



東北大学



2015年9月18日

報道機関 各位

東北大学大学院医学系研究科

東京大学大学院理学系研究科

光るナノ粒子を使い、がんの性状を高精度診断する方法の開発

～手術後のがん再発リスクを予測するがん組織診断へ向けて～

【研究概要】

東北大学大学院医学系研究科の権田 幸祐（ごんだ こうすけ）教授、大内 憲明（おうち のりあき）教授の研究グループは、東京大学大学院理学系研究科の樋口 秀男（ひぐち ひでお）教授らと共同で、がんの転移活性化因子の量を高精度で検出する方法を開発しました。これは、がん組織に存在するがん転移活性化因子を光るナノ粒子で標識し、この粒子を1粒子ずつ計測する技術により可能となりました。さらに、この方法を手術で摘出したヒトがん組織の診断に応用した結果、手術後のがん再発リスクを確度よく数値化することに成功しました。本研究の成果は、がんの新規再発予防治療薬（抗体医薬）への応用とともに、がん患者の新たな予後予測診断法へ発展することが期待されます。

本研究結果は、9月22日（米国東標準時：日本時間9月22日18時）の *Scientific Reports* 誌（電子版）に掲載されます。本研究は、文部科学省科学研究費補助金新学術領域研究「ナノメディシン分子科学」および新エネルギー・産業技術総合開発機構（NEDO）の支援を受けて行われました。

【研究内容】

がんにおいて最も恐ろしいのは、がん細胞が他の臓器へ転移し再発することです。乳がんについては、年間約7.2万人が新たに罹患し、約1.3万人が再発などの予後不良により亡くなっています。近年、HER2（human epidermal growth factor receptor 2）^{注1} というタンパク質を標的とした抗がん剤が開発され、乳がんの治療成績が向上しています。しかし、HER2陽性患者は患者の一部（約15-20%）であり、大部分（約80-85%）の患者はHER2陰性です（図1）。HER2陰性患者の内、約65-70%の患者はホルモン受容体陽性であり、ホルモン療法^{注2}を受けられますが、残りの10-15%の患者はHER2およびホルモン受容体ともに陰性であるため、効果的な診断マーカーや治療薬が乏しく、予後が悪いことが知られています。

がんの予後の悪化に関する因子は、診断マーカーになると同時に、治療薬開発の標的にもなります。本研究では、診断や治療の標的因子として、がん転移に関するタ

ンパク質 PAR1 (protease-activated receptor 1) ^{注3}に注目しました(図 2A)。PAR1 が活性化されると、がん細胞の運動能や浸潤能を高め、がん細胞の転移能を増加させます(図 2B)。PAR1 の活性化に必要な部分を認識する抗体(PAR1 抗体)を作製し(図 2C)、ヒト乳がん由来の培養細胞で解析した結果、PAR1 抗体が PAR1 に結合すると、PAR1 の活性化が阻害され、がん細胞の運動能や浸潤能が著しく抑制されることが明らかになりました(図 2B,C)。したがって、本 PAR1 抗体を改良(ヒト化抗体)すれば、がん転移を抑制する抗体医薬になり得ると期待されます。

つぎに、この PAR1 抗体を用いて、がん組織の新規診断法を開発しました。これまで、抗がん剤の有効性や術後の予後を診断するために、がんの組織切片に対する酵素発色反応を利用した方法(免疫組織化学法)が用いられてきました(図 3 上)。これは、がん組織切片に対し、酵素を結合した標的因子特異的な抗体を反応させ、酵素反応により茶色い色素を発色させることで、がん組織の形態と性質を同時に調べる方法です(図 3 上)。しかし、この方法は、酵素反応による発色強度が温度、時間、基質量に左右され、標的因子の存在量の定量性(数値化)が不十分でした。定量性が低いと、がんの診断精度が悪くなるため、定量性の高い方法の開発が大きな課題となっていました。

本研究では、この課題を解決するため、蛍光ナノ粒子^{注4}の 1 粒子イメージングと画像解析を組合せた新規の検出方法の開発を行いました。まず、PAR1 抗体と蛍光ナノ粒子を結合させた「PAR1 抗体-蛍光ナノ粒子」を作製し(図 3 下)、この蛍光マーカーをヒト乳がん組織へ反応させました(図 3 下、図 4A,B)。その後、撮影した蛍光画像を差分画像解析^{注5}という方法を用い、蛍光マーカー由来の信号のみを取り出すことに成功しました(図 4C)。その後、蛍光信号画像において蛍光ナノ粒子の信号を 1 つずつ数えることで「PAR1 抗体-蛍光ナノ粒子」の数を正確に測定することができました(図 4D)。この粒子数は PAR1 抗体が認識する PAR1 の存在量を高精度で表しているため、高い定量性を実現することになります。

さらに、「PAR1 抗体-蛍光ナノ粒子」を用いた本方法により、HER2 陰性乳がん患者の予後診断を試みました。乳腺正常組織、5 年以上無再発の乳がん組織、3 年以内再発の乳がん組織、の 3 種類のヒト組織に存在する PAR1 量を調べた結果、PAR1 量は 3 年以内再発の乳がん組織で最も高く(図 5A)、また PAR1 量と手術後再発までの期間に強い相関性があることを見出すことに成功しました(図 5B)。

本研究の成果は、PAR1 抗体の再発予防治療薬(抗体医薬)への応用を期待させるとともに、「PAR1 抗体-蛍光ナノ粒子」で検討する症例数を増やし評価基準の確度を向上させることで、がん患者の新たな予後予測診断法へ発展することが大いに期待されます。

【用語説明】

- 注 1. HER2 (human epidermal growth factor receptor 2) : ハーツーと読まれる。HER2 は、ヒト上皮性増殖因子受容体 2 というタンパク質で、細胞の増殖調節機能と関与し、過剰に発現したり活性化したりすると、がんの悪性化につながると考えられている。HER2 は乳がんの予後予測因子にもなる。
- 注 2. ホルモン受容体とホルモン療法 : 乳がん細胞には、女性ホルモンであるエストロゲンがその受容体に結合することで、細胞の増殖が活発になる性質のものがある。エストロゲンの合成や作用をブロックしてがんの増殖を抑える治療法をホルモン療法という。
- 注 3. PAR1 (protease-activated receptor 1) : その細胞外領域が、がん特有のタンパク質分解酵素 MMP1 (Matrix metalloprotease 1) に切断されると活性化される。
- 注 4. 蛍光ナノ粒子 : ある波長の光を吸収し、それとは違う波長の光を放出する性質を持つナノメートルサイズの粒子のこと。(1 ナノメートルは1 ミリメートルの百万分の一の大きさ)。
- 注 5. 差分画像解析 : 2 つの画像の差分にあたる信号を取得し解析する方法。本研究では、組織自家蛍光と蛍光ナノ粒子が混在する画像から、組織自家蛍光に由来する信号のみを減算し、蛍光ナノ粒子に特異的な信号の解析を行った。

【研究の概念図】

乳がん患者の大部分はHER2陰性

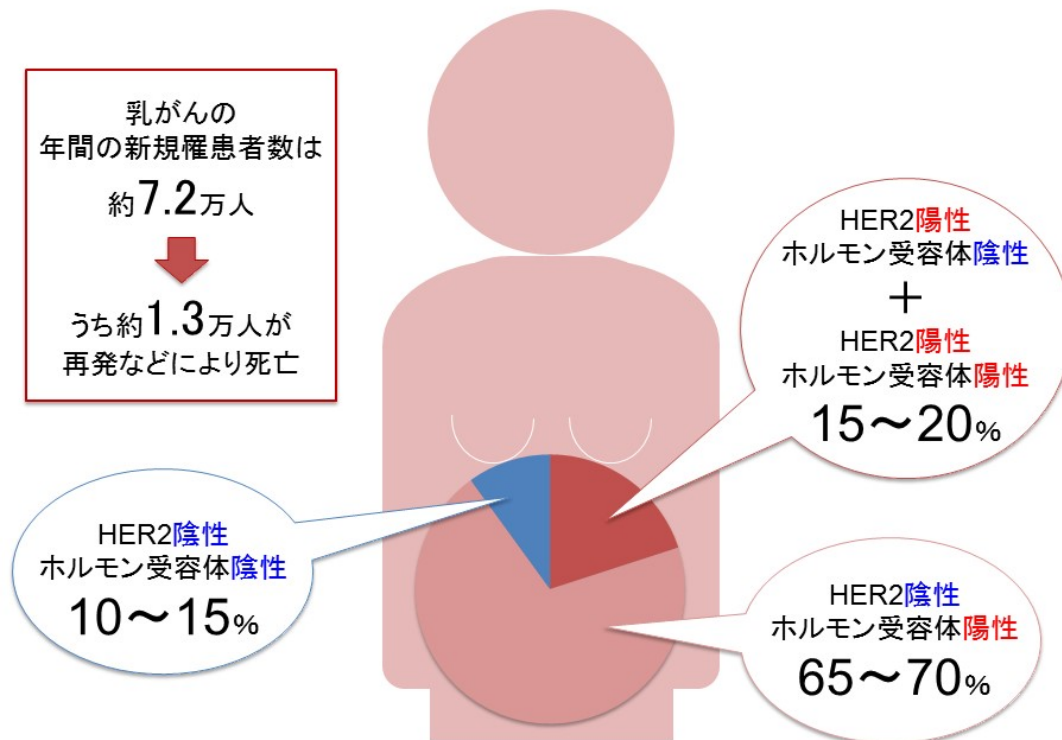


図1 乳がん患者の分類 (国立がん研究センターがん対策情報センター、
Journal of Cancer Epidemiology, 2014、他)

【図】

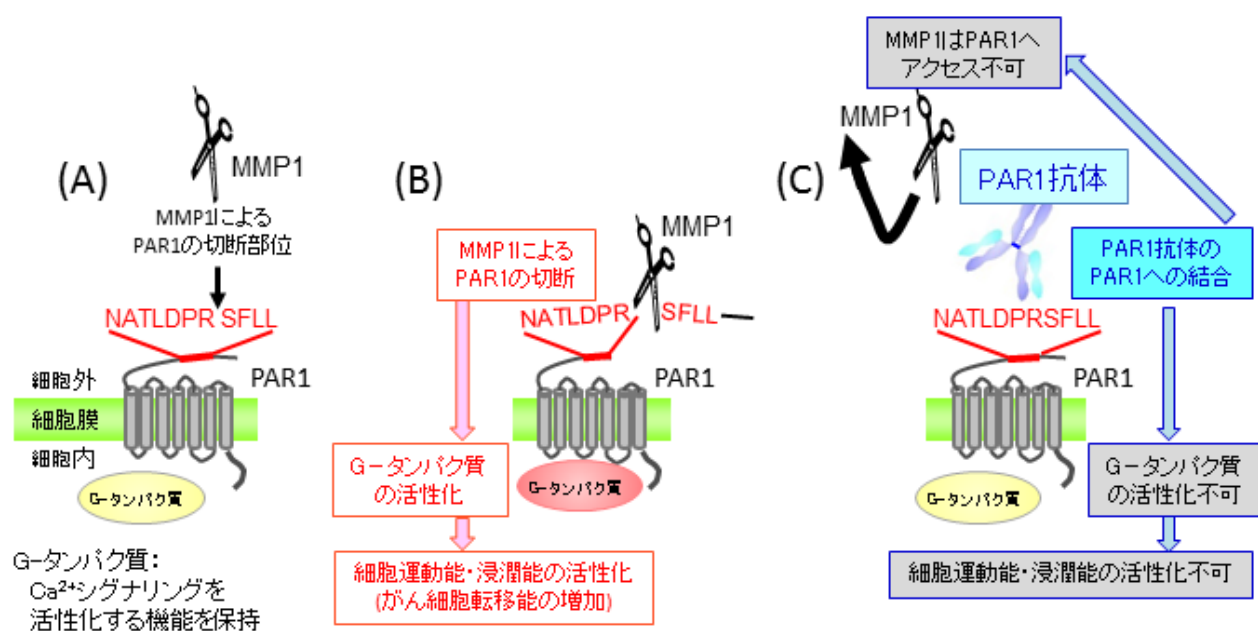


図2 PAR1の構造とPAR1抗体の特性

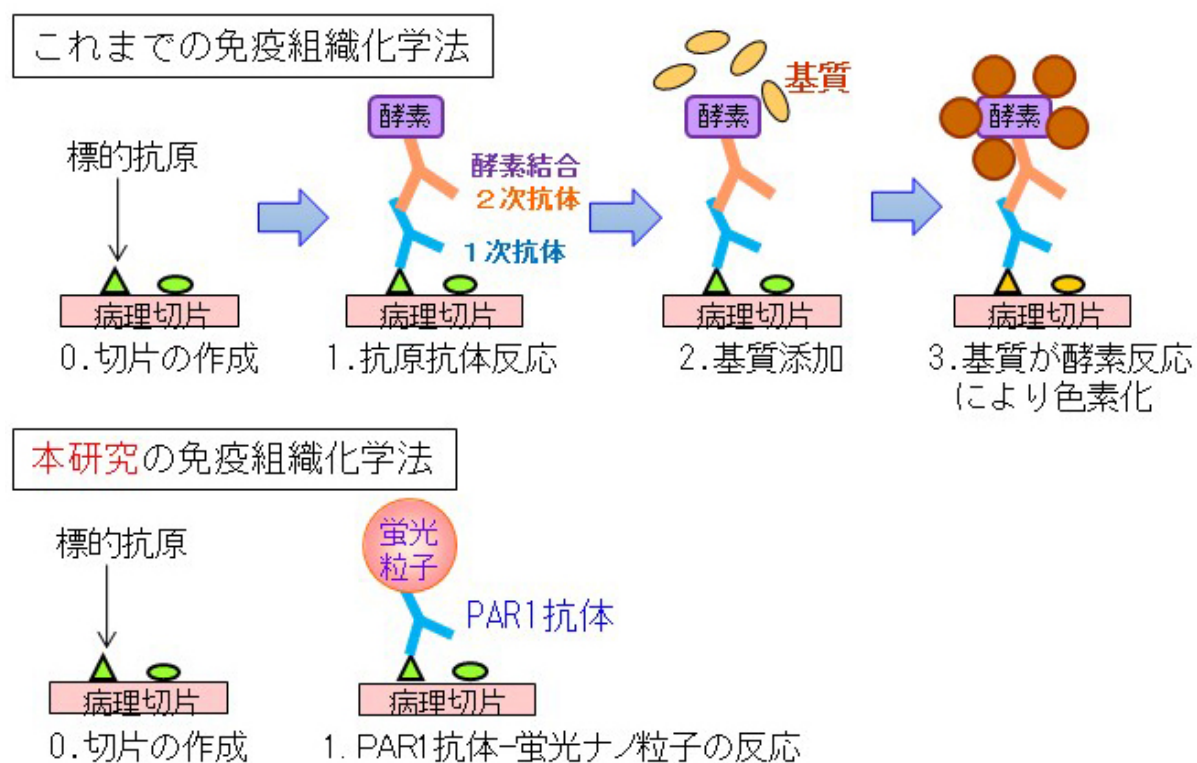


図3 これまでの免疫組織化学法と本研究の免疫組織化学法の比較

<論文名・著者名>

Predictive diagnosis of the risk of breast cancer recurrence after surgery by single-particle quantum dot imaging.

(日本語訳： 1粒子量子ドットイメージングを用いた術後乳がん再発リスクの予測診断法)

Gonda K*, Miyashita M, Higuchi H, Tada H, Watanabe TM, Watanabe M, Ishida T, Ohuchi N..

(*) Corresponding Author

本研究は以下の研究事業の成果の一部として得られました。

- 新学術領域研究 「ナノメディシン分子科学」 (文部科学省) : 「がんリンパ行性転移の分子機構解明に基づく新治療法創発」
- がん超早期診断・治療機器の総合研究開発 (新エネルギー・産業技術総合開発機構) : 「1粒子蛍光ナノイメージングによる超高精度がん組織診断システムの研究開発」

【お問い合わせ先】

(研究に関すること)

東北大学大学院医学系研究科・医用物理学分野
教授 権田 幸祐 (ごんだ こうすけ)

TEL : 022-717-7892

FAX: 022-717-7579

E-Mail: gonda@med.tohoku.ac.jp

(報道担当)

東北大学大学院医学系研究科・医学部広報室
講師 稲田 仁 (いなだ ひとし)

TEL : 022-717-7891

FAX: 022-717-8187

E-Mail: hinada@med.tohoku.ac.jp