

奨励金No.1553

がん選択的な診断や治療を目指した survivin 標的セラノステイクス薬剤の開発

淵上 剛志

金沢大学医薬保健研究域 准教授

Development of survivin-targeted theranostic agents for selective cancer diagnosis and treatment

Takeshi Fuchigami,

Graduate School of Medical Sciences, Kanazawa University, Associate Professor



Survivin を標的としたがん選択的な治療と診断を同時に行うことが可能なセラノステイクス薬剤の開発を試みた。Borealin 由来のペプチド r9-Bor₆₅₋₇₅ を ¹²⁵I にて標識した [¹²⁵I] IB-r9-Bor₆₅₋₇₅ を合成し、survivin を高発現しているがん細胞への高い集積性を確認した。担癌マウスにおいて、腫瘍内投与にて高い腫瘍への集積性が認められ、局所投与によるがんの核医学治療への展開が期待される。その他、survivin 結合応答型蛍光プローブやナノボディの開発など多角的な検討も進め、それぞれ高精度な診断と治療への応用の可能性が示された。

We aimed to develop theranostic agents capable of simultaneously performing cancer-selective treatment and diagnosis by targeting survivin. We synthesized [¹²⁵I] IB-r9-Bor₆₅₋₇₅, a Borealin-derived peptide labeled with ¹²⁵I, and confirmed its high accumulation in cancer cells with high survivin expression. In tumor-bearing mice, intratumoral administration showed high tumor accumulation, suggesting the potential for localized nuclear medicine therapy of cancer. Additionally, the development of survivin-responsive fluorescent probes and survivin targeting nanobodies has shown promising potential for high-precision diagnosis and treatment through multifaceted investigations.

1. 研究内容

1-1 研究目的

Survivin は最もがん選択的なタンパク質の一つであり、がん細胞が化学療法や放射線抵抗性を獲得する一因にもなる (Mita, Clin Cancer Res, 2008)。そこで、survivin の機能阻害と放射線照射を同時に同一箇所で行えば、がん選択的で強い抗がん作用が得られるのではという着想に至った。本課題ではまず、上記のような相乗的な抗がん作用が期待される①survivin 選択的な内用放射線治療薬剤の開発を目指す。また、survivin のがん組織における発現量や発現部位を非侵襲的に検出するツールの開発は、がん選択的な画像診断法への応用、survivin を標的とした治療効果の予測や効

果判定に有用と考えられる。そこで、本課題では治療だけでなく診断も同時に行える②survivin 標的セラノステイクス（治療 therapy + 診断 diagnosis）薬剤の開発も目的とした。

1-2 Survivin 標的ペプチドの開発

Survivin は INCENP と Borealin との結合を通じて染色体パッセンジャー複合体を形成する (Jeyapakash, Cell, 2007)。近年我々は、INCENP や Borealin より誘導したペプチド分子が、survivin を標的としたがんの診断薬や治療薬として機能していることを見出した (Fuchigami, Cancer Sci, 2020., Nozaki, Bioconjug. Chem, 2022.)。特に、膜透過性ペプチドのオリゴアルギニン (r9) を付与

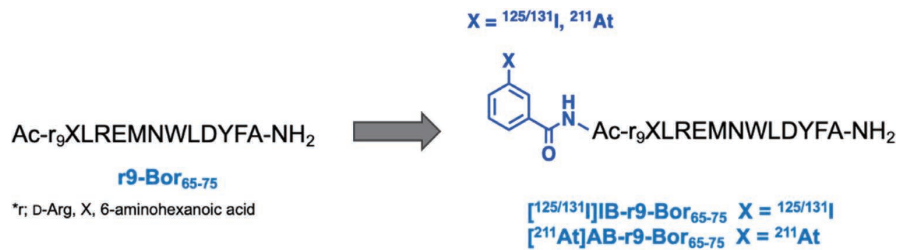


図 1 Survivin を標的とした放射性ハロゲン標識ペプチド

した Borealin 由来のペプチドである $\text{r}_9\text{-Bor}_{65-75}$ (図 1) は、survivin の機能阻害によるアポトーシス誘導にて、細胞殺傷効果を示した。さらに、MIA PaCa-2 細胞移植担癌マウスにおいて、PBS 投与群に比べて、 $\text{r}_9\text{-Bor}_{65-75}$ 投与群では腫瘍体積の増加が有意に抑制された (Nozaki, *Bioconj. Chem.*, 2022.)。

そこで本研究では、survivin を標的とした核医学イメージングや核医学治療への応用を目的として、 $\text{r}_9\text{-Bor}_{65-75}$ に ${}^{125}\text{I}$ (オージェ電子・ γ 線放出核種、治療用・基礎検討用) あるいは ${}^{131}\text{I}$ (β -線・ γ 線放出核種、治療用・診断用) で標識した $[{}^{125/131}\text{I}]\text{IB-r}_9\text{-Bor}_{65-75}$ および ${}^{211}\text{At}$ (α 線放出核種、治療用) で標識した $[{}^{211}\text{At}]\text{AB-r}_9\text{-Bor}_{65-75}$ を設計した (図 1)。 $[{}^{125}\text{I}]\text{IB-r}_9\text{-Bor}_{65-75}$ および $[{}^{211}\text{At}]\text{AB-r}_9\text{-Bor}_{65-75}$ は、*N*-succinimidyl 3- $[{}^{125}\text{I}]\text{iodobenzoate}$ あるいは *N*-succinimidyl 3- $[{}^{211}\text{At}]\text{astatobenzoate}$ と $\text{r}_9\text{-Bor}_{65-75}$ の N 末端アミノ基とのアミド形成反応にて合成を行った。

続いて、 $[{}^{125}\text{I}]\text{IB-r}_9\text{-Bor}_{65-75}$ に関して survivin 高発現細胞株の MIA PaCa-2 および MDA-MB-231、survivin 低発現細胞株の MCF-10A を用いた細胞取り込み評価を行った。その結果、MIA PaCa-2 および MDA-MB-231 の方が MCF-10A よりも細胞内への単位タンパク質当たりの取り込み率 (% dose/mg protein) が高いことが示された (図 2)。

続いて、 $[{}^{125}\text{I}]\text{IB-r}_9\text{-Bor}_{65-75}$ の MIA PaCa-2 移植担癌マウスにおける生体内分布評価を行ったところ、尾静脈投与では投与 1 時間後における腫瘍への 1 g あたりの集積率 (% dose/g) は低値であっ

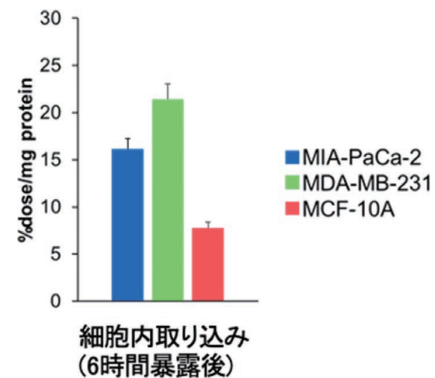


図 2 $[{}^{125/131}\text{I}]\text{IB-r}_9\text{-Bor}_{65-75}$ の細胞内取り込み評価

たが、腫瘍内投与では大幅に腫瘍への集積が増大し (図 3)、局所投与することでがん核医学治療薬剤として機能しうることが示唆された。今後はより高い治療効果が期待される $[{}^{211}\text{At}]\text{AB-r}_9\text{-Bor}_{65-75}$ についても詳細な生物学的な評価を検討する予定である。一方で、臨床で静脈内投与が行うことができれば、がんの全身治療が可能となるため、より体内動態を改善させたペプチド誘導体への展開も検討する必要があるものと考えられる。

また、手術中における高精度ながん組織摘出への応用を目的とした蛍光プローブ開発を行った。すなわち、survivin の活性に応答して蛍光を放出する FERT 蛍光プローブを開発し、survivin の発現に応じた極めて特異性の高いペプチドプローブを見出した (Fuchigami, *Chem Biomed Imaging*, 2024)。今後は膜透過性ペプチドなどを付与したさらに in vivo での応用を可能とする分子への展開を進める予定である。

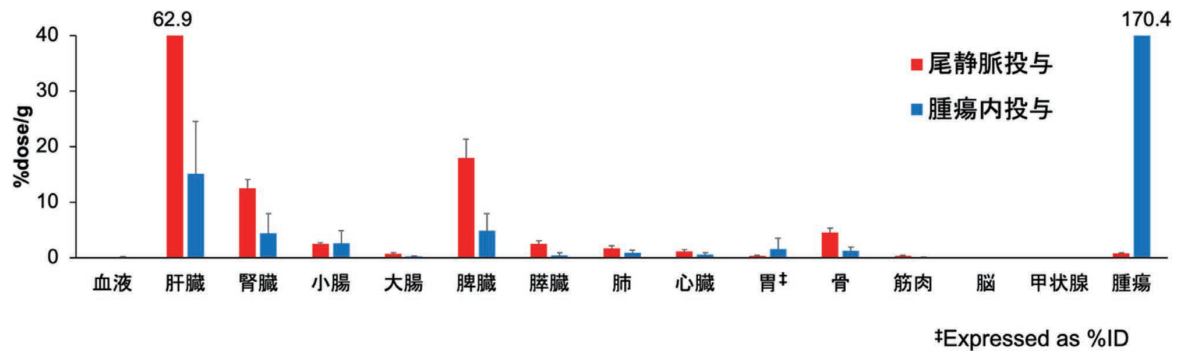


図3 $[^{125}\text{I}]$ IB-r9-Bor₆₅₋₇₅ の MIA PaCa-2 移植担癌マウスにおける生体内分布 (投与1時間)

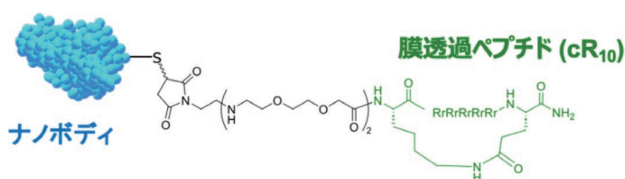


図4 膜透過性ペプチドを融合させた survivin ナノボ
ディの構造

1-3 Survivin 標的ナノボディの開発

Survivin を標的としたセラノスティクスへの応用を目的とし、高い特異性と優れた体内動態を兼ね備えたラクダ抗体（ナノボディ）の開発を試み、これまでに survivin への親和性が極めて高い数種類のクローンを同定した ($K_d < 5$ nM)。本研究では、細胞内に存在する survivin へナノボディを到達させるため、cR₁₀ (Herce, *Nat Chem*, 2017) などの優れた膜透過ペプチドをナノボディと融合させた複合タンパク質へと誘導化させた (図 4)。現在、蛍光あるいは放射標識体を用いて細胞内導入効率や survivin への特異性に関する基礎検討を実施中である。

2. 発表（研究成果の発表）

[査読付き論文]

1. Fuchigami T, Nakayama T, Ogawa K, et al.: Peptide-Based Turn-On Fluorescent Probes for Highly Specific Detection of Survivin Protein in the Cancer Cells. *Chem Biomed Imaging*, **2**, 5, 374–383 (2024).

[学会発表]

1. 淵上 剛志、がん組織とその微小環境の特性を捉えた新規放射性プローブの開発 第 63 回日本核医学会学術総会 2023 年 11 月（招待講演）。
2. 淵上 剛志、下 昂平、三代 憲司、宗兼 将之、若林 大志、絹谷 清剛、小川 数馬、がん細胞膜表面の負電荷およびインテグリンを標的としたヘテロ二価分子プローブの開発、第 44 回 生体膜と薬物の相互作用シンポジウム 2023 年 10 月。
3. 淵上 剛志、がんおよび感染症の特異的診断を目指した分子プローブの開発と核医学治療への展開 第 60 回 アイソトープ・放射線研究発表会 2023 年 7 月（招待講演）。