。特に臨床領域においては、がんやアルツハイマーなどの疾患イメージングに良く用いられている。その中でも PET は、高い感度・定量性・空間分解能・低侵襲性のため、分子イメージングの中心的技術であり、PET イメージング装置の性能向上とともに、世界中の研究機関で種々の PET プローブとその合成方法に関する開発が精力的に行われている。近年では、有機合成分野の著名な研究者も、PET 合成の研究を開始している。PET 分子プローブの合成においては、トレーサ量の合成に特化した微量合成法の開発、放射線の遮蔽の観点から合成装置の小型化、並びに用いる核種の半減期に応じた短時間合成法の確立が強く求められている。実際 PET 分子プローブには、半減期が約 20 分、110 分の短寿命 RI である  $^{11}\text{C}$ 、 $^{18}\text{F}$  がよく使用されている。 $^{11}\text{C}$ 、 $^{18}\text{F}$  共に半減期が非常に短いため、短時間で効率よく合成する必要性が求められる。ほとんどの PET 分子プローブは、施設内で自動合成装置を用いて製造されている。現在最も有名な PET 薬剤は、がんの早期発見に有用な  $^{18}\text{F}$ -標識フルオロデオキシグルコース ( $^{18}\text{F}$ -FDG) である。 $^{18}\text{F}$ -FDG が保険適用された後は、民間の PET センター数が 100 を越えて急激に増加しており、がんの早期発見に対する社会の大きな期待を反映したものと考えられている。このように、PET は先進診断法であるとともに、社会に根付いた一般診療法として定着しつつあると言える。これらの社会のニーズに応え、更なる発展を遂げるには、PET 分子プローブ合成技術の発展なくしては広く社会に普及し貢献することは望めない。

近年、著しいナノ・マイクロ加工技術の発達により、マイクロリアクターと呼ばれる微小反応装置が開発されてきた。特に、生物学やバイオテクノロジーの分野において、DNA やタンパク質の分

析、細胞の分類、ハイスループット・スクリーニング、化学反応、ごく少量 (1~100  $\mu\text{L}$ ) の物質輸送などに幅広く利用されている。PET 標識化学の観点から言えば、ナノ・マイクロリットル単位の微小流路内で反応を行うことで反応容量並びに装置自体のサイズの低減が可能であり、さらに優れた熱効率・混合効率により短時間・高効率合成が可能であることから、PET 分子プローブの合成に適した特徴を有していると考えられる (図 1)。そのため、マイクロリアクターは PET 分子プローブの標識合成用装置としての応用が期待されているが、未だそれ程報告例は多く無い。



図 1 マイクロリアクターを用いた PET 合成

これまでに我々は、hydroxyl 基の  $O$ - $^{11}\text{C}$ -メチル化反応においてマイクロリアクターを用いた、 $^{11}\text{C}$ Raclopride の短時間・高収率の合成を報告している (図 2)。

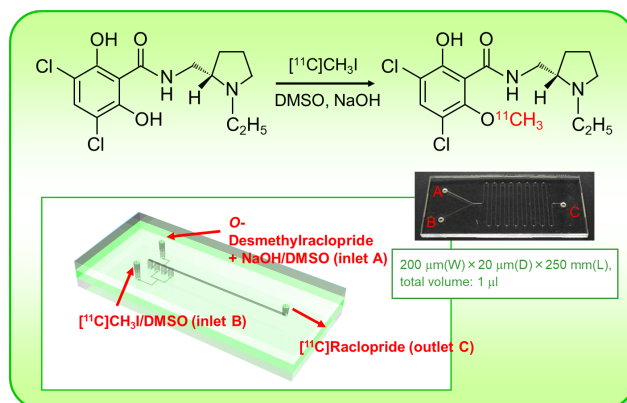
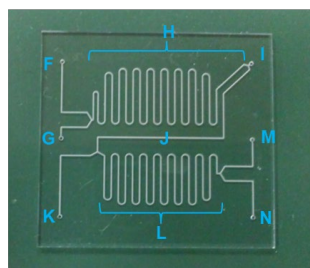
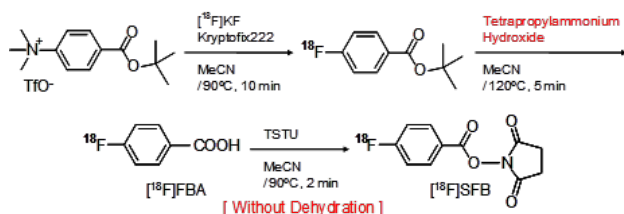


図 2 マイクロリアクターを用いた  $^{11}\text{C}$ Raclopride の合成

また、3 段階反应用マイクロリアクターを用いた  $^{18}\text{F}$ SFB の one-flow 合成についても報告している (図 3)。 $^{18}\text{F}$ SFB はペプチドやタンパク質など

の高分子化合物の  $^{18}\text{F}$  標識試薬として用いられている。



J : channel from inlet I to the junction

material : silica glass  
fabrication : sandblast  
chip size : 50 x 50 mm  
volume : 5.6, 1.1, 4.5  $\mu\text{L}$

cross-section of channel

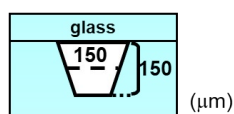


図3 3段階反应用マイクロリアクターを用いた  $^{18}\text{F}$  SFB の one-flow 合成

さらに本プロジェクトでは、EWOD (Electro Wetting On Dielectric) の技術を利用した微量薬剤合成システムの開発に、産業技術総合研究所の茂木克雄博士と取り組んでいる。EWOD とは、図4のような絶縁被膜された電極基板 (EWOD 基板) に電圧を印加することで絶縁膜に誘電分極が発生して EWOD 基板の見かけ上のぬれ性が変わる作用のことである。

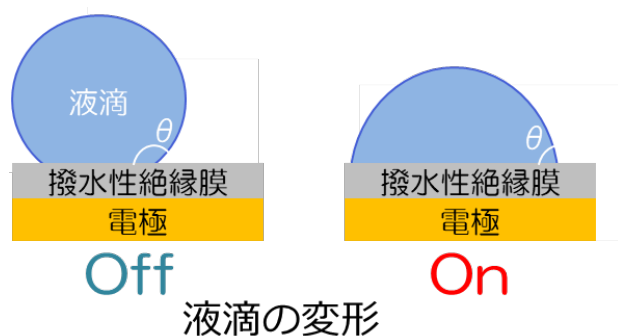


図4 EWOD 基板の見かけ上のぬれ性の変化

この作用により、EWOD 基板上の微量試薬の液滴を電圧の切替えのみで遠隔操作できる (図5)。EWOD の技術を利用した  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DTPA の合成と SPECT イメージング (図6) に関して、論文を報

告しているので詳細はそちらを読んでいただきたい。

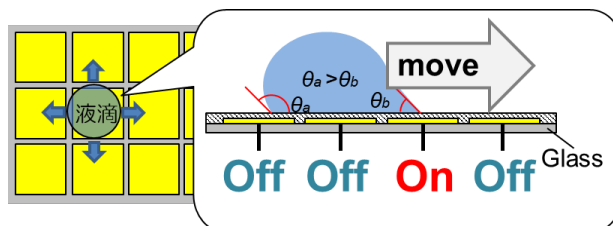


図5 EWOD による液滴の移動

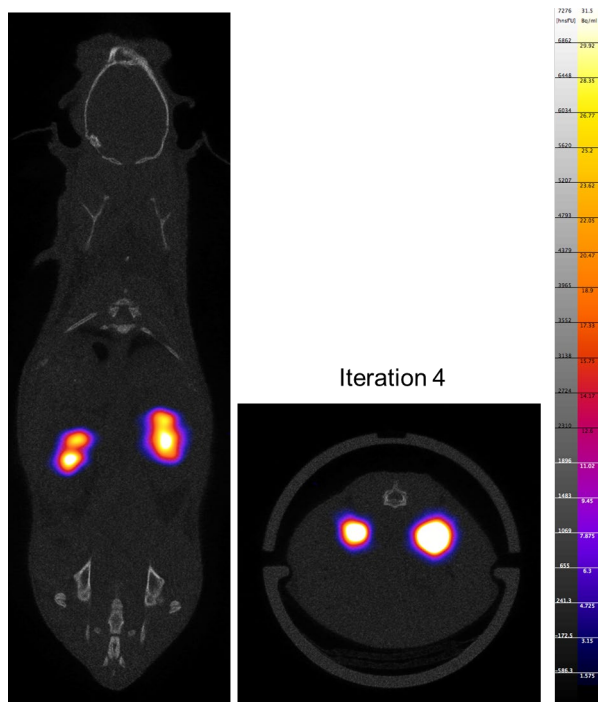


図6 EWOD 技術を利用して合成された  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DTPA のマウス SPECT 画像

### 新規 F-18 標識法の開発

生理活性物質を放射性同位元素  $^{18}\text{F}$  で標識した化合物は、PET プローブとして利用されている。プローブへの  $^{18}\text{F}$  導入には  $^{18}\text{F}_2$  gas を用いる求電子置換反応と  $^{18}\text{F}$  を用いる求核置換反応の2種類がある。求電子置換反応を用いる方法では、温和な条件で合成可能であるが、担体を加えて  $^{18}\text{F}_2$  gas を調製するため、得られる  $^{18}\text{F}_2$  gas の比放射能は低く、 $^{18}\text{F}_2$  gas より合成する  $^{18}\text{F}$  標識化合物の比放射能も低いことが問題となっている。一方、求核置換反応を用いる方法では、無担体で  $^{18}\text{F}$  が調製可能であり、高い比放射能を有する  $^{18}\text{F}$  標識化合

物が得られる。そのため、実際に臨床で用いられる $^{18}\text{F}$ -FDGを筆頭に $^{18}\text{F}$ 導入法として $^{18}\text{F}$ による求核置換反応が主流となっている。しかしながら、 $^{18}\text{F}$ の求核性及び反応性が低いため、比較的高温条件が必要であり、その中でも電子豊富な芳香環への導入は困難であることが問題点として挙げられる。これまで、電子豊富な芳香環への $^{18}\text{F}$ 導入法は、電子吸引基としてカルボニル基を有するアリアル誘導体に対するイプソ置換が一般的であり、近年では、ヨードニウム塩、ヨードニウムイリド、そしてスルホニウム塩に対する求核置換が報告されている。この他にも、 $^{18}\text{F}$ 標識試薬を用いた間接標識法も開発され、 $^{18}\text{F}$ SFBがペプチドやタンパク質への $^{18}\text{F}$ 標識によく用いられる。そこで、我々は新たな間接標識法として、カップリング反応を用いた間接標識法が有効と考え、標識法の開発に着手した。これまで、我々は $^{18}\text{F}$ Fluoriodobenzene ( $^{18}\text{F}$ FIB) による鈴木カップリング反応を用いた間接標識法を用いることで $^{18}\text{F}$ pitavastatinの合成を報告してきた。さらなる汎用性の向上を目指し、 $^{18}\text{F}$ 試薬としてボロン酸誘導体を用いることを考えた。 $^{18}\text{F}$ 標識ボロン酸誘導体によりハロゲン基やトリフラート基などの官能基に対してもカップリング可能となる。そのため、基質のボロン酸誘導体変換が不要となり、 $^{18}\text{F}$ 標識がより容易になることが予想された。我々は、 $^{18}\text{F}$ 標識ボロン酸誘導体  $^{18}\text{F}$ 4-(4,4,5,5-Tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)fluorobenzene ( $^{18}\text{F}$ TDBFB) の合成及び本誘導体を用いた $^{18}\text{F}$ 標識化合物の合成に成功している (図7)。

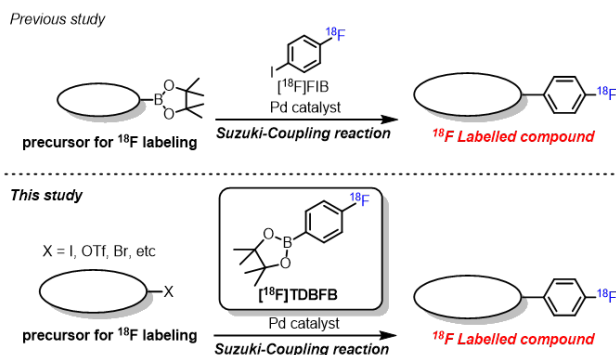


図7  $^{18}\text{F}$ TDBFBを用いた標識法

本稿で紹介した研究成果は、京都薬科大学・代謝分析学分野の所属学部学生や大学院生、助教の有光健治博士、博士研究員の屋木祐亮博士による多大な努力の賜物であり、敬意を表するとともに、ここに深く感謝の意を表します。最後に、私立大学研究ブランディング事業を通して国内外の多くの研究機関や企業の方々との共同研究を実施できたことに感謝申し上げますとともに、プロジェクトにご協力いただいた方々に改めてお礼申し上げます。

## Notch シグナリングにおける受容体-リガンド-脂質協奏機構の解明



基礎科学系一般教育分野

佐藤 毅

Notch シグナリングは、細胞の生存とアポトーシスといった二者択一の細胞運命の決定が細胞種によって異なることなどに見られるように context dependent であるとされ、この context dependency 存在下でのシグナリング機構の解明が喫緊の課題である。最近、Notch 受容体リガンド Delta-like(Dll)1 と Dll4 とでは受容体活性化に伴う細胞のレスポンスが異なることが示された<sup>1</sup>。その報告では Dll1 が Notch1 受容体に結合することで、 $\gamma$ -secretase による膜内切断からの Notch 受容体細胞質内ドメイン(NICD)の放出(受容体の活性化)はパルス的に生じるが、一方、Dll4 の同受容体への結合は NICD の放出を持続的に生じさせることが示された。その結果、Dll1 の結合は筋形成を示すが、Dll4 の結合は筋形成を阻害する。Notch シグナリングにおいては上述の膜内切断によって放出される NICD は、そのまま核内に移行し転写に参与するため、NICD が切断の後に修飾を受けることは知られていない。つまり、異なるリガ



ンドが同種受容体に結合し、その結果、同種タンパク質断片が細胞内に放出されるが、その放出様式が異なることで、異なる遺伝子発現が生じる。この放出様式、ダイナミクスに差異を与える context とは何か、その機構はどのようなものか？この分子機構を明らかとしていくことが本研究の目的である。

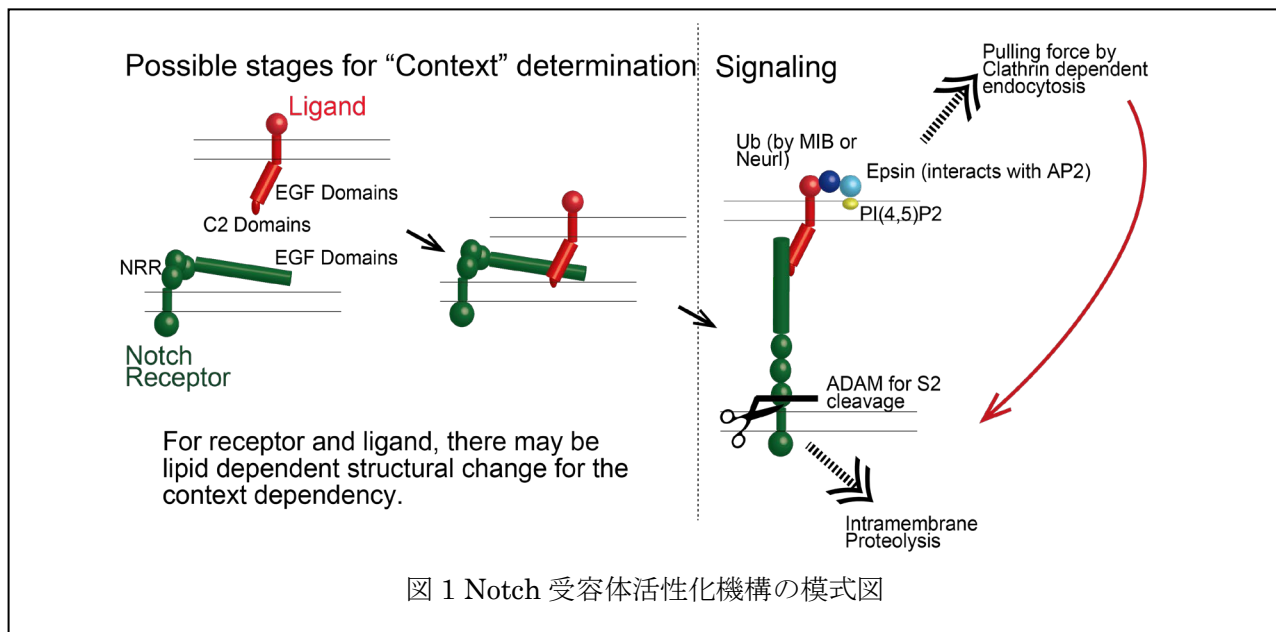
ヒトの Notch 受容体のリガンドについては上述の Dll1、Dll4 を含む 5 種類が知られる。Chillakuri らは Jagged-1 というリガンドの構造解析から、その細胞外領域には C2 ドメインと呼ばれる脂質結合領域が存在することを示した<sup>2</sup>。後に Dll1<sup>3</sup>、Dll4<sup>4</sup> にも C2 ドメインが存在することが示され、最近では Notch 受容体の活性化においてはリガンドの脂質認識も関与すると考えられるようになって<sup>5</sup>。Notch 受容体の機能が glycosphingolipid に依存することが細胞生物学的実験で示されているが<sup>6</sup>、未解の問題は、「どのように？」であり、この問題は薬剤開発の基礎を構築する上では重要課題と言える。我々は上述の context dependency の機構解明を目指すにあたり、Notch 受容体と脂質の協奏機構のメカニズムに注目することとした。

膜タンパク質と脂質の協奏を解析する上での難関の一つは研究対象とする膜タンパク質の機能を制御する特異的な脂質を見出すことである。この点に関して、上皮増殖因子受容体(EGFR)に関しては、lipid ordered (lo) phase を形成する組成の膜への再構成が達成され、ガングリオシドの一つである GM3 が受容体活性を制御することが見出されている<sup>7</sup>。この報告を参考にし、我々は GM3 に関して Notch 受容体との相互作用をみていくこととした。一方、研究手法であるが、本研究では、まず、分子動力学的計算 (MD simulation)によって Notch 受容体と脂質の相互作用に当たりをつけてから、各種、mutagenesis 等の生化学的実験、構造解析実験を行うこととした。また、実際に対象とする系に関して、ここでは人工脂質二重層中に Notch 受容体の細胞外膜近傍(EJM)-膜貫通(TM)-細胞質内膜近傍(IJM)配列タンパク質断片を包埋した系とすることにした。人工脂質二重層の利用は、その組成の変更が容易であることが大きな利点となる。EJM-TM-IJM 配列を対象とすることに

関しては、全長受容体ではないことが欠点となることは十分に認識しているが、当該部位は脂質から最も大きな影響を受ける中、その脂質との相互作用解析こそが、現時点における膜タンパク質の生物化学的解析研究における弱点であり、ここで得られる知見をより高次な、すなわち、細胞、個体レベルの解析に生かすことが必要である。本稿においては Notch 受容体 EJM-TM-IJM 部位の脂質二重層中における挙動、構造の解析を MD simulation によって行っている研究の進捗を述べる。

まず、Notch 受容体の EJM-TM-IJM 配列に関して述べる。ここで EJM としているのは、一般的には Notch regulatory region (NRR)と呼ばれる部位である(図 1 の模式図を参照)。NRR はリガンド結合部位を有する EGF domain リピートと TM 部位の間に位置する。Blacklow らにより構造解析が達成されており<sup>8,9</sup>、Notch 活性化における構造変化のモデルも提唱されている。図 1 の模式図を用いることで、Notch 活性化機構を簡単に述べる。まず、近接する細胞(signal sending cell)の表面に存在するリガンドはシグナルを受容する細胞(signal receiving cell)上に発現した Notch 受容体の EGF domain リピートに結合する(結合部位は同定されている)。その状態において、リガンドは signal sending cell によるエンドサイトーシスを受ける。その結果、リガンドと結合している Notch 受容体は、その細胞の外側方向へ物理的な力(トルク)を受けることになる。このトルクがかかることによって、NRR は伸びた形になり、NRR 内部に存在していた S2 切断部位がタンパク質表面に露出し、ADAM<sup>10</sup> による切断を受けることになる。その結果、細胞膜上に残ったタンパク質断片が  $\gamma$ -secretase の基質となる。

計算方法に関して簡単に述べる。EJM-TM-IJM 配列全長に関する構造の報告は存在しないので、Blacklow らによる NRR の構造<sup>9</sup>と Sanders らによる TM-IJM の構造<sup>10</sup>の座標(pdb ファイル)を CHIMERA というソフトウェアで繋げることで、今回の計算で用いる初期構造とした。この初期構造に関して CHARMM GUI という web サイト上において、膜への埋め込みを行い<sup>11,12</sup>、MD



simulation ソフトウェア NAMD によって全原子分子の MD 計算を行った。なお実際の計算においては、EJM-TM-IJM 分子、二分子を膜に包埋した。今回は 2 種類の脂質組成、すなわち、POPC/POPS、DOPC/sphingomyelin/cholesterol/GM3 中での計算を行うこととした。後者の組成は lo phase を形成することが既知である組成であり、前述の EGFR の再構成系での機能解析実験<sup>7</sup>においても用いられていたものである。

EJM-TM-IJM 配列二分子の脂質二重層中における計算の結果であるが、現時点においては、上述の両脂質組成において、EJM-TM-IJM 分子は EJM 部位を介して二量体を形成することがわかった。また、EJM 部位、すなわち、NRR は GM3 を介して膜に結合することもわかった。これらの知見は新規のものであり、これが生物学的に重要となる可能性があることは後に述べる。

この理論計算の現時点における大きな収穫は NRR が GM3 と相互作用しうることを見出した点である。GM3 は生体膜上における microdomain、「ラフト」に存在すると考えられている<sup>7</sup>。Notch がこの NRR-GM3 の相互作用を介してラフトに存在するという推測は時期尚早かもしれないが、受容体が GM3 と共存する可能性は成り立つ。ここで、我々は Notch、GM3 に加え、リガンドをこの協奏機構のコンポーネントとして、その可能性を理論的に探ることとした。つまり、Notch のリガンドである Dll1、Dll4 の脂質結合部位を含む C2

domain と GM3 との相互作用を MD simulation で解析していくこととした。方法に関する詳細は割愛するが、この C2 と GM3 の相互作用解析は MARTINI 力場を用いた粗視化モデルで行うこととした。

用いた脂質二重層の組成は以下の 3 種類、POPC/POPS、POPC/POPS/GM1、POPC/POPS/GM3 である。まず、MD simulation によってわかったことは Dll1、Dll4 の C2 domain は GM を介して膜に結合することである。Dll1 に関しては、C2 domain 中 1 番目と 2 番目の  $\beta$  strand の間の loop(B1-B2 loop)が GM1、GM3 それぞれに結合することがわかった。一方、Dll4 に関して、GM1 に対しては B1-B2 loop が相互作用することが観察されたが、GM3 に対しては C2 domain 中 2 番目と 3 番目の  $\beta$  strand の間の loop(B2-B3 loop)が相互作用し、膜に埋まるがわかった。この結果は興味深い。Hozumi らの報告によると、Dll4 におけるこの B2-B3 loop (マウスの配列では B3-B4 loop)は、Notch 受容体との結合に関与することが示されており<sup>13</sup>、この loop が膜に埋まってしまうと、受容体とは相互作用しないとの推測が可能である。

今回の計算では、Notch 受容体は GM と相互作用しうることが示された。そのリガンドである Dll1、Dll4 の脂質認識部位も GM と結合し、さらに Dll4 においては、受容体との相互作用部位が、膜中の GM3 と相互作用し、膜に埋まってしまうことも示された。これらの結果は Notch 受容体と



microdomain、ラフトの関連を考えていく上では、今後の生化学的実験（再構成系での解析）に方向性を与えるものである。

Notch 受容体と microdomain の相関は、生体膜上における事象を考えていく上では非常に興味深い研究対象である。最近の報告では、 $\gamma$ -secretase の基質としての Notch 受容体断片、つまり、細胞外領域を欠損した（NRR も含まない）配列は liquid disordered (ld) phase に存在することが示されている<sup>14</sup>。今回の結果と合わせて考えると NRR が Notch 受容体を lo phase、つまり、microdomain に安定に存在させる、または、そこへの出入を制御しているとの推測もできる。一方、今回観察された Dll4 C2 domain の GM3 に対する結合様式は興味深い。我々の研究目標である context dependency を解き明かすところでは、Dll4 の受容体活性化における選択性を与えるうる事象であるとの推測が可能である。これらの結果をもとに、生物化学的、構造化学的実験を行っていく所存である。

#### 参考文献

1. Nandagopal, N. *et al.* Dynamic Ligand Discrimination in the Notch Signaling Pathway. *Cell* **172**, 869–880.e19 (2018).
2. Chillakuri, C. R. *et al.* Structural Analysis Uncovers Lipid-Binding Properties of Notch Ligands. *Cell Rep.* **5**, 861–867 (2013).
3. Kershaw, N. J. *et al.* Notch ligand delta-like1: X-ray crystal structure and binding affinity. *Biochem. J.* **468**, 159–166 (2015).
4. Suckling, R. J. *et al.* Structural and functional dissection of the interplay between lipid and Notch binding by human Notch ligands. *EMBO J.* **36**, 2204–2215 (2017).
5. Shilo, B. & Sprinzak, D. The lipid - binding side of Notch ligands. *EMBO J.* **36**, 2182–2183 (2017).
6. Hamel, S., Fantini, J. & Schweisguth, F. Notch ligand activity is modulated by glycosphingolipid membrane composition in *Drosophila melanogaster*. *J. Cell Biol.* **188**, 581–594 (2010).
7. Coskun, U., Grzybek, M., Drechsel, D. & Simons, K. Regulation of human EGF receptor by lipids. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **108**, 9044–9048 (2011).
8. Gordon, W. R. *et al.* Structural basis for autoinhibition of Notch. *Nat. Struct. Mol. Biol.* **14**, 295–300 (2007).
9. Gordon, W. R. *et al.* Structure of the Notch1-negative regulatory region: Implications for normal activation and pathogenic signaling in T-ALL. *Blood* **113**, 4381–4390 (2009).
10. Deatherage, C. L. *et al.* Structural and biochemical differences between the Notch and the amyloid precursor protein transmembrane domains. *Sci. Adv.* **3**, (2017).
11. Jo, S., Kim, T. & Im, W. Automated builder and database of protein/membrane complexes for molecular dynamics simulations. *PLoS One* **2**, (2007).
12. Lee, J. *et al.* CHARMM-GUI Membrane Builder for Complex Biological Membrane Simulations with Glycolipids and Lipoglycans. *J. Chem. Theory Comput.* **15**, 775–786 (2019).
13. Hirano, K. I. *et al.* Delta-like 1 and delta-like 4 differently require their extracellular domains for triggering notch signaling in mice. *Elife* **9**, 1–18 (2020).
14. Barros, M. *et al.*  $\gamma$ -Secretase Partitioning into Lipid Bilayers Remodels Membrane Microdomains after Direct Insertion. *Langmuir* **36**, 6569–6579 (2020).

## 生体イメージング技術と iPS 細胞技術の融合によるパーキンソン病の病態解明と新規診断・治療法の開発



統合薬科学系

西村 周泰

パーキンソン病は、中脳黒質のドパミン神経細胞が選択的に変性脱落する神経変性疾患の1つであり、日本には約 16 万人の患者がいるとされている（平成 29 年度 厚生労働省統計）。発症者の多くは 65 歳以上の高齢者であることから、超高齢化社会を迎えた日本にとって、パーキンソン病の予防法および根治治療法の確立は患者本人の QOL 向上や介助に携わる患者家族および医療従事者の負担軽減の観点からも喫緊の課題となっている。一般的にパーキンソン病の運動症状が発症するころには、残存しているドパミン神経細胞は 20%を下回っているとされており、発症してから神経保護の予防策を講じても手遅れであると考えられる。従ってパーキンソン病の発症を予防するには、ドパミン神経の脱落および、その脱落の前段階として起こる病態的变化をいち早く捉え、早期診断法を開発することが求められる。このような背景のもと、本プロジェクトでは、薬品物理化学分野の斎藤博幸教授、扇田隆司助教および統合薬科学系の高田和幸教授と協働して、パーキンソン病の発症と深く関わりのある  $\alpha$ -シヌクレイン (SNCA) タンパク質に着目し、イメージング技術を用いた病態の非侵襲的な可視化と多能性幹細胞技術を融合させた研究領域を創成し、核医学的な介入による病態の修飾により、パーキンソン病の早期診断および治療的介入法 (neurotheranostics) の確立を目指し、研究を進めている。

まず始めに SNCA の脳内伝播を安定して観察できるモデル動物の作出を行った。斎藤教授および扇田助教が合成した高純度のヒト SNCA タンパク

質の PFF (preformed fibril) 体をマウス脳 (線条体) に微量注入し、時間経過とともに脳内伝播、凝集・沈着およびリン酸化などの物性変化を解析できる実験系の確立を行った。ヒト SNCA タンパク質 PFF を 5  $\mu$ g 注入した 2 ヶ月後の組織学的解析において、ヒト SNCA タンパク質は、注入部位から脳の前後軸に沿って拡散し、主に大脳皮質において神経細胞の細胞質に、そのシグナルが確認された (図 1)。今後は、このモデルマウスが示す病態的な変化の詳細な解析を進めるとともに、この SNCA の脳内伝播を SPECT イメージングで捉えることができるかを検証していく予定である。現在、代謝分析学分野の木村寛之准教授と協働して、ヒト SNCA タンパク質および SNCA 含む線維化タンパク質に選択的に結合する低分子化合物の探索を進めている。これらの化合物を SPECT イメージングに応用できるように最適化を行い、上記の動物モデルを用いて、SNCA タンパク質の脳内挙動を非侵襲的に追跡できる方法の確立を目指したいと考えている。

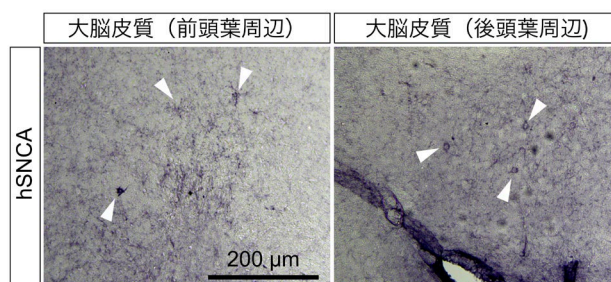


図 1. ヒト SNCA-PFF 5  $\mu$ g を正常マウスの線条体に微量注入 2 ヶ月後における組織像。白矢頭は、ヒト SNCA 陽性細胞を示す。

また、SNCA タンパク質の脳内伝播やコンフォメーション変化について解析するには、SNCA タンパク質自体の物性について物理化学的な理解を深める必要がある。そこで斎藤教授および扇田助教は、家族性変異を持った SNCA タンパク質や断片化した SNCA タンパク質を用いて、その特性解析を進めている。SNCA の家族性変異として、6 種類 (A30P、E46K、H50Q、G51D、A53T/E) が知られている。なかでも A53T 変異は最も頻度が高く、疾患を若年発症させる。また、パーキンソン病脳内で活性化するアスパラギンエンドペプチダーゼは、SNCA の N103 残基部位を特異的に

切断して、高い神経毒性を示す C 末 104-140 残基欠損フラグメント ( $\Delta$ 104-140) を生成する。そこで、A53T 変異と  $\Delta$ 104-140 欠損が SNCA のアミロイド凝集性に与える影響について物理化学的解析を行った。まず、アミロイド線維結合蛍光プローブであるチオフラビン T (ThT) を用いて生理的条件 (20  $\mu$ M SNCA、pH 7.4、37°C) でのアミロイド凝集性を比較したところ、A53T と  $\Delta$ 104-140 は WT よりも速やかに線維化した。また、アミロイド線維の形成量は A53T では WT と同程度であったが、 $\Delta$ 104-140 では顕著に増加した。さらに、A53T 変異と C 末 104-140 残基欠損がアミロイド凝集を促進する分子機構を解明するため、各 SNCA の ThT 蛍光データを速度論的に解析した。アミロイド凝集が凝集核の形成と、それに続く線維伸長の 2 段階で進行すると仮定した Finke-Watzky モデルによる解析から、A53T 変異は線維伸長過程には影響せず、核形成過程のみを顕著に促進していること、および 104-140 残基領域の欠損では核形成と線維伸長の両過程が促進されることが示唆された。また、アミロイド凝集速度のモノマー濃度依存性から、104-140 残基領域が欠損することで、核形成と線維伸長が既存線維の表面で自己触媒的に進行することが示唆された。以上の結果から、A53T 変異はモノマーから凝集核への構造転移を促進するのに対して、C 末 104-140 残基欠損はアミロイド線維の自己触媒的な増殖活性を向上させることが示唆された (図 2)。特に C 末領域欠損体は、線維の形成・伝播を著しく促進する可能性があることから、パーキンソン病の診断・治療における有望な標的分子となりうると

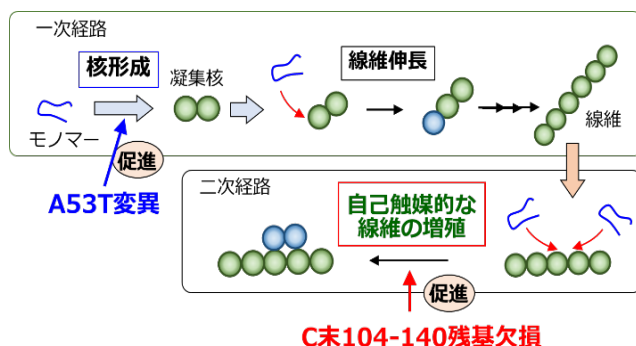


図 2. SNCA のアミロイド凝集に対する A53T 変異と C 末 104-140 残基領域欠損の影響。

考えている。

さらには、ヒト iPS 細胞技術を用いて SNCA タンパク質の物理化学的变化を再現・解析を進めるべく、黒質-線条体経路の作製を進めている。三次元培養法を用いて、線条体および黒質のニューロスフェア (神経細胞塊) を個別に作製し、それらを融合することで黒質-線条体の神経回路網をシャーレ内で構築することを試みている。このような複数領域を融合させて作製するミニブレインは、*assembloid* と呼ばれており、複数の脳領域を横断する神経機能の解析を進めるにあたって有益な技術である。これまでにヒト iPS 細胞から、線条体の前駆領域である lateral ganglionic eminence (LGE) および中脳黒質の前駆領域である floor plate (FP) のニューロスフェアを誘導し、組織学的な解析を行った。その結果、LGE ニューロスフェアでは、前脳マーカーである FOXG1 および LGE マーカーの一つである CTIP2 を発現していることが確認できた。また FP ニューロスフェアでは、中脳マーカーである LMX1A および FOXA2 が発現していることを確認している。現在、LGE ニューロスフェアと FP ニューロスフェアを融合させ、黒質-線条体 *assembloid* を作製しており、今後、組織学的な解析やヒト SNCA タンパク質の *assembloid* 内での伝播を含む動態変化およびリン酸化などのコンフォメーション変化などを捉える研究を進め、パーキンソン病と SNCA の関連性について詳細に検証を進めていく予定である (図 3)。

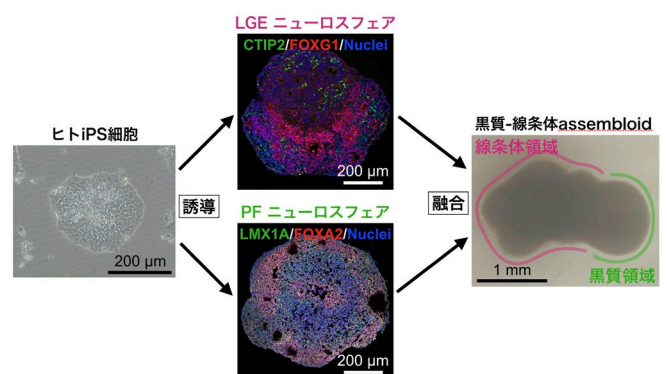


図 3. ヒト iPS 細胞から LGE (線条体前駆領域) および PF (黒質前駆領域) を誘導し、それら融合することで作製したミニブレイン (黒質-線条体 *assembloid*)。



## 本学小動物用 SPECT, CT の稼働状況と 代表的な画像の紹介



放射性同位元素研究センター

河嶋 秀和

本学にベルギーMolecubes  
社製の小動物用 SPECT (γ-

CUBE) および CT (X-CUBE) が導入されてから 2021 年 5 月で 3 年となる (図 1)。この間、代謝分析学分野 (木村寛之先生)、共同利用機器センター (長谷川功紀先生)、放射性同位元素研究センター (河嶋) を中心とし、学内複数の分野の協力のもと、この新世代型画像診断装置の活用が進められてきた。また、学外研究機関との共同研究にも利用されている。

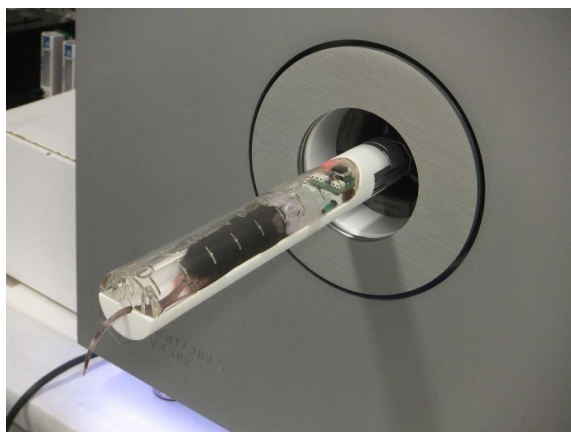


図 1 小動物 SPECT によるマウスの撮像

本装置を用いた一般的なプロトコルでは、X-CUBE による CT 画像の取得後にマウスあるいはラットを保定しているホルダーをそのまま γ-CUBE に移動させ、装着することで予め動物に投与された放射性プローブの体内分布を画像化する。これにより、形態画像 (CT) と機能画像 (SPECT) の融合が可能となる。いわゆる SPECT/CT 一体型の装置ではないものの、内径 0.28 mm のチューブに  $^{99m}\text{Tc}$  を含む水溶液を充填し、両者による撮像を行った検討ではその後の重ね合わせ画像において良好な結果が得られた (図 2)。

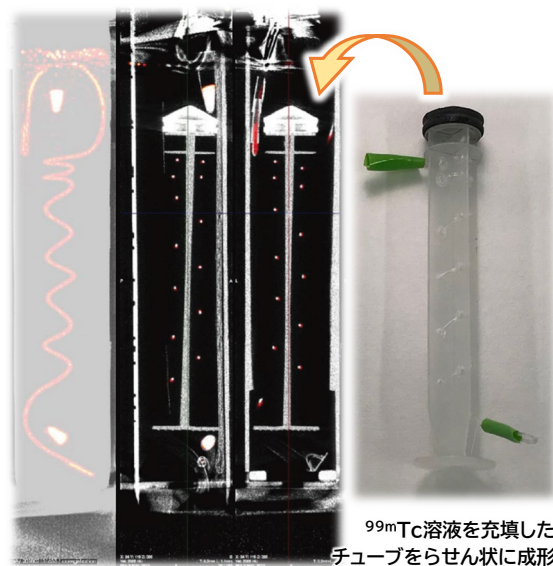


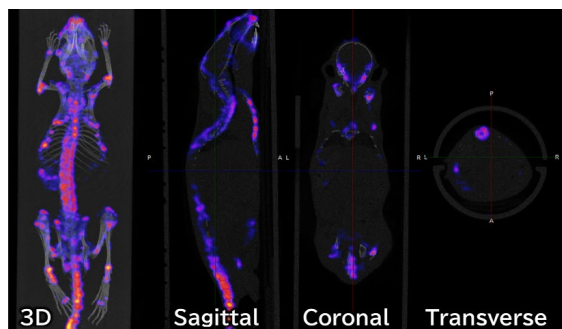
図 2 CT 画像と SPECT 画像の重ね合わせ

現在、本学 γ-CUBE で測定の対象となっている放射性核種は  $^{67}\text{Ga}$ ,  $^{99m}\text{Tc}$ ,  $^{111}\text{In}$ ,  $^{123}\text{I}$ ,  $^{201}\text{Tl}$  の 5 種類であり、令和 2 年度は SARS-CoV-2 感染症に伴う研究活動の制限により利用者も減少したが、それでも導入から今日に至るまでの使用回数は延べ約 300 回に及んでいる。

一例として、実際に臨床で用いられている放射性薬品をマウスに投与した画像を示す。ヒドロキシメチレンホスホン酸テクネチウム ( $^{99m}\text{Tc}$ ) ( $^{99m}\text{Tc}$ -HMDP) はビスホスホン酸と  $^{99m}\text{Tc}$  の多核錯体であり、骨の構成成分であるハイドロキシアパタイト等のリン酸カルシウム化合物と相互作用するため、骨腫瘍や疲労骨折の診断に利用される。ddY マウス (6 週齢, 雄性) に 39.6 MBq の  $^{99m}\text{Tc}$ -HMDP を静脈内投与し、投与 120 分後に安楽死させ、30 分間の SPECT 撮像を実施した。その結果、CT 画像 (骨格) と一致した全身性の骨への放射能分布を認めた。特に長骨では末端部分に放射能が高集積しており、骨形成の盛んな部位に取り込まれるという  $^{99m}\text{Tc}$ -HMDP の集積機序に合致するものであった (図 3)。

また、塩化タリウム ( $^{201}\text{Tl}$ ) ( $^{201}\text{Tl}$ ]TlCl) を投与した個体の撮像も実施した。一価の陽イオンである  $\text{Tl}^+$  は  $\text{K}^+$  とイオン半径が近く ( $\text{Tl}^+$ : 1.50 Å,  $\text{K}^+$ : 1.38 Å)、正常心筋に多く分布する  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase を介して心筋細胞内に能動的に取り込まれることから、心筋血流量測定剤として汎用され

ている。こちらでも ddY マウス (6 週齢, 雄性) に 18.6 MBq の  $[^{201}\text{Tl}]\text{TlCl}$  を静脈内投与し、投与 5 分後に安楽死させ、30 分間の SPECT 撮像を行ったところ、心臓への明瞭な放射能集積を認めた。また、排泄経路の一つである腎臓も描出されていた (図 4)。



Animal: ddY, 6 w, male

Body weight: 28.0 g

Dose: 39.6 MBq

#### Protocol

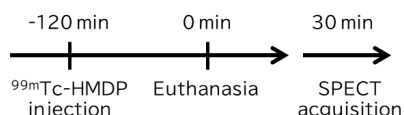
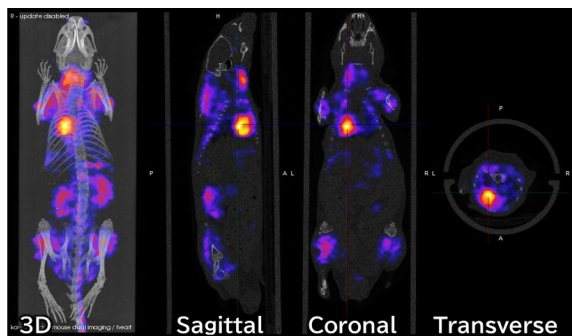


図 3  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -HMDP を投与したマウスの画像



Animal: ddY, 6 w, male

Body weight: 29.0 g

Dose: 18.6 MBq

#### Protocol

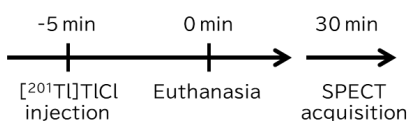


図 4  $[^{201}\text{Tl}]\text{TlCl}$  を投与したマウスの画像

さて、本研究ブランディング事業の課題名は「受容体特異的画像化技術を基盤とするがん放射線内用療法 (radio-theranostics) 研究拠点の形成」である。「radio-theranostics」とは悪性腫瘍に選択的に集積する化合物に診断用あるいは治療用放射性同位元素を導入、適切に相互変換させることで診断と治療の一体化を実現し、全身に転移したがんの根本的治療を期待するものだが、一方、セラノスティクスという用語は、広義では「ある疾患に対して最適な治療を施すためのアプローチとなる診断を高い精度で行うこと」とも捉えられる。この目的においては体内の分子プロセスを可視化する分子イメージング技術が強力な手段となり、中でも SPECT や PET といった放射性プローブを用いる核医学的手法は、蛍光イメージングとの比較において、全身を対象に体外から撮像できる (生体の深部情報を得られる) という点が圧倒的なアドバンテージとなる。その上で、生体分子の動態や相互作用を可視化する近年のトピックとして「複数の生体分子の同時イメージング技術」が挙げられる。PET では陽電子放出核種を用いるが、検出する消滅放射線のエネルギーが等しく 511 keV なので、複数の異なる PET 核種を弁別できない。そこで、幅広いエネルギー領域の  $\gamma$  線を同時に撮像する技術の開発が進められている。単なる放射能集積だけでなく、複数の分子の動きを追跡することが可能になれば、生体から抽出できる情報量は飛躍的に増大すると期待されるが、SPECT は正にこの目的に資するモダリティであろう。以前には  $\gamma$ -CUBE による 2 核種同時撮像の基礎検討を報告したが、本稿では実際にマウスに適用した画像を紹介する。

まず、 $\text{Tc-}^{99\text{m}}$  と  $\text{Tl-}^{201}$  を含む水溶液を調製し、 $\gamma$ -CUBE で測定した結果を示す。 $\text{Tc-}^{99\text{m}}$  から放出される  $\gamma$  線の核種に固有なエネルギーは 141 keV、 $\text{Tl-}^{201}$  では軌道電子捕獲後に娘核種である  $\text{Hg}$  から放出される特性 X 線のエネルギーが 71 keV, 80 keV であり、これらを核種の検出に用いる。 $\text{Tc-}^{99\text{m}}$  あるいは  $\text{Tl-}^{201}$  を単独で測定した場合との比較において両者を融合させた形状のスペクトルが得られたため、各エネルギーピークをそれぞれの核種のものとして弁別可能であることが示された (図 5)。



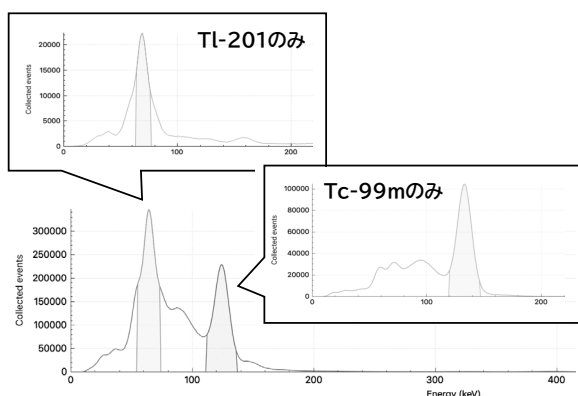


図5 Tc-99mとTl-201を混合した試料のエネルギースペクトル

そこで、マウスに対して  $t=-240$  分の時間点で 42.5 MBq の  $^{99m}\text{Tc}$ -HMDP を、 $t=-5$  分の時間点で 20.4 MBq の  $^{201}\text{Tl}$ ]TlCl をそれぞれ静脈内投与し、 $t=0$  分に安楽死させた。その後、90 分間の SPECT 撮像を実施し、前述の Tc-99m と Tl-201 に該当するエネルギーピークをそれぞれ個別に認識するよう設定した上で画像再構成を行った。その結果、Tc-99m のエネルギー領域 ( $^{99m}\text{Tc}$ -HMDP) では骨への、Tl-201 のエネルギー領域 ( $^{201}\text{Tl}$ ]TlCl) では心臓 (および腎臓) への特徴的な放射能分布を認めた。これは各トレーサーを単独で投与した際に得られた画像 (図 3, 図 4) と一致していたことから、動物を用いた検討でも 2 核種同時撮像が可能であることが実証された (図 6)。

また、別の個体では過テクネチウム酸ナトリウム ( $^{99m}\text{Tc}$ ) ( $^{99m}\text{Tc}$ ]NaTcO<sub>4</sub>) と  $^{201}\text{Tl}$ ]TlCl による同時撮像を試みた。甲状腺ホルモンの生合成のため、甲状腺の濾胞細胞は Na<sup>+</sup>/I<sup>-</sup>共輸送体を介してヨウ化物イオンを能動的に輸送する。 $^{99m}\text{Tc}$ ]TcO<sub>4</sub> はイオン径が I<sup>-</sup> と類似した 1 価の陰イオンであることから濾胞細胞に取り込まれ、臨床で本化合物は甲状腺機能診断薬として用いられている。マウスに  $t=-60$  分の時間点で 36.7 MBq の  $^{99m}\text{Tc}$ ]NaTcO<sub>4</sub> を、 $t=-5$  分の時間点で 19.7 MBq の  $^{201}\text{Tl}$ ]TlCl をそれぞれ静脈内投与し、 $t=0$  分に安楽死させた。その後、30 分間の SPECT 撮像を実施し、同様の操作にて画像再構成を行ったところ、Tc-99m のエネルギー領域 ( $^{99m}\text{Tc}$ ]NaTcO<sub>4</sub>) では甲状腺への、Tl-201 のエネルギー領域 ( $^{201}\text{Tl}$ ]TlCl) では心臓 (および腎臓) への放射能分布を認めた (図 7)。

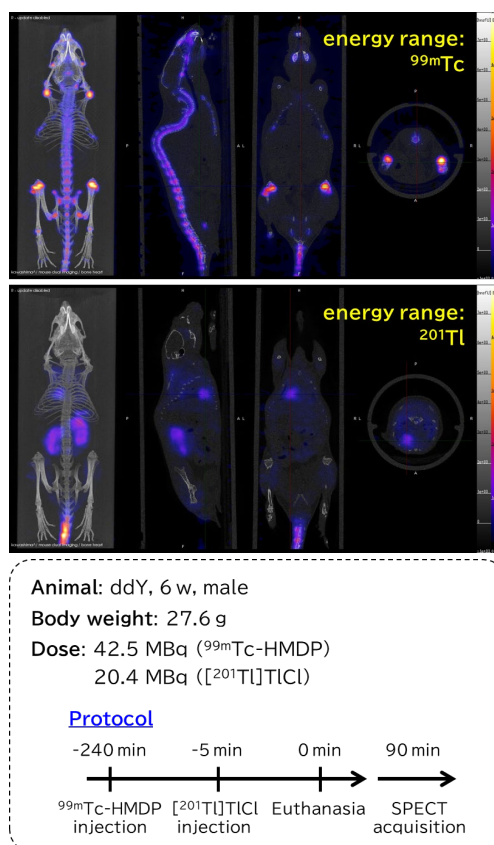


図6  $^{99m}\text{Tc}$ -HMDP と  $^{201}\text{Tl}$ ]TlCl の dual imaging

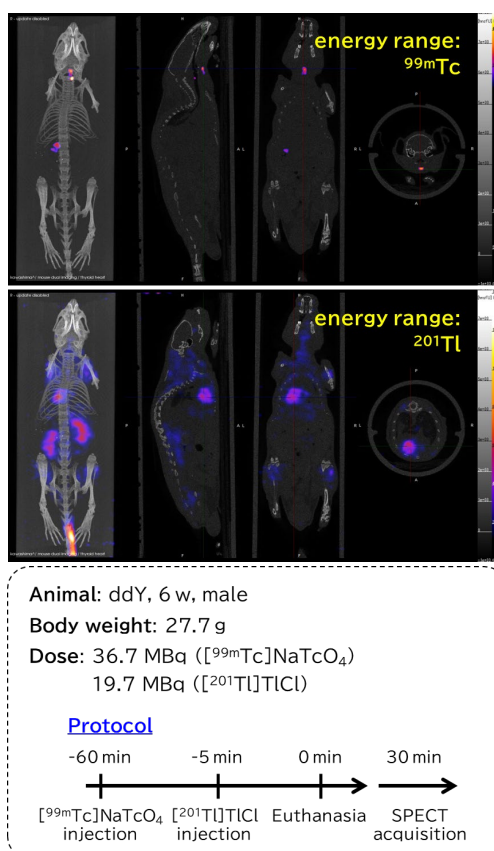


図7  $^{99m}\text{Tc}$ ]NaTcO<sub>4</sub> と  $^{201}\text{Tl}$ ]TlCl の dual imaging

このように、本学に設置されている小動物用 SPECT ( $\gamma$ -CUBE) を用い、SPECT 核種を対象とした 2 核種同時撮像が可能であった。基本的に、本法は核種に固有の  $\gamma$  線や特性 X 線のエネルギーピークが異なる組み合わせであれば適用できる。したがって、Ga-67 (93.3 keV, 185 keV) や In-111 (171 keV, 245 keV)、I-123 (159 keV) 等、代表的な SPECT 核種で標識した化合物を用意することで、疾患モデル動物の多面的な評価が可能となり、セラノスティクス研究も大きく前進するものと期待される。

## セラノスティクスの現状と将来展望



放射性同位元素研究センター

河嶋 秀和

前稿でも触れたように、治療 (therapeutics) と診断

(diagnostics) を組み合わせた概念としての「セラノスティクス」は、臨床において、患者一人一人の病態像を正確に捉えた上で効果的な治療を達成させるための手法である。その一形態であるラジオセラノスティクス (radio-theranostics) とは、ある標的病巣に集積する化合物に対し、これを視覚化するための放射性同位元素を導入した「分子イメージング」と、治療を目的とした放射性同位元素を導入する「核医学治療」を融合させたものであり、主のがん治療への展開が精力的に進められている。ここでは、ラジオセラノスティクスおよび核医学治療の基礎を解説するとともに、その将来像について述べてみたい。

ラジオセラノスティクスでは、物質透過性の高い  $\gamma$  線 (特性 X 線) 放出核種と細胞殺傷性を有する  $\alpha$  線または  $\beta^-$  線放出核種を適宜組み合わせで使用する。一般的には、腫瘍に高発現している膜タンパク等に親和性を有する化合物にリンカーを介して配位子を導入したものを用意し、ここに目的とする放射性同位元素とキレートを形成さ

せる。画像診断に用いる元素と治療に用いる元素が化学的に (イオンの価数やイオン径において) 類似した性質を持つ場合、これらを変換しても錯体化合物の体内動態への影響は少ないと予想されるため、画像診断による内用療法の有効性の予測が可能になる (表 1)。

表 1 ラジオセラノスティクスに用いられる放射性同位元素

診断用 (SPECT) 核種	治療用核種
<sup>123</sup> I energy( $\gamma$ ) 159 keV 半減期 13.3 h	<sup>131</sup> I energy( $\gamma$ ) 364 keV energy( $\beta^-$ ) 0.606 MeV(90%) 半減期 8.02 d
<sup>67</sup> Ga energy( $\gamma$ ) 93.3 keV 185 keV 半減期 3.27 d	<sup>90</sup> Y energy( $\beta^-$ ) 2.28 MeV(100%) 半減期 64.1 h
<sup>111</sup> In energy( $\gamma$ ) 171 keV 245 keV 半減期 2.81 d	<sup>177</sup> Lu energy( $\gamma$ ) 113 keV(6.4%) 208 keV(11.0%) energy( $\beta^-$ ) 0.50 MeV(79%) 半減期 6.73 d
<sup>99m</sup> Tc energy( $\gamma$ ) 141 keV 半減期 6.01 h	<sup>186</sup> Re energy( $\gamma$ ) 137 keV energy( $\beta^-$ ) 0.932 MeV(22%) 1.07 MeV(71%) 半減期 90.6 h
相互の変換が可能	
	<sup>188</sup> Re energy( $\gamma$ ) 155 keV energy( $\beta^-$ ) 1.97 MeV(26%) 2.12 MeV(71%) 半減期 17.0 h

本邦でも臨床ではイットリウム (<sup>90</sup>Y) /インジウム (<sup>111</sup>In) イブリツモマブチウキセタンが 2008 年に薬事承認を受け、CD20 陽性の再発または難治性低悪性度 B 細胞性非ホジキンリンパ腫、マントル細胞リンパ腫の治療に利用されてきた。本薬物は抗 CD20 抗体のイブリツモマブにキレート剤である MX-DTPA (チウキセタン) を結合させたものであり (図 1)、事前に In-111 標識体によるシンチグラムを取得し、患者の治療適合性を確認する (顕著な骨髄へのびまん性の取込み等の異常な生体内分布の所見を認めた場合は、Y-90 標識体による治療を行わない)。

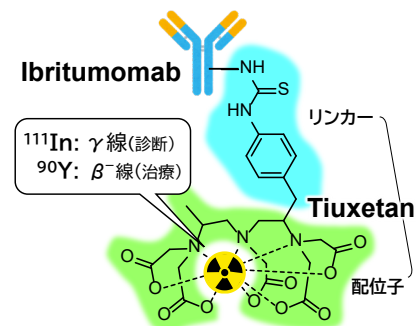


図 1 イブリツモマブチウキセタン

Y-90 と In-111 の組み合わせはラジオセラノスティクスの研究領域でしばしば利用される。本学薬剤学分野（勝見英正先生）でも、骨標的型薬物キャリアとして開発されたアスパラギン酸および PEG 修飾を施したポリアミドアミン (PAMAM) デンドリマー誘導体 (PEG-Asp-PAMAM) およびその高分子ミセルにつき、それぞれの Y-90/In-111 標識体を作製し、体内動態と転移性骨腫瘍の治療に関する検討を行った。In-111 標識体はマウス静脈内投与後、骨転移の病巣部位である関節部に集積した。さらに、モデルマウスにおいては Y-90 標識体の単回投与により下肢骨でのがん増殖が顕著に抑制された（日本薬学会第 140 年会で発表）。

ラジオセラノスティクスの軸となる細胞殺傷性放射性核種の選択は、半減期および  $\alpha$  線や  $\beta^-$  線の飛程とともに、核種の製造コストや標識の容易さ、標識化合物の安定性など様々な要素が関与してくる（表 2）。また、少し異なった観点から、軌道電子捕獲に伴って放出されるオージェ電子を治療に用いる試みもなされている。オージェ電子は Ga-67, Br-77, In-111, I-125 等、特性 X 線を放出する核種で発生するが、飛程が非常に短いため細胞核へと送達させる緻密な薬剤設計が要求される。

表 2 主な治療用放射性核種の物理的性質

Radionuclide	Energy <sub>max</sub> (MeV)	Range <sub>mean</sub>	Half-life
<b><math>\beta^-</math>-particle emitter</b>			
<sup>67</sup> Cu	0.58	0.6 mm	61.8 h
<sup>89</sup> Sr	1.50	2.4 mm	50.3 d
<sup>90</sup> Y	2.28	2.5 mm	64.1 h
<sup>131</sup> I	0.61	0.4 mm	8.02 d
<sup>153</sup> Sm	0.81	0.6 mm	46.5 h
<sup>177</sup> Lu	0.50	0.3 mm	6.73 d
<sup>186</sup> Re	1.07	1.1 mm	90.6 h
<sup>188</sup> Re	2.14	2.7 mm	17.0 h
<b><math>\alpha</math>-particle emitter</b>			
<sup>211</sup> At	5.87	48.1 $\mu$ m	7.21 h
<sup>212</sup> Bi	6.05	50.4 $\mu$ m	60.6 m
<sup>213</sup> Bi	5.85	47.8 $\mu$ m	45.6 m
<sup>223</sup> Ra	5.67	45.6 $\mu$ m	11.4 d
<sup>225</sup> Ac	5.79	47.1 $\mu$ m	10.0 d
<b>Auger-electron emitter</b>			
<sup>125</sup> I		~100 nm	60.5 d

さて、これまでに幾つかの放射性核種を例示してきたが、数年前まで核医学における診断および治療は  $\gamma$  線と  $\beta^-$  線を用いるものが主であった。しかし、現在は  $\alpha$  線放出核種による核医学治療が臨床で大きく注目されており、今後のラジオセラノスティクスへの要求も変わりつつあるように思われる。本稿の最後に私見を述べたい。

$\alpha$  線放出核種の大きな特徴として、放射性壊変が連続的に続くことから（逐次壊変）少ない放射能でもがんに対する治療効果が発現するモデルが考えられている。しかし、壊変を繰り返すごとに元素そのもの、すなわち原子の化学的性質が変化するという点に留意しなければならない。これにより標識化合物としての安定性や体内動態も変化すると予想されるが、現時点では壊変系列に存在する個々の核種の分布を追跡することは非常に難しい。そこで、次の方向性としてはこれら核種を可視化することにあると考えている。

$\alpha$  線はその実体がヘリウムの原子核 (+2 価の電荷を有する) であり、放射線加重係数が大きく細胞殺傷能が高いことが治療に用いられる本質だが、 $\alpha$  壊変の際には低エネルギーの  $\gamma$  線や特性 X 線も原子核（電子軌道）から同時に放出されている（図 2）。つまり、理論上はこれらを体外検出することにより親核種や壊変で生じた娘核種の分布を可視化できる。もっとも、正常組織に対する不要な被曝（副作用の発現）を抑える目的で、核医学治療では放射能の許容投与量のオーダーは診断時よりも低く設定される。したがって、検出感度を満たす装置や撮像技術の開発が重要となるものの、これが実現されたとき  $\alpha$  線核医学治療の効果予測と投薬設計の確立が可能となり、ラジオセラノスティクスの新たなステージが拓かれるのではないだろうか。

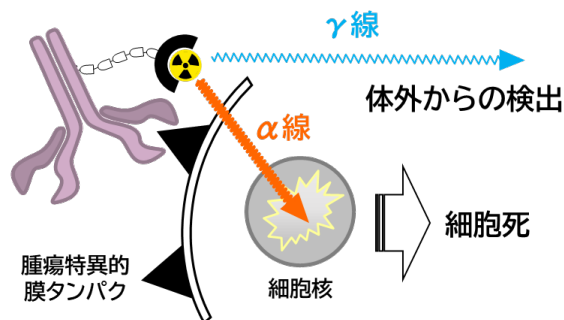


図 2  $\alpha$  線放出核種の検出

## —2020 年度業績—

### 英文総説

1. Kenichi Akaji. Studies on Functional Molecules Based on Peptide Chemistry. *YAKUGAKU ZASSHI*, **2021**, 141, 215-233.

### 和文総説

1. 矢野恒夫, 長谷川功紀, 佐藤達彦, 巽光朗, 渡部直史, 藤井博史, 角永悠一郎, 樺山一哉, 深瀬浩一, 米倉義晴, 蜂須賀暁子, 平林容子. アルファ線核医学治療のための薬剤開発の考察 (その4) First-in-Human 臨床に向けた要件. *医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス*. **2020**, 51(8), 364-377.

### 英文原著

1. Koki Hasegawa, Kazuhiro Koshino, Takahiro Higuchi. Facile synthesis of 2-deoxy-2-[<sup>18</sup>F]fluorosorbitol using sodium borohydride on aluminum oxide. *Journal of labelled compounds & radiopharmaceuticals*. **2021**, 64(1), 40-46.
2. Tsuneo Yano, Koki Hasegawa, Tatsuhiko Sato, Mitsunori Tatsumi, Tadashi Watabe, Yuichiro Kadonaga, Kazuya Kabayama, Koichi Fukase, Akiko Hachisuka, Yoko Hirabayashi, Hirofumi Fujii, Yoshiharu Yonekura. Rationale for Translational Research on Targeted Alpha Therapy in Japan —Renaissance of Radiopharmaceuticals Utilizing Astatine-211 and Actinium-225—. *RADIOISOTOPES*. **2020**, 69(10), 329-340.
3. Takashi Ohgita, Yuki Takechi-Haraya, Keisuke Okada, Saki Matsui, Misaki Takeuchi, Chihiro Saito, Kazuchika Nishitsuji, Kenji Uchimura, Ryuji Kawano, Koki Hasegawa, Kumiko Sakai-Kato, Kenichi Akaji, Ken-Ichi Izutsu, Hiroyuki Saito. Enhancement of direct membrane penetration of arginine-rich peptides by polyproline II helix structure. *Biochimica et biophysica acta. Biomembranes*. **2020**, 1862(10), 183403.

4. Koki Hasegawa, Rika Maedomari, Younosuke Sato, Kumiko Gotoh, Shinji Kudoh, Akihiro Kojima, Seiji Okada, Takaaki Ito. Kiss1R identification and biodistribution analysis employing a western ligand blot and ligand-derivative stain with a FITC-kisspeptin derivative. *ChemMedChem*. **2020**, 15(18), 1699-1705.
5. Shin-ichiro Yoshizawa, Yasunao Hattori, Kazuya Kobayashi, Kenichi Akaji. Evaluation of an octahydroisochromene scaffold used as a novel SARS 3CL protease inhibitor. *Bioorg. Med. Chem*. **2020**, 28(4), 115273.
6. Eriko Kuroda, Kaneyasu Nishimura, Shohei Kawanishi, Mari Sueyoshi, Fumitaka Ueno, Yumiko Toji, Naoko Abo, Toko Konishi, Koki Harada, Shiho Satake, Chiaki Shima, Yuki Toda, Yoshihisa Kitamura, Shun Shimohama, Eishi Ashihara, Kazuyuki Takata. Mouse bone marrow-derived microglia-like cells secrete transforming growth factor- $\beta$ 1 and promote microglial A $\beta$  phagocytosis and reduction of brain A $\beta$ . *Neuroscience*, **2020**, 438, 217-228.
7. Yoshifumi Miyawaki, Bumpei Samata, Tetsuhiro Kikuchi, Kaneyasu Nishimura, Jun Takahashi. Zonisamide promotes survival of human iPS cell-derived dopaminergic neurons in female rat striatum. *J. Neurosci. Res.*, **2020**, 98, 1575-1587.
8. Masanori Hijioka, Kanori Kitamura, Daijiro Yanagisawa, Kaneyasu Nishimura, Kazuyuki Takata, Masatoshi Inden, Yoshihisa Kitamura. Neuroprotective effects of 5-aminolevulinic acid against neurodegeneration in rat models of Parkinson's disease and stroke. *J. Pharmacol. Sci.*, **2020**, 144, 183-187.
9. Ryouyuke Wakabayashi, Yasunao Hattori, Shigekuni Hosogi, Yuki Toda, Kazuyuki Takata, Eishi Ashihara. A novel dipeptide type inhibitor of the Wnt/ $\beta$ -catenin pathway suppresses proliferation of acute myelogenous leukemia cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **2020**, 535, 73-79.



10. Masanori Hijioka, Yusuke Ikemoto, Kosuke Fukao, Takeshi Inoue, Tatsuki Kobayakawa, Kaneyasu Nishimura, Kazuyuki Takata, Kiyokazu Agata, and Yoshihisa Kitamura. MEK/ERK signaling regulates reconstitution of the dopaminergic nerve circuit in the planarian *Dugesia Japonica*. *Neurochem. Res.*, 印刷中
11. Naoko Kurimitsu, Chiharu Mizuguchi, Kaho Fujita, Suzuno Taguchi, Takashi Ohgita, Kazuchika Nishitsuji, Toshinori Shimanouchi, and Hiroyuki Saito. Phosphatidylethanolamine accelerates aggregation of the amyloidogenic N-terminal fragment of apoA-I. *FEBS Letters*. **2020**, 594(9), 1443-1452.
12. Valeriya Trusova, Kateryna Vus, Olga Zhytniakivska, Uliana Tarabara, Hiroyuki Saito, Galyna Gorbenko. Nanomechanical characterization of apolipoprotein A-I amyloid fibrils. *East Eur. J. Phys.* **2020**, 2, 118-123.
13. Naoyuki Iwahashi, Midori Ikezaki, Taro Nishikawa, Norihiro Namba, Takashi Ohgita, Hiroyuki Saito, Yoshito Ihara, Toshinori Shimanouchi, Kazuhiko Ino, Kenji Uchimura, and Kazuchika Nishitsuji. Sulfated Glycosaminoglycans Mediate Prion-like Behavior of p53Aggregates. *PNAS*. **2020**, 117(52), 33225-33234.
14. Takashi Ohgita, Yuki Furutani, Miyu Nakano, Megumi Hattori, Ayane Suzuki, Miho Nakagawa, Sera Naniwa, Izumi Morita, Hiroyuki Oyama, Kazuchika Nishitsuji, Norihiro Kobayashi, Hiroyuki Saito. Novel conformation-selective monoclonal antibodies against apoA-I amyloid fibrils. *FEBS J.* **2020**, 288(5), 1496-1513.
15. Katsuo Mogi, Hiroyuki Kimura, Yuto Kondo, Tomoya Inoue, Shungo Adachi, Tohru Natsume. Automatic radioisotope manipulation for small amount of nuclear medicine using an EWOD device with a dimple structure. *Royal Society Open Science*, in press
16. Hidemasa Katsumi, Rie Takashima, Hiroe Suzuki, Natsuko Hirai, Satoru Matsuura, Hiroyuki Kimura, Masaki Morishita, Akira Yamamoto. S-nitrosylated l-serine-modified dendrimer as a kidney-targeting nitric oxide donor for prevention of renal ischaemia/reperfusion injury. *Free Radic. Res.* **2020** [Online ahead of print]
17. Takashi Ui, Masashi Ueda, Yusuke Higaki, Shinichiro Kamino, Kohei Sano, Hiroyuki Kimura, Hideo Saji, Shuichi Enomoto. Development and characterization of a <sup>68</sup>Ga-labeled A20FMDV2 peptide probe for the PET imaging of  $\alpha\beta6$  integrin-positive pancreatic ductal adenocarcinoma. *Bioorg. Med. Chem.* **2020**, 28(1), 115189.
18. Rudolf A. Werner, Thorsten Derlin, Constantin Lapa, Sara Sheikbahaie, Takahiro Higuchi, Frederik L. Giesel, Spencer Behr, Alexander Drzezga, Hiroyuki Kimura, Andreas K. Buck, Frank M. Bengel, Martin G. Pomper, Michael A. Gorin, Steven P. Rowe. <sup>18</sup>F-labeled, PSMA-targeted radiotracers: Leveraging the advantages of radiofluorination for prostate cancer molecular imaging. *Theranostics*. **2020**, 10(1), 1-16.
19. Xinyu Chen, Alexander Fritz, Rudolf A. Werner, Naoko Nose, Yusuke Yagi, Hiroyuki Kimura, Steven P. Rowe, Kazuhiro Koshino, Michael Decker, Takahiro Higuchi. Initial evaluation of AF78: a rationally designed fluorine-18-labelled PET radiotracer targeting norepinephrine transporter. *Mol. Imaging Biol.* **2020**, 22(3), 602-611.
20. Hiroya Taniguchi, Takeharu Yamanaka, Daisuke Sakai, Kei Muro, Kentaro Yamazaki, Susumu Nakata, Hiroyuki Kimura, Paul Ruff, Tae Won Kim, Marc Peeters, Timothy Price. Efficacy of panitumumab and cetuximab in patients with colorectal cancer previously treated with bevacizumab; a combined analysis of individual patient data from ASPECCT and WJOG6510G. *Cancers*. **2020**, 12(7), E1715.
21. Kenji Arimitsu, Yusuke Yagi, Kazuhiro Koshino, Yukina Nishito, Takahiro Higuchi,



Hiroyuki Yasui, Hiroyuki Kimura. Synthesis of  $^{18}\text{F}$ -labeled streptozotocin derivatives and an *in-vivo* kinetics study using positron emission tomography. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2020**, 30(17), 127400.

22. Shugo Yamashita, Hidemasa Katsumi, Erika Shimizu, Yuto Nakao, Ayane Yoshioka, Minako Fukui, Hiroyuki Kimura, Toshiyasu Sakane, Akira Yamamoto. Dendrimer-based micelles with highly potent targeting to sites of active bone turnover for the treatment of bone metastasis. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2020**, 157, 85-96.
23. Hideo Onizawa, Hiroki Kato, Hiroyuki Kimura, Tomoo Kudo, Nobumasa Soda, Shota Shimizu, Masahide Funabiki, Yusuke Yagi, Yuji Nakamoto, Josef Priller, Ryuta Nishikomori, Toshio Heike, Nan Yan, Tohru Tsujimura, Tsuneyo Mimori, Takashi Fujita. Aicardi–Goutières syndrome-like encephalitis in mutant mice with constitutively active MDA5. *Int. Immunol.* **2020**, dxaa073 [Online ahead of print].
24. Kenichi Akaji, Hiroyuki Konno. Design and evaluation of anti-SARS-coronavirus agents based on molecular interactions with the viral protease. *Molecules*, **2020**, 25, 3920.
25. Marwa M. Shaaban, Hanan M. Ragab, Kenichi Akaji, Ross P. McGeary, Alaa-Eldin A. Bekhit, Waleed M. Hussein, Julia L. Kurz, Bassma H. Elwakil, Salma A. Bekhit, Tamer M. Ibrahim, Mona A. Mahran, Adnan A. Bekhit. Design, synthesis, biological evaluation and in silico studies of certain aryl sulfonyl hydrazones conjugated with 1,3-diaryl pyrazoles as potent metallo- $\beta$ -lactamase inhibitors. **2020**, 105, 104386.
26. Daisuke Matsuoka, Motoshi Kamiya, Takeshi Sato, Yuji Sugita. Role of the N-Terminal Transmembrane Helix Contacts in the Activation of FGFR3. *J.Comput.Chem.* **2020**, 41(6), 561-572.

学会発表  
海外学会

1. Takashi Ohgita, Norihiro Namba, Hiroki Kono, Hiroyuki Saito. Effects of Parkinson's Disease-Related Familial Mutation and C-terminal Truncation on Nucleation and Fibril Elongation of  $\alpha$ -Synuclein. 65<sup>th</sup> Biophysical Society Annual Meeting, オンライン開催, 2021.2.

国内学会

1. 小紫香穂, 木村蘭希, 桑野芽, 小林数也, 服部恭尚, 赤路健一, N-アミジノピロリジン型 BACE 1 阻害剤：水酸基側鎖の構造活性相関研究, 第 70 回日本薬学会関西支部大会, 滋賀 (オンライン開催), 2020.10.
2. Kazuya Kobayashi, Takuya Otani, Yasunao Hattori, Kenichi Akaji. Structure-activity relationship study on macrocyclic BACE1 inhibitors containing a hydrophobic cross-linked structure, 第 57 回ペプチド討論会, 鳥取 (オンライン開催), 2020.11.
3. 尾田好美, 中嶋聡一, 矢野真実子, 西村周泰, 笠詩織, 平尾みなみ, 中村誠宏, 高田和幸, 松田久司, オオバゲッキツ成分からの空間認知記憶改善物質の開発研究, 第 37 回和漢医薬学会学術大会, 京都 (WEB 開催), 2020.8.
4. 上村祐介, 栗垣衣里奈, 濱野咲佳, 高畑祐香, 吉本和佳, 森戸克弥, 西村周泰, 高山健太郎, 高田和幸, 長澤一樹, うつ様行動を誘発する慢性社会敗北ストレスに対するマウスの感受性決定要因としての海馬ミクログリア及び腸内細菌叢の関与, 第 63 回日本神経化学学会大会, 東京 (WEB 開催), 2020.9.
5. 福田愛菜, 西村周泰, 高田和幸, アルツハイマー病の *in vitro* 細胞死モデルの最適化に向けた pH click A $\beta$  による凝集体依存的な細胞毒性の解析, 第 63 回日本神経化学学会大会, 東京 (WEB 開催), 2020.9.
6. 福田愛菜, 西村周泰, 高田和幸, pH click A $\beta$  を用いたアルツハイマー病のオリゴマー仮説に基づく *in vitro* 細胞死モデルの構築とその解析, 第 70 回日本薬学会関西支部大会, 滋賀 (オンライン開催), 2020.10.

7. 末吉真梨, 西村周泰, 北村佳久, 芦原英司, 下濱 俊, 高田和幸, 骨髄細胞由来ミクログリア様細胞のミクログリアとの相互作用ならびにニコチン受容体刺激による機能制御の解析, 第 70 回日本薬学会関西支部大会, 滋賀(オンライン開催), 2020.10.
8. 栗垣衣里奈, 上村祐介, 濱野咲佳, 高畑祐香, 吉本和佳, 西村周泰, 高田和幸, 安川岳志, 森本博俊, 魚住嘉伸, 高山健太郎, 長澤一樹, うつ様行動を誘発する社会敗北ストレスに対するマウスの感受性決定要因としての海馬ミクログリア及び腸内細菌叢の役割, 第 30 回日本医療薬学会年会, 名古屋 (WEB 開催), 2020.10.
9. 末吉真梨, 西村周泰, 芦原英司, 下濱 俊, 高田和幸, 骨髄幹細胞由来ミクログリア様細胞の機能解析と  $\alpha 7$  ニコチン受容体刺激による機能制御, 第 138 回日本薬理学会近畿部会, 大阪(オンライン開催), 2020.11.
10. 福田愛菜, 西村周泰, 高田和幸, アミロイド  $\beta$  による安定した細胞死モデルの構築と凝集体と細胞毒性との関連性の解析, 第 39 回日本認知症学会, 名古屋(ハイブリッド開催), 2020.11.
11. 末吉真梨, 西村周泰, 芦原英司, 下濱 俊, 高田和幸, 認知症の細胞治療戦略開発に向けた幹細胞由来ミクログリア様細胞の機能解析とその制御, 第 39 回日本認知症学会, 名古屋(ハイブリッド開催), 2020.11.
12. 福田愛菜, 西村周泰, 高田和幸, アルツハイマー病 A $\beta$  オリゴマー仮説の解明に向けた pH click A $\beta$  の凝集と細胞死の解析, 第 14 回次世代を担う若手医療薬科学シンポジウム, 岡山 (WEB 開催), 2020.11.
13. 西村周泰, 網本直弥, 加藤丈使, 平尾真大, 高田和幸, 低分子化合物を用いたシグナルコントロールによるヒト多能性幹細胞から黒質・線条体神経細胞の作製, 第 94 回日本薬理学会年会, 札幌(オンライン発表), 2021.3.
14. 高田真優子, 西村周泰, 高田和幸, ヒト iPS 細胞由来脳オルガノイドとミクログリア様細胞の共培養による三次元脳モデルの作製, 第 94 回日本薬理学会年会, 札幌(ハイブリッド開催), 2021.3.
15. 原田考輝, 加藤丈使, 西村周泰, 平尾真大, 下濱俊, 高田和幸, iPS細胞由来マクロファージおよびドパミン神経の分化におけるアセチルコリン受容体の役割, 第94回日本薬理学会年会, 札幌(ハイブリッド開催), 2021.3.
16. 網本直弥, 西村周泰, 高田和幸, 低分子化合物を用いたヒト iPS 細胞から線条体 GABA 神経細胞の分化誘導法の確立, 第 141 回日本薬学会, 広島(オンライン開催), 2021.3.
17. 加藤丈使, 原田考輝, 西村周泰, 平尾真大, 下濱俊, 高田和幸, iPS 細胞由来ドパミン神経分化およびマクロファージ分化におけるアセチルコリン受容体の役割, 第 141 回日本薬学会, 広島(オンライン開催), 2021.3.
18. 栗光直子, 水口智晴, 藤田かほ, 田口鈴乃, 扇田隆司, 島内寿徳, 斎藤博幸, ホスファチジルエタノールアミンによる Iowa 変異型アポ A-I の凝集・線維化促進機構, 日本膜学会第 42 年会, 東京, 2020.6.
19. 南波憲宏, 扇田隆司, 島内寿徳, 西辻和親, 斎藤博幸, がん抑制タンパク質 p53 のアミロイド線維形成性, 第 70 回日本薬学会関西支部大会, 滋賀(オンライン開催), 2020.10
20. 扇田隆司, 原矢佑樹, 岡田圭祐, 松井早希, 竹内美紗紀, 齋藤千尋, 西辻和親, 内村健治, 川野竜司, 長谷川功紀, 加藤くみ子, 赤路健二, 伊豆津健一, 斎藤博幸, ポリプロリン II ヘリックス構造によるアルギニンペプチド細胞膜透過促進機構, 膜シンポジウム 2020, オンライン開催, 2020.11.
21. 横田 舞, 島内寿徳, 斎藤博幸, 木村幸敬, トランスサイレチンによるアミロイド凝集に及ぼす脂質膜の影響, 膜シンポジウム 2020, オンライン開催, 2020.11.
22. 扇田隆司, 南波憲宏, 河野弘樹, 島内寿徳, 斎藤博幸, パーキンソン病変異又は C 末欠損による  $\alpha$  シヌクレインアミロイド凝集促進機構, 日本薬学会第 141 年会, 広島(オンライン開催), 2021.3.
23. 南波憲宏, 河野弘樹, 扇田隆司, 島内寿徳, 斎藤博幸,  $\alpha$ -シヌクレインのアミロイド凝集・線維化反応の熱力学的特性—ApoA-I との比

較, 日本薬学会第 141 年会, 広島(オンライン開催), 2021.3.

24. 中野未悠, 扇田隆司, 森田いずみ, 大山浩之, 小林典裕, 斎藤博幸, 新規抗アポ A-I アミロイド抗体は配列非依存的に線維構造を認識する, 日本薬学会第 141 年会, 広島(オンライン開催), 2021.3.
25. 大谷健太郎, 銭谷 勉, 河嶋秀和, 越野一博, 中野厚史, 山原研一, 犬伏正幸, 飯田秀博, 遺伝子発現イメージングを利用した移植細胞の時間・空間的追跡法の開発, 第 19 回日本再生医療学会学術総会, 横浜, 2020.5.
26. 金澤道和, 保科亮太, 佐々木洸介, 阿部智大, 笹谷典太, 砂口尚輝, 河嶋秀和, 兵藤一行, 湯浅哲也, 銭谷 勉, マルチピンホール X 線蛍光 CT 画像再構成における EM-TV アルゴリズムの検討, 第 39 回日本医用画像工学会大会, 山形, 2020.9.
27. 保科亮太, 金澤道和, 佐々木洸介, 笹谷典太, 砂口尚輝, 河嶋秀和, 兵藤一行, 銭谷 勉, 湯浅哲也, ラット脳 ex vivo イメージングのためのピンホール型蛍光 X 線 CT における入射強度補正, 第 39 回日本医用画像工学会大会, 山形, 2020.9.
28. 古川武典, 木村寛之, 鳥本英恵, 屋木祐亮, 河嶋秀和, 有光健治, 安井裕之, Erythropoietin-producing hepatocellular (Eph) A2 受容体を標的とした SPECT イメージングプローブの合成と基礎評価, 第 70 回日本薬学会関西支部大会, 滋賀(オンライン開催), 2020.10.
29. 坂口修一, 阿部利明, 池本祐志, 岩崎智之, 尾上昌平, 垣下典永, 河嶋秀和, 小山由起子, 近藤真理, 高椋光博, 角山雄一, 都留 忍, 外山実千留, 長濱彰宏, 東山真二, 菱本純次, 増田晴造, 松本洋平, 宮武秀男, 三輪美代子, 吉岡潤子, 放射線取扱施設における安全管理技術の継承分科会活動報告 2020, 令和 2 年度放射線安全取扱部会年次大会, Web 開催, 2020.11.
30. 有光健治, 岩崎宏樹, 木村寛之, 山下正行, 安井裕之, D-プシコースから形成するボロン酸エステルの構造解析, 第 70 回 日本薬学会

関西支部大会, 滋賀(オンライン開催), 2020.10.

31. 面川真里奈, 木村寛之, 有光健治, 安井裕之, 新規糖連結型配位子の白金錯体によるがん治療薬の開発, 第 70 回 日本薬学会関西支部大会, 滋賀(オンライン開催), 2020.10.
32. 近藤悠斗, 木村寛之, 屋木祐亮, 樋口隆弘, 安井裕之: 銅触媒を用いたボロン酸前駆体からの放射性ヨウ素標識反応, 日本薬学会第 141 年会, 広島(オンライン開催), 2021.3.
33. 古川武典, 木村寛之, 玉井千華, 加藤和則, 安井裕之:  $^{111}\text{In}$  標識抗 EphA2 抗体を用いた腫瘍イメージングの基礎評価, 日本薬学会第 141 年会, 広島(オンライン開催), 2021.3.
34. 大谷拓也, 小林数也, 服部恭尚, 赤路健一, 大環状 BACE1 阻害剤における架橋部分枝構造の導入, 日本薬学会第 141 年会, 広島(オンライン開催), 2021.3.
35. 服部恭尚, 大西康司, 三谷勇人, 小林数也, 赤路健一, 新規相互作用部位を付与したアザ-デカリン型 SARS 3CL プロテアーゼ阻害剤の合成と評価, 日本農芸化学会 2021 年度大会, (オンライン開催), 2021.3.

#### 成果発表会

1. 中野未悠, 扇田隆司, 斎藤博幸, アポ E はアイソフォーム依存的にアポ A-I アミロイド線維形成を制御する, 第 10 回京都四大学連携研究フォーラム, 京都(オンライン開催), 2020.11.30-12.13.
2. 西村周泰, 網本直弥, 加藤丈使, 高田真優子, 福田愛菜, 平尾真大, 高田和幸, 低分子化合物を用いたヒト iPS 細胞から脳領域特異的神経細胞の選択的誘導法の標準化. 第 10 回京都四大学連携研究フォーラム, 京都(オンライン開催), 2020.11.30-12.13.

#### 講演

1. 高田和幸, アルツハイマー病病理におけるミクログリアの意義と治療を指向した機能制御, 第 52 回日本動脈硬化化学会総会・学術集会, 名古屋(WEB 開催), 2020.7.

2. 高田和幸, 脳内免疫細胞ミクログリアとアルツハイマー病の細胞治療戦略, 第 14 回次世代を担う若手医療薬科学シンポジウム, 岡山 (WEB 開催), 2020.11.
3. 西村周泰, 幹細胞技術の応用による神経変性疾患に対する再生創薬研究, 第 14 回次世代を担う若手医療薬科学シンポジウム, 岡山 (WEB 開催), 2020.11.

#### 解説・報告書等

1. 高田和幸, ミクログリア研究の最前線ー基礎から臨床へー第 2 回ミクログリアの発生起源と脳疾患, 「和光純薬時報」, 富士フィルム和光純薬株式会社, pp.16-17 (2020).
2. 西村周泰, 高田和幸, 中脳ドパミン神経回路網の機能再生・修復を目指した新規治療戦略, 「メディカル・サイエンス・ダイジェスト」, ニューサイエンス, pp.36-38 (2020)
3. 西村周泰, 高田和幸, 中脳ドパミン神経の機能再生治療法の開発, 「BIO Clinica」, 北隆館, pp 87-89 (2021).
4. 河嶋秀和, 「管理区域内における実験用小動物の飼育に向けた取り組み」, Isotope News, 日本アイソトープ協会, 2020, 771, 76.

#### News Letter Volume 3

2021 年 3 月 編集・発行

文部科学省

私立大学研究ブランディング事業

「受容体特異的画像化技術を基盤とするがん放射線内用療法 (radio-theranostics) 研究拠点の形成」

News Letter 編集委員

〒607-8414 京都市山科区御陵四丁野町 1

Tel: 075-595-4616

FAX: 075-595-4616



## Würzburg 大学訪問報告

木村寛之（代謝分析学分野）

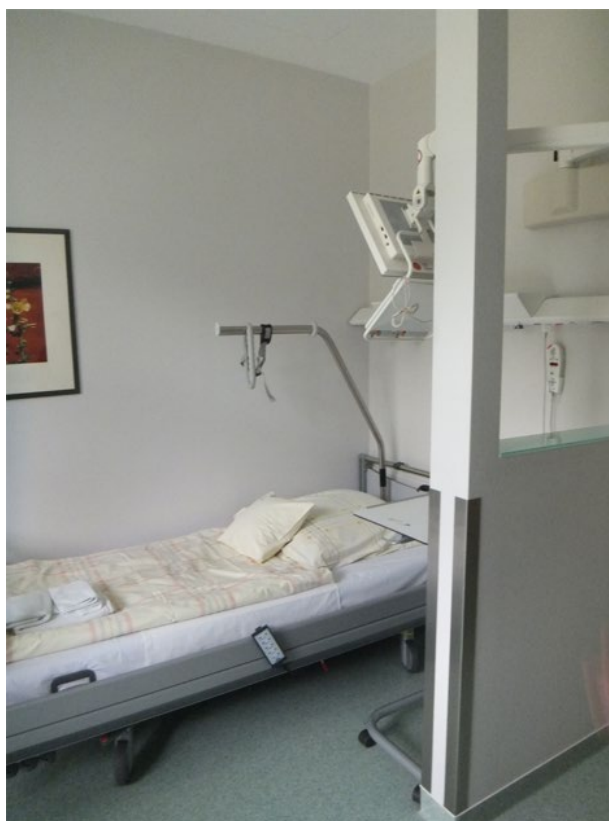
河嶋秀和（放射性同位元素研究センター）

長谷川功紀（共同利用機器センター）

2017 年 5 月に Dresden（ドイツ）で開催された 22<sup>nd</sup> International Symposium on Radiopharmaceutical Sciences での発表に合わせ、我々は同国 Würzburg 大学病院核医学分野および心不全研究センターに務められている樋口隆弘教授を訪問した。Würzburg 大学はセラノスティクス事業が進むヨーロッパにおいても特に先行的に基礎・臨床研究を推進している。この訪問は、今後の「京都薬科大学セラノスティクス研究」における同大学との連携において、その基盤体制の構築を目的としてのことである。

1402 年に創立された Würzburg 大学は、殊に我々の研究領域においては Wilhelm Conrad Röntgen が X 線を発見し、第 1 回ノーベル物理学賞受賞へと繋がった大学として名高い。伝統的に医学研究が盛んであり、特にがん患者に対するラジオセラノスティクスの臨床応用が進められてきたという経緯もある。実際に核医学治療（RI 治療）病室を見学したが、非常に広くかつ開放的な施設であった（写真）。これは、ドイツが国策として放射線内用療法によるがん治療と緊急被曝医療（1986 年のチェルノブイリ原子力発電所事故に起因する）を推し進めたことを背景としているが、我が国の実状（国が所有する施設数やベッド数に対する人口の割合等）を鑑みると、その充実ぶりに驚かされた。

ヴェルツブルク大学病院では日本で製造されていない（入手困難な）放射性同位元素を用いた RI 治療を実施している。



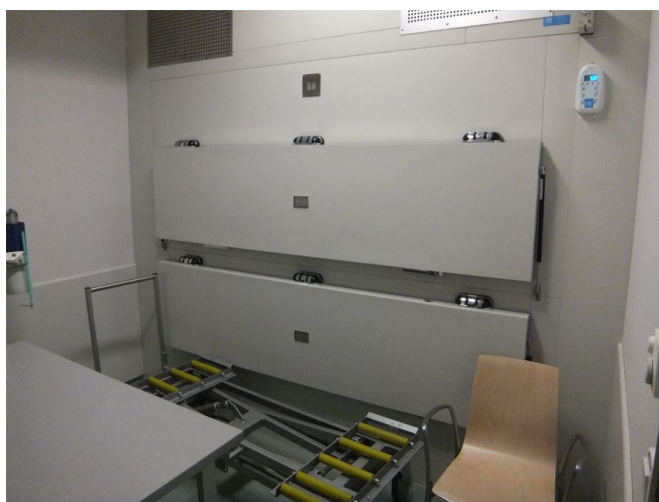
**写真 1** 治療用 RI を投与された患者用のベッド。患者から放出される放射線量が退出基準値以下になるまで、施設内で生活する。



我が国は核種の製造、施設の建設、法規制の何れにおいてもヨーロッパ諸国に後れを取っており、こうした環境の整備がラジオセラノスティクスを展開する上で重要な鍵になると考えている。



**写真 2** 入院中も患者はオープンスペースで家族等と面会できる。



**写真 3** 入院中に患者が亡くなったケースも想定し、遺体を低温で安置する設備もあった（未使用のこと）。

また、現在の Würzburg 大学はドイツ屈指の総合大学であり、樋口教授のお取り計らいで化学・薬学部の Michael Decker 教授（Pharmaceutical and Medicinal Chemistry 研究室）を訪問する機会を得た。Decker 教授のラボでは、我々と同様に分子プローブ、あるいは新規生理活性物質の開発が精力的に行われている。G タンパク質共役型受容体や酵素を標的とした蛍光色素標識リガンド（*in vitro*）から PET リガンド（*in vivo*）まで幅広くカバーされており、我々も自身の研究内容を提示する席を頂けた。現地での交流を通じ、帰国後、化合物合成や標識技術において連携してゆく基盤を築くことができた。

その成果として、長谷川は樋口教授との共著で 1 報、木村は Decker 教授・樋口教授との共著で 2 報の論文を公開することができた。また、本学の屋木祐亮研究員が Würzburg 大学に 1 年間留学する機会を得るとともに、Decker 教授の博士課程学生である Matthias Hoffmann 氏が本学に 2 週間滞在され、小動物用 SPECT・CT ( $\gamma$ -CUBE, X-CUBE) を用いたマウス撮像等について実験手技の検討を相互に実施し、活発な国際交流の端緒を開けた。また、交流の一環となる Hoffmann 氏によるセミナー等を通じて放射性医薬品・分子イメージングに興味を持つ本学学生も増加し、Würzburg 大学への留学希望者も現れるなど、研究面だけでなく教育効果も上がってきている。コロナ禍でいまだ制限もあるが、教育・研究面で様々な研究機関と今後も活発な交流を果たし、京都薬科大学のセラノスティクス研究というブランド力の向上および発信を行っていきたい。

## ドイツからの短期研究学生による公開セミナー

代謝分析学分野に6/10～23の2週間のみ短期研究目的で滞在しているドイツ・ヴュルツブルク大学のPh.D. student(博士課程)であるMatthias Hoffmanさんに下記のテーマを英語でプレゼンテーションしていただきます。

ドイツで薬学を学ぶ学生の生活や文化、本学が採択された私立大学研究ブランディング事業にも関連した研究内容のお話も聞ける貴重な機会です。昼休みの時間となりますので、お気軽にご参加ください。多数の学生の参加をお待ちしております。

国際交流センター長 佐藤 毅

**日時：6月21日（金）12:35～13:05**

**※昼食持参が可能です。**

**場所：A21講義室**

### <Topic>

Pharmacy Students in Germany: Public Drug Store, Research, and Beyond - a Personal Perspective



### <Education>

12/2015- today     PhD thesis in medicinal chemistry,  
University of Wurzburg, Germany

10/2013-09/2015     Master studies in Pharmaceutical Sciences,  
University of Munster, Germany

### <Experience>

12/2015-today     Research Associate, Institute of Pharmacy and  
Food Chemistry, University of Wurzburg

05/2018-06/2018     Research Stay, University of Montpellier, France

担当：国際交流センター/国際交流推進室/研究・産学連携推進室

後援：私立大学研究ブランディング事業(文部科学省)

「受容体特異的画像化技術を基盤とするがん放射線内用療法(radio-theranostics)研究拠点の形成」

## MOLECUBES 社訪問とコリメータの開発について

河嶋秀和（放射性同位元素研究センター）

長谷川功紀（共同利用機器センター）

2018 年 5 月にベルギー MOLECUBES 社製の小動物用 SPECT ( $\gamma$ -CUBE) および CT (X-CUBE) が本学に設置された。その後 2019 年 10 月に同社を訪問し、数十回の撮像実績を経た段階での意見交換をするとともに、SPECT 用コリメータ（放射性プローブの位置情報を得るために特定の方向から放出された  $\gamma$  線や X 線のみを検出部に到達させるタングステン製のスリット様装具）の開発について協議したことは News Letter vol. 1 で報告した。以下、その内容を追補する。

$\gamma$ -CUBE に装着されているマウス撮像用コリメータは汎用 (General Purpose : GP) 型で、その空間分解能（位置的に異なるものとして弁別可能な 2 点間の最小距離）は 500  $\mu\text{m}$  である。本学では脳を対象とした Theranostics 研究を推進することを考慮し、当時 MOLECUBES 社とは高分解能 (High-resolution : Hi-Res) コリメータの共同開発（MOLECUBES 社が製作し、本学で性能評価を実施する）を検討していた。しかし、GP コリメータと比較した場合、空間分解能の向上よりも感度低下の影響の方が大きく、同じ画質を得るためには放射能にして 6 倍以上の放射性プローブを投与しなければならないことから、現実的でないという結論に至った（表 1）。

マウス	ピンホール径 (mm)	感度 (%)	再構成後の分解能 (mm)
GP	0.75	0.16	0.5
Hi-Sens	2.5	1.51	1.46
Hi-Res	0.3	0.026	0.314
U Hi-Res	0.1	0.0029	0.246

ラット	ピンホール径 (mm)	感度 (%)	再構成後の分解能 (mm)
GP	0.75	0.07	0.939
Hi-Sens	2.5	0.76	2.31
Hi-Res	0.3	0.011	0.655

GP: General Purpose, Hi-Sens: High-Sensitivity, Hi-Res: High-Resolution, U Hi-Res: Ultra High-Resolution

表 1 Tc-99m で評価したコリメータの性能比較

一方、GP コリメータでは比較的低エネルギーの低い ( $<200\text{ keV}$ )  $\gamma$  線による SPECT 画像の取得を想定しているが、 $\gamma$ -CUBE を用いた高エネルギー  $\gamma$  線の画像化が実現することで Theranostics 研究をさらに効率的に展開できるものと期待される。そこで、現 2021 年 7 月の時点において高エネルギー (High-energy : Hi-E) コリメータの作製を MOLECUBES 社に対して正式に依頼している。対象とする放射性同位元素は PET 核種 (511 keV) の他に Se-75 や Pt-188、Radio-theranostics 核種である Cu-64 等、400~511 keV の  $\gamma$  線エネルギー幅にあり、空間分解能と画像均一性の確認が取れ次第、本学で Hi-E コリメータの性能評価を実施する。

なお、2019 年の訪問時には、同時期に開催された欧州核医学会 (European Association of Nuclear Medicine) の会期中に MOLECUBES 社製の小動物イメージング装置を所有する施設による User Meeting が開催され、全 7 施設が施設／研究紹介を行った (表 2)。次ページ以降に、本学の発表要旨とスライドを掲載する。

<b>18:30 – 19:00</b>	<b>–</b>	<b>MOLECUBES product updates &amp; R&amp;D future updates</b> <i>Niek Van Overberghe – Steven Cool – Pieter Mollet</i>
<b>19:00 – 20:00</b>	<b>–</b>	<b>User presentations session I</b> <i>Moderators – Sara Neyt &amp; Pieter Mollet</i>
19:00 – 19:15		Ongoing activities at CIC biomaGUNE <i>Dr. Unai Cussío – CIC biomaGUNE – San Sebastian, Spain</i>
19:15 – 19:30		Preclinical imaging at the Dep. of Nuclear Medicine LMU <i>Dr. Magdalena Lindner, Maximilian Grosch – LMU – München, Germany</i>
19:30 – 19:45		Perspective on the investigation using CUBE system in KPU –towards the establishment of theranostics <i>Dr. Kawashima, Dr. Hasegawa – KPU – Kyoto, Japan</i>
19:45 – 20:00		Development of imaging biomarkers for evaluating pathophysiology in neuro-oncology, cardiology and hepatology <i>Sam Donche – Ghent University – Ghent, Belgium</i>
<b>20:00 – 20:20</b>	<b>–</b>	<b>Intermission</b>
<b>20:20 – 21:05</b>	<b>–</b>	<b>User presentations session II</b> <i>Moderators – Sara Neyt &amp; Pieter Mollet</i>
20:20 – 20:35		1-year experience with X- and $\beta$ -CUBES at Turku PET Centre <i>Aake Honkaniemi, Dr. Tove Grönroos – Turku PET Centre – Turku, Finland</i>
20:35 – 20:50		Molecular Screening & Imaging Applications - Combining planar & tomographic scanning <i>Dr. Maritina Rouchota – BIOEMTECH – Athens, Greece</i>
20:50 – 21:05		Preclinical Research Group Department of Nuclear Medicine Essen, Germany <i>Pedro Fragoso Costa – University Hospital Essen – Essen, Germany</i>

表 2 MOLECUBES Use Meeting (2019 年 10 月 14 日) のタイムテーブル

世界的には小動物用 PET ( $\beta$ -CUBE) と X-CUBE を組み合わせて導入している施設が圧倒的に多く、その一方で  $\gamma$ -CUBE を備えた施設は少なかった (この傾向は現時点でも変わらない)。今後は  $\gamma$ -CUBE の成果をもって差別化を図るとともに、これを活かして国際連携を図ることが重要と考えており、前述の Hi-E コリメータによる PET 核種撮像データの相互比較や、本学の強みである多種類の放射性核種を使用できる点を活かした共同研究へと発展させたい。



## **Perspective on the investigation using CUBE system in KPU - towards the establishment of theranostics**

Hidekazu Kawashima<sup>1</sup> and Koki Hasegawa<sup>2</sup>

1 Radioisotope Research Center, and 2 Center for Instrumental Analysis, KPU, Kyoto, Japan

Kyoto Pharmaceutical University (KPU) was established at 1884, which is the second oldest private pharmacy school in Japan. The nurturing of “Pharmacist-Scientist” is a basis of philosophy at KPU, and X-CUBE and  $\gamma$ -CUBE have been utilized in our researches. The major objective is the development of new *in vivo* imaging techniques for detecting diseases, as well as for evaluating the therapeutic effects. Discovery of new biomarkers for preclinical applications is also important. Based on this background, we are especially starting basic researches in several fields with a central focus on cancer aiming to establish the treatment protocol combined with molecular imaging diagnosis and to realize personalized medicine on the theme of fusion of diagnosis and therapy, that is, theranostics.

Now we are developing several molecular imaging probes (antibodies, peptides or small molecules labeled with appropriate radionuclides) for cancer imaging and therapy. In this user meeting, we will introduce our SPECT imaging approaches which can visualize the character of tumors in small animal. Additionally, our visions on theranostics in a broad sense of molecular imaging and pharmacotherapeutics, including targeted radionuclide therapy will be shown.

In KPU, brain imaging studies using model animals are also planned. For this purpose, high-resolution collimator for  $\gamma$ -CUBE is under cooperative development with MOLECUBES. We hope to show our outcomes on the theranostics for neurodegenerative disorders such as Parkinson’s disease and Alzheimer’s disease in the future.

# Perspective on the investigation using CUBE system in KPU

- towards the establishment of theranostics



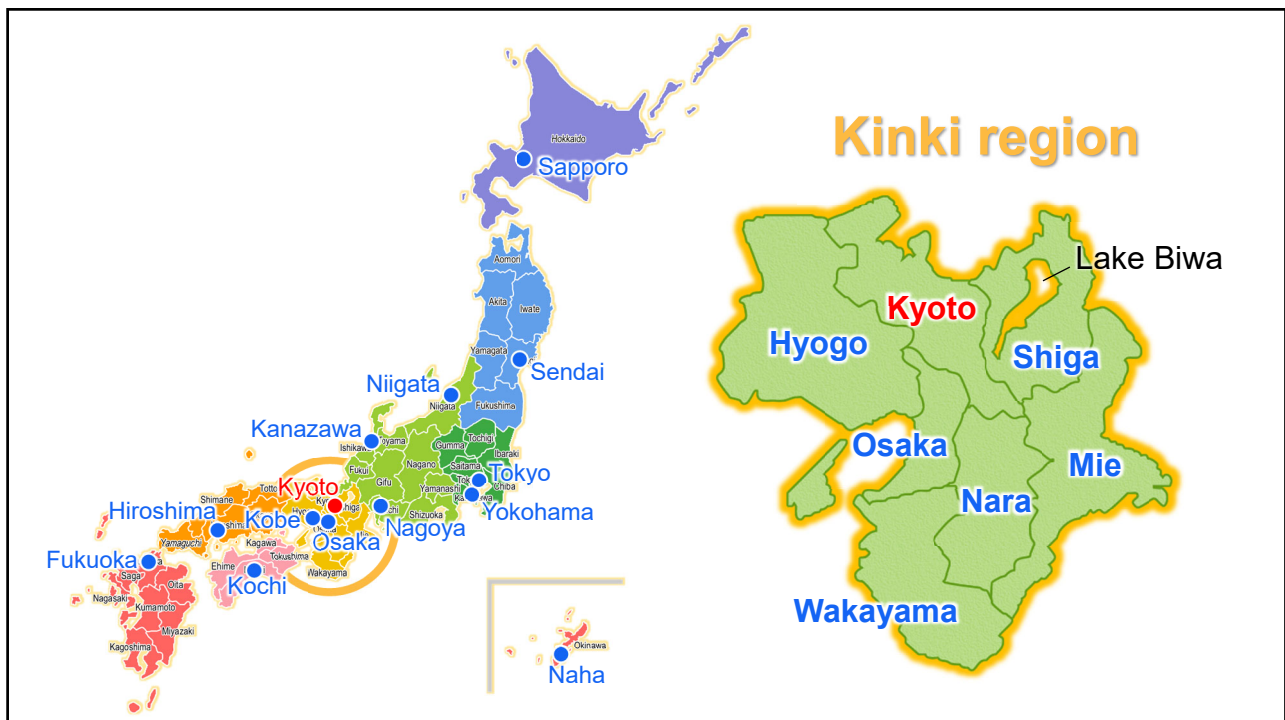
Hidekazu Kawashima<sup>1</sup> and Koki Hasegawa<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Radioisotope Research Center

<sup>2</sup> Center for Instrumental Analysis

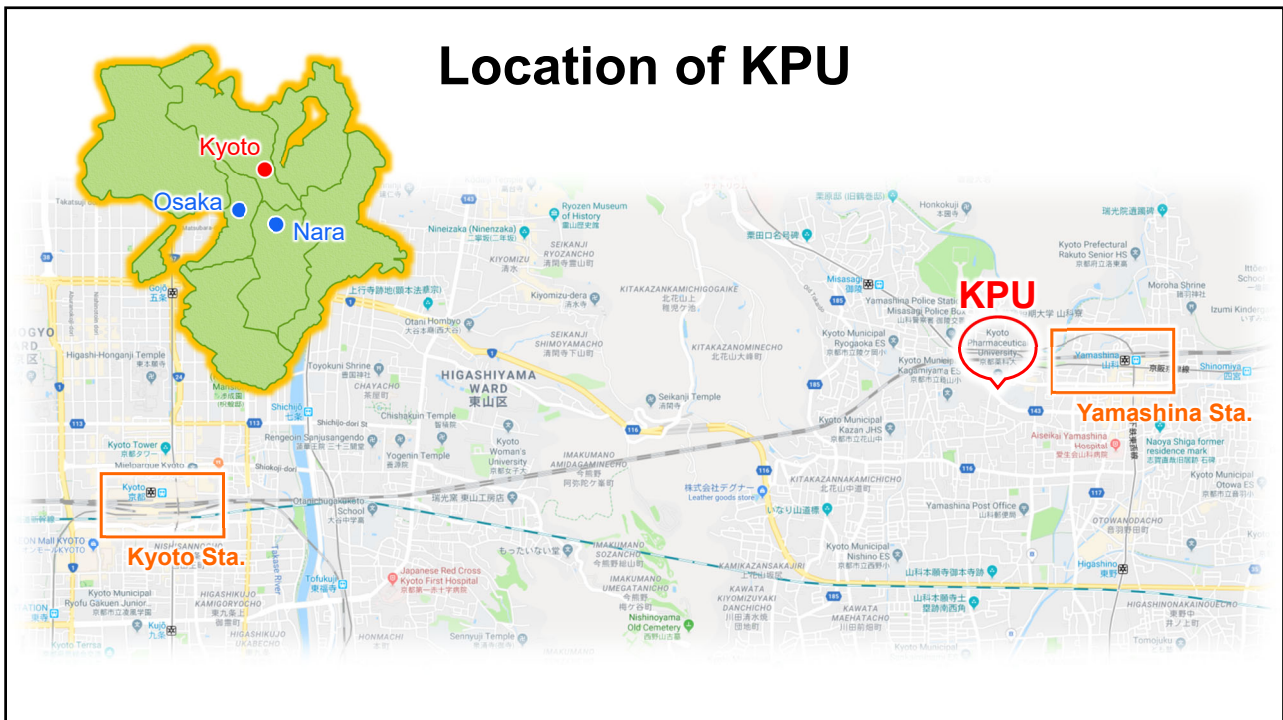
Kyoto Pharmaceutical University, Kyoto, Japan

1



2

## Location of KPU

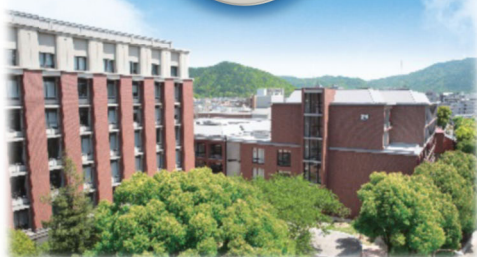


3

## KPU - Kyoto Pharmaceutical University

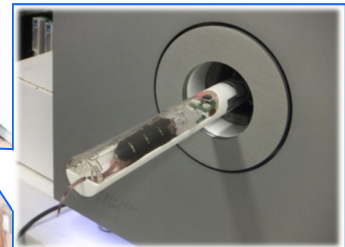


**Dr. Rudolf Lehmann**



### **Philosophia et Praktikos**

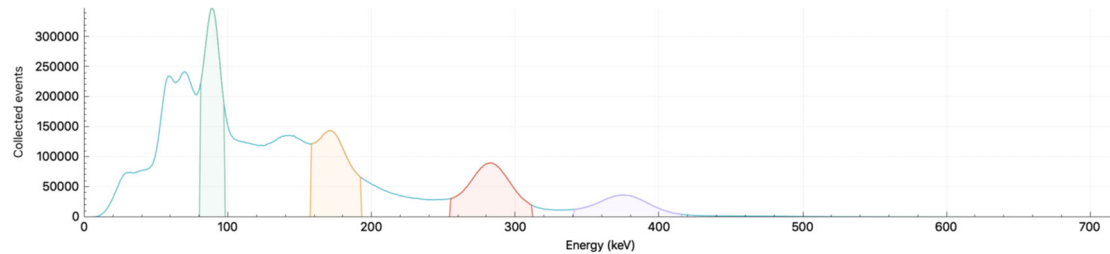
to be independent and self-reliant,  
to commit to lifelong learning, and  
to put the lessons into practice.



**Radioisotope  
Research Center**

4

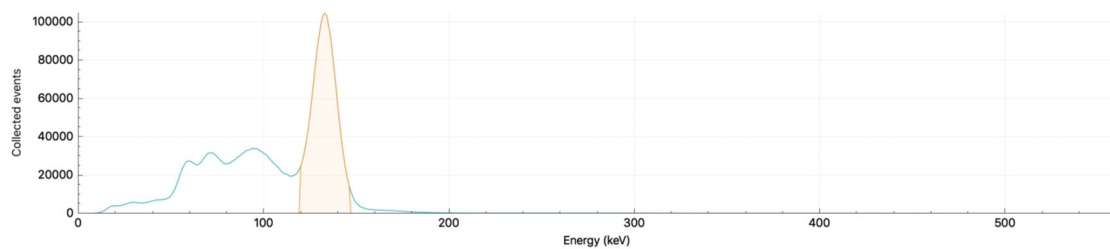
## Setting of Energy Windows ( $^{67}\text{Ga}$ )



	Lower limit		Peak		Upper limit		Isotope
1	157.5 keV	10 %	175 keV	10 %	192.5 keV		Ga-67
2	254.7 keV	10 %	283 keV	10 %	311.3 keV		Ga-67
3	340.2 keV	10 %	378 keV	10 %	415.8 keV		Ga-67
4	80.1 keV	10 %	89 keV	10 %	97.9 keV		Ga-67

5

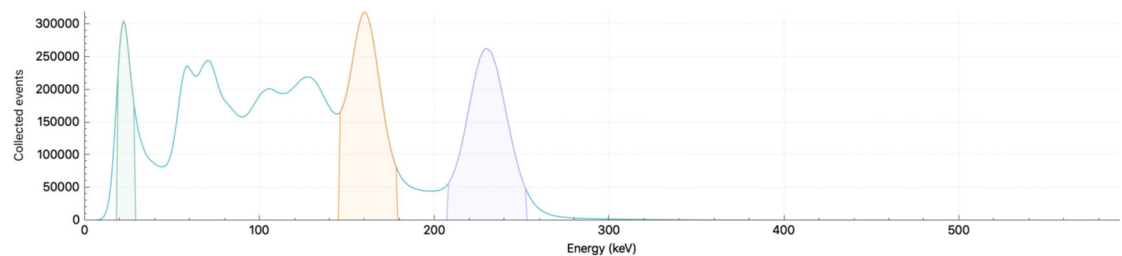
## Setting of Energy Windows ( $^{99\text{m}}\text{Tc}$ )



	Lower limit		Peak		Upper limit		Isotope
1	119.7 keV	10 %	133 keV	10 %	146.3 keV		Tc-99m

6

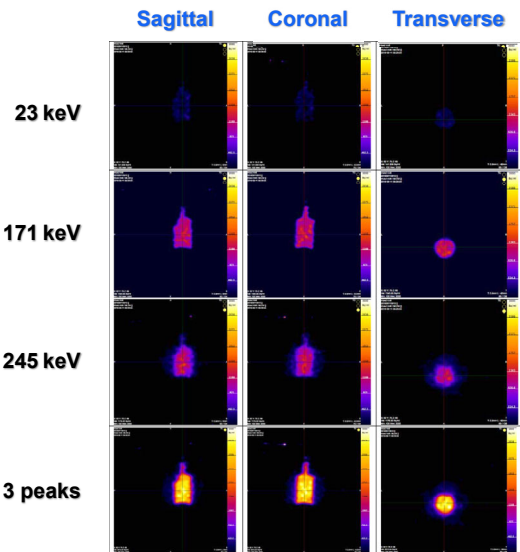
# Setting of Energy Windows (<sup>111</sup>In)



	Lower limit		Peak		Upper limit	Isotope
1	145.8 keV	10 %	162 keV	10 %	178.2 keV	In-111
2	207 keV	10 %	230 keV	10 %	253 keV	In-111
3	18.4 keV	20 %	23 keV	25 %	28.75 keV	In-111

7

# Phantom Images (<sup>111</sup>In)



5 MBq of <sup>111</sup>In in syringe phantom  
Acquisition time: 60 min

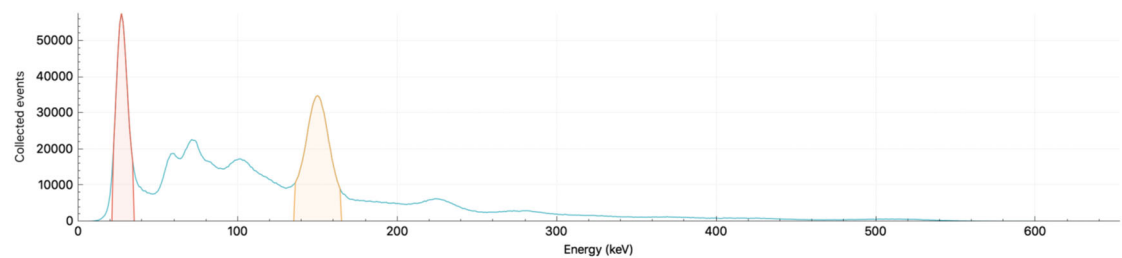
Voxel value

23 keV	171 keV	245 keV	3 peaks
—	1318	1208	2558

8

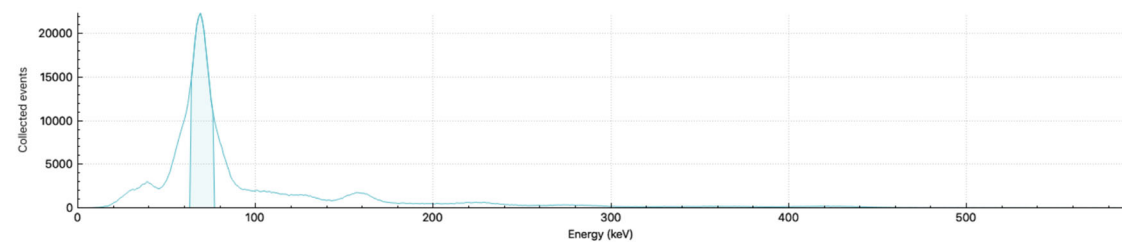


# Setting of Energy Windows (<sup>123</sup>I)



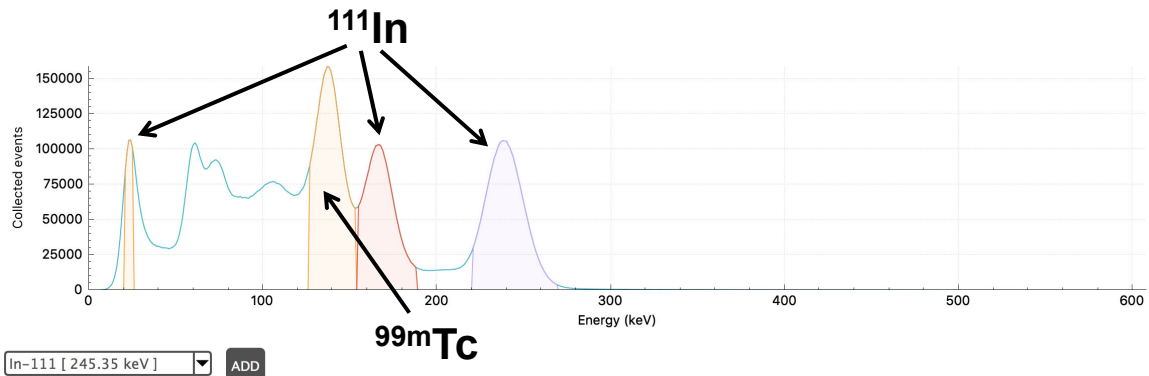
	Lower limit		Peak		Upper limit	Isotope
1	135 keV	10 %	150 keV	10 %	165 keV	I-123
2	21.92 keV	20 %	27.4 keV	25 %	34.25 keV	I-123

# Setting of Energy Windows (<sup>201</sup>Tl)



	Lower limit		Peak		Upper limit	Isotope
1	63 keV	10 %	70 keV	10 %	77 keV	Tl-201

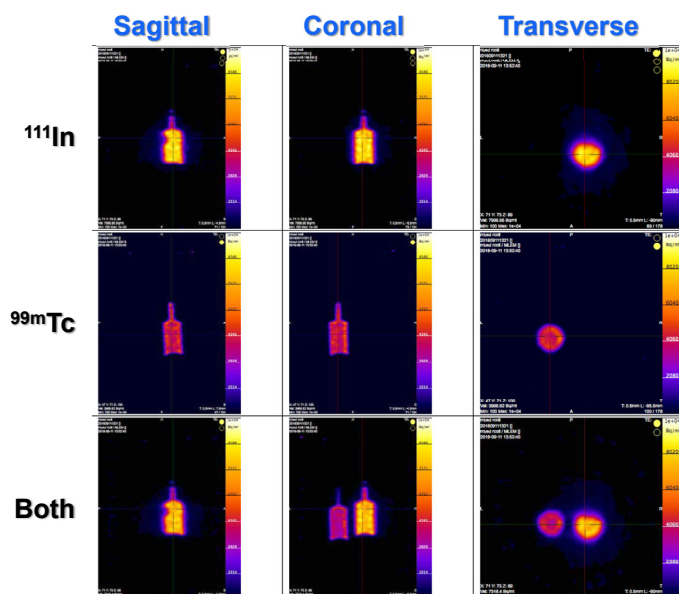
## Distinction of Energy Spectrums ( $^{99m}\text{Tc}$ and $^{111}\text{In}$ )



	Lower limit		Peak		Upper limit	Isotope
1	126.46 keV	10 %	140.511 keV	9 %	153.157 keV	Tc-99m
2	20.7 keV	10 %	23 keV	10 %	25.3 keV	In-111
3	154.152 keV	10 %	171.28 keV	10 %	188.408 keV	In-111
4	220.815 keV	10 %	245.35 keV	10 %	269.885 keV	In-111

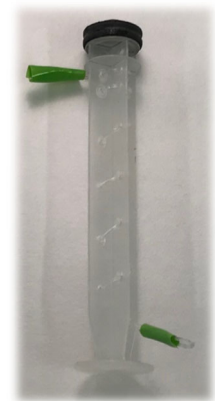
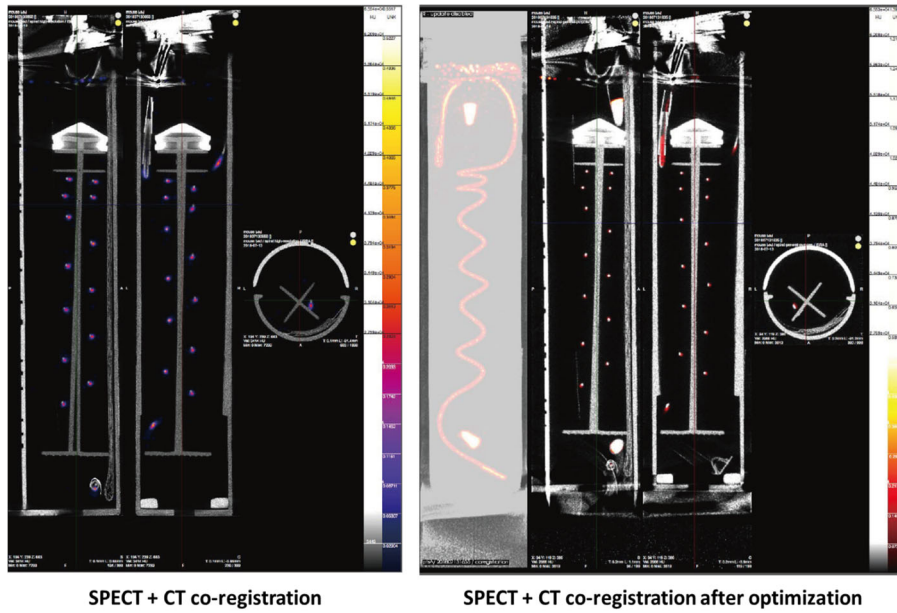
11

## Dual Imaging ( $^{99m}\text{Tc}$ vs. $^{111}\text{In}$ )



12

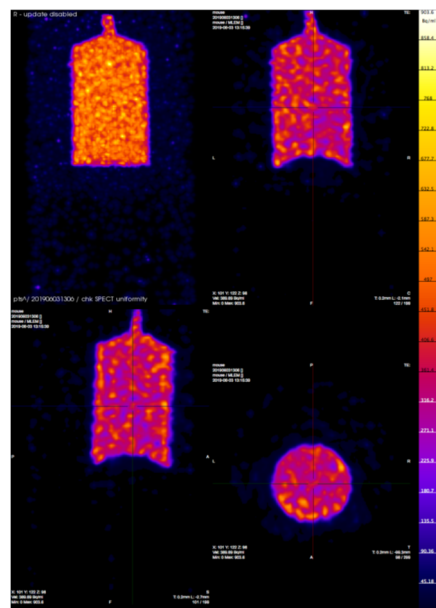
## Co-registration



Spiral-tube phantom  
(diameter: 0.28 mm)

13

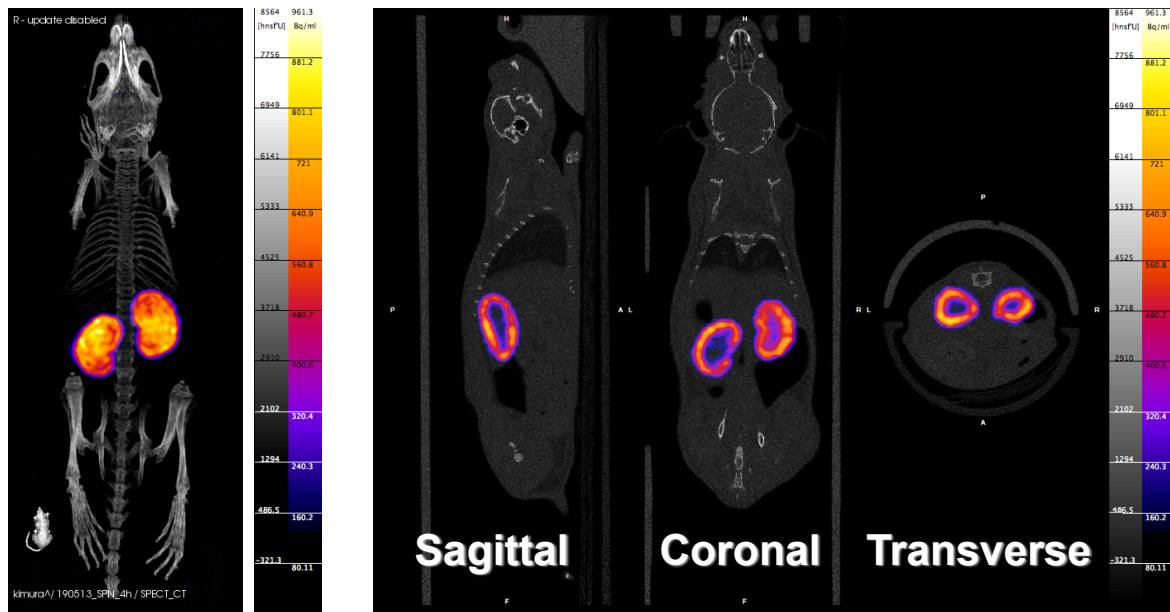
## Uniformity



10 MBq of  $^{99m}\text{Tc}$  in syringe phantom  
Iteration: 10

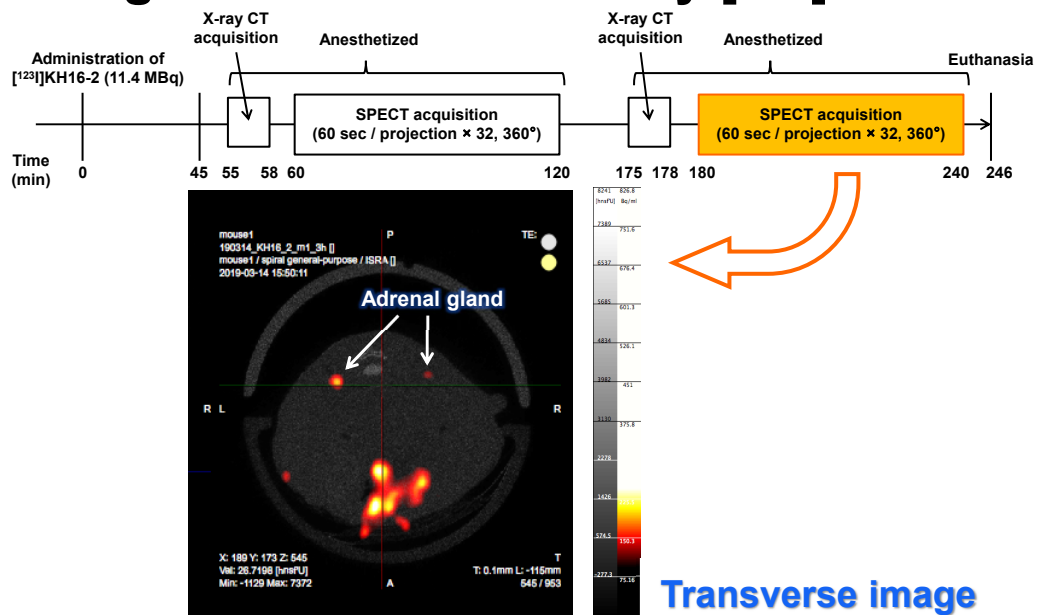
14

## Image of Renal Cortex by $^{111}\text{In}$ -labeled PAMAM



15

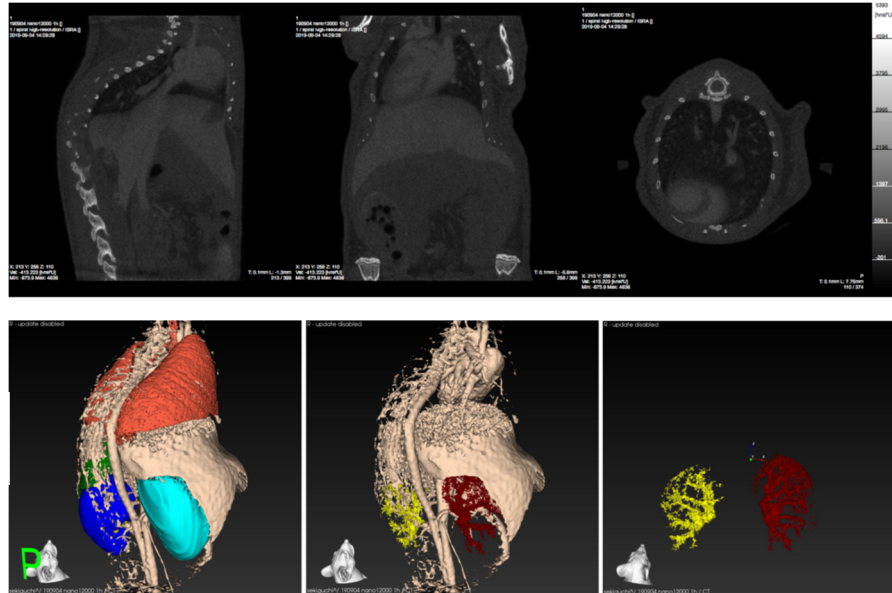
## Image of Adrenal Gland by $^{123}\text{I}$ ]KH16-2



16

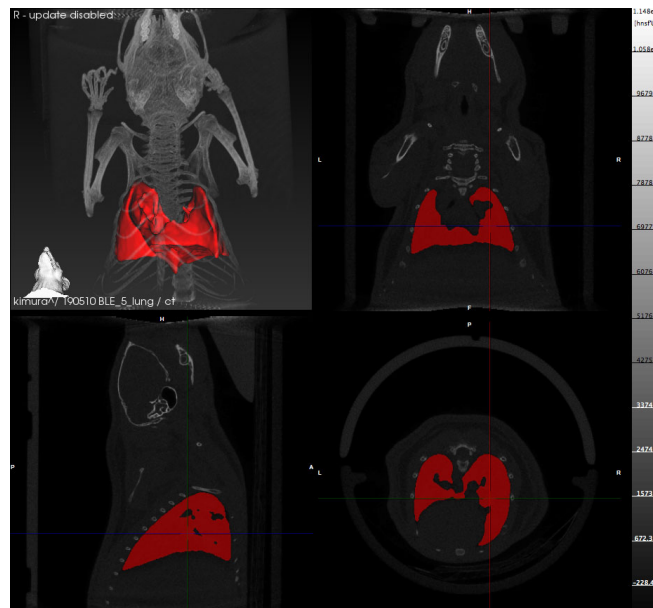
## CTA with ExiTron™ nano12000

Visualization of  
pulmonary vessels



17

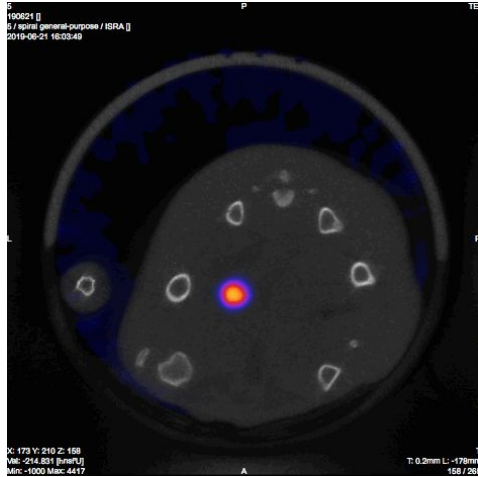
## Measurement of Lung Volume from CT image



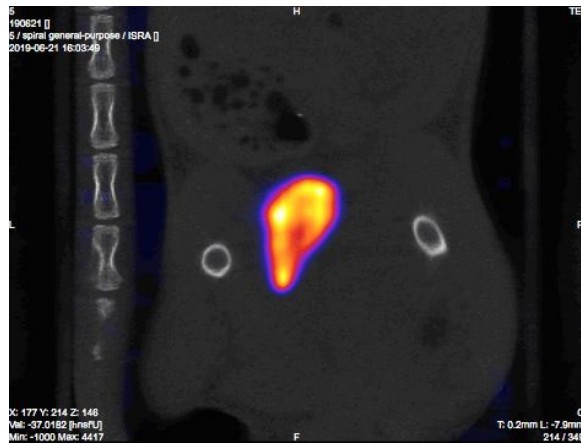
18



## Image of Inflammation by $^{67}\text{Ga}$ -labeled compound



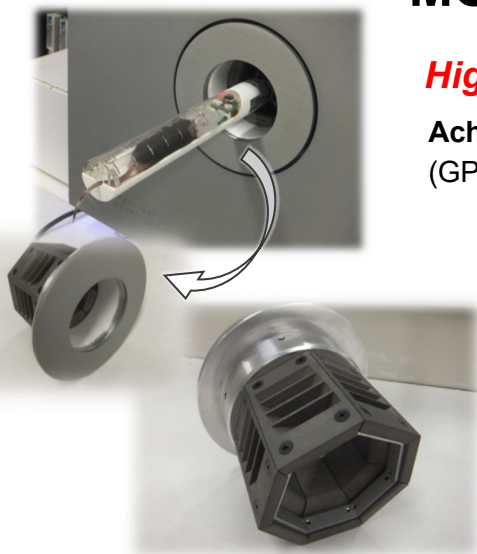
Transverse



Coronal

19

## Development of New Collimators with MOLECUBES



### *High-resolution collimator*

Achievement of spatial resolution:  $250 \mu\text{m} \pm 50 \mu\text{m}$   
(GP mouse collimator  $500 \mu\text{m}$ )

→ Improve the imaging resolution in specific mouse brain applications using  $^{123}\text{I}$ -labeled tracers

First prototype ready – testing at MOLECUBES HQ  
Evaluation of the prototype by KPU

Feedback to *High-energy collimator*

Imaging of  $\gamma$ -emitters up to 600 keV

20

Group Period	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
1	1 H																	2 He
2	3 Li	4 Be										5 B	6 C	7 N	8 O	9 F	10 Ne	
3	11 Na	12 Mg										13 Al	14 Si	15 P	16 S	17 Cl	18 Ar	
4	19 K	20 Ca	21 Sc	22 Ti	23 V	24 Cr	25 Mn	26 Fe	27 Co	28 Ni	29 Cu	30 Zn	31 Ga	32 Ge	33 As	34 Se	35 Br	36 Kr
5	37 Rb	38 Sr	39 Y	40 Zr	41 Nb	42 Mo	43 Tc	44 Ru	45 Rh	46 Pd	47 Ag	48 Cd	49 In	50 Sn	51 Sb	52 Te	53 I	54 Xe
6	55 Cs	56 Ba	57 La	72 Hf	73 Ta	74 W	75 Re	76 Os	77 Ir	78 Pt	79 Au	80 Hg	81 Tl	82 Pb	83 Bi	84 Po	85 At	86 Rn
7	87 Fr	88 Ra	89 Ac	104 Rf	105 Db	106 Sg	107 Bh	108 Hs	109 Mt	110 Ds	111 Rg	112 Cn	113 Nh	114 Fl	115 Mc	116 Lv	117 Ts	118 Og
				58 Ce	59 Pr	60 Nd	61 Pm	62 Sm	63 Eu	64 Gd	65 Tb	66 Dy	67 Ho	68 Er	69 Tm	70 Yb	71 Lu	
				90 Th	91 Pa	92 U	93 Np	94 Pu	95 Am	96 Cm	97 Bk	98 Cf	99 Es	100 Fm	101 Md	102 No	103 Lr	

Metal					
Alkali metal	Alkaline earth metal	Lanthanide	Actinide	Transition metal	Post-transition metal
Metalloid	Nonmetal			Unknown chemical properties	
	Polyatomic nonmetal	Diatomic nonmetal	Noble gas		

## Establishment of Theranostics



## 本事業を振り返って

京都薬科大学 副学長 赤路健一

本事業では、受容体特異的画像化研究進展に必須の先端的研究基盤整備と個別標的受容体に関する研究を並行して実施した。本事業報告にその詳細を記載しているが、以下にその戦略的位置付けをまとめたい。まず本事業開始に先立って重点的に推進された研究基盤形成に触れたのち、個別受容体研究について述べる。

### 1. セラノスティクス研究の推進に向けた先端のイメージング研究基盤の形成

生命活動に関わる様々な分子の動態や相互作用を同時に可視化・追跡できる技術は、生体から抽出できる情報量を飛躍的に増大させる。このような画像化手法として現在主に利用されているのは、光学的手法と放射線を用いる手法である。このうち、放射線を利用した画像化手法は感度や特異性、治療への直接的応用などの様々な点で大きな利点を有している。しかし、放射線化学を専門としない研究者がストレスなく利用できる施設や研究手法の提供が十分とは言えず、放射線利用を基盤とする放射線セラノスティクス（radio-theranostics）研究が十分に普及しているとはいいがたいのが本事業開始前の状況であった。将来性に富みかつ研究環境整備が不十分な放射線化学を基盤とする研究課題を本学における戦略的研究課題の一つとすることを目指し、臨床施設を持たない大学での利用が容易な先端の画像化装置である小動物用 SPECT/CT 装置（ベルギー Molecubes 社製  $\gamma$ -CUBE および X-CUBE）を日本で初めて導入し、その活用による radio-theranostics 研究の多様な展開が可能な研究基盤を整備した。この整備によって初めて、国際共同研究（ドイツ、ベルギーなど）に基づく撮像条件の最適化、 $\gamma$ -CUBE 専用の高エネルギー用コリメータの開発、次世代高感度ガンマ線 3D カメラ（Electron-tracking compton gamma-ray camera;ETCC）の開発を本事業によって進めることができた。事業開始に先立って大学支援によって行われたこれら新鋭機器の整備と放射性同位元素研究センターで利用可能な核種の拡充がなければ本事業推進は不可能であった。

### 2. がんセラノスティクスを目指した化合物創製とイメージング研究

京都薬科大学では前立腺がん、乳がん、肺がん、膵がんなどを対象として、実用的セラノスティクスプローブの開発を進めてきた。これらの基盤的研究成果を本事業で実施した受容体選択的画像診断法に適用することで、gefitinib 等の分子標的抗がん薬による重篤な副作用が予想される患者を治療前に選別し、副作用を回避しつつ的確な治療戦略決定を行う次世代治療が視野に入ってきた。また、予後不良腫瘍の代表例である神経膠腫（グリオーマ）などの一部のがんにおいて高発現している特定の受容体を標的とした画像化が可能になった。これ

らの研究では、本事業で導入した SPECT 撮像を利用したモデルマウスでの体内分布および腫瘍への集積確認が研究進展に必須であった。すなわち、本事業成果によって治療用放射性核種を導入した核医学治療用の薬剤開発が具体化されてきた。

さらに、上記の radio-theranostics 研究手法を基盤とする受容体選択的画像化研究により Notch 受容体を標的とする挑戦的研究を実施した。本受容体は難治性の小細胞肺がんの発症と悪性化に深く関わっていることが知られているが、本受容体を標的とする画像化手法はこれまで全く報告されていなかった。本事業では、Notch 受容体の構造解析をもとにリガンド候補薬剤を設計し核医学治療薬剤のシーズとなり得るリガンド誘導体を見出すことに初めて成功した。これらの研究成果は、Notch 受容体を標的とする内用療法に基づく全く新たな難治性腫瘍治療法の開拓の基盤となるものである。

### 3. iPS 細胞技術との融合によるパーキンソン病の病態解明

パーキンソン病は脳幹上端にある中脳の神経細胞（ドーパミン作動性ニューロン）が減少していく難治性疾患で、神経細胞死領域に特定のたんぱく質凝集体が出現する。この凝集体はパーキンソン病の診断・治療における有望な標的分子と考えられている。本事業研究の成果から、本凝集体のマウス線条体における組織学的解析が SPECT 装置を用いたイメージング研究により可能ではないかとの着想を得た。本画像化により、線条体から離れた部位である黒質や大脳皮質まで凝集体が拡散していることを初めて明らかにし、病態解明に向けたヒト脳モデルの作製を進めることができた。すなわち、iPS 細胞から線条体と黒質のニューロスフェアを誘導しお互いを融合させる条件を至適化させた *in vitro* 脳モデルを作製し、凝集体の伝播・凝集および毒性発現過程を画像解析できる研究基盤を整備した。

以上に概説した本事業成果は、いずれも放射性核種を利用した画像化研究によって初めて可能になったものである。すなわち、京都薬科大学が全学を挙げて取り組んできた研究基盤形成が本ブランディング事業によってそれぞれの研究事業に戦略的に活用され、新たな研究テーマとして飛躍的に研究が進展したことによって得られた成果である。本ブランディング事業が終了したのちも、これらの研究基盤の戦略的活用によりこれまでにない研究領域を創製し、新たな radio-theranostics 研究を推進することが本学の使命であると考えている。

これまでご支援いただいた関係各位のご協力を今後とも賜りますことをお願いして本事業総括とさせていただきます。引き続きどうぞよろしくお願い申し上げます。