

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）

新規『蛍光プローブ』の開発

担当責任者 東京大学 大学院医学系研究科・薬学系研究科 浦野泰照

研究要旨

分担研究者が新たに開発したアミノペプチダーゼ活性検出蛍光プローブを、大腸がん、胃がんの ESD 新鮮検体へと適用することで、がん部位、非がん部位（正常部位）での応答に大きな差のあるプローブを見いだす検討を開始した。その結果、一部の大腸がんでは GGT 蛍光プローブが有効であることが明らかとなった。

A．研究目的

外科手術、内視鏡手術時に、がん部位を完全に切り切ることの臨床的意義は大きい。そこで本研究では、1 mm 以下の微小がんであっても、これを術中に迅速かつ鋭敏に検出することを可能とさせる技術の確立を目指し、がん部位が持つペプチダーゼ活性を鋭敏に検出可能な蛍光プローブを開発する。開発したプローブは、研究代表者との共同研究により、実際の患者から得られた ESD 新鮮検体へと適用し、その機能を検証する。

B．研究方法

分担研究者が確立することに成功した分子内 spiro 環化平衡に基づく蛍光プローブ分子設計法に則り、がん細胞でその活性が亢進しているとの報告がある様々な種類のアミノペプチダーゼ活性を、鋭敏に検出可能な蛍光プローブを開発する。特に -グルタミルトランスペプチダーゼ (GGT) 活性はいくつかのがん種で亢進が見られることから、GGT 活性検出蛍光プローブを胃、大腸 ESD 臨床新鮮検体へと適用し、がん部位の選択的可視化が可能かどうか精査する。具体的には、各種プローブの PBS

溶液（濃度 50 μ M）を検体に散布し、その後の時間依存的な蛍光強度の変化を簡易型 in vivo イメージャーで観測し、蛍光上昇部位とがん・非がん部位との関係を病理検査結果と比較する。

C．研究結果

大腸がん ESD サンプルへと各種プローブを適用したところ、一部のプローブではがん部位での蛍光上昇が正常部位に比べて大きい画像を得ることが出来たが、検体間での応答の差も大きく、高い正診率で「がん > 正常」となるプローブは現在のところ見つからない。しかしながら GGT 活性検出蛍光プローブを散布した検体では、比較的高い正診率でがん部位の蛍光強度が強くなり、これまでに 20 例のイメージング結果を病理組織検査結果と比較したところ、67%の検体でがん部位を蛍光画像から特定することが可能であった。また一例だけではあるが adenoma 部位に比べて有意に adenocarcinoma 部位の蛍光強度が強いイメージング画像も得られ、GGT 活性を活用することで両病変部位を見分けることも可能で

あることが示唆された。

胃がん ESD サンプルへも様々なプローブの適用を開始したが、「がん > 正常」となるプローブは現在のところ見つかっていない。GGT プローブはがん部位だけでなく正常部位でも高い蛍光を示すことが多かったが、一例だけががん部位の蛍光が有意に弱く、不染となるサンプルが存在した。さらに開発に成功した他のアミノペプチダーゼ活性検出蛍光プローブを網羅的に適用したところ、一部のプローブで同様に、その蛍光強度変化が「がん < 正常」となることが明らかとなった。今後、これらのプローブ適用例をさらに増やし、がんを特徴付けるペプチダーゼ活性の発見を目指す予定である。

D．考察

GGT は細胞内グルタチオンの生合成に重要な役割を果たすことが知られており、その高い増殖活性から細胞内グルタチオンを常に供給する必要がある一部のがんで、特にその発現量が増加していることが知られている。今回得られた大腸がん ESD 検体でのイメージング結果は、このがん細胞特徴を生きている状態で蛍光可視化に成功したためであると考えている。

E．結論

適切なアミノペプチダーゼ活性検出蛍光プローブの適用により、大腸がん、胃がんの新鮮 ESD 検体中に存在するがん部位を検出可能であることが明らかとなった。今後は本技術の臨床での使用を目指し、検討症例の拡大と安全性試験等の開始を目指し研究を継続していく予定である。

F．健康危険情報

該当なし

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 -Glutamyl-Transpeptidase-Activatable Fluorescent Probe. Digestion 91:70-76, 2015. (DOI: 10.1159/000369367)

2．学会発表

該当なし

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