

平成22年 5月17日現在

研究種目：特定領域研究

研究期間：2004～2009

課題番号：17016008

研究課題名（和文） 標識抗体を利用したがん治療

研究課題名（英文） Cancer therapy using labeled antibodies

研究代表者

遠藤 啓吾 (ENDO KEIGO)

群馬大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：10115800

研究成果の概要（和文）：がん関連抗原と反応する親和性の高い抗体を選定し、放射性同位元素（RI）標識を行った。診断用の RI で標識した抗体を担癌マウスに投与したところ、腫瘍に対して非常に高い集積性を示し、PET 装置を用いて腫瘍を明瞭に描出可能であった。治療用のイットリウム-90 の投与により腫瘍の増殖抑制効果が認められ、癌細胞の種類によっては腫瘍が縮小し消失する場合もあった。種々の癌に対する RI 標識抗体を利用したがん治療の可能性を明らかにするとともに、新しいがん治療用イットリウム-90 標識抗体を開発した。

研究成果の概要（英文）： Antibodies cancer-associated antigens were selected and labeled with various radionuclides. In tumor-bearing mice, radiolabeled antibody showed a high accumulation in the tumor and clear PET images of the tumor. In therapeutic study using ⁹⁰Y-labeled antibody, slow progression of tumor was observed and substantial tumor size reduction was also observed in some cases. These results indicated usefulness of the cancer therapy using radiolabeled antibodies, and new labeled antibodies were developed useful for the therapy of cancer.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2005年度	25,700,000	0	25,700,000
2006年度	25,600,000	0	25,600,000
2007年度	25,600,000	0	25,600,000
2008年度	25,600,000	0	25,600,000
2009年度	25,600,000	0	25,600,000
総計	128,100,000	0	128,100,000

研究分野：核医学

科研費の分科・細目：がん治療

キーワード：抗体、放射性同位元素、がん、放射線治療

1. 研究開始当初の背景

抗体は対応する抗原と特異的に結合することが知られているが、放射性同位元素 (RI) 標識抗体もまた生体内で対応する抗原と特

異的に結合する。細胞障害性の強い RI を標識した抗体を用いれば、副作用の少ない癌の特異的な治療法（ミサイル療法）となる。このような RI 標識抗体による治療法は『放射免疫療法』と呼ばれている。放射免疫療法は、①

がんの特異性の高い抗体を用いることにより、がん細胞を選択的に殺傷することができる、②全身に点在する病巣や転移巣および診断で発見できないような小さな病変に対しても治療効果が期待できる、③RIは一定の飛程を有しているので、放出する放射線により抗体が結合していない周辺のがん細胞に対しても殺傷効果を有する、という利点が挙げられる。B細胞表面に発現しているCD20 抗原に対する抗体のイットリウム-90 (^{90}Y) 標識抗体はB細胞悪性リンパ腫に対する治療薬として、海外でも日本でもすでに臨床使用されており、優れた治療効果を示している。悪性リンパ腫だけでなく様々な癌に対してもRI標識抗体を利用した治療が期待される。

2. 研究の目的

本研究の目的は、様々ながんに対してRI標識抗体を利用した副作用の少ない腫瘍特異的な治療を行うことである。がんを高発現している種々の標的分子を選択し、それぞれに対するRI標識抗体の治療効果を検討する。また ^{90}Y 以外の新しい治療用核種を用いたRI標識抗体治療の有用性についても検討を行う。

3. 研究の方法

標的分子として悪性リンパ腫に高発現しているCD20、大腸癌に高発現しているCEA、滑膜肉腫に高発現しているFZD10 を選択し、それぞれの分子に対する特異的抗体をRI標識した。治療用のRIとしては臨床で用いられている ^{90}Y (半減期 2.7 日、 β 線のエネルギー 2.3 MeV) の他に、 β 線のエネルギーや半減期が異なるルテチウム-177 (^{177}Lu ; 半減期 6.7 日、 β 線のエネルギー 0.50 MeV) や銅-67 (^{67}Cu ; 半減期 2.6 日、 β 線の最大エネルギー 0.58 MeV) についても検討を行った。また癌治療用抗体がその作用を発揮するには、

生体内で腫瘍に集積しなければならない。そこで標識抗体が癌に集積するかどうか診断する目的で、 γ 線を放出するインジウム-111 (^{111}In) やPET (陽電子放出) 核種である ^{64}Cu で標識した抗体を作製し、体内分布や腫瘍集積性を検討した。さらに近年注目されている光イメージングの可能性も検討する目的で、蛍光標識した抗体も作製しイメージングを行った。

悪性リンパ腫細胞株、大腸癌細胞株および滑膜肉腫細胞株をマウスのわき腹に 5×10^6 ずつ摂取し、担癌マウスモデルを作製した。それぞれの腫瘍に対する抗体の腫瘍集積性は ^{111}In 標識抗体をマウス尾静脈より投与し、経時的に各臓器を摘出し、その重量と放射能を測定した。それぞれの集積量は、投与放射能に対する各臓器の放射能の割合を各臓器の重さで除した値『%dose/g』を算出した。また ^{64}Cu 標識抗体を用いたPETイメージングおよび近赤外蛍光 (NIRF) 標識抗体を用いた蛍光イメージングの撮像を行った。治療実験では、それぞれの担癌モデルマウスに対し、 $100 \mu\text{Ci}$ の ^{90}Y 標識抗体を投与し、週 2 回、腫瘍の大きさを測定した。また副作用の指標として体重を測定も同時に行った。 ^{177}Lu と ^{67}Cu は核種の製造および基礎的検討と ^{177}Lu 標識抗体に関しては治療実験への応用を試みた。

4. 研究成果

・悪性リンパ腫と抗 CD20 抗体



図 1. ^{64}Cu 標識抗体によるPETイメージング

悪性リンパ腫移植マウスに対して¹¹¹In標識抗CD20抗体を投与したところ、腫瘍に対して高い集積性を示し、投与48時間後には腫瘍と血液の集積比(%dose/gの比)が1以上となった。このことからRI標識抗体による治療が可能であることが示唆された。

同担癌マウスに対して⁶⁴Cu標識抗体を同マウスに投与し、動物用PET装置にて撮像を行ったところ、明瞭に腫瘍を描出し、抗体の腫瘍内局在も明らかにすることが出来た(図1)。⁶⁴Cu標識抗CD20抗体を用いたPET撮像の場合には得られる画像是美しく、定量的評価も可能となる。

また抗体を蛍光標識し、光イメージング装置で撮像したところRI標識抗体と同様に腫瘍を明瞭に描出できることが明らかとなった(図2)。このことから光イメージングを利用して抗癌作用を有する抗体の開発が可能であると考えられるが、RI利用に比べて体内分布の定量性は劣る。⁹⁰Y標識抗体を投与したところ、腫瘍の増殖抑制効果が認められたが、腫瘍縮小には至らなかった。また新しく製造された¹⁷⁷Lu標識抗体を用いた検討においても腫瘍の増殖抑制効果が認められた。今後、抗体標識に用いるRI核種による治療効果の違いが明らかになると考えられる。

・大腸癌と抗CEA抗体

大腸癌細胞移植マウスに対して¹¹¹In標識抗CEA抗体を投与したところ、腫瘍に対して高い集積性を示した。⁹⁰Y標識抗CEA抗体による治療実験を行ったところ、顕著な腫瘍増殖抑

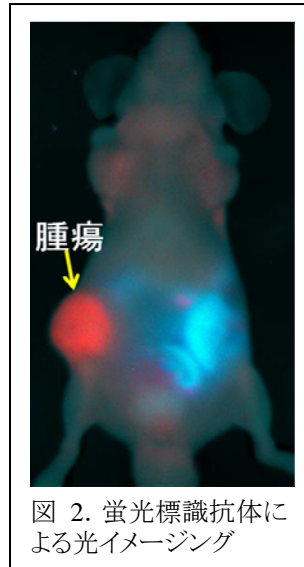


図2. 蛍光標識抗体による光イメージング

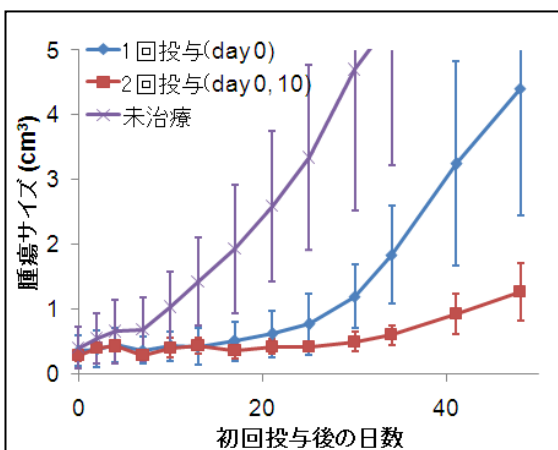


図3. ⁹⁰Y標識抗CEA抗体による治療

制効果が認められた(図3)。また初回の⁹⁰Y標識抗体投与から10日後に再度同量の⁹⁰Y標識抗体を投与したところ(2回投与)単回投与群に比べて腫瘍が再増大を始めるまでの期間が延長したことから、複数回投与により治療効果を増強することが可能であることが明らかとなった。

・滑膜肉腫と抗FZD10抗体

滑膜肉腫細胞移植マウスに対して¹¹¹In標識抗FZD10抗体を投与したところ、腫瘍に対して高い集積性を示した。⁹⁰Y標識抗FZD10抗体による治療実験を行ったところ、投与早期から腫瘍が縮小し、多くのマウスでは治療10日後くらいで腫瘍が消失し、その後再発しなかった(図4)。非標識抗体を投与した場合は全く治療効果が認められなかったことから、⁹⁰Y標識抗FZD10抗体による治療効果は⁹⁰Yの放出する放射線に起因すると考えられる。

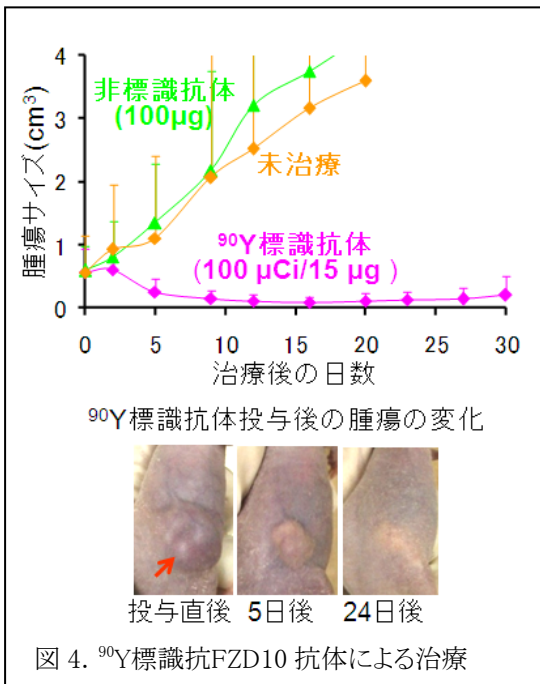


図4. ⁹⁰Y標識抗FZD10抗体による治療

・新しい核種の製造と有用性の検討

¹⁷⁷Luは半減期が長いことから有望な治療用核種であると考えられるが、製造コストが高いのが難点である。そこで高比放射能の¹⁷⁷Luの製造方法について検討を行い、比放射能が高い¹⁷⁷Luを得ることに成功した。⁶⁷CuはPET核種である⁶⁴Cuと同じ銅の放射性核種であるので、⁶⁴Cu標識抗体により腫瘍集積性を確認した後に、全く同じ体内分布を示す⁶⁷Cu標識抗体を投与して治療することができる。日本原子力研究開発機構との共同研究で⁶⁷Cu製造が可能となり、⁶⁷Cu標識抗体を作成し、その腫瘍集

積性が確かめられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 23 件)

- ① Hanaoka H, Katagiri T, Fukukawa C, Yoshioka H, Yamamoto S, Iida Y, Higuchi T, Oriuchi N, Paudyal B, Paudyal P, Nakamura Y, Endo K. Radioimmunotherapy of solid tumors targeting a cell-surface protein, FZD10: therapeutic efficacy largely depends on radiosensitivity. *Ann Nucl Med*. 23:479-485, 2009. 査読有
- ② Hanaoka H, Tominaga H, Yamada K, Paudyal P, Iida Y, Watanabe S, Paudyal B, Higuchi T, Oriuchi N, Endo K. Evaluation of (64)Cu-labeled DOTA-D-Phe(1)-Tyr (3)-octreotide ((64)Cu-DOTA-TOC) for imaging somatostatin receptor-expressing tumors. *Ann Nucl Med*. 23:559-67, 2009 査読有
- ③ Kaira K, Oriuchi N, Shimizu K, Tominaga H, Yanagitani N, Sunaga N, Ishizuka T, Kanai Y, Mori M, Endo K. ¹⁸F-FMT uptake seen within primary cancer on PET helps predict outcome of non-small cell lung cancer. *J Nucl Med*. 50:1770-6, 2009. Epub 2009 Oct 16. 査読有
- ④ Kato H, Nakajima M, Sohda M, Tanaka N, Inose T, Miyazaki T, Fukuchi M, Oriuchi N, Endo K, Kuwano H. The clinical application of (18)F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography to predict survival in patients with operable esophageal cancer. *Cancer*. 115:3196-203, 2009. 査読有
- ⑤ Paudyal P, Paudyal B, Iida Y, Oriuchi N, Hanaoka H, Tominaga H, Ishikita T, Yoshioka H, Higuchi T, Endo K. Dual functional molecular imaging probe targeting CD20 with PET and optical imaging. *ONCOLOGY REPORTS* 22:115-119, 2009. 査読有
- ⑥ Fukukawa C, Hanaoka H, Nagayama S, Tsunoda T, Toguchida J, Endo K, Nakamura Y, Katagiri T. Radioimmunotherapy of human synovial sarcoma using a monoclonal antibody against FZD10. *Cancer Sci* 99:432-440, 2008. 査読有
- ⑦ Sunaga N, Oriuchi N, Kaira K, Yanagitani N, Tomizawa Y, Hisada T, Ishizuka T, Endo K, Mori M. Usefulness of FDG-PET for early prediction of the response to gefitinib in non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 59:203-210, 2008. 査読有
- ⑧ Tsushima Y, Taketomi-Takahashi A, Endo K. Patlak plot analysis for assessment of single-kidney glomerular filtration rate (GFR) with dynamic CT. *Radiology* 246:336-338, 2008. 査読有
- ⑨ Paudyal B, Paudyal P, Oriuchi N, Tsushima Y, Nakajima T, Endo K. Clinical implication of glucose transport and metabolism evaluated by ¹⁸F-FDG PET in hepatocellular carcinoma. *Int J Oncol* 33:1047-1054, 2008. 査読有
- ⑩ Tsukamoto N, Kojima M, Hasegawa M, Oriuchi N, Matsushima T, Yokohama A, Saitoh T, Handa H, Endo K, Murakami H. The usefulness of ¹⁸F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography (¹⁸F-FDG-PET) and a comparison of ¹⁸F-FDG-PET with ⁶⁷Ga scintigraphy in the evaluation of lymphoma. *Cancer* 110:652-659, 2007. 査読有
- ⑪ Uehara T, Koide M, Nakata H, Hanaoka H, Iida Y, Hashimoto K, Akizawa H, Endo K, Arano Y. Design, synthesis, and evaluation of [¹⁸⁸Re] organorhenium-labeled antibody fragments with renal enzyme-cleavable linkage for low renal radioactivity levels. *Bioconjug Chem*. 18:190-198, 2007. 査読有
- ⑫ Kato H, Fukuchi M, Miyazaki T, Nakajima M, Tanaka N, Inose T, Kimura H, Faried A, Saito K, Sohda M, Fukai Y, Masuda N, Manda R, Ojima H, Tsukada K, Oriuchi N, Endo K, Nonaka T, Shioya M, Ishikawa H, Sakurai H, Nakano T, Kuwano H, Prediction of response to definitive chemoradiotherapy in esophageal cancer using positron emission tomography. *Anticancer Res* 27:2627-2633, 2007. 査読有
- ⑬ Paudyal B, Oriuchi N, Paudyal P, Tsushima Y, Iida Y, Higuchi T, Hanaoka

- H, Miyakubo M, Takano A, Ishikita T, Endo K. Early diagnosis of recurrent hepatocellular carcinoma with ¹⁸F-FDG PET after radiofrequency ablation therapy. *Oncology Reports* 18:1469-1473, 2007. 査読有
- ⑭ Hirasawa S, Tsushima Y, Takei H, Hirasawa H, Taketomi-Takahashi A, Takano A, Oriuchi N, Endo K. Inverse correlation between tumor perfusion and glucose uptake in human head and neck tumors. *Acad Radiol.* 14:312-318, 2007. 査読有
- ⑮ Oriuchi N, Higuchi T, Ishikita T, Miyakubo M, Hanaoka H, Iida Y, Endo K. Present role and future prospect of positron emission tomography in clinical oncology. *Cancer Sci* 97:1291-1297, 2006. 査読有
- ⑯ Sakamoto J, Oriuchi N, Mochiki E, Asao T, Scott AM, Hoffman EW, Jungbluth AA, Matsui T, Lee FT, Papenfuss A, Kuwano H, Takahashi T, Endo K, Old LJ. A phase I radioimmunolocalization trial of humanized monoclonal antibody huA33 in patients with gastric carcinoma. *Cancer Science* 97:1248-1254, 2006. 査読有
- ⑰ Arai K, Sato N, Aoki J, Yagi A, Taketomi-Takahashi A, Morita H, Koyama Y, Oba H, Ishiuchi S, Sato N, Endo K. MR signal of the solid portion of pilocytic astrocytoma on T2-weighted images: is it useful for differentiation from medulloblastoma? *Neuroradiology* 48:233-237, 2006. 査読有
- ⑱ Endo K, Oriuchi N, Higuchi T, Iida Y, Hanaoka H, Miyakubo M, Ishikita T, Koyama K. PET and PET/CT using ¹⁸F-FDG in the diagnosis and management of cancer patients. *Int J Clin Oncol* 11:286-296, 2006. 査読有
- ⑲ Oriuchi N, Higuchi T, Hanaoka H, Iida Y, Endo K. : Current status of cancer therapy with radiolabeled monoclonal antibody. *Annals of Nuclear Medicine* 19:355-365, 2005. 査読有
- ⑳ Saga T, Shimatsu A, Koizumi K, Ichikawa T, Yamamoto K, Noguchi S, Doi R, Ishibashi M, Machinami R, Nakamura K, Sakahara H, Endo K. : Morphological imaging in the localization of neuroendocrine gastroenteropancreatic tumors found by somatostatin receptor scintigraphy. *Acta Radiol* 46:227-232, 2005. 査読有
- 21 Tsushima Y, Endo K. MR imaging in the evaluation of chronic or recurrent headache. *Radiology* 235:575-579, 2005. 査読有
- 22 Watanabe T, Terui S, Itoh K, Terauchi T, Igarashi T, Usubuchi N, Nakata M, Nawano S, Sekiguchi N, Kusumoto S, Tanimoto K, Kobayashi Y, Endo K, Seriu T, Hayashi ., Tobinai K. Phase I study of radioimmunotherapy with an anti-CD20 murine radioimmunoconjugate (⁹⁰Y-ibritumomab tiuxetan) in relapsed or refractory indolent B-cell lymphoma. *Cancer Sci* 96:903-910, 2005. 査読有
- 23 Fujioka Y, Satake S, Uehara T, Mukai T, Akizawa H, Ogawa K, Saji H, Endo K, Arano Y. In vitro system to estimate renal brush border enzyme-mediated cleavage of peptide linkages for designing radiolabeled antibody fragments of low renal radioactivity levels. *Bioconjugate Chemistry* 16:1610-1616, 2005. 査読有

[学会発表] (計 5 件)

- ① Endo K. FDG-PET in gastrointestinal tumor. フィリピン核医学会特別講演. 2010年2月6日フィリピン国マニラ市
- ② Endo K. FDG-PET for cancer in Japan. 英国核医学会特別講演. 2008年5月13日英国エディンバラ市
- ③ 遠藤啓吾 抗体を用いる癌治療の現状とRI標識抗体の利用. 日本癌学会総会シンポジウム 2007年10月4日神奈川県横浜市
- ④ Endo K. New imaging technique for the oral and maxilla-facial region. 国際口腔外科学特別講演 2005年6月11日群馬県前橋市
- ⑤ Endo K. Current status of PET in Japan. オーストラリア核医学会特別講演 2005年4月30日 オーストラリア国メルボルン市

[産業財産権]

- 出願状況 (計 5 件)

① 名称：ANTI-CDH3 ANTIBODIES AND USES THEREOF

発明者：遠藤啓吾

権利者：群馬大学、東京大学、オンコセラピーサイエンス（株）

種類：特許

番号：PCT/JP2009/007333

出願年月日：2009.12.28

国内外の別：国内・外国

② 名称：ANTI-DSC2 ANTIBODIES LABELED WITH RADIOISOTOPE LABEL AND USES THEREOF

発明者：遠藤啓吾

権利者：群馬大学、東京大学、オンコセラピーサイエンス（株）

種類：米国仮出願

番号：60/225,428

出願年月日：2009.7.14

国内外の別：外国

③ 名称：ANTI-CDH3 ANTIBODIES LABELED WITH RADIOISOTOPE LABEL AND USES THEREOF

発明者：遠藤啓吾

権利者：群馬大学、東京大学、オンコセラピーサイエンス（株）

種類：特許

番号：PCT/JP2009/003009

出願年月日：2009.6.30

国内外の別：国内・外国

④ 名称：抗体標識が可能な無担体¹⁷⁷Luの分離精製法

発明者：遠藤啓吾

権利者：群馬大学、独立行政法人日本原子力研究開発機構

種類：特許

番号：特願 2009-072558

出願年月日：2009.3.24

国内外の別：国内・外国

⑤ 名称：TUMOR-TARGETING MONOCLONAL ANTIBODIES TO FZD10 AND USES THEREOF

発明者：遠藤啓吾

権利者：群馬大学、東京大学、オンコセラピーサイエンス（株）

種類：特許

番号：PTC/JP2006/317155

出願年月日：2006.8.24

国内外の別：国内・外国

6. 研究組織

(1) 研究代表者

遠藤 啓吾 (ENDO KEIGO)

群馬大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：10118500

(2) 研究分担者

織内 昇 (ORIUCHI NOBORU)

群馬大学・大学院医学系研究科・准教授

研究者番号：40292586

飯田 靖彦 (IIDA YASUHIKO)

鈴鹿医療科学大学・薬学部・教授

研究者番号：60252425

荒野 泰 (ARANO YASUSHI)

千葉大学・大学院薬研究院・教授

研究者番号：90151167

対馬 義人 (TSUSHIMA YOSHITO)

群馬大学・医学部・講師

研究者番号：20375546

(3) 連携研究者

なし