

**【目的】** がんに対する免疫チェックポイント阻害剤 (ICI) 療法は高い治療効果を示す一方、治療奏率が低いことが知られており、また免疫に関連する副作用が問題となっている。そのため、ICI 治療の効果を早期に予測する手法の開発が求められている。グランザイム B およびパーフォリンは活性化 T 細胞から放出される分子であり、パーフォリンはがん細胞膜上で重合して孔を形成し、セリンプロテアーゼに属するグランザイム B がこの孔を通じてがん細胞に侵入し、がん細胞の DNA を分解することによりアポトーシスを誘導することが知られている。そのため、グランザイム B およびパーフォリンはICI の治療効果予測のための重要なバイオマーカーとなる可能性が示唆されている。そこで本研究では、活性化 T 細胞関連分子であるグランザイム B およびパーフォリンを標的とする生体分子イメージング法の開発を目的として、生体でグランザイム B およびパーフォリンに高い選択的結合性を示す新規 PET プローブの開発を計画した。

**【方法】** グランザイム B に対する親和性が報告されているアミノ酸配列をグランザイム B 認識部位として選択し、*N*-succinimidyl 4-fluorobenzoate (SFB) を介して PET 用核種である<sup>18</sup>F を導入した [<sup>18</sup>F]GC-1 を設計・合成した。また、パーフォリンの阻害活性が報告されているベンゼンスルホンアミド誘導体を基盤とした<sup>18</sup>F 標識 PC-1 および PC-2 を設計・合成した。GC-1、PC-1、および PC-2 の非標識体を用いたグランザイム B またはパーフォリン阻害実験により、各候補化合物の標的への親和性を評価した。また、がんモデルマウスを作製し、ICI または生理食塩水を投与したマウスの PET 撮像実験を [<sup>18</sup>F]GC-1 を用いて行い、その後の腫瘍成長との相関を評価した。さらに、ICI 治療を行ったモデルマウスに [<sup>18</sup>F]PC-2 を投与し、*ex vivo* オートラジオグラフィ (ARG) 実験を行った。

**【結果】** 非標識体である GC-1、PC-1、PC-2、および [<sup>18</sup>F]PC-2 の標識前駆体である化合物 A をそれぞれ総収率 80、12、6、および 13% で得た。非標識体を用いたグランザイム B 阻害実験において、GC-1 はグランザイム B に対する結合性を示したが、GC-1 の母体化合物と比較してわずかに親和性が低下した。また、非標識体を用いたパーフォリン阻害実験において、PC-1 および PC-2 はパーフォリンの細胞障害活性を阻害することが示唆された。 [<sup>18</sup>F]GC-1 および [<sup>18</sup>F]PC-2 はそれぞれ放射化学的収率 12 および 2% で得た。ICI または生理食塩水を投与したモデルマウスについて [<sup>18</sup>F]GC-1 を用いた PET 撮像を行ったところ、ICI 治療の有無に関わらず [<sup>18</sup>F]GC-1 は腫瘍への顕著な集積を示さなかった。しかし、PET 撮像後にモデルマウスの腫瘍容積を経時的に観測したところ、ICI 治療マウスでは顕著な腫瘍成長が認められなかった一方、生理食塩水投与マウスでは腫瘍容積の増大が認められた。これより、ICI 治療効果を予測するためには [<sup>18</sup>F]GC-1 から性能を改善したプローブの開発が必要であることが示された。また、 [<sup>18</sup>F]PC-2 を用いた ICI 治療マウスの *ex vivo* ARG 実験では、 [<sup>18</sup>F]PC-2 が腫瘍組織に発現したパーフォリンに結合したことが示唆された。以上より、 [<sup>18</sup>F]PC-2 がパーフォリンイメージングプローブとして基礎的性質を有することが示唆された。

#### グランザイム B およびパーフォリンイメージングプローブの性能評価

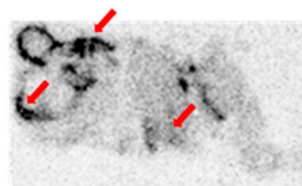
##### グランザイム B イメージングプローブ [<sup>18</sup>F]GC-1

##### Affinity for granzyme B

	IC <sub>50</sub> (nM)
GC-1	602 ± 85
[Ac]IETD[CHO] (control)	159 ± 32

##### パーフォリン イメージングプローブ [<sup>18</sup>F]PC-2

##### Autoradiography



##### Perforin

