

第1回 重点戦略中核拠点形成 -可視化と個別化医療- シンポジウム

The First Symposium on Strategy for Personally Engineered Confirmative Therapy (SPECT)

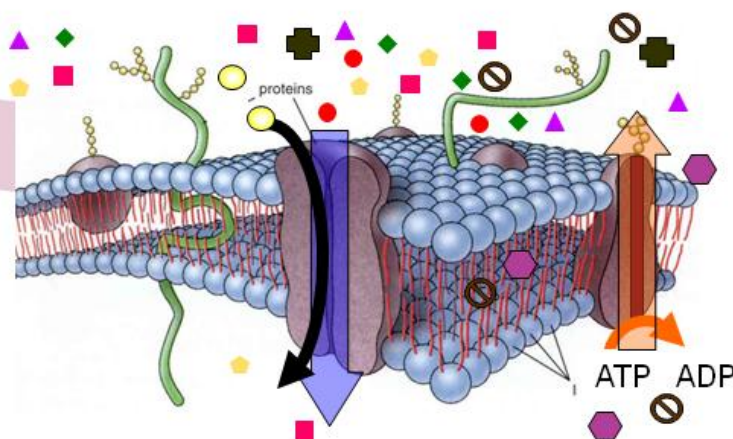
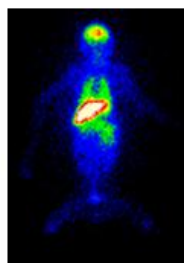
主催

中核的教育研究拠点形成、医薬保工連携・融合医科学班



日時：10月14日（水） 12：50-17：30

場所：自然科学講義棟 203号室



第1回 重点戦略中核拠点形成シンポジウム ―可視化と個別化医療―

プログラム

- 12:50 **開会の挨拶**
玉井 郁巳 (医薬保健研究域薬学系)
- 13:00 **ターゲッティングコンファーマティブ個別化医療
―重点戦略プロジェクトの概要―**
川井 恵一 (医薬保健研究域保健学系) (座長 玉井)
- 13:25 **胃がんは光る ―がん特異的ヘムポルフィリン代謝の検討―**
松井 裕史 (筑波大学大学院人間総合科学研究科) (座長 中西)
- 13:50 **遺伝子治療の可視化**
柴 和弘 (学際科学実験センター) (座長 中西)
- 14:15 **ナノゲルによるオリゴ核酸デリバリー**
長崎 幸夫 (筑波大学学際物質科学センター) (座長 中西)
- 14:40 休憩
- 15:00 特別講演
Ramipril metabolism and disposition in light of drug-drug interactions; Investigations into possible mechanisms.
Thomas Ebner (Boehringer Ingelheim, Germany) (座長 玉井)
- 16:00 休憩
- 16:15 **抗体による疾患ターゲッティング** (座長 川井)
増保 安彦 (東京理科大学薬学部)
- 16:40 **がんターゲッティングとトランスポーター** (座長 川井)
中西 猛夫 (医薬保健研究域薬学系)
- 17:05 **マウス蛍光イメージングの可能性と利用について** (座長 川井)
三輪 佳宏 (筑波大学生命科学動物資源センター)
- 17:30 **閉会の挨拶**
田中 志信 (理工研究域機械工学系)
-

はじめに

**医薬保健研究域薬学系 薬物動態、
重点戦略中核的教育拠点形成 医薬保工連携・融合医科学研究班 代表 玉井 郁巳**

本シンポジウムは、金沢大学重点戦略経費の中核的教育研究拠点形成種目に採択された、申請題目、「生体機能イメージング技術のターゲティング個別化医療への展開 ―医薬保工連携による融合医科学の創出―」という研究事業の一環として計画しました。本事業では、「患者個々について、副作用を最小化し、治療効果を最大限に発揮させる診断・治療法（Targeting Confirmative Therapy）」の実現を目標としています。本目的を達成するために、

- （１）イメージング技術と医薬分子のターゲティング（DDS）技術による、医薬分子の病巣・正常部位への集積性の可視化、
 - （２）イメージングによる医薬分子体内動態を解析するVisual Kineticsの樹立、
 - （３）可視化能と治療能の両機能を持たせた医薬分子のデザイン、
- を行います。これら各技術の集積により、患者個々について、医薬分子の病巣へのターゲティングの確証を行いながら治療を進める、定量的な個別化医療の実現を目指します。

以上のような新しい個別化医療の基盤は学際的であり、学内の医薬保工各分野の研究者の連携がなくして達成できないと考えています。また、この連携による成果として新しく「融合医科学」という学問分野の創成も目指します。さらに、本事業では、目的達成のために大学間での情報・技術交換の必要性も考え、現時点では筑波大学ならびに東京理科大学との三大学連携も推進しております。

このような背景・目的・組織で提案した本事業の第一回目のシンポジウムです。大きな目標ですが、この計画の推進のために皆様のご協力・ご批判をいただけますようよろしくお願いします。また、本シンポジウムを通して上記目標達成のための新しいアイデアやコラボレーションが得られることを期待しています。

医薬保健研究域保健学系 機能画像解析 川井 恵一

近年、分子標的薬剤などの有効性の高い医薬品が薬物療法に適用され始めているが、薬効や副作用に個体差が大きく、副作用のみが現れる場合もある。現状の個別化医療はもっぱら標的分子や遺伝子変異の有無といった標的組織の質的診断に基づいており、有効性の限界、副作用の問題が必ずしも回避できない状況である。真の個別化医療を実現するためには、医薬分子の体内動態を定量的に個別に評価し、標的組織のみならず副作用部位への薬剤集積量を確認することが不可欠である。金沢大学における独自性の高い生体機能イメージングは、まさにこの情報を定量的に把握し得る手法であり、その体内物流解析と生体機能計測システムに関する研究実績により、真の個別化医療を目指した独創性ある研究展開が期待できる。本重点戦略プロジェクトでは「ターゲティングコンフォーマティブセラピー」をこの次世代型個別化医療に応用するとともに、金沢大学独自の医薬保工の連携によって新しい「融合医科学」の創出を試みる。

胃がんは光る ―がん特異的ヘムポルフィリン代謝の検討―

筑波大学大学院人間科学総合研究科 消化器内科 松井 裕史

内視鏡の発達と普及によって、消化器病変の診断は長足の進歩を遂げている。近年、NBT や自家蛍光観察内視鏡が上梓され、不可視情報を加味した診断が可能な時代となった。我々は鋭敏かつ客観的な診断法として、光化学療法時のがん特異的ポルフィリン蛍光を利用した光化学診断法（PDD）の可能性について報告してきたが、この現象の機序については不明であった。今回我々は、がん固有蛍光をもたらず機序を解明すべく、がん特異的な因子である NO、HIF1、エリスロポエチン（EPO）の関与を臨床及び細胞モデルで検討した。筑波大学付属病院入院患者で、十分な説明の後に同意を得られたヒトを対象にヘマトポルフィリン誘導体（HPD）2mg/kg あるいは ALA 15mg/kg を投与し、自ら開発した蛍光内視鏡装置 SEFAS で観察し、病変部の蛍光量を測定した。これら患者の生検・手術標本を抗 iNOS 抗体、抗 HIF1 抗体、抗 EPO-R 抗体で染色し、がん部と非がん部を比較した。ラット正常胃粘膜由来培養細胞系 RGM-1 とそれを発がん物質 MNNG 投与により悪性変異させた細胞株 RGK-1 に HPD を投与し、細胞内 HPD 量を蛍光分光光度計で測定した。さらにこの現象に対する外因性 NO、EPO の効果を検討した。さらに ^{59}Fe でラベルしたヘマトポルフィリン ($^{59}\text{Fe}\text{-Hp}$) の細胞内の取り込みを比較検討した。また、両細胞系における HIF1- α の mRNA 発現量を RT-PCR で比較し、NO 投与による影響を検討した。胃がん部位に合致してポルフィリン蛍光を認め、光化学診断が有用であった。胃がん手術標本では、がん部特異的に iNOS、HIF1、EPO-R の発現増加を認めた。がん様変異株 RGK-1 は RGM-1 と比較して有意な蛍光量の増加および $^{59}\text{Fe}\text{-Hp}$ の取り込みを認め、さらにこの現象は外因性の NO、EPO によって RGK-1 でのみ増加した。RGK-1 細胞は HIF1- α の mRNA 発現量が有意に増加しており、その発現量は NO 投与により有意に増加した。胃がんならびに胃がん細胞は固有のポルフィリン蛍光を認めた。この現象は NO→HIF1→EPO というシグナル伝達によるヘム・ポルフィリンのがん特異的細胞内輸送を反映していると考えられる。

遺伝子治療の可視化

学際科学実験センター トレーサー情報解析 柴 和弘

遺伝子異常によって引き起こされる種々の病気に対して、遺伝子を標的とした遺伝子治療はその根本治療法の一つとなり得る。遺伝子治療法の開発で重要なのは1) 原因遺伝子・蛋白の発見・開発、2) 治療用遺伝子の標的部位への効率的輸送法の開発、である。また、実際に臨床応用を考えた場合、遺伝子発現状況をモニターすることは治療指針や効果判定評価にとって極めて重要である。今回、厚生労働省の特定疾患に認定されている脊髄小脳変性症の遺伝子治療研究の一環として、遺伝子を小脳の神経細胞へ供給する方法及び遺伝子が目的の小脳にどの程度発現しているか調べるための遺伝子発現の可視化の開発の検討を行った。レポーター遺伝子として小脳に存在しないドーパミン D2 受容体遺伝子を用い、それを平井らが開発した方法により、小脳のプルキンエ細胞に導入した。すなわち、マウスから精製した D2R 遺伝子を組み込んだレンチウィルスを C57/B6J 系マウスの小脳上部のクモ膜下腔にレンチウィルスを投与することにより導入した。放射性リガンドとして ^{125}I -IBF を用い、ワイルドマウスおよび D2R 遺伝子導入モデルマウスに投与し、その脳内における集積の様子を調べた。D2R 遺伝子導入モデルマウスにおいて導入部分である小脳に特異的な高い集積を認めた。これは、蛍光免疫染色法によって得られた D2R の画像と一致した。以上の結果から、放射性医薬品を用いた可視化による遺伝子治療のモニタリングの可能性が広がった。今後はレポーター遺伝子と放射性医薬品の工夫により、臨床的に安全性の高いモニタリング方法の開発を進めて行く必要がある。

ナノゲルによるオリゴ核酸デリバリー

筑波大学学際物質科学研究センター バイオマテリアル 長崎 幸夫

配列特異的な遺伝子発現抑制効果を示す siRNA は難治性疾患に対する新規治療薬として注目を集めているものの、全身投与による治療効果の向上には標的組織へのデリバリーシステムの確立が必要不可欠である。プラスミッド DNA のような高分子量のポリアニオンに対してはカチオン性ポリマー、リポソームとの静電相互作用から成るイオンコンプレックスがキャリアーとして利用され全身投与系への適用も検討されているが、塩基対が 21 から 27 程度の短い siRNA との静電相互作用を介した自己組織化コンプレックスの血中安定性が必ずしも高くなく、疾病部に到達する前に解離、分解してしまうことが大きな問題である。我々は確実に血中を滞留しうる材料設計の第一歩として、100nm のポリアミンゲルコアとポリエチレングリコール (PEG) シェル層から成るナノゲル粒子を設計し siRNA との複合安定化を検討してきた。ナノゲル/siRNA 複合体は架橋ポリアミン構造によりキャリアーの解離が抑制されるため PEG-ポリカチオンブロック共重合体を用いた場合より高い安定性、とともに高い標的遺伝子の発現抑制効果を示した。さらにコアアミノ基を四級化したナノゲルにおいては、四級化率の上昇に伴い siRNA の細胞内取り込み量は著しく上昇し、細胞毒性はむしろ低下する傾向にあることがわかった。さらに興味深いことに、高 N/P 比において遺伝子発現抑制効果は四級化度 10%において最大に達した。これは静電相互作用の安定化とともに、コアに残存する三級アミノ基に由来するプロトンスポンジ効果（バッファー効果）が効果的に働いた結果であると推測される。

Ramipril metabolism and disposition in light of drug-drug interactions; Investigations into possible mechanisms.

Boehringer Ingelheim, Biberach, Dept. of Drug Metabolism and Pharmacokinetics

Director of Drug Metabolism

Thomas Ebner, Ph. D.

Biosketch

Graduate School

School of Pharmacy, University of Tübingen

PhD, Institute of Clinical Pharmacology, Stuttgart, Germany. (Mentor; Prof. M. Eichelbaum)

Thesis: CYP2D6 genetic polymorphism, mechanism of sparteine metabolism

Postdoctoral Education

University of Dundee, Dundee, UK. (Mentor; Prof. B. Burchell).

Topic: Cloning, expression and characterization of rat and human UDPGTs (exp. UGT1A1 and UGT1A9)

Research Scientist

Institute of Clinical Pharmacology, Stuttgart, Germany.

Metabolism of aprindine; formation of endogenous codeine

抗体による疾患ターゲッティング

東京理科大学薬学部 創薬ゲノム科学 増保 安彦

Paul Ehrlich (1854～1915)の提唱した治療概念“Magic bullet”は、まさに抗体によって実現されつつあるようだ。がんなどの疾患選択的なモノクローナル抗体が多く作製され、その抗体に細胞毒などを結合させた制がん剤や放射性同位元素を結合させた診断薬が開発されつつある。疾患組織へのターゲッティングは大いに期待されるところだが、実際には大きな課題に阻まれている。例えば、抗体は腫瘍塊だけでなく、肝臓や腎臓にも蓄積するし、腫瘍塊の内部への浸透性もよくない。こうした課題を克服するために抗体分子が徹底的に改変されている。我々は抗体分子を改変し、そのエフェクター活性を増強させることができた。その実績を踏まえて、抗体による疾患ターゲッティングについて述べる。

がんターゲティングとトランスポーター

金沢大学医薬保健研究域薬学系 薬物動態学 中西 猛夫

生体膜トランスポーターは、細胞の生存に欠かせない栄養素の摂取、あるいは、毒性物質を体外へと排出するなど、生体膜での物質の交換に重要な役割を果たしている。これまでの生体膜トランスポータータンパク質のクローニングと機能解析により、薬物との相互作用が次々と明らかにされてきた。中でも、薬物を輸送するトランスポーターは一般に薬物トランスポーターと呼ばれ、その組織発現や基質認識性を含めた輸送特性は、薬物の体内動態の変動因子としてとらえられており、効果的な医薬品開発において重要な情報である。近年、これら薬物トランスポーターの発現ががん細胞や腫瘍組織で変動することが数多く報告されるようになってきた。このような背景を踏まえ、がん細胞・腫瘍組織ターゲティングの分子標的としてのトランスポーターの可能性について、述べる。

マウス蛍光イメージングの可能性と応用について

筑波大学大学院生命科学動物資源センター 分子動態可視化 三輪 佳宏

蛍光タンパク質が普及し、トランスジェニック動物を作成することによる生きたままの動物における蛍光イメージング技術の様々な応用が進められている。もしもこれまでに開発されてきた様々な有機蛍光プローブのように、特定の分子との結合の有無によって蛍光特性が変化するような「分子スイッチ」機能を蛍光タンパク質にも持たせることが可能になれば、さらに応用の幅は広がり、様々な生体環境や分子機構の解析をより詳細にかつ正確に実現できると期待される。そこで我々はこうした視点に立って、

- 1) 蛍光タンパク質そのものの分子スイッチ、
- 2) 2色の蛍光タンパク質を応用した FRET プローブ、
- 3) 制御されたタンパク質分解の応用、

という3通りの技術開発や応用に取り組んでいる。また、これと並行して新たな有機系低分子蛍光色素の開発や、in vivo イメージングに向けた生体内における低分子色素の蛍光挙動の解析なども進めている。

—生体組織における医薬分子浸透能の非破壊・3次元・連続測定に向けて—

本プロジェクトの最終目標は「Targeting Confirmative Therapy」に基づく定量的な個別化医療の実現であり、そのためには生体内における医薬分子の分布状態を定量把握（いわゆる「イメージング」）する必要がある。そしてさらにその時空間的变化から「生体機能（輸送特性）」を解析し、これを可視化（生体機能イメージング）することにより体内物流と生体機能の両者が定量把握可能となる。SPECT/CTは臓器・器官レベルにおける薬物動態を3次元的に無侵襲で連続計測可能であり、その有用性が大いに期待できる装置である。これに対して組織レベルのミクロな輸送特性、例えば組織表面からの医薬分子の浸透状態を3次元的に（特に組織の深さ方向に対して）把握するには病理標本による方法が一般的に用いられているが、リアルタイムでの連続計測はもちろん不可能で時間と手間がかかるなど難点が多い。

一方、当研究室は生体計測における光応用に関する技術的ノウハウ、特に身体を傷つけずに生体情報を取得する「無侵襲生体計測法」の新規創出と装置開発に関する豊富な技術と経験を有している。そこで本プロジェクト遂行に際して、デバイス開発を専門とする機械工学系として次のような分野での貢献を目指している。すなわち上述した「生体組織内における医薬分子のミクロ的な分布状態」を、組織を破壊することなく、かつ3次元的に連続計測可能な手法を新たに考案する。その基盤技術としては近赤外光を用いた「光干渉断層法」や特殊光を用いた「共焦点顕微鏡法」が応用可能と考えられ、当該技術の具現化を通して「ミクロレベルでの生体機能のイメージング」に寄与したいと考えている。

