

平成 30 年 6 月 14 日現在

機関番号：16101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K19797

研究課題名(和文) 11C-Erlotinibを用いたエルロチニブ抗腫瘍効果予測に関する研究

研究課題名(英文) Prediction of erlotinib antitumor effect using 11C-Erlotinib

研究代表者

大谷 環樹 (OTANI, Tamaki)

徳島大学・放射線総合センター・助教

研究者番号：40709557

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：ポジトロン放出核種である11Cを標識させたエルロチニブ(11C-Erlotinib)はEGFR遺伝子変異を認める腫瘍に特異的に集積することが動物用PET測定により近年確認された。しかし、11C-Erlotinib集積とエルロチニブによる抗腫瘍効果との関係性は明らかにされていない。そこで本研究ではEGFR遺伝子変異を認める細胞株を同所移植したモデルマウスを用い、11C-Erlotinib PET/CT測定を施行することで、11C-Erlotinib集積からエルロチニブによる抗腫瘍効果の予測評価を可能にすることを目的とする。

研究成果の概要(英文)：It has recently been confirmed by PET measurement for animals that erlotinib labeled with 11C which is a positron emitting radionuclide (11C-Erlotinib) specifically accumulates in a tumor in which EGFR gene mutation. However, the relationship between 11C-Erlotinib accumulation and anti-tumor effect by erlotinib has not been clarified. Therefore, the aim of this study, we evaluate that 11C-Erlotinib accumulation PET/CT imaging predict the anti-tumor effect by erlotinib using a model mouse orthotopic transplanted with an EGFR gene mutant tumor cells.

研究分野：核医学

キーワード：11C標識エルロチニブ EGFR遺伝子変異 PET

1. 研究開始当初の背景

本邦においては、非喫煙者の肺腺癌の約80%に上皮成長因子受容体 (epidermal growth factor receptor, EGFR) の遺伝変異 (exon19 deletion や exon21 point mutation など) を認め、遺伝子変異のある肺がんは、約80%の症例で分子標的薬剤であるゲフィチニブやエルロチニブが奏効する。ゲフィチニブやエルロチニブはチロシンキナーゼ阻害剤 (tyrosine kinase inhibitor, TKI) の一つで、TKI は EGFR 遺伝子変異に高い親和性を持つ。EGFR 遺伝子変異のある肺がん症例を対象とした第 III 相試験において、ゲフィチニブやエルロチニブが殺細胞性抗がん薬と比較し有意に無増悪生存期間 (Progression Free Survival, PFS) を延長することや、このような症例群は2年半を超えて生存できることが報告されている。

EGFR の遺伝子異常を持つ肺癌を判定するためには、肺癌組織を生検し、遺伝子診断する必要がある。生検採取には患者に様々な負担を強いることになる。また、病巣の部位によっては生検が容易ではない場合や十分量検体が採取できないこともある。血液中の circulating tumor cell や DNA を回収して遺伝子診断する試みもなされているが、確立した方法とはなっていない。

同所移植モデルマウスは異所移植モデルマウスに比べ、より臨床に近い薬物動態を示す実臨床に近いモデルといわれており、我々は同所移植モデルマウスを用いた研究を予てより推進してきた。近年では徳島大学に動物用 PET/CT 装置が導入されたことにより、マウスを犠牲死させることなく CT 測定及び ^{18}F -FDG PET 測定により同一個体を継続的に評価することに成功した (ONCOLOGY REPORTS 2014; 31; 2007-)。分子イメージング機器の発展により前臨床的な研究が盛んに行われている今日において、同所移植モデルと分子イメージング機器の組み合わせは、より臨床に近い研究体系であり有意義な研究手法であると考えている。EGFR 遺伝子変異には我々も関心を持っており EGFR 遺伝子変異を持つ肺癌細胞株である PC9 の同所移植に成功している。現在エルロチニブやシスプラチンなどの数種類の抗癌剤を用いた抗腫瘍効果の評価している。

現在我々が使用している PET プローブは ^{18}F -FDG であるが、 ^{18}F -FDG は糖代謝を反映し汎用性が広く PET 診断において最も普及している PET 薬剤であるが、その実、専門性に乏しく細かな診断には有用性が低いのが現状である。こうした状況の中、近年、狭義的に特異性のある化合物に PET 核種を標識させることで、より専門的な核医学検査・診断を可能にする試みがなされている。その一例として分子標的薬剤に標識させた ^{64}Cu -DOTA- Trastuzumab が臨床応用されるようになり HER2 陽性乳がんの核医学検査が有用視された (J Nucl Med 2013;

54:1869-)。

新規プローブの開発・研究にはサイクロトロン・動物 PET/CT 装置といった大規模な研究機器が必要とされ、研究環境は全国的に限られている。徳島大学にはこうした機器が揃っており、ホットラボには多目的合成装置も導入され、 ^{18}F -FDG の他に ^{18}F -NaF, ^{11}C -Methionine, ^{13}N -ammonia の合成が可能である。新規合成プローブの開発環境としては十分な設備が備わっているため、肺癌研究において将来性のある新規プローブの合成・研究を検討した。

そこで我々が着目したのがポジトロン放出核種である ^{11}C を標識したエルロチニブ (^{11}C -Erlotinib) である。 ^{11}C -Erlotinib は EGFR 遺伝子変異を認める腫瘍に特異的に集積することが近年確認された (Cancer Res 2009;69:873-)。この文献から、放射線標識した TKI の取り込み量を測定することで、非侵襲性に EGFR 遺伝子変異を診断できる可能性があるのではと我々は考えた。しかし、先の文献では動物実験にて皮下移植モデルを使用しており、薬物動態的にも放射線生物学的にも実臨床とは大きく異なる。

そこで我々は、臨床病態に近い同所性移植モデルマウスを用いて、EGFR 遺伝子変異と ^{11}C -Erlotinib の特異的な集積の関連性を明らかにし、 ^{11}C -Erlotinib エルロチニブによる抗腫瘍効果の予測評価を可能にすることを目的とした。

2. 研究の目的

ポジトロン放出核種である ^{11}C を標識させたエルロチニブ (^{11}C -Erlotinib) は EGFR 遺伝子変異を認める腫瘍に特異的に集積することが動物用 PET 測定により近年確認された。しかし、 ^{11}C -Erlotinib 集積とエルロチニブによる抗腫瘍効果との関係性は明らかにされていない。 ^{11}C -Erlotinib 集積からエルロチニブの治療効果を予測評価できれば、EGFR 遺伝子変異の有無を非侵襲的且つ迅速に診断することができる。そこで本研究では EGFR 遺伝子変異を認める細胞株を同所移植したモデルマウスを用い、 ^{11}C -Erlotinib PET/CT 測定を施行することで、 ^{11}C -Erlotinib 集積からエルロチニブによる抗腫瘍効果の予測評価を可能にすることを目的とする。

3. 研究の方法

(1) エルロチニブの合成

エルロチニブ専用の合成トレイを作成し実施した。専用合成トレイは住友重機械工業に委託し作成した。

サイクロトロンにて ^{11}C 作成後、合成装置にてヨウ化メチル化し、ヨウ化メチルと前駆体である 6-O-desmethyl-erlotinib とを 120°C 、5 分間反応させ、 ^{11}C 標識エルロチニブを合成した。HPLC を用いて ^{11}C 標識エルロチニブのみを分取する。ヨウ化メチ

ルと 6-O-desmethyl-erlotinib を反応させる際に、標識率を安定させるため水素化ナトリウムと水酸化カリウムの 2 種類を使用した。

(2) ^{11}C 標識エルロチニブの PET/CT 測定
 雄性 SCID マウス (CB-17/Icr-scidJc1, CLEA Japan Inc., Tokyo, Japan) 6 週齢マウスに EGFR 遺伝子変異細胞株 PC-9 (2×10^4 cells) を移植した同所移植モデルマウスに対し、移植後 40 日目に ^{11}C 標識エルロチニブを 20MBq 投与し、投与と同時に 90 分間の PET/CT 測定を実施した。

4. 研究成果

(1) 水素化ナトリウムを使用した場合
 合成時に得られた HPLC トレンドグラフを図 1 に示す。

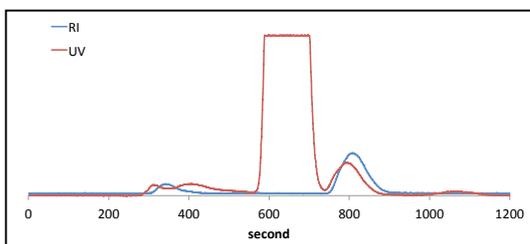


図 1 : HPLC トレンドグラフ (青 : UV ピーク、赤 : RI ピーク)

HPLC 開始後秒で現れる最も大きな UV ピークは前駆体でその後のピークがエルロチニブであると考えられ、UV ピークと同時に RI ピークも検出できているため ^{11}C で標識されていることが確認できる。

回収された ^{11}C 標識エルロチニブを詳しく分析するため HPLC 検定した結果を図 2 に示す。

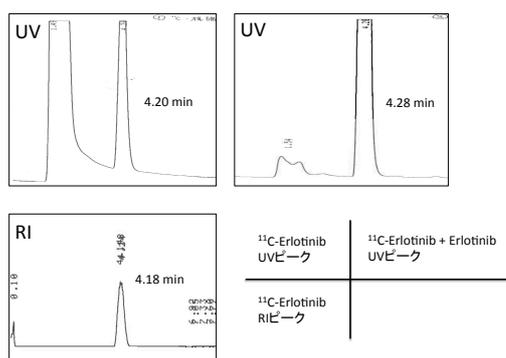


図 2 : HPLC 検定のトレンドグラフ

^{11}C 標識エルロチニブのみで検定した場合、図 2 左上のようなピークが得られた。 ^{11}C 標識エルロチニブに加え、標品であるエルロチニブを加えた場合 (図 2 右上) 複数のピークが見られず、ピークが大きくなったことから回収された物質はエルロチニブと同義であり、RI ピークも同時刻に検出できていることから ^{11}C 標識エルロチニブの合成に成功したと考

えられた。

収率 (生成された ^{11}C 標識エルロチニブ放射能と回収された ^{11}C 放射能の比率) は 2.3% で、350MBq の ^{11}C 標識エルロチニブが合成された。

しかし、検証を進める中で標識成功率が約 20%程であると判明し、望むタイミングで標識が成功しないことから動物実験への移行が困難となった。そこで理化学研究所に協力を求め安定した標識方法を模索した。

(2) 水酸化カリウムを使用した場合

水酸化カリウムを使用し、標識率の安定化を試みた。水酸化カリウム使用以外の合成手法は前項と同じである。

合成時に得られた HPLC トレンドグラフは水素化ナトリウムを使用した場合と同様に前駆体ピークの後に標識エルロチニブのピークが確認でき、生成率が水素化ナトリウムを使用した場合に比べるとピーク面積が広がった。標識成功率も 80%以上で安定した標識が可能となり、収率は $10.5 \pm 4.4\%$ で、1200MBq の ^{11}C 標識エルロチニブが合成でき、収率・放射能とも水素化ナトリウム使用時よりも高くなった。

(3) ^{11}C 標識エルロチニブ PET/CT 測定
 PC-9 同所移植モデルマウスの ^{11}C -Erlotinib PET 全身像を図 3、肺内腫瘍の CT 及び PET/CT 画像を図 4 に示す。

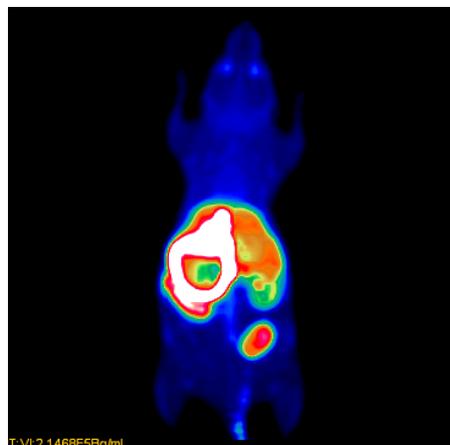


図 3 : ^{11}C -Erlotinib PET マウス全身像

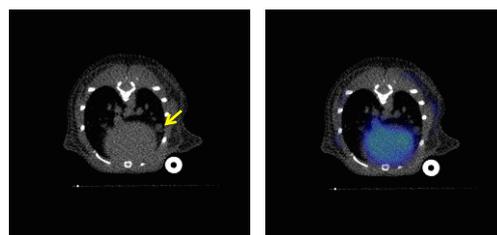


図 4 : PC-9 同所移植モデルマウス肺野 CT・PET/CT Axial 画像

全身像から ^{11}C -Erlotinib の生理的集積部として肝臓及び腸管への取り込みが顕著である。腫瘍への明らかな取り込みは確認できなかった。その理由として ^{11}C -Erlotinib 集積に関し、同所移植モデルで行った場合の検討がないため、収集タイミングが適切でないと考えられ、投与後 3、4 時間後等時間において撮像する必要もあると考えられた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 0 件)

[学会発表] (計 0 件)

[図書] (計 0 件)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

大谷 環樹 (OTANI, Tamaki)

徳島大学・放射線総合センター・助教

研究者番号：40709557