

## 第 8 回 日本核医学会研究奨励賞

第 51 回日本核医学会学術総会において第 8 回日本核医学会研究奨励賞最優秀賞に上田真史氏が決まりました。

最 優 秀 賞

上 田 真 史

国立大学法人京都大学医学部附属病院

Rapid detection of hypoxia-inducible factor-1-active tumours:  
pretargeted imaging with a protein degrading  
in a mechanism similar to hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$

*European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging* 2010; 37 (8): 1566–1574 Germany

## 第 8 回日本核医学会研究奨励賞最優秀賞受賞論文要旨

Rapid detection of hypoxia-inducible factor-1-active tumours: pretargeted imaging with a protein degrading in a mechanism similar to hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$

(*European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging* 2010; 37 (8): 1566–1574 Germany)

HIF-1 存在低酸素腫瘍の早期検出法の開発：HIF-1 と同様のメカニズムで酸素濃度依存的に分解されるタンパク質を用いたプレターゲットイメージング

上田 真史<sup>1,2</sup>, 工藤 喬<sup>2</sup>, 久下 裕司<sup>2,3</sup>, 向 高弘<sup>4</sup>, 田中正太郎<sup>5</sup>, 小西 宏明<sup>2</sup>,  
宮野 梓<sup>2</sup>, 小野 正博<sup>2</sup>, 近藤 科江<sup>5</sup>, 平岡 眞寛<sup>5</sup>, 佐治 英郎<sup>2</sup>

<sup>1</sup> 京都大学医学部附属病院 RI 実験施設

<sup>2</sup> 京都大学大学院薬学研究科

<sup>3</sup> 北海道大学アイソトープ総合センター

<sup>4</sup> 九州大学大学院薬学研究科

<sup>5</sup> 京都大学大学院医学研究科

【目的】 固形腫瘍に存在する低酸素領域では、腫瘍の悪性度・治療抵抗性と密接に関連する Hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1) の発現量が増加する。HIF-1 は通常酸素領域ではプロテアソームで分解される一方、低酸素領域では分解されず安定に存在する性質を有することから、本研究では腫瘍内の HIF-1 発現領域の存在を検出するために、HIF-1 の分解制御に関与する酸素依存的分解ドメイン (Oxygen-dependent degradation domain; ODD) を母体として用いた放射性プローブを開発することを計画した。ODD に膜透過ペプチド (Protein transduction domain; PTD) を結合させて細胞膜透過能を向上させるとともに、この PTD-ODD プローブを投与して通常酸素領域での分解・消失と低酸素領域への分布が完了した後に放射性プローブを投与し、低酸素領域に存在する PTD-ODD プローブにインビボで選択的に結合させる「プレターゲット法」を用いてイメージングする方法を考案した。インビボでの結合には、結合親和性・特異性が高いストレプトアビジン・ビオチン系を利用することとし、PTD-ODD にストレプトアビジン単量体 (SAV) を結合させた融合タンパク質 PTD-ODD-SAV (POS) を構築し、後から投与する放射性プローブとしてビオチン誘導体 (3-<sup>125</sup>I-iodobenzoyl)norbiotinamide (<sup>125</sup>I-IBB) を設計・合成した。

【方法】 POS の <sup>125</sup>I 標識体を作製し、それを 20% O<sub>2</sub> と 0.1% O<sub>2</sub> で腫瘍細胞に処置して細胞内に蓄積した放射能を測定することにより、POS の酸素依存的分解を評価した。体内放射能分布は、担がんマウスに POS または生理食塩水を静脈投与し、24 時間後に <sup>125</sup>I-IBB を静脈投与して臓器摘出法およびプランナー撮像により調べた。<sup>125</sup>I-IBB の腫瘍集積と HIF-1 活性との関係は、HIF-1 依存的ルシフェラーゼ発現腫瘍細胞を移植した担がんマウスに POS をプレターゲットし、24 時間後に <sup>125</sup>I-IBB を投与してその集積と発光量を比較することによって評価した。また、腫瘍の薄切標本を作製してオートラジオグラフィを行い、放射能の腫瘍内局在を HIF-1 免疫組織化学染色と比較した。

【結果と考察】 細胞取り込み実験において、0.1% O<sub>2</sub> で培養した細胞は 20% O<sub>2</sub> の場合の 2 倍以上の有意な放射能集積を示し、POS が低酸素環境下では分解されずに細胞内に残存することが示された。体内分布実験の結果、POS 非投与群では <sup>125</sup>I-IBB は腫瘍から速やかに消失したが、プレターゲット群では <sup>125</sup>I-IBB 投与 6 時間後で非投与群の 30 倍以上の腫瘍放射能集積を認め、その値は <sup>125</sup>I-IBB と POS の直接結

合体 ( $^{125}\text{I}$ -IPOS) の投与 24 時間後と同等であった。プランナー撮像の場合も同様に、プレターゲット群では投与からイメージングまでの時間を  $^{123}\text{I}$ -IPOS 投与の場合に比べて 1/4 に短縮することができ、核医学イメージングに用いられる短半減期放射性核種に対応できる時間内に画像化を可能とすることを認めた。また、POS プレターゲット群の腫瘍への放射能集積は、腫瘍内 HIF-1 活性と有意な正の相関を示すとともに、オートラジオグラフィによる腫瘍内放射能分布が HIF-1 免疫染色陽性領域と一致し、放射能集積が HIF-1 存在量を反映していることを認めた。

**【結論】** HIF-1 存在低酸素領域の早期検出のために POS のプレターゲットと  $^{123}\text{I}$ -IBB を用いる方法を開発し、その有効性を明らかとした。