バイオ（蛍光）プローブの創製と細胞表層タンパク質のイメージング研究

4. 蛍光性アンタゴニストを用いた CXCR4 のイメージングと阻害剤のスクリーニング法の確立

（東医歯大生材研）

○田部　泰章・野村　渉・堤　浩・田中　智博・玉村　啓和

Bioimaging of CXCR4 using fluorescent antagonists and establishment of screening methods

(Institute of Biomaterials and Bioengineering, Tokyo Medical and Dental University)

Yasuaki TANABE, Wataru NOMURA, Hiroshi TSUTSUMI, Tomohiro TANAKA, Hirokazu TAMAMURA

日本化学会第 88 春季年会、東京、2008 年 3 月 26-30 日

CXCR4 は細胞表面に存在する 7 回膜貫通 G タンパク質共役型受容体であり CXCL12/stromal cell-derived factor-1（SDF-1）を生理的リガンドとするケモカイン受容体である。この CXCR4 は HIV の侵入、固形癌の転移および慢性関節リウマチの炎症などの病態形成にも関与していることから創薬の multi-target として注目されている。

従来この CXCR4 を標的とした化合物の結合活性評価は、ラジオアイソトープ(RI)標識された SDF-1 α を競合プローブとして行われている。しかしながら、RI 標識された市販の SDF-1 α は高価であり、また調製も困難で、放射活性の減少も考慮する必要がある。さらに、少なからず被爆の危険性も帯びてくる。こうした問題点を克服すべく本研究では、抗体や、生理的リガンドの RI ラベル体に代わる蛍光プローブとして、蛍光色素を標識した蛍光性アンタゴニストを開発することとした。

蛍光基として Fluorescein、Tetramethylrhodamin（TAMRA）を用い、著者らの研究室で開発した CXCR4 アンタゴニストである T140 の誘導体 Ac-TZ14011 のファルマコフォアからもっとも離れた官能基である D-Lys^{8} 側鎖の e-アミノ基選択的に蛍光基を導入することに成功した。なお、蛍光基がアンタゴニストの CXCR4 に対する結合親和性に影響を与えないようにするために D-Lys^{8} のアミノ基と蛍光基の間にリンカーを挿入することにした(Fig 1.)。それぞれの蛍光基を導入した T140 誘導体が CXCR4 に対する結合活性を保持していることを確認し、この合成した蛍光性アンタゴニスト(TAMRA-Ac-TZ14011)を使い、細胞上の CXCR4 の蛍光イメージングを行った。また、Fluorescein-Ac-TZ14011 を競合プローブとして、複数のリガンド候補の結合活性の評価を行い、従来の RI を用いて評価した化合物活性と比較した。その結果、蛍光性アンタゴニストを用いる方法と RI 標識した SDF-1 α を用いる方法で相関を得ることができ、Fluorescein-Ac-TZ14011 が CXCR4 アンタゴニストのスクリーニングに有用であることが示唆された。そこで、cyclic pentapeptide library のスクリーニングを行ったので併せて報告する。

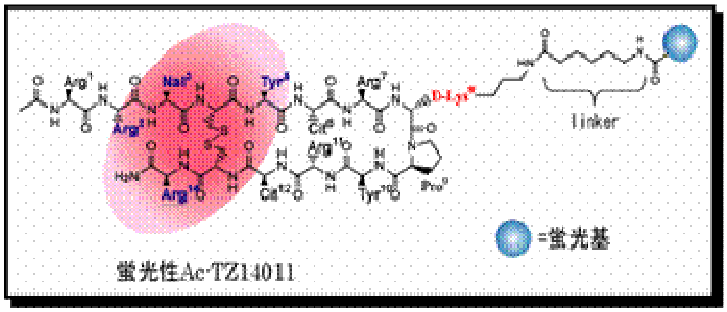

Fig 1. 蛍光性アンタゴニストの分子構造