

### 別紙 3

厚生労働科学研究委託費（革新的がん医療実用化研究事業）  
委託業務成果報告（業務項目）

#### GGT などの蛍光観察による早期発見

担当責任者 松田 尚久 国立がん研究センター 中央病院 内視鏡科 医長  
小田 一郎 国立がん研究センター 中央病院 内視鏡科 医長

#### 研究要旨

【目的】大腸上皮性腫瘍に対する gGlu-HMRG を用いた蛍光イメージングについて、内視鏡切除検体を用いて評価した。

【方法】内視鏡的に切除した大腸上皮性腫瘍 30 病変を対象とした。新鮮切除検体に gGlu-HMRG1000  $\mu$ l を 50  $\mu$ M もしくは 500  $\mu$ M の濃度で撒布し、Discovery を用いて撒布後 30 秒 15 分間の蛍光イメージングを撮像した。

【結果】蛍光陽性は 20 例(67%)、陰性は 10 例(33%)であった。癌 17 病変では、陽性 13 例(76%)、腺腫 13 病変では、陽性 7 例(54%)であった。【結論】 gGlu-HMRG の局所撒布により、大腸上皮性腫瘍に対する短時間で選択的な蛍光イメージングが可能であった。

#### A . 研究目的

グルタミルトランスペプチダーゼ (GGT)は生体内に存在する酵素であり、癌細胞で発現が亢進していることが報告されている。Urano らは、GGT 活性検出蛍光プローブ gGlu-HMRG を開発した。gGlu-HMRG は、中性 pH 環境では

ほぼ無蛍光であるが、GGT 発現の高い癌部では効率良く加水分解され、蛍光活性を有する HMRG に変換されることから、新たな蛍光イメージングのためのプローブとして期待されている。本研究では、大腸上皮性腫瘍に対する gGlu-HMRG を用いた蛍光イメージング

について、内視鏡切除検体を用いて評価した。

#### B．研究方法

内視鏡的に切除した大腸上皮性腫瘍 30 病変(ESD:27 病変/EMR:3 病変)を対象とした。対象病変の新鮮切除検体に gGlu-HMRG1000  $\mu$ l を 50  $\mu$ M もしくは 500  $\mu$ M の濃度で撒布し、撒布後 30 秒毎 15 分間の蛍光イメージングを、専用撮像機である Discovery(INDEC 社)を用いて撮像した。蛍光活性は、gGlu-HMRG 撒布 15 分後に腫瘍部に一部でも蛍光活性を認めるものを蛍光陽性とし、3 人の内視鏡医が判定した。

本研究は「世界医師会ヘルシンキ宣言 (2013 年フォルタレザ改正)」および「臨床研究に関する倫理指針 (平成 20 年 7 月 31 日全部改正)」に従っておこなった。

#### C．研究結果

臨床病理学的特徴は、平均年齢  $68 \pm 7$  歳、男女比 15/15、平均腫瘍径  $39 \pm 13$ mm、肉眼型:LST-G:20 病変/LST-NG:10 病変、平均切除時間  $61 \pm 27$  分、病理組織:腺腫:13 病変/分化型腺癌:17 病変であった。また gGlu-HMRG による組織障害性は認めなかった。GGT 陽性(以下陽性)は 20 例(67%)、GGT 陰性(以下陰性)は 10 例(33%)であった。癌 17 病変では、陽性 13 例(76%)、陰性 4 例(24%)、腺腫 13 病変では、陽性 7 例(54%)、陰性 6 例(46%)、であった。肉眼系別では、LST-G16 例(80%)、LST-NG4 例(40%)が陽性であった。また、蛍光活性陽性の病変のうち、病変部の一部のみに蛍光活性を示したり、腺腫内癌において腺癌部分のみで蛍光活性を有する症例を経験した。

#### D．考察

GGT は卵巣、肺、肝臓、胆管のがん細胞に発現が亢進しており、早期発見のバイオマーカーとして注目されている。

現状の蛍光イメージングは、蛍光物質がターゲット部位で活性化したり、ターゲット以外の部位で wash out されるまでに時間を要することから、リアルタイム診断や臨床への応用へは現実的ではないと考えられていた。しかし、gGlu-HMRG は GGT 高発現の細胞で速やかに蛍光活性を有する HMRG に変換されることから、短時間かつ選択的な蛍光イメージングが可能となった。

これまでに、腹膜播種や Colitic cancer の動物モデルにおける gGlu-HMRG を用いた蛍光イメージングを報告しているが、

本研究はヒト大腸上皮性腫瘍に対する gGlu-HMRG を用いた初の蛍光イメージングである。蛍光が得られた症例のうち、部分的な蛍光活性を示したり、腺腫内癌において腺癌部分のみで蛍光活性を有する症例を経験した。このことは大腸上皮性腫瘍の heterogeneity を反映している可能性があるものと考えられた。

今後はプローブライブラリーを活用して GGT 以外のより感度・特異度の高いターゲットの探索を行い、得られた結果をもとに、最適化されたプローブのヒトがん ESD 検体への適用を予定している。

#### E．結論

gGlu-HMRG の局所撒布により、大腸上皮性腫瘍に対する短時間で選択的な蛍光イメージングが可能であった。

#### F．健康危険情報

本研究は内視鏡切除検体と体外試薬を用いた ex-vivo study であり、対象症例へ

の有害事象は認めなかった。

## G . 研究発表

### 1. 論文発表

1) Sato C, Abe S, Saito Y, So Tsuruki E, Takamaru H, Makazu M, Sato Y, Sasaki H, Tanaka H, Ikezawa N, Yamada M, Sakamoto T, Nakajima T, Matsuda T, Kushima R, Kamiya M, Maeda S, Urano Y\*, A Pilot Study of Fluorescent Imaging of Colorectal Tumors Using a  $\gamma$ -Glutamyl-Transpeptidase-Activatable Fluorescent Probe. Digestion 91:70-76, 2015.

### 2. 学会発表

1) Chiko Sato, Seiichiro Abe, Eriko So, Masayoshi Yamada<sup>1</sup>, Makomo Makazu, Hiroyuki Takamaru<sup>1</sup>, Hayato Sasaki<sup>1</sup>, Yasushi Matsuyama, Taku Sakamoto, Takeshi Nakajima, Takahisa Matsuda, Ryoji Kushima, Mako Kamiya, Yasuteru Urano, Yutaka Saito.  
A PILOT STUDY OF FLUORESCENT IMAGING OF COLORECTAL TUMOR USING  $\Gamma$ -GLUTAMYLTRANSPEPTIDASE (GGT) FLUORESCENCE ACTIVITY PROBE.UEGW2014,20<sup>th</sup> Oct,2014, Vienna,Austria.

2) 佐藤知子、阿部清一郎、高丸博之、山田真善、曾絵里子、眞一まこも、佐々木隼人、松山泰士、坂本琢、中島健、松田尚久、九嶋亮治、浦野泰照、斎藤豊：大腸上皮性腫瘍に対する グルタミルトランスぺプチダーゼ (GGT) 活性検出プローブを用いた蛍光イメージングの試み、ワークショップ、口演、2014.2、第 10

回日本消化管学会総会学術集会、コラッセ福島、福島市

## H . 知的財産権の出願・登録状況

( 予定も含む )

### 1. 特許取得

該当なし

### 2. 実用新案登録

該当なし

### 3.その他

該当なし