

30D-am11

高感度 MMP 活性イメージング近赤外蛍光プローブの開発

○明珍 琢也^{1,2}, 花岡 健二郎^{1,2}, 長野 哲雄^{1,2} (¹東大院薬, ²JST CREST)

【目的】 Matrix metalloproteinase (MMP)は細胞外基質を分解する細胞外酵素であり、特に MMP2, 9, MT1-MMP は癌の浸潤、転移に深く関わっている。本研究では、これら MMP を標的とした高感度な蛍光プローブの開発を行った。現在 MMP 酵素活性を検出し、蛍光が増大する蛍光プローブは数多く報告されているが、その感度としては依然として改良の余地がある。感度向上のアプローチとして、標的部位での蛍光プローブの滞留性に着目した。つまり、MMP 酵素活性を認識し蛍光が上昇した後に、蛍光を発する蛍光色素が MMP 発現部位近傍の細胞に高く滞留することで、より高感度な MMP 酵素活性の可視化を目指した。既存のプローブの多くがスルホン酸基を有する細胞内への導入性が低い蛍光色素を使用しており、標的部位での滞留性が低く拡散することにより、低感度になっていると考えられる。

【方法】 4種類の近赤外蛍光色素と、消光団とを MMP の基質ペプチドを介して結合させたプローブをデザイン・合成した。これらプローブの *in vitro* での MMP との酵素反応性を調べ、さらにリンカー部位の長さによる酵素反応への影響も検討した。また、MMP2, 9, MT1-MMP を発現している HT1080 細胞を用いて蛍光顕微鏡にて蛍光イメージングおよび阻害剤を用いたイメージング実験を行った。

【結果】 合成したプローブは全て *in vitro* にて酵素と反応して大きな蛍光上昇を示した。HT1080 細胞を用いた蛍光イメージングにおいては、BODIPY 骨格を有する近赤外蛍光色素を有したプローブでのみ、MMP 酵素活性を高い S/N で検出でき細胞系で蛍光イメージングを行うことに成功した。本プローブは阻害剤によって有意に蛍光上昇が減少することも確認された。今後は、本プローブを用いて *ex vivo* さらには *in vivo* での応用を行う。