

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和元年6月11日現在

機関番号：82502

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K15763

研究課題名(和文)放射断層撮影法を応用した生体内PD-1全身動態の可視化

研究課題名(英文) Visualization of whole body dynamics of PD-1 in vivo using radiographic tomography

研究代表者

小此木 範之 (Okonogi, Noriyuki)

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・医長(定常)

研究者番号：00750572

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：生体内のProgram death-1(PD-1)の全身動態を画像検査で評価するための基礎研究を行った。PET検査に代表される放射断層撮影法での検査を可能にするため、まずは薬剤の開発を行った。64Cu(半減期13時間)標識抗PD-1抗体にPD-1が結合可能であることを確認し、48時間までの結合安定性を確認した。次に、開発した薬剤を正常マウスに投与し、PET撮像を行った。64Cu標識抗PD-1抗体は肝臓に多く分布し、更に脾臓並びに腸管リンパ節に分布していることが示された。更に、腫瘍移植マウスにおいても実験を行い、腫瘍にも64Cu標識抗PD-1抗体が分布することが確認できた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、抗PD-1抗体に代表される、免疫チェックポイント阻害薬の有効性が数多く報告されている。しかしながら、免疫チェックポイント阻害薬は全ての患者に有効という訳ではなく、治療効果予測が現状の喫緊の課題の一つである。また、薬剤の至適投与期間については、学術的、医療経済学的にも重要な課題である。非侵襲的に、繰り返し施行可能な評価方法の確立は、これらの薬剤の適正な使用に貢献するものと考えられる。本研究はマウスを用いた、基礎的研究であるが、この結果を元に臨床応用を目指す。

研究成果の概要(英文)：We performed a basic study to evaluate whole body dynamics of Program death-1 (PD-1) in vivo by image examination. In order to enable examination by emission tomography represented by PET examination, we first developed a labeled drug. The labeled drug, 64Cu (half-life 13 hours) labeled anti-PD-1 antibody, bound to PD-1, and the binding stability up to 48 hours was confirmed. Next, the developed drug was administered to normal mice, and PET imaging was performed. We found that the 64Cu-labeled anti-PD-1 antibody was widely distributed in the liver and further distributed in the spleen and intestinal lymph nodes. Furthermore, these experiments were performed also in tumor-grafted mice, and confirmed that the 64Cu-labeled anti-PD-1 antibody was also distributed in the tumor.

研究分野：放射線医学

キーワード：PD-1 放射断層撮影

1. 研究開始当初の背景

近年、programmed cell death 1 (PD-1)等の免疫チェックポイントを標的とした新規薬剤は、がん治療の分野において重要な役割を担いつつある。一方で、生体内の免疫応答に着目した客観的評価方法は未だ確立されていない。免疫反応は全身に分布している組織、細胞が協調する全身反応であるため、もし、全身のPD-1動態を非侵襲的かつ経時的に可視化することができれば、がん免疫応答のメカニズムの解明や、安全かつ効率的ながん免疫治療法につながる。

我々、放射線医学総合研究所では、新しい放射性核種の製造法の開発及び様々な薬剤の標識法の開発を長年行っており、これまでに様々なPET/SPECTイメージングプローブを開発し、基礎研究だけでなく臨床研究も実施している。免疫チェックポイント抗体については行っていないが、その他の抗体イメージングプローブの開発については数多く行ってきた。

本研究ではこの知識・技術を応用、発展させることで、PD-1等に対するPETイメージングプローブを開発する。PD-1等の動態を、放射断層撮影法を用いて評価する方法を確立し、特異的免疫応答を鋭敏かつ非侵襲的に、経時的に評価できる、可視化プラットフォームを構築することを目的とする。この可視化プラットフォームは、汎用性が高く、他の多くの分子に応用が容易である。がん組織は均一ではなく、がん細胞以外にも免疫細胞や繊維芽細胞等の多くの細胞で構成されている非常に多様性のある組織である。この多様性が、がんの治療を妨げている大きな要因であるが、この多様性を正確に把握する方法は未だ確立されていない。本研究で確立する可視化プラットフォームを発展させていくことで、がん組織内の多様性を正確に把握することができ、がんの克服に寄与する可能性を秘める。本研究は、その基盤を提供することにもつながる。

2. 研究の目的

生体内におけるPD-1等の動態を、放射断層撮影法を用いて

評価する方法を確立し、特異的免疫応答を鋭敏かつ非侵襲的に、経時的に評価できる、可視化プラットフォームを構築することを目的とする。

3. 研究の方法

本研究は、PD-1の新規プローブ開発と、マウスでの安全性・有効性の評価に大別される。新規プローブの開発に関して、まず、マウスのPD-1に結合する抗PD-1抗体を、抗体の生体内半減期に適したポジトロン核種で標識し、免疫活性が保持されているかの確認をin vitroで評価した。マウスによるイメージングでは、正常マウスに対して、PETで評価可能な画像が取得できる新規プローブの1回投与量を検討する。さらに、腫瘍移植マウスでもPET撮像し、マウス体内のPD-1分布のを観察した。

4. 研究成果

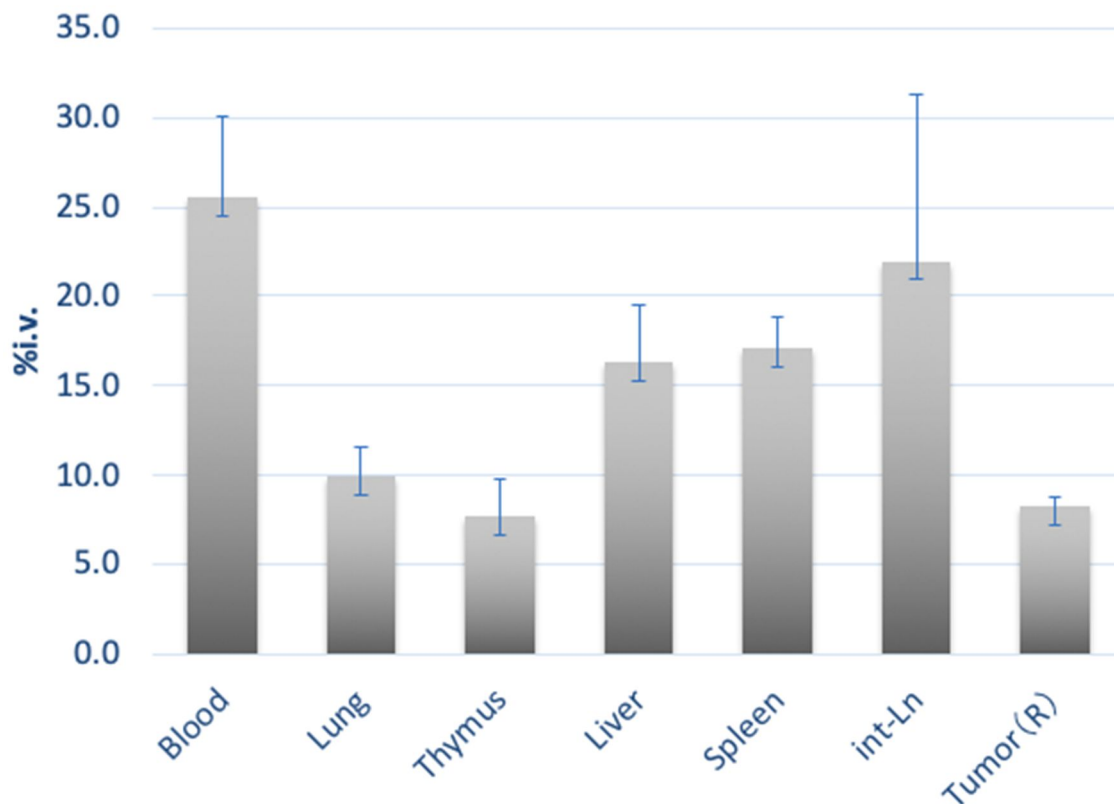
まずマウスのPD-1に結合する抗PD-1抗体に結合させる核種について検討を行った。抗体に使用するポジトロン核種として、当初の候補であった⁸⁹Zr(半減期78時間)に換え、既に本所で精製法が確立していた⁶⁴Cu(半減期13時間)を採用した。高精製度⁶⁴Cuは⁶⁴Ni(p,n)核反応により製造した。陽イオン交換樹脂を用いる事で、精製精度の向上と精製時間の短縮が可能となった。

次に、⁶⁴Cuと抗PD-1抗体の結合について検討した。抗PD-1抗体はFab部で結合させ安定性の評価を行った。リン酸緩衝溶液中およびマウス血清中で、抗体結合後48時間の結合安定性を評価した。⁶⁴Cu-PD1の含有率は、リン酸緩衝液中:87%に対し、マウス血清中:85%であり、マウス投与に向けての安定性が確認された。更に、⁶⁴Cu結合後の抗PD-1抗体が生物活性を保持していることをcell binding assayで確認した。

更に、⁶⁴Cuで標識した抗PD-1抗体を用いて、マウスに対する安全性評価と、マウス生体内のPD-1発現細胞の動態測定を行った。C3H/Heマウスに尾静脈より投与し、投与後1か月マウスが生存することが確認された。そして、⁶⁴Cu標識抗PD-1抗体の分布をPET撮像により測定した。⁶⁴Cu標識抗PD-1抗体は肝臓に多く分布し、更に脾臓並びに腸管リンパ節に分布していることが示された。一方で、筋肉や腹部への分布が少ないことから、腫瘍移植モデルでの実験に差し障ることがないと判断した。

マウス扁平上皮癌由来のSCCVII細胞を下肢に移植し、腫瘍生着後、⁶⁴Cu標識抗PD-1抗体の生体内分布を解析した。⁶⁴Cu標識抗PD-1抗体は、正常マウスと同じく肝臓、脾臓、腸管リンパ節に多く分布していた。さらに、下肢に移植された腫瘍にも比較的多く分布していることが確認できた。

図：⁶⁴Cu 標識 PD-1 抗体のマウス生体内の分布



5. 主な発表論文等

* 企業との秘密保持契約のため外部発表無し（上記結果については、公表可能である部分を表記）

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 0 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年：

国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

(2)研究協力者

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。