

現在、日本人の2人に1人は一生のうちに1度「がん」に罹り、3人に1人が「がん」で亡くなる時代です。

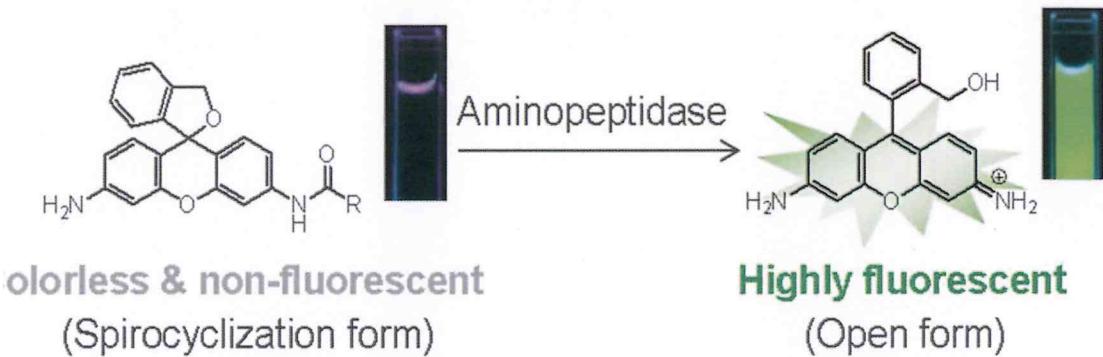
がんを発見する多くの方法は細胞検査を中心に行われています。従来はバイオプシー等で得られた細胞切片を用いる細胞診や抗体を用いる免疫染色が中心でした。今回は日本人により報告された、従来とは異なる新しい蛍光を用いる方法を三つご紹介させて頂きます。

最初は昨年に東京大学等から発表されましたがん検出試薬を手術中の組織にスプレーすることで着色して小さながん、転移したがん或いは術中に取り残したがんを見出す方法です (Sci Transl Med 3(2011)) (1)。

二つ目は昨年に愛知県がんセンター研究所等による Nature Comm(2012)(2)に発表されましたがん細胞親和性を持つ **Tumor homing cell-penetrating peptide** を用いる蛍光染色です。

三つ目は大阪大学等が **Luc** 遺伝子と蛍光タンパク質遺伝子を融合し、がん細胞に発現させて高感度ながん細胞をイメージングする **Nano-lantern** を発表しています (Nature Comm(2012)) (3)。

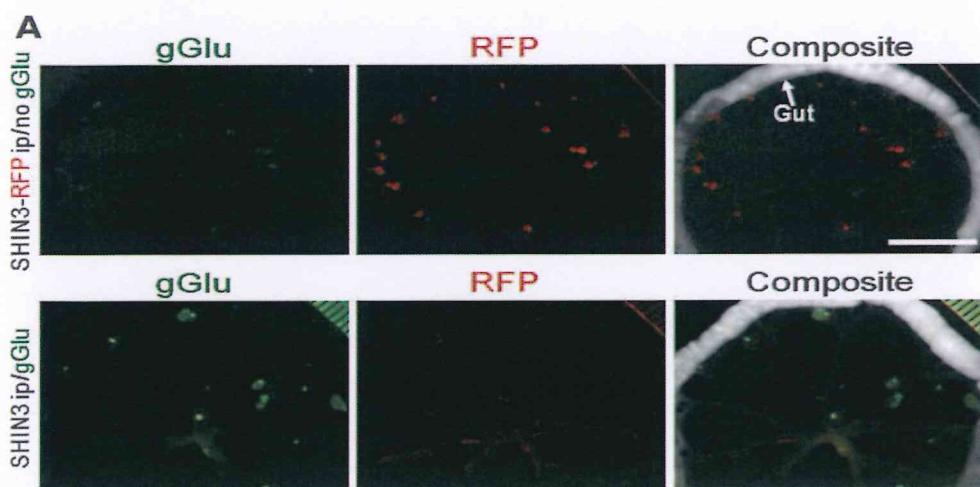
(1) 筆者らは多くの **Activatable probe** の開発を通して、がん細胞が過剰発現している酵素  $\gamma$ -glutamyltranspeptidase(GGT)を利用して、がん細胞（酵素）非存在下では



文献 (1) より引用

蛍光を発しないが (off-state)、酵素活性により基質が分解されると蛍光を発する (on-state) ことを見出しました。この基質(gGlu-HMRG)を組織切片やがん切除中の生体組織にスプレーすると短時間で蛍光(HMRG)が観察出来ます。手術中の腫瘍部位を確実に除去するのに極めて有効なツールです。

また、この方法は高感度であり、約 1 mm の微小がん細胞も発見できます。



(スケールバー 1 mm) (文献 1 から引用)

(2) 筆者らは特殊なランダムペプチドから、特定のがん細胞に対応して選択的な取り込み親和性を示す腫瘍ホーミングペプチド、Tumor lineage-homing cell-penetrating peptides>を数種類開発しました。これらのペプチドは正常組織・細胞への取り込み能が低く、標的がん組織に効率よく取り込まれます。この性質を利用して副作用の少ない生体低侵襲性のがん検査診断技術に応用可能です。

下に開発したペプチドおよびそのアミノ酸シークエンスを示します。

Ten tumour lineage-homing penetrating peptides identified from the mRNA display library

CPPs	Amino-acid sequences
Peptide number	
1 (TAT)	YGRKKKPQRRR
2	DSLKSYWYLQKFSWR
7	KLWMRWWSPTRRYG
10	RLWMRWYSOWTRRWG
28	RLIMRIYAPTRRYG
30	RLYMRYYSPTTRRYG
33	RLWMRWYSPRTRAYG
44	KRPTMRFRTWNPMK
45	WKCRRQCFCRVLHHWN
47	WKCRRQAFCRVLHHWN
48	WKARRQCFCRVLHHWN

Ten out of forty-seven synthesized peptides showed preferential uptake to tumour cells in a lineage-dependent manner.

Nature Comm.2012から引用

次ページに得られたペプチドの各種腫瘍細胞への取り込みを示します。筆者らはペプチドに蛍光標識を行いがん浸潤巣あるいは転移巣の蛍光イメージングに成功しています。

CPPs	Target tumour cell
2	Lovo (Sw620, Colo320,WiDr)
7	H28
10	Broad range of solid tumours
28	U2OS
30	MCF7
33	A549
44	HepG2 and K562 (KYN-1 others)
45	Broad range of solid tumours
47	Leukaemias and lymphomas
48	Leukaemias and lymphomas
polyarginine(r9)	almost all cells

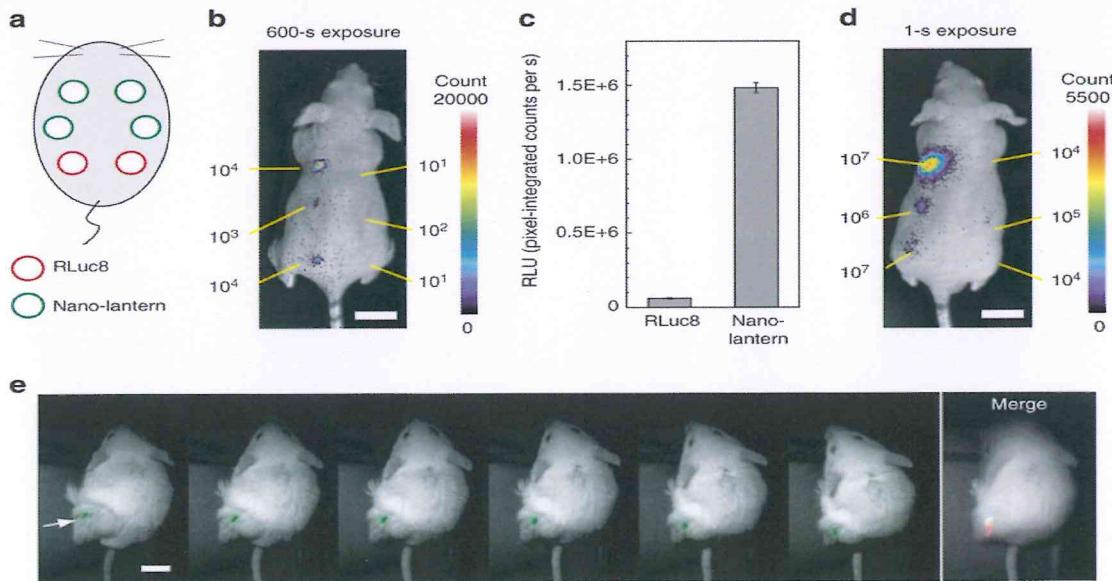
CPP2 to 48 showed poor incorporation into normal human fibroblasts nor NHDF.

Nature Comm.2012から作成

又、この特異的取り込みを利用して各種の **Anti-tumor peptides** を合成して、その抗腫瘍活性を測定しています。新しい抗がん剤としても期待されています。

(3) 筆者らは Luciferase を用いる化学発光の弱いシグナルを解消し、励起光を必要としない化学発光タンパク質と蛍光タンパク質のハイブリッドプローブ(**nano-lantern**)を開発し、従来の化学発光に比べて 10 倍以上明るい超高輝度な系を得ました。この方法は基質の coelenterazine の添加で化学発光を得、その光で蛍光タンパク質を光らせる方法です。原理的には化学発光だけでなく従来の蛍光観察に比べても、生体の深部での蛍光観察および微細な転移巣の観察が可能と推定されます。

また、**nano-lantern** を用いることで、除毛していない、自由に動き回るマウスの背中で光るがん細胞の観察が可能です。効率的な創薬スクリーニングへの利用が期待されています。



(文献 3 より引用)

このシステムは励起光を必要としないため、植物細胞の様な自家蛍光の強い資料の測定が可能です。

又、同じ Luc と蛍光タンパク質のハイブリッド技術を利用して  $\text{Ca}^{2+}$  や cAMP、ATP を検出するプローブの開発にも成功しています。

この様に蛍光生体イメージングは汎用されている手法ですが、従来に増して高感度化が進められて微小ながん細胞或いは転移したがん細胞の検出も可能となり、今後も益々の発展が期待されています。

#### 引用文献

1. Rapid Cancer Detection by Topically Spraying a  $\gamma$ -Glutamyltranspeptidase-Active Fluorescent Probe  
Yasuteru Urano *et al.* Sci Transl Med 3, 110ra119(2011)  
DOI: 10.1126/scitranslmed.3002823
2. Tumour lineage-homing cell-penetrating peptides as anticancer molecular delivery systems  
Eisaku Kondo *et al.* Nature Communications Jul (2012) DOI: 10.1038/ncomms1952
3. Luminescent proteins for high-speed single-cell and whole-body imaging  
Kenta Saito *et al.* Nat.Commun. 3.1262. (2012) DOI: 10.1038/ncomms2248(2012)

(文責：三須)