

食道癌診断における DPP-IV 活性検出プローブの有用性

1. 発表者： 浦野 泰照（東京大学大学院薬学系研究科 薬学専攻／
大学院医学系研究科 生体物理医学専攻 教授）
瀬戸 泰之（東京大学大学院医学系研究科 消化管外科学／
医学部附属病院 胃・食道外科 教授）

2. 発表のポイント：

- ◆癌細胞ではさまざまな酵素活性が上昇していることに着目し、種々の酵素をターゲットにした蛍光プローブを作成して、ヒト食道扁平上皮癌の生検検体を用いたスクリーニングを行ったところ、DPP-IV 活性検出プローブが癌特異性を示しました。
- ◆実際に、DPP-IV 活性検出プローブをヒト食道癌切除検体にスプレーすると、数分以内で癌が選択的に蛍光を発することを明らかにしました（図 1.2.3）。
- ◆本試薬によって、通常光の内視鏡では発見が困難である早期食道癌の診断率の改善が期待されます。

3. 発表概要：

東京大学大学院薬学系研究科・医学系研究科の浦野泰照教授らの研究グループは、癌細胞で活性が上昇している特定のタンパク質分解酵素によって蛍光性へと変化する試薬（蛍光プローブ、注1）を開発し、癌モデル動物でその機能を証明してきました。しかし、ヒトの癌の性質は極めて多様であり、実際のヒト組織で真に有効であるかどうかはわかりませんでした。今回、東京大学大学院医学系研究科消化管外科学瀬戸泰之教授らと共同して、食道扁平上皮癌に対して有用な蛍光試薬の開発を行いました。まず、さまざまな酵素をターゲットとした蛍光試薬のライブラリーを作成し、ヒト生検検体を用いてスクリーニングを行ったところ、DPP-IV 活性検出プローブ（注2）が癌特異性を示すことを明らかにしました。そこで本プローブを、ヒト外科手術において摘出した検体や内視鏡治療において摘出した検体にスプレーしたところ、わずか数分で食道癌を選択的に光らせ、周囲の正常組織と識別できることを明らかにしました。食道癌は、通常の内視鏡観察では早期発見が困難であることが知られており、本手法の活用によって早期食道癌の診断率の向上が期待できます。現在、本蛍光試薬の臨床医薬品としての市販を目指し、プローブの有用性を更に多数の症例で実証するとともに、体内使用を目指して、東京大学エッジキャピタル（UTECH）からの投資を受けた五稜化薬株式会社と共同で臨床試験の適用に向けた準備を進めています。

本研究は、国立研究開発法人日本医療研究開発機構（AMED）の革新的先端研究開発支援事業（AMED-CREST）「疾患における代謝産物の解析および代謝制御に基づく革新的医

療基盤技術の創出」研究開発領域（研究開発総括：清水孝雄）における研究開発課題「臨床検体を用いた疾患部位特異的な代謝活性のライブイメージング探索技法の確立と創薬への応用」（研究開発代表者：浦野泰照）の一環で行われました。なお、本研究開発領域は、平成 27 年 4 月の日本医療研究開発機構の発足に伴い、国立研究開発法人科学技術振興機構（JST）より移管されたものです。

4. 発表内容：

①研究分野の背景とこれまでの研究の問題点

食道癌は日本国内において年間 2 万人以上が罹患、1 万人以上が死亡する疾患であり、他の消化管癌と比較すると、早期の段階からリンパ節への転移がみられることや、漿膜を持たないために容易に周囲臓器に浸潤すること、また手術侵襲が大きく、手術死亡率、術後合併症、再発の頻度が高いことなどから、予後も極めて不良です。そこで、より侵襲が小さく根治性の高い内視鏡治療が可能な、早期の段階での発見が重要ですが、通常の内視鏡観察では早期発見が困難な場合が多いため、ルゴール染色法（注 3）や NBI（注 4）などの画像強調観察法を併用し診断能の向上に努めていますが、それでも依然として診断困難症例が多数存在するため、食道癌を迅速かつ確実に検出する新たな手法の開発が強く望まれています。

②成果の要点

本研究グループは、まず、さまざまな酵素をターゲットとした蛍光プローブのライブラリーを作成し、ヒト生検検体を使ってスクリーニングを行ったところ、DPP-IV 活性検出プローブが癌特異性を示すことを明らかにしました。そこで本プローブをヒト外科手術において摘出した検体や内視鏡治療において摘出した検体にスプレーしたところ、わずか数分で食道癌を選択的に光らせ、周囲の正常組織と識別できることを明らかにしました。本プローブの診断能は感度 96.9%、特異度 85.7%、正診率 90.5%でしたが、現在、日常診療で使われているルゴール染色法の感度が 94.2%、特異度 64.0%、正診率 68.0%、非拡大 NBI 法の感度が 88.3%、特異度 75.2%、正診率 77.0%であることを考慮すると、既存の方法に劣らない結果でした。さらに、ルゴール染色法では、胸やけや気分不快といった刺激症状が強く頭頸部近傍の病変には使用できないことや、ヨードアレルギーのある患者には使用できないなどの問題がありますが、本プローブは毒性が低く、こうした点が問題になりません。さらに NBI 法では、施行医の経験の差により診断率が異なってくるという報告もありますが、本プローブは病変にスプレーするのみでよく簡便であり、高い解像度をもつ蛍光イメージング（注 5）の手法を用いているので誰でも容易に使用できる観察手段です。また、反応時間も数分単位と早いことも内視鏡診断に応用する際の利点です。

③今後の展開と一般へのアピールポイント

本手法の活用によって、これまで発見が困難であった早期食道癌の診断率向上が期待できます。さらに、正確な範囲診断ができるようになることで、より根治性の高い内視鏡治療が期待できます。また現時点では、外科手術の際に、癌が取りきれたかどうかを評価する方法はありませんが、本プローブが手術中に使用できれば、癌の遺残を評価する新たな診断モダリティとして世界で初めての技術となる可能性があります。現在、東京大学エッジキャピタル(UTECH)からの投資を受けた五稜化薬株式会社と共同し、臨床試験への適用に向けた準備を進めています。

5. 発表雑誌：

雑誌名： Scientific Reports

論文タイトル： Rapid and sensitive detection of early esophageal squamous cell carcinoma with fluorescence probe targeting dipeptidylpeptidase IV

著者： Haruna Onoyama, Mako Kamiya, Yugo Kuriki, Toru Komatsu, Hiroyuki Abe, Yosuke Tsuji, Koichi Yagi, Yukinori Yamagata, Susumu Aikou, Masato Nishida, Kazuhiko Mori, Hiroharu Yamashita, Mitsuhiro Fujishiro, Sachiyo Nomura, Nobuyuki Shimizu, Masashi Fukayama, Kazuhiko Koike, Yasuteru Urano*, Yasuyuki Seto*

DOI 番号： doi:10.1038/srep26399(2016).

アブストラクト URL： www.nature.com/articles/srep26399

6. 問い合わせ先：

<研究内容に関するお問合せ>

東京大学大学院薬学系研究科 薬学専攻 薬品代謝化学教室 教授

東京大学大学院医学系研究科 生体物理医学専攻

医用生体工学講座 生体情報学分野 教授（兼務）

浦野 泰照

Phone：03-5841-4850（薬）、03-5841-3601（医）

E-mail：uranokun@m.u-tokyo.ac.jp

東京大学大学院医学系研究科 消化管外科学 教授

東京大学医学部附属病院 胃・食道外科 科長

瀬戸 泰之

Phone：03-5800-9538 Fax：03-5800-9734

E-mail : seto-tky@umin.ac.jp

<取材に関するお問い合わせ>

東京大学医学部附属病院 パブリック・リレーションセンター

担当：渡部、小岩井

電話：03-5800-9188（直通） E-mail : pr@adm.h.u-tokyo.ac.jp

<革新的先端研究開発支援事業に関するお問い合わせ>

国立研究開発法人日本医療研究開発機構（AMED）

戦略推進部 研究企画課

Phone : 03-6870-2224 Fax : 03-6870-2243

E-mail : kenkyuk-ask@amed.go.jp

7. 用語解説：

（注1）蛍光プローブ

最初は無色透明であるが、ある特定の標的分子と反応することでその構造が変化して、強い蛍光を発したり、蛍光の色調が変化したりする機能性分子の総称。

（注2）DPP-IV 活性検出プローブ

蛍光プローブのうち、DPP-IV という酵素（ペプチダーゼ）を標的分子としたもので、DPP-IV 活性があると、蛍光を発するようになります。

（注3）ルゴール染色法

食道の粘膜上皮にはグリコゲンという物質が含まれており、ルゴールを散布すると、この物質がルゴールに反応して暗褐色に染色されます。しかし、癌がある場合はグリコゲンが減少していたり、欠如していたりするので、暗褐色に染まらず抜けてみえます。胃カメラで食道癌の診断をする際には、この反応を利用した検査が行われます。

（注4）NBI (Narrow Band Imaging)

内視鏡観察技術のひとつで、ある特定の波長の光を照射することにより、癌の部分がより目立つように工夫されています。

（注5）蛍光イメージング

さまざまな蛍光色素や蛍光タンパク質にレーザーなどの光を当てることで、細胞や特定のタンパク質などの局在や動きを観察できるようにした手法。

8. 添付資料：

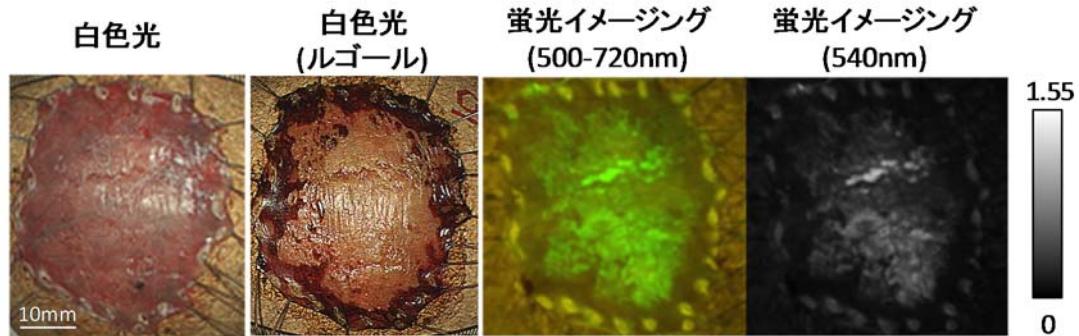


図1. 蛍光試薬を用いた癌の検出

肉眼では、癌の範囲は不明瞭です（左図）。ルゴールという特別な色素をスプレーすると、癌のない部分は茶色く染まりますが、癌の部分は染まりません（左から2番目）。臨床の現場ではこの色素を使って癌をみつけています。ただし、この色素は刺激性が非常に強く、苦痛を伴う検査になってしまいます。一方、蛍光試薬を散布した10分後の画像（右から2番目と右図）では、はっきりと緑色の蛍光が得られます。この蛍光試薬はルゴールとは異なり、刺激性をほとんどもたないため、苦痛のない検査が受けられます。

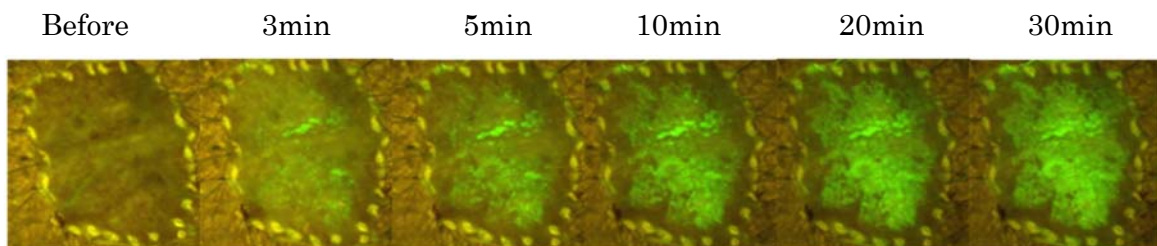


図2. 蛍光試薬散布後の時間変化

蛍光試薬を散布した3分後には、蛍光が観察されはじめ、5分後にははっきりと癌の範囲を認識することができるようになります。10分後以降は、時間が経過しても大きな変化は認めませんでした。

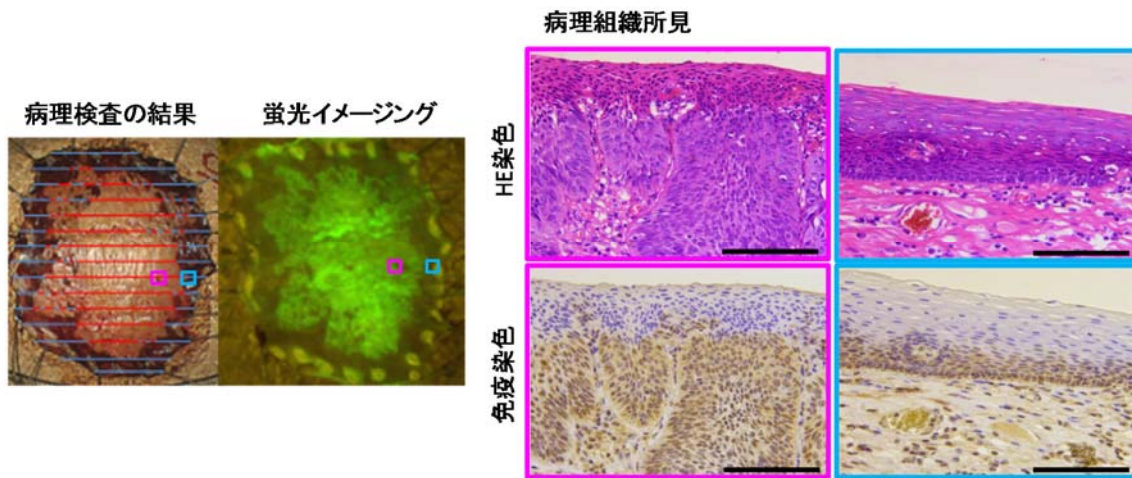


図 3. 図 1 の病理組織染色結果

緑色の蛍光部分（左から 2 番目）は病理検査で癌があった部分（左図の赤線部分）と、良く一致していることがわかります。また、癌があった部分（桃色枠）と癌がなかった部分（水色枠）の組織を、DPP-IV 抗体を使って免疫染色をおこなってみると、右図下段の水色枠内と比べて、桃色枠内のほうが茶色く染まっている免疫染色陽性の細胞が多くみられることから、癌の部位では DPP-IV が存在するということがわかります。