

連絡先: **AntiCancer Japan 株式会社**

〒567-0085 大阪府茨木市彩都あさぎ 7 丁目 7 番 15 号 彩都バイオインキュベータ 106

Tel & Fax : 072-643-1048 E-mail: [anticancerjapan@cup.ocn.ne.jp](mailto:anticancerjapan@cup.ocn.ne.jp)

URL: <http://www.anticancer.com>

## 蛍光タンパク質で何を *in vivo* イメージングできるか?

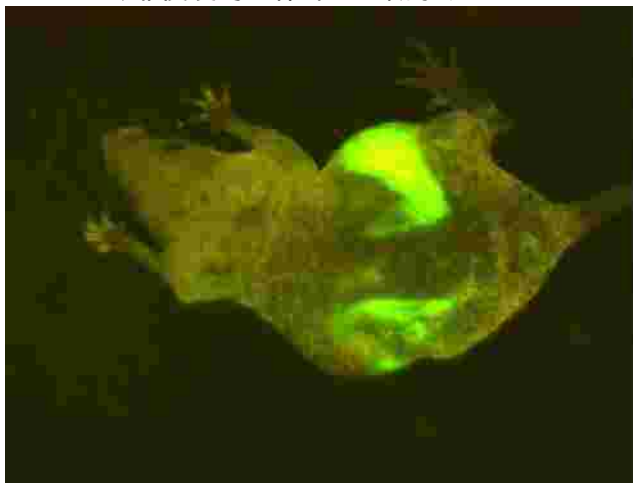
- アンティキアンサー社・アメリカ合衆国・サンディエゴ市 -

Home page : <http://www.anticancer.com>

2008 年 7 月

Robert M. Hoffman, "The Multiple Uses of Fluorescent Proteins to Visualize Cancer *in vivo*",  
Nature Review Cancer, Vol.5, 796-806(2005) より抜粋。

- ? GFP 遺伝子をがん細胞に安定して組み込むことができる。
- ? 蛍光タンパクを発現している生体内の腫瘍組織(原発巣や転移巣)や動物を傷つけることなく非侵襲的に体外から観察することができる。



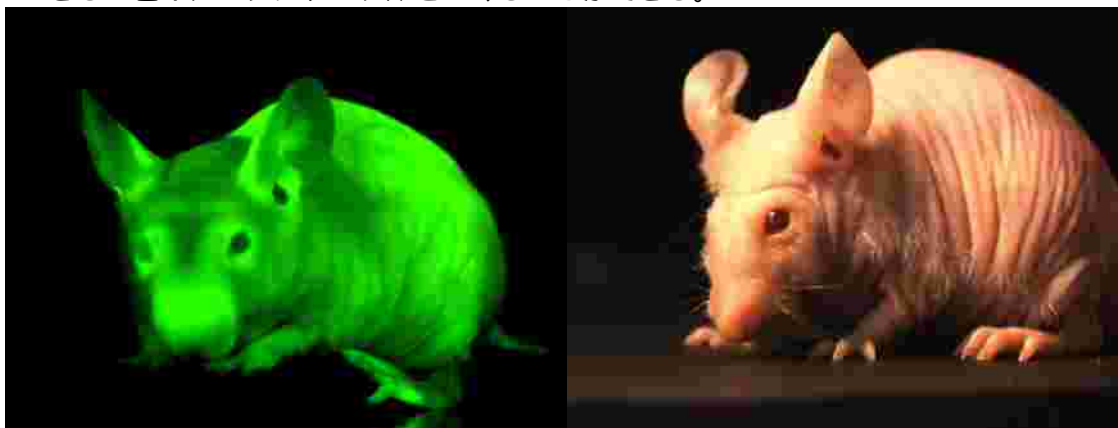
### ヒト大腸がん肝転移モデル

- AC3488\* -

AC3488 に GFP を導入し、腫瘍組織としてヌード・マウスの盲腸に同所移植した後、観察を続けると左の写真のように肝臓その他への転移がマウスを傷つけることなく、体外から観察できる。腫瘍のエリアは、原発巣・転移巣とも外部から定量的・経時的に測定可能である。

\*California 大学 San Diego 校医学部で大腸癌肝転移患者から採取したヒト大腸癌。

- ? GFP 遺伝子を発現させる遺伝子の部位によって異なるが、遺伝子組換えマウスでは GFP を生体内の全細胞あるいは特定の細胞で発現させることができる。この GFP-マウスに RFP を発現するがん細胞を移植すると、腫瘍細胞と宿主細胞の相互作用を見ることができる二色イメージングモデルをつくることができる。



### GFP-ヌード・マウス

左側 : 470nm の励起光の下で全身からミドリ色の蛍光を発する GFP-ヌード・マウス。

右側 : 同じ GFP-ヌード・マウスも通常の光の下では普通のヌード・マウスと変わらない。

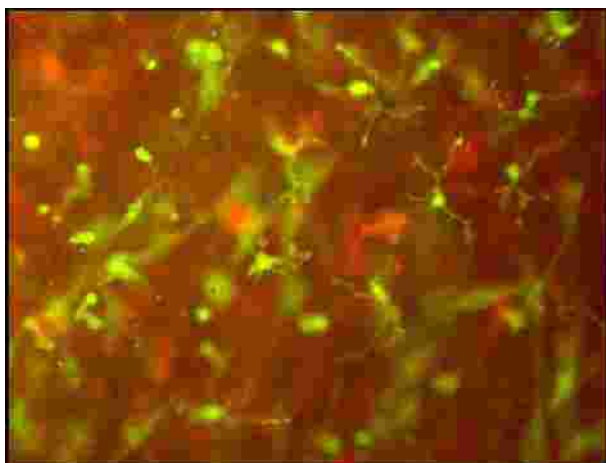
Yang, M et al. " Transgenic nude mouse with ubiquitous green fluorescent protein expression as a host for human tumors." Cancer Res., 64, 8651-8656(2004)

連絡先: **AntiCancer Japan 株式会社**

〒567-0085 大阪府茨木市彩都あさぎ 7 丁目 7 番 15 号 彩都バイオインキュベータ 106

Tel & Fax : 072-643-1048 E-mail: [anticancerjapan@cup.ocn.ne.jp](mailto:anticancerjapan@cup.ocn.ne.jp)

URL: <http://www.anticancer.com>



### 腫瘍と宿主細胞の相互作用

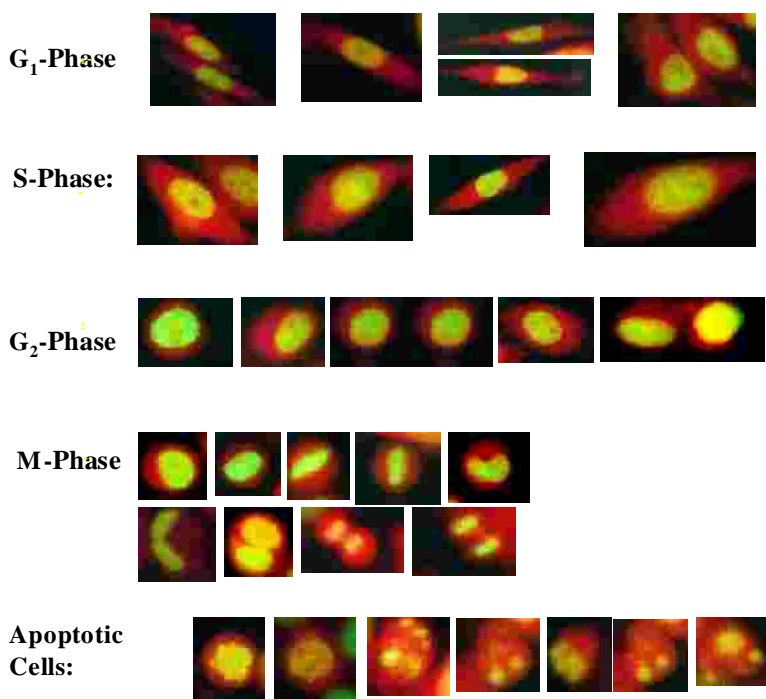
- GFP と RFP による -

写真は、宿主の樹状細胞(GFP を発現し緑に見える)が癌細胞(B16F10 : RFP を発現し赤く見える)に接触している様子を示す。GFP を発現する遺伝子組換えマウスに RFP を発現する癌細胞を注入して撮影した。

Meng Yang et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 100, 14259-14262(2003)

? がん細胞に二つ以上の蛍光タンパクを発現させることが可能である。例えば、細胞核を GFP でラベルし、細胞質を RFP でラベルすることができる。このような細胞を使えば、核と細胞質の挙動を *in vitro* および *in vivo* で観察することができる。

### 細胞質をRFPで、細胞核をGFPでラベルしたヒト前立腺癌細胞(PC-3)を使ったリアル・タイム細胞周期分析



ヒストンH2-B-GFPを細胞質で、DsRed-2-RFPを細胞核で安定に発現させたヒト前立腺癌細胞 PC-3 を使って、細胞周期(G1, S, G2 & M 期)およびアポトーシスの様子を示した。

Hoffman, R.M. *In vivo* imaging with fluorescent proteins: The new cell biology. Acta Histochemica 106, 77-87, 2004.

? 細胞一つずつを *in vivo* イメージングで観察できる。深部組織の場合でも、皮弁や窓を付けることで細胞単位の観察が可能である。この技術によってがん細胞の浸潤、遠隔臓器への転移、休眠の研究が可能である。

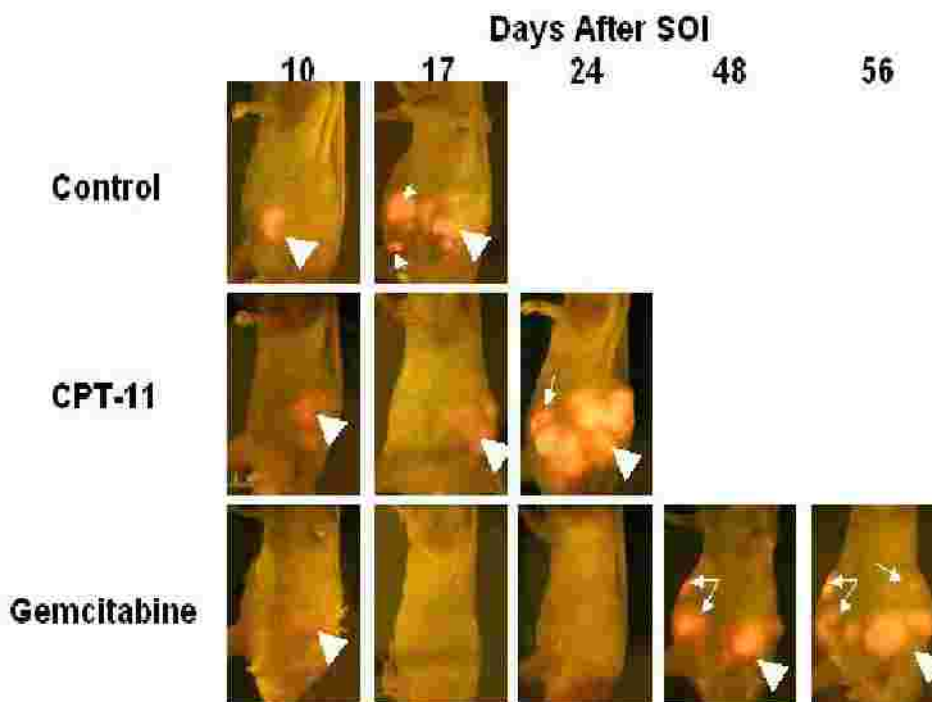
連絡先： **AntiCancer Japan 株式会社**

〒567-0085 大阪府茨木市彩都あさぎ 7 丁目 7 番 15 号 彩都バイオインキュベータ 106

Tel & Fax : 072-643-1048 E-mail: [anticancerjapan@cup.ocn.ne.jp](mailto:anticancerjapan@cup.ocn.ne.jp)

URL: <http://www.anticancer.com>

- ? 蛍光タンパクを使ったイメージングは、ルシフェラーゼを使ったイメージングに較べて、次のような長所がある。? 得られるシグナルが明るい。? 基質が不要である。? 多様な色彩が利用できる。? 単純で安価な装置で測定できる。
- ? In vivo 蛍光タンパクイメージングを使うと、ヒト癌のマウスモデルを使って抗がん剤の有効性を目で見て評価できる。



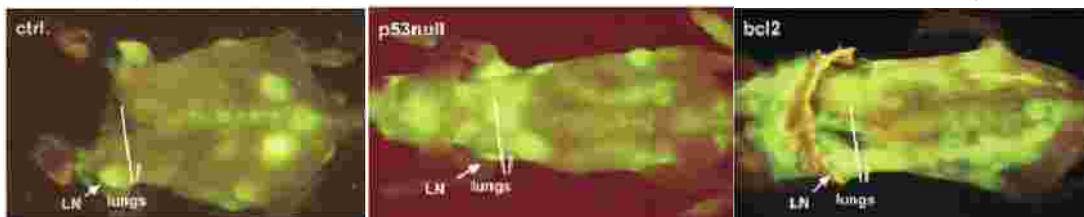
### 癌細胞の増殖と抗癌剤の治療効果をモニターする全身イメージング

一連の画像は RFP で標識した Mia-PaCa-2 (膵臓癌) の進展と抗癌剤の治療効果を示す。大きな白の三角は原発巣を白の小さな矢印は転移巣を示す。CPT-11 は control に比べると原発巣・転移巣とも効果を示している。Gemcitabine は一ヶ月間は癌の進行を抑制したが、その後治療を続けたにも拘らず原発巣・転移巣とも抑制することはできなかった。

Katz, M.H. et al. Selective antimetastatic activity of cytosine analogue CS-682 in a re fluorescent protein orthotopic model of pancreatic cancer.

Cancer Res. 63, 5521-5525(2003)

- ? 蛍光タンパクイメージングは、一つの遺伝子の変化の影響を肉眼で確認できる。例えば、ここに示す写真は一つの遺伝子の変化が転移に及ぼす影響を示す。



(a) 対照: Eμ-Myc

(b) Eμ-Myc p53 欠損

(c) Eμ-Myc Bcl2 過剰発現

### 生きたマウスにおけるリンパ腫の進行を示す全身蛍光イメージング

Schmitt, C.A. et al. Dissecting p53 tumor suppressor function in vivo, Cancer Cell 1, 289-298(2002)

連絡先: **AntiCancer Japan 株式会社**

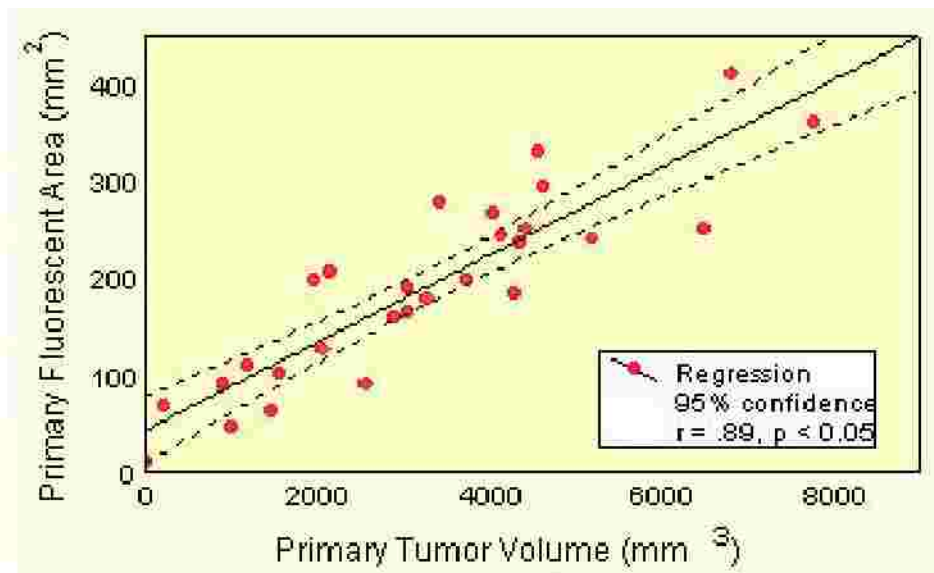
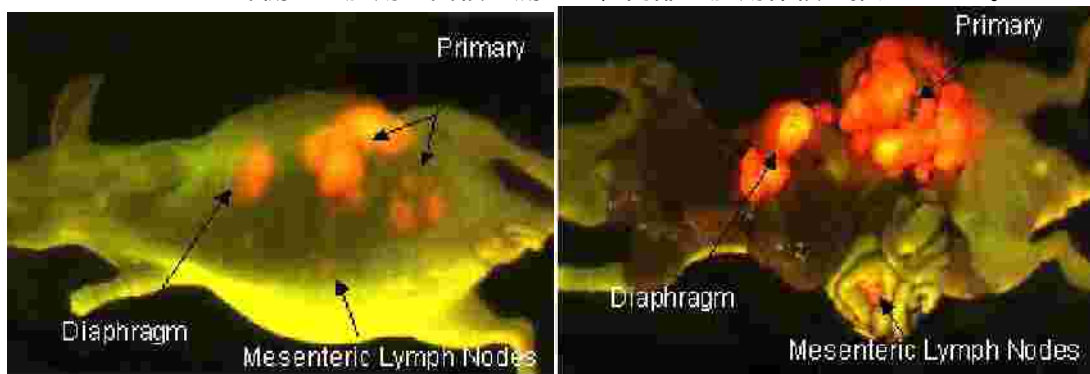
〒567-0085 大阪府茨木市彩都あさぎ7丁目7番15号 彩都バイオインキュベータ106

Tel & Fax : 072-643-1048 E-mail: [anticancerjapan@cup.ocn.ne.jp](mailto:anticancerjapan@cup.ocn.ne.jp)

URL: <http://www.anticancer.com>

? 癌の診断や治療分野での応用の可能性---例えば、マウスモデルの場合、選択的かつ安定して viral vector を使って形質転換できる。将来この遣り方はヒトがん患者に応用してリアルで癌の増殖や治療効果の評価に利用できる可能性がある。

? 生きたマウスの外側から腫瘍の面積を測れば、内部の腫瘍体積が推定できる。



#### 腫瘍面積(イメージング)と腫瘍体積の相関性

MiaPaCa-RFP(RFP 遺伝子を導入したヒト膵臓癌)を使って、広範囲に広がった癌の局所生育および転移を、外部から全身イメージングすることに成功した。外部から得られた腫瘍の面積(赤い蛍光を発している部分の面積)と側腹部切開後得られた腫瘍体積の間には強い相関性が認められた( $r=0.89$ )。腹水が存在する時( $r=0.83$ )は、腹水が存在しない時( $r=0.95$ )に比べてやや精度が低下した。

Katz, M.H., et al. A novel red fluorescent protein orthotopic pancreatic cancer model for the preclinical evaluation of chemotherapeutics. J. Surg. Res., 113, 151-160(2003)