

新たな乳腺腫瘍特異的バイオマーカー酵素の発見
—1 mm 以下の微小な乳がんを光らせて正確に検出する技術の開発—

1. 発表者：

浦野 泰照 (東京大学大学院薬学系研究科 薬品代謝化学教室 教授／大学院医学系研究科 生体物理医学専攻 生体情報学分野 教授(兼担))

神谷 真子 (東京大学大学院医学系研究科 生体物理医学専攻 生体情報学分野 准教授)

藤田 恭平 (東京大学大学院医学系研究科 生体物理医学専攻 生体情報学分野 博士課程)

2. 発表のポイント：

・【成果の概要】乳がんの新たなバイオマーカーとして α -マンノシダーゼ 2C1 (MAN2C1)を発見し、肉眼では識別の難しい微小な乳がんを迅速かつ高感度に光らせる事に成功しました。また、乳がん(悪性腫瘍)と乳腺の良性腫瘍の MAN2C1 活性の差を利用し、悪性腫瘍と良性腫瘍を異なる色で光らせて識別する技術の開発に成功しました。

・【新規性】MAN2C1(糖質加水分解酵素のひとつ)が正常組織に比べて乳がん組織で活性と発現量が上がっており、乳がんを可視化する標的バイオマーカーとして利用できる事を世界に先駆けて発見しました。また、酵素活性の差を利用して悪性腫瘍(がん)と良性腫瘍を異なる色で蛍光可視化する事に世界で初めて成功しました。

・【社会的意義/将来の展望】今回見出した MAN2C1 の活性を光らせる試薬は、外科手術に適用する事で、がんの取り残しによる再発を低減できる可能性があると期待されます。

3. 発表概要：

乳がんは、女性で最も罹患率の高いがんで、早期では手術による摘出が行われますが、その取り残しによる再発や、良性腫瘍との識別などが患者の予後を左右する課題となっていました。

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今回、乳がんが持つ糖鎖分解酵素群の特徴を明らかにするべく、これらの活性を光らせて検出する試薬群を開発しました。開発した試薬を乳がん患者由来の臨床組織で評価する事により、 α -マンノシダーゼの活性を光らせる試薬が乳がん組織を高い感度・特異度で光らせる事が可能である事を発見しました。実際に、本試薬を用いることで、肉眼では確認できない微小な乳がん組織を 10 分程度で高感度に光らせる事が可能でした。さらに同グループは、 α -マンノシダーゼの中でも MAN2C1 が乳がんを光らせる鍵となっている事を突き止めました。また、乳腺の良性腫瘍の一部では乳がんよりも MAN2C1 の活性が高い事を見出し、この差を利用して両腫瘍を異なった色に光らせて識別する事に成功しました。

今後、見出した試薬はがんの取り残しによる再発の防止に、同定された MAN2C1 は乳がんの新規バイオマーカーとして利用されることが期待されます。

(500/500 字)

4. 発表内容：

- ① 研究の背景・先行研究における問題点

乳がんは、女性で最も罹患率の高いがんで、早期では手術による摘出が行われます。しかしながら、微小ながんの取り残しによる再発や、術中の良性腫瘍との識別などが患者の予後を左右する課題となっていました。外科医が適切な切除範囲を術中に判断するためには、乳がん組織だけを迅速かつ高感度に可視化できる手法や、乳がんと良性腫瘍を術中に迅速識別できる手法の開発が強く望まれていました。

② 研究内容（具体的な手法など詳細）

東京大学大学院薬学系研究科薬品代謝化学教室・医学系研究科生体情報学分野の藤田恭平博士課程学生、神谷真子准教授、浦野泰照教授らは、乳がんの糖質加水分解酵素（糖鎖を分解する酵素群（注1））に新たに着目し、12種類の糖質加水分解酵素の活性を高感度に光らせて検出する蛍光試薬“蛍光プローブ（注2）”を開発しました（図1a）。これらの蛍光プローブは分子骨格に糖基質が組み込まれている状態では無色・無蛍光性の分子ですが、標的の糖質加水分解酵素と反応すると、糖との結合が加水分解され蛍光性の分子へと変換されます。本研究グループは、開発した蛍光プローブ群を、乳がん患者さんから摘出した乳がん組織と正常乳腺組織に添加して蛍光変化を比較評価する事により、 α -マンノシダーゼ（糖質加水分解酵素のひとつ）の活性を光らせる蛍光プローブが乳がん組織を正常組織と見分けて高い感度・特異度で光らせる事が可能であることを発見しました（図1b）。

さらに本研究グループは、 α -マンノシダーゼの中でも α -マンノシダーゼ 2C1（MAN2C1（注3））と呼ばれるタイプの酵素が乳がんを光らせる鍵となっている事を突き止め、この酵素の活性と発現量が正常組織に比べて乳がん組織で上がっている事を新たに発見しました。MAN2C1はこれまで乳がんにおいて全く着目されてこなかった酵素で、本研究グループが開発した蛍光プローブ群を用いて手術検体における酵素活性を直接評価することで、今回初めてその標的バイオマーカーとしての有効性が明らかとなりました。実際に、この α -マンノシダーゼの活性を光らせる試薬は、がんが疑われる部位へ散布するだけで、肉眼では確認できない1 mm以下の微小な乳がん組織まで10分程度で迅速かつ精確に光らせる事が可能でした（図1c）。

また本研究グループは、乳腺の良性腫瘍である乳腺線維腺腫（FA（注4））ではMAN2C1の活性が乳がんよりも高い傾向にある事を見出しました。この結果から、良性腫瘍FAに強く応答するMAN2C1を標的とした緑色蛍光プローブと、乳がん（悪性腫瘍）と良性腫瘍において同様に応答する事が知られる γ -glutamyltranspeptidase（GGT（注5））と呼ばれる酵素を標的とした赤色蛍光プローブの双方を組み合わせることで、悪性腫瘍と良性腫瘍を異なる蛍光色で識別する技術を開発しました。実際にこれらの二つの蛍光プローブをカクテルにして両腫瘍に散布したところ、悪性腫瘍組織は赤色に、良性腫瘍組織は黄色に可視化され、両者を酵素活性の差に基づいて異なった色で識別する事に成功しました（図1d）。

③ 社会的意義・今後の予定

今回見出したMAN2C1の活性を光らせる蛍光プローブは迅速かつ高い精度で微小な乳がんを光らせる事が可能である為、乳がん手術で切除した部位の断端などに散布する事で、がんの取り残しがないかをその場で迅速に確認する試薬として応用できる可能性があり、乳がんの再発の防止に貢献する事が期待されます。また、開発した蛍光プローブ群は、乳がん以外のがん種においても同様な評価を実施する事で、新たながん組織を光らせる蛍光プローブと、その標的酵素の探索に応用できる事が期待されます。

さらに、本研究で示された悪性腫瘍と良性腫瘍の複数以上の酵素活性に基づいて識別する戦略は、将来的に臨床現場で識別の難しい様々な腫瘍種の迅速かつ簡便な識別技術の確立に有効であり、様々な臨床イメージング技術の開発に繋がる事が期待されます。

本研究は、日本医療研究開発機構（AMED）の「AMED-CREST」研究の一環で行われました。また、臨床検体を用いた検討は、うえお乳腺外科 上尾裕明医師・日野るみ医師との共同研究の成果です。

5. 発表雑誌：

雑誌名：「ACS Central Science」（10月29日オンライン版）

論文タイトル：Rapid and Accurate Visualization of Breast Tumors with a Fluorescent Probe Targeting α -Mannosidase 2C1

著者：Kyohhei Fujita, Mako Kamiya, Takafusa Yoshioka, Akira Ogasawara, Rumi Hino, Ryosuke Kojima, Hiroaki Ueo and Yasuteru Urano*

DOI 番号：https://doi.org/10.1021/acscentsci.0c01189

アブストラクト URL：https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acscentsci.0c01189

6. 注意事項： 特になし

7. 問い合わせ先：

東京大学大学院薬学系研究科 薬品代謝化学教室／大学院医学系研究科 生体物理医学専攻 生体情報学分野（兼担）

教授 浦野 泰照（うらの やすてる）

TEL: 03-5841-4850（薬）、03-5841-3601（医）

FAX: 03-5841-4855（薬）、03-5841-3563（医）

E-mail: uranokun@m.u-tokyo.ac.jp

8. 用語解説：

- 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、強い蛍光を発する機能性分子の総称。
- 2) 糖質加水分解酵素：糖鎖を加水分解する酵素の総称。人体にも様々な糖鎖間の結合を加水分解する糖質加水分解酵素が存在しており、その一部はがんで高発現する事などが報告されている。
- 3) α -マンノシダーゼ 2C1 (MAN2C1)： マンノースと呼ばれる糖を認識して、その α グリコシド結合を加水分解する糖質加水分解酵素「 α -マンノシダーゼ」のサブタイプの一つ。
- 4) 乳腺線維腺腫 (FA)：若い女性で最も多く発生するとされる乳腺の良性腫瘍。
- 5) γ -glutamyltranspeptidase (GGT)：小分子やペプチドの γ -グルタミル基を認識し加水分解する酵素。乳がんで高発現している事が報告されている。GGTを標的とする蛍光プローブは乳がんと乳腺の良性腫瘍で同様に光る。

9. 添付資料：

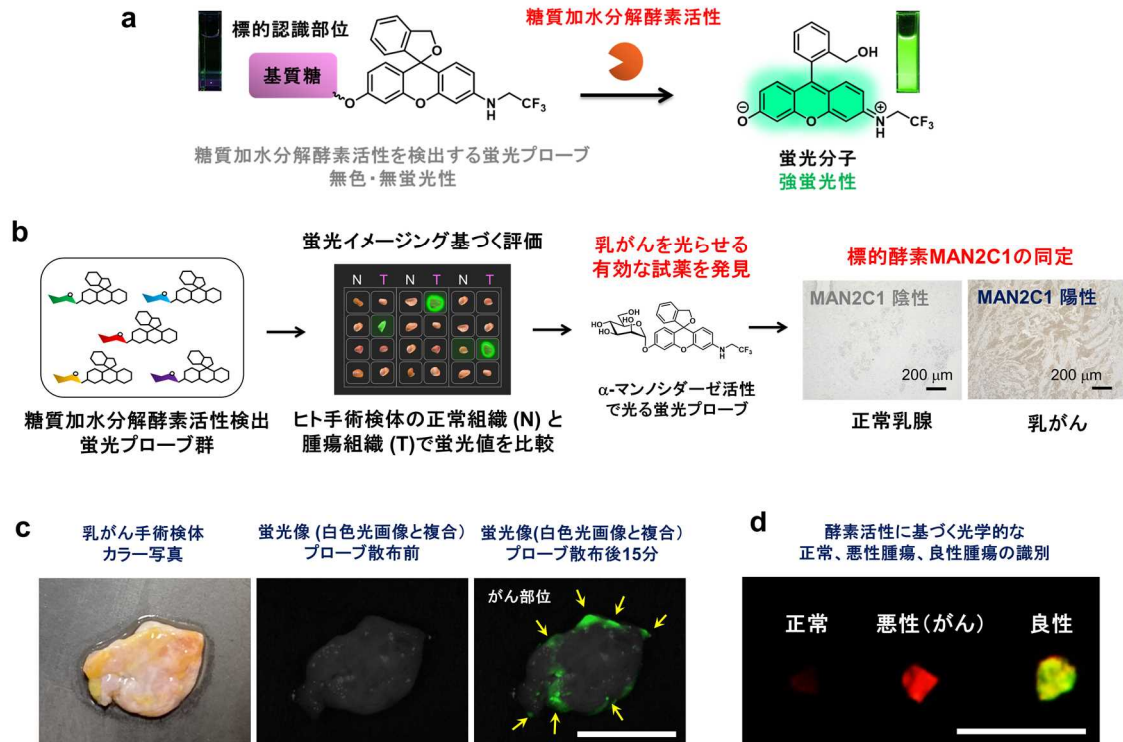


図1. 乳腺腫瘍特異的バイオマーカーとしてのMAN2C1の同定と迅速臨床蛍光イメージングの実現

- 糖質加水分解酵素活性を光らせて検出する蛍光プローブ。標的酵素との反応前は無蛍光性だが、酵素と反応すると蛍光性の分子に変換される。
- 糖質加水分解酵素活性検出蛍光プローブ群を用いた乳がんを光らせる蛍光プローブの探索と新たな乳がん特異的バイオマーカー酵素の同定。MAN2C1と反応して光る蛍光プローブが乳がんの検出に有効である事が見出された。
- MAN2C1と反応して光る蛍光プローブを用いて、肉眼では識別が困難な微小な乳がんの迅速検出が可能になった。スケールバーは1 cm。
- MAN2C1とGGTの活性を利用した2色イメージングによる悪性腫瘍(乳がん)と良性腫瘍FAの識別。悪性腫瘍は赤色に、良性腫瘍は黄色に可視化される傾向にあった。スケールバーは1 cm。