

様式3

群馬大学生体調節研究所内分泌・代謝学共同研究拠点共同研究報告書

平成27年4月30日

群馬大学生体調節研究所長 殿

所属機関名 群馬大学医学系研究科
職 名 准教授
研究代表者 中島 崇仁

下記のとおり平成26年度の共同研究成果を報告します。

記

(課題番号: 14002)

1. 共同研究課題名	76Br 標識 GLP-1 受容体親和性ペプチドを用いた PET イメージング			
2. 共同研究目的	PET イメージングによる β 細胞の非侵襲的定量化方法の確立			
3. 共同研究期間	平成 26年 4月 1日 ~ 平成 27年 3月 31日			
4. 共同研究組織				
氏 名	所属部局等	職名等	役割分担	
(研究代表者) 中島 崇仁	分子画像学	准教授	研究立案・実行・発表・統括	
(分担研究者) 山口 藍子	バイオイメージング情報 解析学	助教	データ収集・実験実行	
5. 群馬大学生体調節研究所 の共同研究担当教員	分野名	代謝シグナル解析分野	氏 名	北村 忠弘

※ 次の6, 7, 8の項目は、枠幅を自由に変更できます。但し、6, 7, 8の項目全体では1頁に収めて下さい。

(課題番号: 14002)

6. 共同研究計画

本研究では GLP-1 受容体に特異的に結合するペプチドを合成して、ポジトロン核種である Br-76 で標識することにより、 β 細胞の PET イメージングを行う。得られた画像から放射能集積率を計算することで、非侵襲的に β 細胞の定量化を行う。

1. GLP-1R 親和性ペプチドの設計・合成
2. Br-76 によるペプチド標識
3. インビトロ実験: GLP-1 受容体への親和性・選択性の確認(放射能活性を使った薬剤取り込みや蛍光標識による結合部位の確認。MIN6 細胞を使って実験を進める)
4. PET イメージング: マウスを使ったイメージングを行う。ストレプトゾトシンを用いた糖尿病モデルを作成して、生体での β 細胞の非侵襲的定量化を行う。(画像解析値と摘出膵実質の放射能活性との比較)
5. RI スペクトロメーターを用いたマウスの全身臓器への薬剤分布の確認

7. 共同研究の成果

【GLP-1R 親和性ペプチドの設計・合成】

GLP-1R に親和性の高い exendin ペプチドの情報を使い、両者の立体構造から得られた親和性のデータを元に、終末に放射性同位元素標識用のチロシン残基をつけた全長7残基からなるペプチドを設計した。N 末と C 末の両者にチロシン残基を付けた全10種類のペプチドが得られた。

【血清中での安定性試験】

ペプチドは血清中で分解されてしまいやすいため、マウス血清中での合成ペプチドの安定性について検討を行った。37°C加温下の環境で、マウス血清中にそれぞれのペプチドを添加し1時間後にHPLCで前後のペプチドピークの変化を観察した。全10種類のうち、7種類は比較的早期に分解されてしまい、血清中での安定性がないことがわかった。

【細胞を使ったペプチドの GLP-1R 親和性の検討】

上記実験のうち、3 ペプチドについて β 細胞株 MIN6 を用いて細胞の親和性の検討を行った。3 候補ペプチドに対し、放射性ヨード I-125 で標識を行い、MIN6 細胞株と co-incubation した後、RI スペクトロメーターを用いて、細胞の比放射能を計測した。細胞量が増えるごとに RI カウントの増加が認められており、ペプチドが GLP-1R にある程度の親和性があることが示せた。

8. 共同研究成果の学会発表・研究論文発表状況

(本研究所の担当教員の氏名の記載、又はこの共同研究に基づくとの記載のある論文等を記載して下さい。なお、論文の場合は、別刷りを1部提出して下さい。)

特になし