

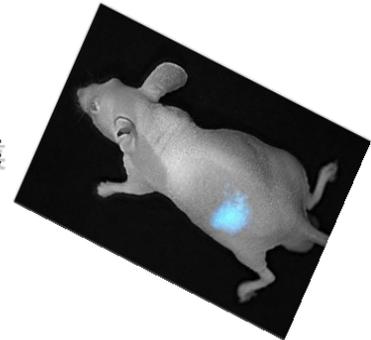
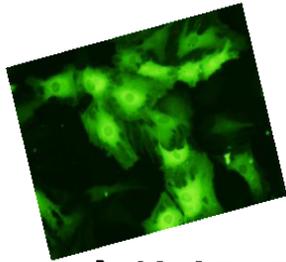
私立大学戦略的研究基盤形成支援事業シンポジウム2010

病態解明から治療開発に向けた バイオイメージング研究

平成 22 年 6 月 4 日

自治医科大学

共催：放射線医学総合研究所



自治医科大学
私立大学戦略的研究基盤形成支援事業
シンポジウム 2010

病態解明から治療開発に向けた バイオイメーjing研究

日時:平成22年6月4日(金)13:15～

場所:自治医科大学 地域医療情報研修センター中講堂

共催:独立行政法人 放射線医学総合研究所

開会の挨拶 (13:15～13:20) 高久 史麿 自治医科大学 学長
共催者挨拶 (13:20～13:25) 米倉 義晴 独立行政法人 放射線医学総合研究所 理事長
イントロダクション (13:25～13:30) 高橋 将文 自治医科大学 バイオイメーjing研究部

シンポジウム 第1部 13:30～15:35

司会 坂田洋一・古川雄祐

各種AAVベクター標的組織特異性のin vivo解析
高磁場MRIによる分子イメーjingへの取り組み
新規肺がん原遺伝子の発見と
疾患モデル動物を用いた治療実験

腫瘍分子標的イメーjing法と
内照射療法の開発研究

NOD/SCIDマウスの体内における株化ヒト
がん細胞の臓器特異的転移の発光イメーjing

水上 浩明 (自治医科大学 遺伝子治療研究部)

青木 伊知男 (放射線医学総合研究所 先端生体計測研究グループ)

間野 博行 (自治医科大学 ゲノム機能研究部)

辻 厚至 (放射線医学総合研究所 分子病態イメーjing研究グループ)

村上 孝 (自治医科大学 バイオイメーjing研究部)

シンポジウム第2部 16:00～17:40

司会 小澤敬也・矢田俊彦

視床下部によるエネルギー・骨代謝調節
脳機能を調べるための分子プローブの研究開発
分子イメーjingで見た脳の機能とその異常
GFPを用いたカルシウムセンサーによる
細胞活動の可視化

中田 正範 (自治医科大学 統合生理学部門)

菊池 達矢 (放射線医学総合研究所 分子認識研究グループ)

須原 哲也 (放射線医学総合研究所 分子神経イメーjing研究グループ)

中井 淳一 (埼玉大学 脳科学融合研究センター)

閉会の挨拶 (17:40～17:45) 桃井眞里子 自治医科大学 医学部長



18:00～19:00

懇親会 (西洋堂)

自治医科大学 バイオイメーjing・シンポジウム
プログラム事務局

自治医科大学 分子病態治療研究センター
バイオイメーjing 研究部

〒329-0498 栃木県下野市薬師寺3311-1
TEL:0285-58-7446; FAX: 0285-44-5365

各種 AAV ベクター標的組織特異性の *in vivo* 解析

自治医科大学
分子病態治療研究センター
遺伝子治療研究部
水上 浩明

アデノ随伴ウイルス(AAV)ベクターは安全で有用性が高いことから、遺伝子導入実験のみならず数多くの遺伝子治療臨床研究において用いられている。近年様々な血清型が見出されたことから更に選択肢が広まり、それぞれの特徴が明らかにされつつある。我々は合理的な治療法開発の一環として、様々な血清型に由来するベクターの組織特異性を検討してきた。このような研究においては導入遺伝子の発現状況に関する組織学的な解析が主な手法であり、遂行上様々な制約があったが、*in vivo* イメージング法の導入により、繰り返し、かつ簡便に発現状況をモニターすることが可能になった。今回は特に顕著な効果が見られた例として、骨格筋及び肝臓を標的とした遺伝子導入実験における IVIS を用いた発現状況の解析ならびに新生仔マウスに認められた発現の特徴などにつき紹介したい。

高磁場 MRI による分子イメージングへの取り組み

独立行政法人放射線医学総合研究所
分子イメージング研究センター
青木 伊知男

高磁場 MRI を用いた分子イメージング研究の手法として、数多くの有望な技術開発が行われているが、我々が注目する分野としては、1) 機能性を持つ造影剤の開発、2) 薬剤送達システム (DDS) などナノ粒子を用いた標的化・複合化、3) 多核種 MRI と化学シフトイメージング、4) 新規パルスプログラムや解析手法の開発や適用拡大等があり、これらは5) ハードウェアの開発・改良による高感度化・高空間分解能化・定量化と平行して飛躍的な発展を見せている。最近、イメージング技術は、DDS の可視化、いわゆる薬剤送達イメージング (DDI) あるいは Theragnosis (Theragnosis) と言われる治療と可視化を同時に実施する技術の実現に向けて歩みつつある。MRI は、非侵襲性に加えて、高い空間分解能や軟部組織コントラストなど多くの利点があり、また臨床現場に幅広く普及している等、今後、難病複雑系の解明に基礎研究から臨床まで、大きく貢献する潜在性を有している。

従来の MRI 造影剤は、安全面での改善に主眼が置かれてきたが、一方で、肝腫瘍の検出ではクッパー細胞の取り込みの差を利用した酸化鉄ナノ粒子造影剤やビリルビン代謝の機序を利用したガドリニウム造影剤など、徐々に機能性をもつ造影剤が登場し、臨床応用されつつある。また、最近の基礎研究においては、様々な機能性を持つ造影剤、例えば Ca^{2+} チャネル活動性の高い組織に集積するもの¹、酵素や pH に反応して造影効果に変化するもの²、治療効果を併せ持つもの、マルチモダリティに対応するものなど、「センサー」や治療の特徴を持つ造影剤の報告数が増大している。さらに、多くの機能画像の選択肢、例えば微小血管造影、微小循環の定量計測、水分子拡散係数の定量計測、組織緩和時間の定量計測、ヘモグロビン代謝など、が開発・実用化された結果、造影剤センサーによる情報や治療効果、微細な形態情報、多彩な機能情報の全てを同じ個体で、非侵襲的に取得することが可能となりつつある。

放医研の分子イメージング研究センターは 2005 年に設立され、多くの研究機関と連携して研究を遂行している。本講演では、我々が取り組んでいる研究から、主にナノ・キャリアを高磁場 MRI に適用した例として、1) リポソームによる研究、2) フラーレンによる研究、3) 量子ドットによる研究³を中心にご紹介し、最近の動向を概観したい。国内においては、人材育成の観点からも高磁場 MRI の利用環境は未だ十分とは言えないが、今後、多くの分野からのニーズや基盤技術と連携することで、研究が活性化し展開することを期待したい。

参考文献

1. Aoki, I., Wu, Y. J., Silva, A. C., Lynch, R. M. & Koretsky, A. P. In vivo detection of neuroarchitecture in the rodent brain using manganese-enhanced MRI. *Neuroimage* 22, 1046-1059 (2004).
2. Louie, A. Y. et al. In vivo visualization of gene expression using magnetic resonance imaging. *Nat Biotechnol* 18, 321-325, doi:10.1038/73780 (2000).
3. Bakalova, R., Zhelev, Z., Aoki, I. & Kanno, I. Designing quantum dot probes. *Nat Photonics* 1, 467-469 (2007).

新規肺がん原遺伝子の発見と疾患モデル動物を用いた治療実験

自治医科大学
分子病態治療研究センター
ゲノム機能研究部
間野 博行

我々は高感度レトロウイルス cDNA ライブラリーによる機能スクリーニング法を新たに開発し、これを用いて肺腺がん検体から新しい融合型がん遺伝子 EML4-ALK を発見することに成功した

(Nature 448:561)。これは肺がん細胞内において染色体転座が生じた結果、ALK チロシンキナーゼの酵素活性領域が微小管会合タンパク EML4 の N 末側半分と融合したものであり、ちょうど BCR-ABL のように極めて強力ながん化能を獲得する。EML4-ALK を肺胞上皮特異的に発現するトランスジェニックマウスは生後すぐに両肺に数百個の肺腺がんを発症し、さらに同マウスに ALK キナーゼの酵素活性阻害剤を投与したところこれら腫瘍は速やかに消失した (PNAS 105:19893)。また本遺伝子を有する肺がん症例に対する実際の臨床試験も開始され劇的な治療効果が確認されている。以上より我々の研究成果によって、今後世界中の何万人・何十万人もの肺がん患者の生命予後が改善されると期待される。

腫瘍分子標的イメージング法と内照射療法の開発研究

独立行政法人放射線医学総合研究所
分子病態イメージング研究センター
辻 厚至

腫瘍の *in vivo* イメージングには、糖代謝をみる[F-18]-FDG などの腫瘍全般に共通した性質を捉えるプローブが多用され、ステージング、悪性度診断、治療効果判定などに有用な情報を提供している。近年、多くの分子標的薬が臨床で使用され、個別化医療のニーズの高まりなどから個々の腫瘍の性質をイメージングすることの重要性が高まっている。我々の研究グループでは、腫瘍抗原や血管新生などに特異的に結合する抗体やペプチドをガンマ線やポジロン核種で標識することにより、個々の腫瘍の性質を非侵襲的にイメージングできるプローブの開発研究を行っている。また、これらプローブの特異性を利用して、標識核種をベータ線核種に変えることで、治療効果が高く、副作用の少ない分子標的放射線治療への応用にも取り組んでいる。本シンポジウムでは、腫瘍抗原を標的とした抗体 PET イメージングとその内照射治療への取り組みを中心に紹介する。

NOD/SCID マウスの体内における株化ヒトがん細胞の臓器特異的転移の発光イメージング

自治医科大学
分子病態治療研究センター
バイオイメージング研究部
村上 孝、高橋 将文

がんの転移は一連の複雑な生物現象の一つの結果といえる。臨床的ながんの血行性遠隔転移では、しばしばがんの種類に依存した臓器選択性が観察される（脳、骨、肝、肺）。しかしながら、マウス等の実験用小動物においては、これまでの技術的なハードルの高さのために、ヒトがん細胞株の臓器選択性を忠実に再現することが困難であった。本シンポジウムでは、小動物を用いたがん転移を可視化する発光イメージングについて概説し、1) 重症免疫不全マウスの左心室腔内への正確な細胞注入によるがんの全身散布の方法、および2) これまでに構築したルシフェラーゼ発光可能なヒトがん細胞株のレパートリーとその特徴的な血行性転を紹介する。さらに *in vitro* から *in vivo* にまで共通して利用できる発光用がん細胞資源を活用することによって、がんを標的とした創薬研究が促進されうるということについても言及したい。

視床下部によるエネルギー・骨代謝調節

自治医科大学

生理学講座

統合生理学部門

中田正範、笹沼秀幸、高野英介、矢田俊彦

視床下部の弓状核は摂食行動調節の一次中枢として知られている。弓状核には摂食亢進ペプチドAgouti-related peptide (AgRP)含有ニューロンが存在しており、血糖、生理活性物質等の末梢情報を感知し、摂食行動を調節している。シグナル分子であるPDK1をAgRPニューロン特異的に欠損したマウスを解析した。予想通りKOマウスは摂食行動異常を呈した。AgRPニューロンを単離して、蛍光画像解析により細胞内Ca²⁺濃度を測定したところ、KOマウスのAgRPニューロンは各種刺激に対する反応性が低下していた。更に、KOマウスの大腿骨のpQCTによる骨密度解析・骨形態解析で、骨密度が海綿骨・皮質骨ともに減少しており、骨強度の指標となる極モーメントも低下していた。AgRPニューロンは摂食行動調節に加えて、骨代謝調節に重要であることが明らかになった。

脳機能を調べるための分子プローブの研究開発

独立行政法人放射線医学総合研究所

分子イメージング研究センター

分子認識研究グループ

菊池 達矢

分子イメージングを用いて脳機能を調べるには、その標的機能を反映する動態に従う分子プローブが欠かせません。私どもは、脳内における代謝活性や、その代謝により生成する代謝物の排出を定量測定するための分子プローブの開発に力を入れています。本シンポジウムでは、現在推進している PET により脳内のアセチルコリンエステラーゼやグルタチオン S-トランスフェラーゼといった酵素活性を定量測定するための分子プローブと、脳から薬物を排出する多剤耐性関連タンパク質といったトランスポーター活性を定量測定するためのプローブの開発研究について、動態の速度論的考察、分子プローブの設計、評価および検証について紹介します。

分子イメージングで見た脳の機能とその異常

独立行政法人放射線医学総合研究所
分子神経イメージング研究グループ
須原 哲也

PET 研究においては多様な神経伝達系を評価するための多様な標識リガンドの開発が重要であり、多様な標的分子のイメージングと共に密度や代謝だけではなく、伝達物質の放出量の変化など動的機能の評価が求められている。我々はニコチン依存において腹側線条体の神経活動亢進とその部位の D1R の低下、ニコチン負荷による DA 放出量の増加など異なるイメージング技術を用いた多角的な計測を行ってきたが、今後の精神・神経疾患の画像研究においては fMRI を用いて進められている認知心理学的研究と、PET を用いて進められている分子イメージング研究を融合した形で進めて行くこと必要である。

一方 PET を用いたイメージング技術は、ヒトの体内で起こっている分子レベルの反応を非侵襲的に可視化・定量化できるという点で、医薬品の安全性や有効性の評価にも極めて重要である。例えば抗精神病薬の薬理学的至適用量の決定についても、過去においては患者の症状の変化など客観化しにくい指標のみを用いて決められていたが、現在ではドーパミン D2 受容体の占有率という客観的・科学的な指標を用いることにより、正確かつ迅速に決定することができるようになってきている。また治験で問題になるのが、開発する医薬品に対して正しい患者を選択しているかということである。病気の発症メカニズムに基づく分子レベルの指標、例えば認知症を呈する疾患群においてはアセチルコリン神経伝達系の障害の程度を基礎に対象患者を選択することにより、少数の患者でも医薬品の有効性を実証することが期待できる。

また精神疾患の新たな治療薬の開発過程において、動物を用いた研究をヒトにつなげるトランスレショナルリサーチはますます重要性が増している。我々は世界に先駆けてアルツハイマー病の遺伝子改変マウスの PET イメージングに成功し、精神疾患のモデルマウスのイメージングにも成功している。トランスジェニックマウスが真にヒトの疾患の病理を反映しているかの検証に、患者とモデルマウスを同じ PET プローブを用いた比較が有効である。この比較により、ヒトの病態を正確に反映するモデルマウスを選択し、さらにこれを用いた新たな治療法の開発研究が期待できる。

今後は臨床研究で得られた結果を逆に動物に反映させて、実際の疾患により近い動物モデル作成に貢献すると共に、それらを用いた神経伝達の調節機構を解明し予防法や治療薬の開発につながる研究を進めて行くことが期待される。

GFP を用いたカルシウムセンサーによる細胞活動の可視化

埼玉大学
脳科学融合研究センター
中井 淳一

細胞内カルシウムイオンはセカンドメッセンジャーとして機能し、筋肉の収縮、ホルモン・神経伝達物質の放出、記憶など生体内の非常に重要な機能を担っている。したがって、細胞内カルシウムイオンの変動を測定できれば細胞活動をモニターできるといえる。我々はこれまで神経活動をモニターすることを目的に、緑色蛍光蛋白 (GFP) を用いて蛋白質でできた蛍光カルシウムセンサー **G-CaMP** (ジーキャンブと読む) を開発した。G-CaMP は遺伝子でコードされているため、*in vivo* で測定に有効であり、適切なプロモーターを選択することにより組織特異的、時期特異的にセンサーを発現させることが可能である。本講演では、移植・再生医療への応用例を含め G-CaMP の応用例について紹介する。