

令和 2 年 6 月 2 日現在

機関番号：82502

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K10462

研究課題名(和文) 難治性転移がんを標的としたアルファ線放射免疫療法の実験治療

研究課題名(英文) Experimental alpha-radioimmunotherapy for refractory metastatic cancers

研究代表者

長谷川 純崇 (HASEGAWA, SUMITAKA)

国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構・放射線医学総合研究所 重粒子線治療研究部・グループリーダー (定常)

研究者番号：60415437

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、治療が困難な転移性がんを治療の対象として、高い細胞殺傷性を有する粒子放射線であるアルファ線を利用した放射免疫療法の非臨床研究を行った。担がんマウスにおけるアルファ線放出がん特異的抗体化合物の治療有効性と毒性のデータを取得した。アルファ線を放出するがん特異的抗体化合物として、アルファ線放出アイソトープのアスタチン211を付加した抗HER2抗体トラスツズマブを合成した。HER2陽性の胃がん肝転移および子宮体部漿液性腺がんのモデルマウスに、合成したアルファ線放出抗体化合物を投与したところ、顕著な抗がん効果を示した。明らかな毒性は認められなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

がん対策は国民の健康における重要課題の一つであり、効果的ながん治療法開発が待ち望まれている。限局しているがんについては外科的切除や外照射放射線治療等の局所療法により完治も期待できるようになったが、転移や播種がんとなった場合は、多くのがん種において難治であり致死的である。本研究の成果により、ラジオアイソトープの一種であるアスタチン211から放出されるアルファ線を利用した、アスタチン211標識トラスツズマブ抗体を用いた放射免疫療法が難治がんであるHER2陽性肝転移性胃がんや腹膜播種性子宮体部漿液性腺がんの治療選択肢の一つとなり得ることが示された。

研究成果の概要(英文)：In this study, we conducted a preclinical alpha-particle radioimmunotherapy for metastatic cancers resistant to conventional cancer therapy. Astatin-211 is a radionuclide emitting alpha-particle. We successfully generated astatine-211 in our cyclotron facility. We synthesized astatine-211-labeled anti-HER2 antibody trastuzumab (At-211-trastuzumab). At-211-trastuzumab showed remarkable anti-tumor effects in mouse models of HER2-positive liver metastasis of gastric cancer and peritoneal dissemination of uterine serous adenocarcinoma. No apparent toxicities of At-211-trastuzumab were observed. Our present data suggest that alpha-particle radioimmunotherapy is a promising therapeutic option for metastatic and/or disseminated tumors that are usually resistant to conventional cancer therapy.

研究分野：放射線基礎医学

キーワード：がん治療 核医学 アルファ線 アイソトープ治療

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) がん研究の進歩に伴い、がんの治癒率も向上している。しかし、転移したがんや播種したがんは多くの場合で治療が困難となり、それゆえ、致命的な病態となっている。こうした病態に対して効果的ながん治療が求められている。

(2) これまでのバイオマーカー研究や分子標的治療により、HER2 (ヒト上皮性成長因子受容体タイプ2) を標的とした治療が HER2 陽性のがんに対して有効なことが示されている。抗 HER2 抗体であるトラスツズマブ (ハーセプチン) は HER2 陽性乳がんや胃がんの分子標的治療薬として臨床で用いられている。しかし、肝臓に転移した HER2 陽性胃がんや腹膜に播種した HER2 陽性子宮体部漿液性腺がんに対して、トラスツズマブの治療効果は限定的である。

(3) 転移や播種がんに対するがん治療としていくつかの戦略が提案されている。その一つに放射免疫療法が挙げられる。放射免疫療法は局所治療である放射線治療でありながらも、薬物療法や分子標的治療の側面も有する。放射免疫療法はがん細胞に特異的な抗体 (例えば、トラスツズマブ) に細胞殺傷性の粒子放射線であるアルファ線やベータ線を放出するラジオアイソトープ (RI) を付加し、がん細胞のみに RI を送達し細胞殺傷をする手法である。ベータ線放出 RI であるイットリウム-90 を付加した抗体での放射免疫療法はすでに悪性リンパ腫に対する治療として臨床応用されている。

(4) 最近の RI 製造技術、加速器技術、放射化学技術の進歩により、アルファ線放出 RI の製造が劇的に進歩している。それに伴い、アルファ線利用の創薬研究に注目が集まっている。

(5) アルファ線はベータ線と比較して、短飛程で高い生物効果 (細胞殺傷性) を示す。飛程としては最大で 100 マイクロメートルと推定され、細胞数個分の飛程である。従って、がん細胞だけにアルファ線が送達されたと仮定した場合は、がん細胞だけを殺傷し周辺の正常組織に影響がない、もしくは、かなり少ないといった、理想的ながん治療になり得る可能性を秘めている。しかし、アルファ線による放射免疫療法に関してはその効果が実証されている段階ではなかった。

2. 研究の目的

がんの中でも転移がんや播種がんは治療が困難であり、そのため多くの場合で致命的となっている。転移性がんや播種がんに対する治療法の開発は、がん制圧の大きな課題となっている。本研究では、胃がん肝転移と子宮体部漿液性腺がん腹膜播種を治療標的病態として、これらの病態に対するアルファ線放射免疫療法の開発を目的とする。

3. 研究の方法

(1) 加速器にてアルファ線放出ラジオアイソトープであるアスタチン-211 を製造し、アルファ線放出抗体化合物であるアスタチン-211 標識抗 HER2 抗体トラスツズマブ (アスタチン-211-トラスツズマブ) を合成する。スズ化合物を標識前に付加した抗体を用いて、抗体へのアスタチン-211 標識は、スズ交換反応により標識する。

(2) HER2 陽性胃がん肝転移モデルマウスを作製する。HER2 高発現で luciferase 陽性のヒト胃がん細胞株を脾静脈に移植して作製する。

(3) HER2 陽性子宮体部漿液性腺がん腹膜播種モデルマウスを作製する。HER2 高発現で luciferase 陽性の子宮体部漿液性腺がん細胞株を腹腔内に移植して作製する。

(4) マウスモデル個体内におけるがん増殖はインビボ化学発光イメージング法で行い、治療効果については、投与後の経時的なインビボ化学発光イメージングでの定量的評価を行う。

(5) 前記のモデルマウスでのアスタチン-211-トラスツズマブの体内動態、治療効果、毒性等を検証し、治療効果が確認された場合はその効果メカニズム解析を行う。モデルマウスでの投与は、肝転移モデルに対しては尾静脈投与で 1 MBq のアスタチン-211-トラスツズマブを投与する。腹膜播種モデルに対しては腹腔内投与で 1 MBq のアスタチン-211-トラスツズマブを投与する。

4. 研究成果

(1) 加速器によるアスタチン-211 の製造に成功した。ビスマスをターゲットとした ($\alpha, 2n$) 反応によりアスタチン-211 を製造した。抗体へのアスタチン-211 標識に関しては、スズ化合物を付加したトラスツズマブとアスタチン-211 を反応させ、スズ交換反応によりアスタチン-211-トラスツズマブを合成した。

(2) HER2 陽性細胞のヒト胃がん細胞株であり、luciferase 遺伝子を導入した NCI-N87 細胞

(N87luc 細胞 ; 2×10^6 個) を麻酔下で scid マウス (4-8 週齢) の脾静脈に移植し、HER2 陽性胃がん肝転移モデルマウスを作製した。移植 1 週間後にインビボ化学発光イメージングにより腹部 (肝臓領域) での luciferase 遺伝子発現を確認した。腹部での luciferase 遺伝子発現が確認されたマウスを解剖したところ、肝臓での腫瘍形成が確認された。肝転移病変部の免疫組織染色にて HER2 タンパク質の発現も確認した。

(3) ヒト子宮体部漿液性腺がん細胞 SPAC-1-S 細胞を用いて HER2 陽性子宮体部漿液性腺がん腹膜播種モデルマウスを作製した。SPAC-1-S 細胞の HER2 発現をウェスタンブロット法で確認したところ、HER2 発現が認められたものの、HER2 高発現の NCI-N87 細胞と比較して低発現であったため、ヒト HER2 遺伝子をレトロウイルスベクターで導入した。更に、luciferase 遺伝子をレンチウイルスベクターで導入し、HER2 高発現 luciferase 遺伝子陽性 SPAC-1-S 細胞 (SPACluc 細胞) を樹立した。SPACluc 細胞 (10^6 - 10^7 個) を 5-6 週齢の scid マウス腹腔内に移植し、モデルマウスを作製した。

(4) HER2 陽性胃がん肝転移モデルマウスでのアスタチン-211-トラスツズマブの体内動態を解析した。アスタチン-211-トラスツズマブ (1 MBq) を尾静脈から投与した。腫瘍部 (肝転移巣) におけるアスタチン-211-トラスツズマブ投与 1 時間後の集積は $8.8 \pm 5.0\%$ ID/g (percent injection dose per tissue gram) で 24 時間後には $12.3 \pm 2.0\%$ ID/g であった。血液 ($29.8 \pm 1.8\%$ ID/g)、心臓 ($6.7 \pm 0.7\%$ ID/g)、肺 ($10.2 \pm 1.1\%$ ID/g)、肝臓 ($10.1 \pm 0.9\%$ ID/g) は投与 1 時間後では他臓器と比べて高い集積を示したが、時間経過により減少した。それぞれ、投与 24 時間後では $15.6 \pm 1.7\%$ ID/g、 $4.3 \pm 0.9\%$ ID/g、 $8.3 \pm 3.1\%$ ID/g、 $4.0 \pm 2.1\%$ ID/g であった。投与 24 時間後で、甲状腺 ($6.3 \pm 0.9\%$ ID/g) と胃 ($14.1 \pm 4.4\%$ ID/g) で高い集積が観察された。これは、抗体からの遊離アスタチン-211 の影響と推察された。なお、このデータから推定される吸収線量は 24 時間後のデータから約 4.5 グレイと推定された。腫瘍と周辺正常肝臓での吸収線量比は約 1.6 と推定された。排泄については、主に尿排泄であることが明らかとなった。

(5) HER2 陽性胃がん肝転移モデルマウスでアスタチン-211-トラスツズマブ (1 MBq) の実験治療を行った。対照として、生理的食塩水、非標識トラスツズマブ (標識抗体と同等のタンパク量)、アスタチン-211-非特異的抗体ヒト IgG (1 MBq) を投与した。投与は単回投与であり、がん細胞を脾静脈に移植して 1 週間後、腹部での luciferase 遺伝子発現が確認された個体に対して投与した。投与後 28 日のインビボ化学発光イメージングでは、アスタチン-211-トラスツズマブは他の対照群と比較し、肝臓部 luciferase 遺伝子発現が治療前と比較して著明に低下、もしくは、検出限界以下となっていた。アスタチン-211-トラスツズマブ投与群は他の対照群に比べて有意に生存期間が延長した。病理組織学的解析では、病変部の壊死領域が増加していた。

(6) アスタチン-211-トラスツズマブ (1 MBq) 投与群では、投与してから 1 週間で体重減少が認められたものの、一過性の体重減少であり、その後は全個体で回復した。明らかな白血球減少はアスタチン-211-トラスツズマブ投与群で認められなかった。また、投与前および投与 3, 7, 12, 30 日後の肝臓および腎臓の生化学的検査 (GOT, GPT, BUN, クレアチニン) で治療前後の明らかな変化は認められなかった。

(7) HER2 過剰発現ヒト子宮体部漿液性腺がん SPAC-1-S 細胞に対するアスタチン-211-トラスツズマブのインビトロ評価を行った。SPAC-1-S 細胞へのアスタチン-211-トラスツズマブの結合は HER2 低発現株と比べて有意に高く、細胞数依存的に増加していた。また、非標識抗体を用いた競合阻害実験ではアスタチン-211-トラスツズマブの細胞への結合が阻害された。これにより、HER2 過剰発現 SPAC-1-S 細胞へのアスタチン-211-トラスツズマブの結合は特異的な結合であることが示唆された。アスタチン-211-トラスツズマブ (1.85 kBq) は、24 時間の反応で SPAC-1-S 細胞に対する細胞傷害性を誘導した。インビトロでアスタチン-211-トラスツズマブの SPAC-1-S 細胞への特異的結合と殺細胞性が実証された。

(8) SPACluc 細胞を scid マウス腹腔内に移植したモデルマウスにおいて、アスタチン-211-トラスツズマブ (1 MBq) の腹腔内投与により、一部のモデルマウスでがん増殖抑制が確認された。ただし、SPACluc 細胞の HER2 発現レベルは細胞継代により発現が低下することが明らかとなった。この原因は、レトロウイルスベクターによる遺伝子導入であるため、ジーンサイレンシングが起こっているものと考えられた。このためレンチウイルスベクターによる遺伝子再導入を検討することとなった。また現在用いている SPACluc 細胞は免疫不全マウスに移植可であるものの、マウス体内での増殖が遅いことが明らかとなった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 4件）

| |
|---|
| 1. 発表者名 Li HK and Hasegawa S |
| 2. 発表標題 Experimental alpha-radioimmunotherapy for liver metastasis of gastric cancer |
| 3. 学会等名 AACR Annual meeting 2018 (国際学会) |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Hasegawa S and Li HK |
| 2. 発表標題 Targeted alpha-therapy for gastric cancer metastasized to liver in mice |
| 3. 学会等名 EACR25 (国際学会) |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Hasegawa S and Li HK |
| 2. 発表標題 Alpha-particle-emitting astatine-211-labeled trastuzumab for targeted cancer cell ablation |
| 3. 学会等名 AACR-JCA Joint conference (国際学会) |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Hasegawa S and Li HK |
| 2. 発表標題 Experimental targeted alpha-particle therapy against liver metastasis of HER2-positive gastric cancer in mice |
| 3. 学会等名 AACR Virtual Annual Meeting II (国際学会) |
| 4. 発表年 2020年 |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

| | 氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号) | 所属研究機関・部局・職 (機関番号) | 備考 |
|---------------|--|--|----|
| 研究 分担 者 | 永津 弘太郎 (NAGATSU KOTARO) (30531529) | 国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構・放射線医学総合研究所 先進核医学基盤研究部・研究統括(定常) (82502) | |