

がん細胞が特異的に食べる 非天然型グルコース誘導体

～ がん細胞が蛍光で光る高精度がん診断技術 ～

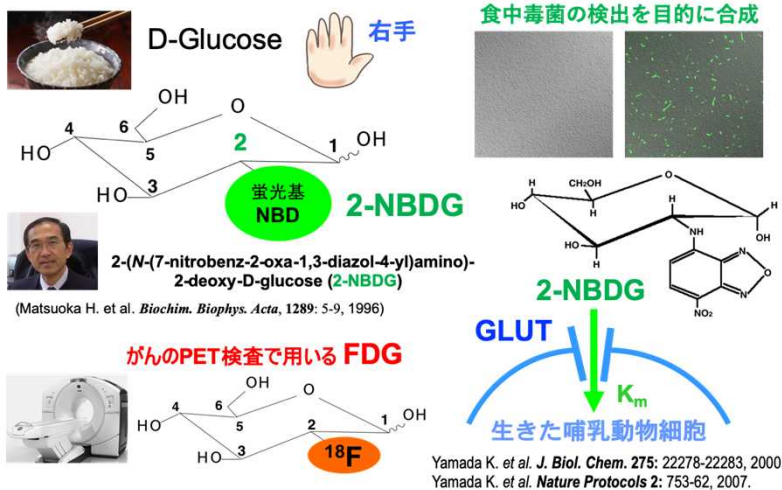
弘前大学大学院医学研究科・准教授 山田勝也

研究概要

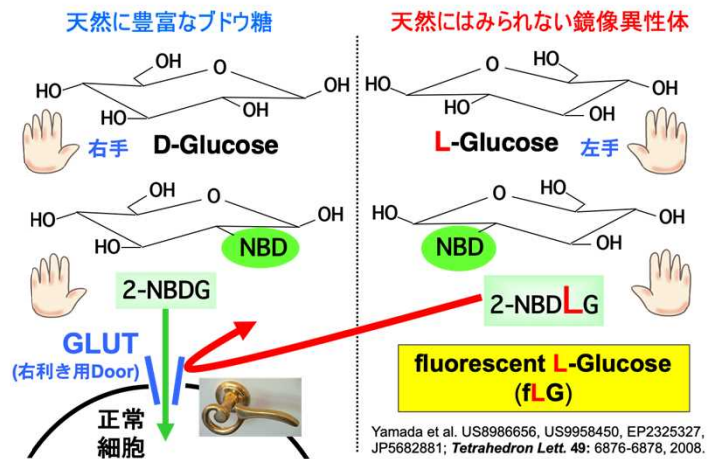
がんは、栄養素としてブドウ糖(D-グルコース)を細胞内に多量に取り込みます。この性質を利用して放射線発するD-グルコースを静脈に注射し、放射能の強さでがんを検出するPET検査も行われています。しかし、D-グルコースは全ての細胞の共通栄養素で、がんにも正常細胞にも取り込まれる為、がんと正常の識別が困難な場合や、小さながんを検出できない課題がありました。一方、正常な細胞はD-グルコースの鏡像異性体である非天然型ブドウ糖(L-グルコース)を栄養素としないことが知られています。私達は、L-グルコースを蛍光で光らせた**2-NBDLG**を開発し、患者さんの腹水に適用したところ、がん細胞が**2-NBDLG**を取り込み、蛍光を発しました(国際特許取得済*)。L-グルコースの誘導体は正常細胞に取り込まれない為、がんの識別性に優れ、GLP試験で高い安全性も確認されました。細胞の機能を測定する方法であるため、従来判定困難とされていた「形や深達度に明瞭な異常を認めないがん」の診断も可能です。婦人科がん患者を対象とした小規模試験では、病理細胞診断より正確な予後予測に成功しました。今後自動化を実現し、多施設での検証を目指しています。

研究成果

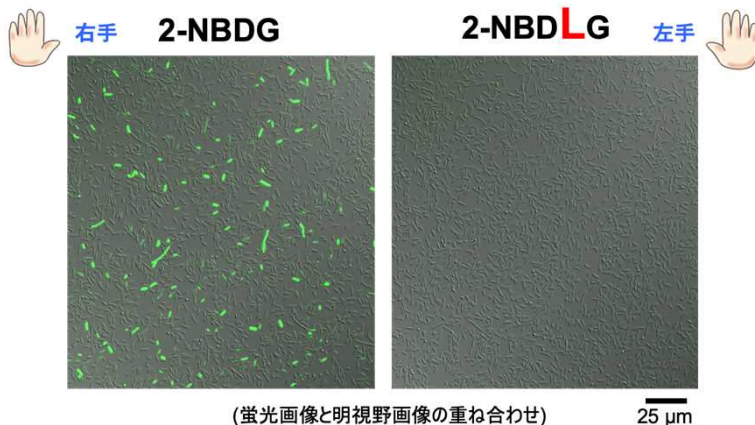
1 ブドウ糖(D-グルコース)に蛍光基を結合して、食べた細胞を可視化



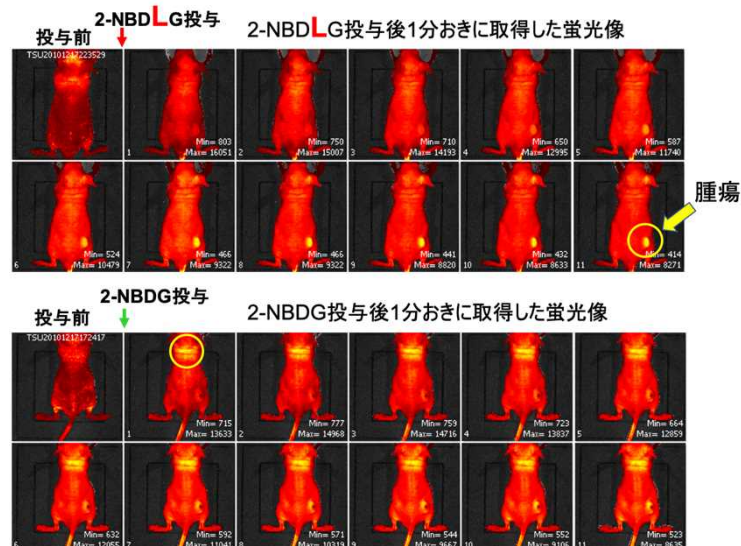
2 正常細胞が食べないL-グルコースに蛍光基を結合した 対照分子 2-NBDLGを開発



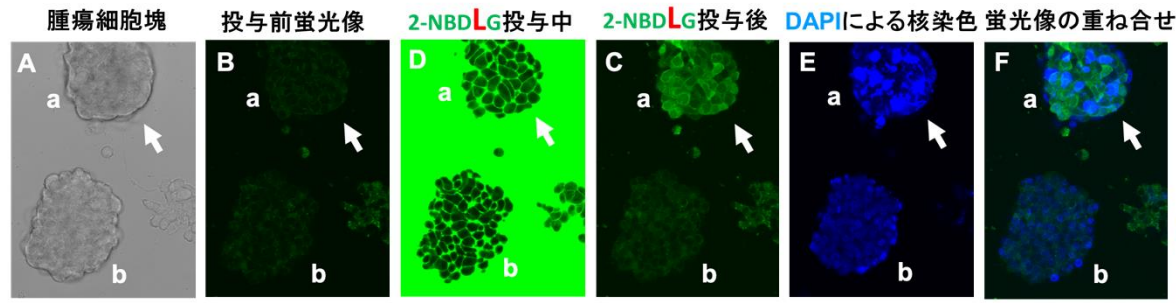
3 大腸菌は 2-NBDG を食べ、2-NBDLG を食べない



4 正常細胞が食べない 2-NBDLG を腫瘍細胞は食べる



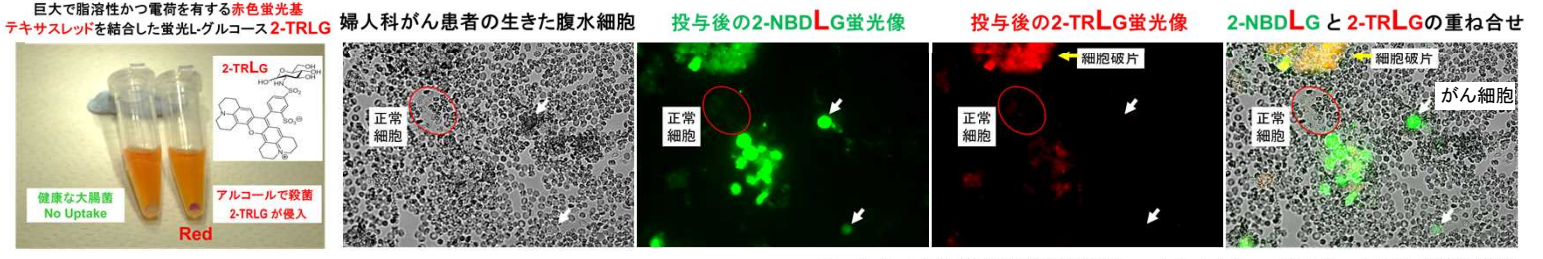
5 緑色蛍光L-グルコース 2-NBDLG を細胞内に取り込む腫瘍細胞塊(腫瘍細胞が立体的に集積した塊)



悪性腫瘍を特徴づける「大小異なる核」を呈する、異型度の強い腫瘍細胞塊a(矢印)に、**蛍光L-グルコース 2-NBDLG**が選択的に取り込まれる。
Sasaki A. et al. *Human Cell* 29: 37-45 (2016).

同じ細胞が増殖してできた腫瘍細胞塊bは、小さな核をもつ一様で小さな細胞からなり、異型度が弱く、2-NBDLGをほとんど取り込まない。
マウスインスリノーマMIN6細胞 (from Dr. J. Miyazaki, Osaka Univ.)

6 細胞膜不透過性の赤色L-グルコース 2-TRLG を 緑色の 2-NBDLG と同時に用い、緑色に光るがんを赤色の損傷・炎症細胞と識別



Yamada, K. et al. 欧州特許EP3199638取得; Yamamoto T. et al. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 21: 4088-96 (2011).

7 2-NBDLG のがん細胞内への輸送機構

蛍光基NBDだけでは細胞は光らない

D-グルコースは、哺乳動物細胞内にトランスポーターを介して取り込まれる

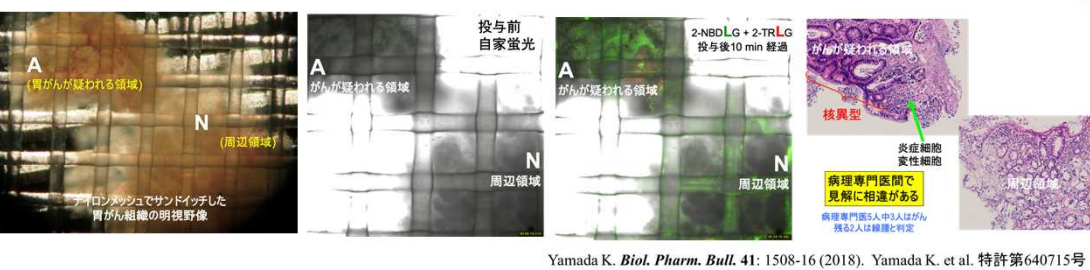
がん細胞は、2-NBDLGを非トランスポーターを介して取り込む

2-NBDLG のがん細胞内への輸送機構

1. GLUT を介する取込みは **Cytochalasin B** で阻害される
2. SGLT を介する取込みは **Na⁺-free** 条件で阻害される

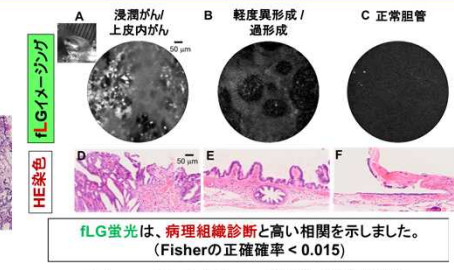
Sasaki A. et al. *Human Cell* 29:37-45 (2016)

8 胃がん内視鏡検査時の生検組織に適用後、病理染色像と比較

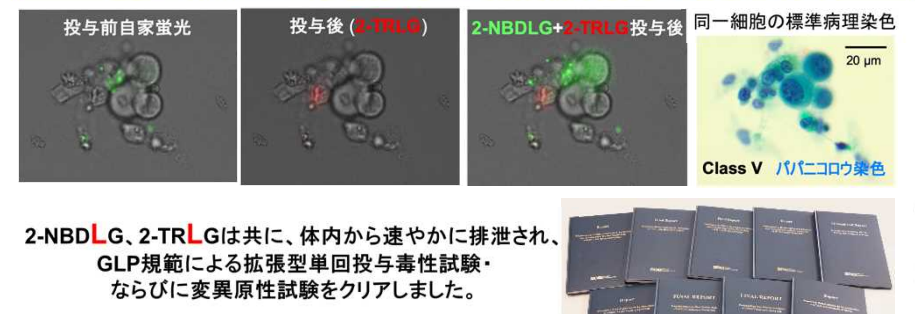


Yamada K. *Biol. Pharm. Bull.* 41: 1508-16 (2018). Yamada K. et al. 特許第640715号

発がん物質の投与により胆管がんを発症したハムスターに、蛍光L-グルコース (fLG) を麻酔下適用後、病理組織像と比較



9 婦人科がんの摘出直前に採取した生きた腹水細胞に 2-NBDLG と 2-TRLG を直ちに適用、蛍光イメージングを行った後、標準病理染色を施し、独立した4名の専門医が細胞診断を行い、両者を3年後の患者予後で評価しました。



fLG法と従来法の比較

右手: D-グルコース誘導体を使う従来技術

左手: L-グルコース誘導体 "fLG" を使う新技術

- 正常細胞 (脂肪・筋など)への取り込みによる背景信号が高い。
- 炎症や損傷との識別が難しい。
- 顔つきに出ない早期病変では、良悪鑑別が難しい。
- 正常細胞にも取り込まれる為、投与量に制約がある。

- 正常細胞への取り込みによる背景信号が低いため、コントラスト良く、より小さながんを検出できる。
- 膜不透過性の赤色のfLGを同時に用いることで、炎症・損傷を識別可能。
- がん化のポテンシャルを早期に予測できる可能性。
- 正常細胞への取り込みが少なく、低毒性。TheranosticsやDDSとして有利。

今後の展開

蛍光L-グルコース(fLG)法は、がん細胞のいわば異常な食欲を栄養素側から細胞単位で判定する強力な方法で、蛋白や遺伝子の変異に左右されず、また形態情報も同時に得られる為、通常の診断も可能です。多数特許も取得され、小規模試験では再発を全例予測するなど、病理細胞診断より正確ながんの進行予測に成功しています。分子機構解明と、自動化の実現による多施設検証を目指しており、意欲に満ちた多様な企業の参入を歓迎します。(ヒト検体の試験は、倫理委員会の承認の下、患者さんの同意を得て実施しています。COI: 本研究は主にH20-23年JST育成研究、H23-28年JST/AMED産学共創基礎基盤、同 A-STEP、H24-26年及びH28-30年弘前大学機関研究等で実施し、合成は全て(株)ペプチド研究所で行い、一部に日本メジフィジックス(株)、浜松ホトニクス(株)、(株)ニコンインスチック等の支援による資金を利用しています。)