

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 10 日現在

機関番号：22701

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21591573

研究課題名（和文） 分子イメージングによる血管新生阻害剤併用化学療法の効果判定

研究課題名（英文） Therapeutic effect of antiangiogenic therapy and chemotherapy determined by molecular imaging

研究代表者

立石 宇貴秀（TATEISHI UKIHIDE）

横浜市立大学・医学部・准教授

研究者番号：20415524

研究成果の概要（和文）：血管新生阻害剤の薬効変化を画像化することを目的に、分子イメージング手法としてインテグリン特異的 PET リガンドの合成を実施し精製に成功した。合成した薬剤の ^{68}Ga -DOTA-PEG-RGDfK、 ^{68}Ga -DOTA-RGDfK を治療効果判定を目的として動物モデルで中和抗体型血管新生阻害剤によるモニタリングを実施した。この結果、インテグリン特異的 PET リガンドは正しく治療効果を知る信頼できるツールと考えられた。

研究成果の概要（英文）：

Integrin specific PET ligands were synthesized in order to visualize therapeutic effect of antiangiogenic agents in rat model. ^{68}Ga -DOTA-PEG-RGDfK and ^{68}Ga -DOTA-RGDfK, which are monomeric $\alpha(\text{v})\beta 3$ agonists were used to evaluate therapeutic effect of antiangiogenic drug in rat model. Integrin specific PET ligands were considered to be promising tool for monitoring therapeutic effect of antiangiogenic agents.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2010年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2011年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：医学

科研費の分科・細目：医学・放射線医学

キーワード：血管新生

1. 研究開始当初の背景

（1）血管新生阻害剤は腫瘍血管において血管透過性の亢進、間質圧の変化、微小血管濃度の減少をもたらすと考えられ、種々の癌細胞にて発現が亢進している血管新生因子に対し抑制的に作用する。血管新生阻害剤は血管新生因子と特異的に結合することあるいはその受容体に結合することにより、結果として血管新生因子の作用を阻止し、生物活性

を阻害する。これにより、腫瘍組織での血管新生が抑制され、腫瘍の増殖が阻害される。これまでの臨床試験では腎臓癌、大腸癌、乳癌、肺癌、肝細胞癌において抗癌剤との併用療法により良好な結果が示されている。

（2）研究期間中の2011年6月15日にFDAに承認されたベバシズマブ：Bevacizumab（以下BVと略す）は唯一の中和抗体型血管新生阻害剤でヒト化 IgG1 モノクローナル抗体であ

る。これまで BV と抗癌剤の併用による臨床試験で多数の固形癌にてその有効性が証明され、現在、大腸癌、肺癌、腎臓癌、膠芽腫、HER2 陰性転移性乳癌の治療に対し適応承認されている。

(3) 血管新生阻害剤の血管透過性の亢進、間質圧の変化、微小血管濃度の減少などの変化を生体内で画像化した報告は少なく、より正確に薬効判定できる評価系の構築が必要と考えられている。例として、インテグリン $\alpha v \beta_3$ は vitronectin receptor であり、VEGF と結合することで outside-in signaling による細胞内伝達を行う。インテグリン $\alpha v \beta_3$ はいくつかの癌種においてその過剰発現が認められており、腫瘍の増殖、局所浸潤、遠隔転移において重要な役割を果たしている。[18F]Galacto-RGD は Haubner らにより合成されたインテグリン $\alpha v \beta_3$ を特異的に標識した PET 用トレーサーであり、臨床試験のレベルで癌の治療効果との良好な相関が報告されている (Clin Cancer Res 6610-6616, 2007)。このように血管新生阻害剤の担癌患者体内での標的阻害を的確に捉える分子イメージング手法としてインテグリン特異的 PET リガンドを作成し薬効判定を行うための基礎実験が必要であった。

2. 研究の目的

(1) 当研究では、血管新生阻害剤の担癌患者体内での標的阻害を的確に捉える分子イメージング手法としてインテグリン特異的 PET リガンドを動物腫瘍モデルをもとに確立し、治療効果、副作用の発現を予測できるバイオマーカーとなりうるかどうか検討することである。

(2) ヒト投与を目的として立案したインテグリン特異的標識 PET 製剤の合成を実施し、安定した収率を得るための調整を図ることである。

3. 研究の方法

(1) 血管新生阻害剤併用化学療法による治療効果判定、副作用予測を行うために動物腫瘍モデルを用いて PET リガンドを確立し、VEGF 遺伝子プロファイル解析をの設定で実施する。

4. 研究成果

(1) インテグリン特異的標識 PET 製剤である ^{68}Ga -DOTA-PEG-RGDfK の合成方法を確立した (図 1)。

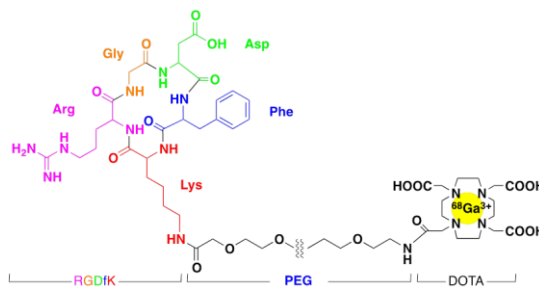


図 1 : ^{68}Ga -DOTA-PEG-RGDfK の構造

すなわち、グリシンを出発物質とし、順次アミノ酸を縮合させた後、環化させ、環状ペプチド cyclo-RGDfK を得た。この合成は液相中で行い、量的な供給も可能となった。一方、選択的に保護された DOTA、及び PEG 鎖を合成し、それぞれを縮合させ、PEG-DOTA 鎖を合成し、これを最後に cyclo-RGDfK と結合し、標識前駆体である DOTA-PEG-RGDfK を得た。 ^{68}Ge - ^{68}Ga ジェネレータより抽出された $^{68}\text{Ga}^{3+}$ 溶液を加え、 80°C で 15 分加熱した後、Sep-Pak® を用いて短時間で精製した。これにより放射性化学純度の高い ^{68}Ga -DOTA-PEG-RGDfK を効率よく得ることができた。また、合成した薬剤はある条件では ^{68}Ga が解離することがあったが、これについても条件を検討し、安定して得ることに成功した。

(2) 血管新生阻害剤の血管透過性の亢進、間質圧の変化、微小血管濃度の減少などの変化を画像化することを目的として、インテグリン特異的標識 PET 製剤である ^{68}Ga -DOTA-PEG-RGDfK の合成後、以下の三点を実施した (図 2)。

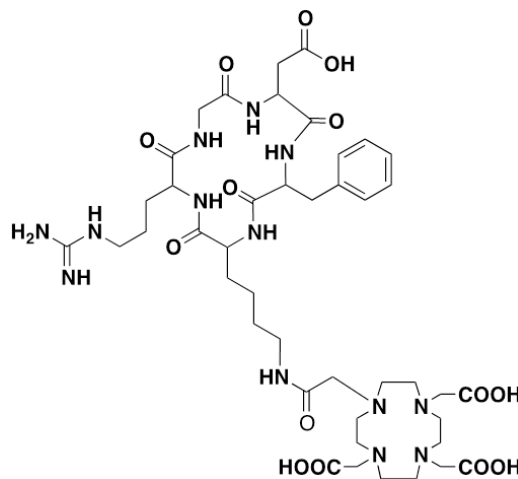


図 2 : ^{68}Ga -DOTA-RGDfK の構造

In Vitro 研究 : 合成薬剤の放射線化学、 $\alpha v \beta_3$ binding affinity の確認、U87MG 細胞および A431 細胞による培養実験を実施した。

In Vivo 研究：U87MG 細胞および A431 細胞を移植したマウスを用い最大 10 臓器の biodistribution (0, 10, 20, 60, 120 min)、尿中・糞中の排泄 (0-120 min)、Tumor uptake (%ID/g, 10, 20, 60, 120 min)、Tumor:Blood ratio (TBR, 10, 20, 60, 120 min) を調べた (図 3)。

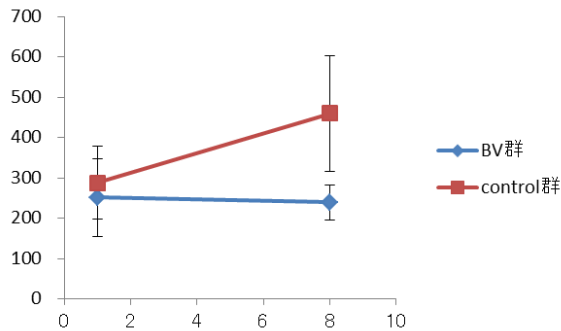


図 3 : Bevacizumab 投与前後 (8 日間) の腫瘍体積 (縦軸 mm³) の変化 (n=4)

画像評価研究：PET の optimal timing を決定し、PET の集積と VEGF-A 発現の関連性を Western blot 法と免疫組織化学法 (蛍光二次抗体染色) にて確認した。治療薬 (Bevacizumab) の蛍光標識による動態画像化と投与群、プラセボ群での画像変化を検討した。③については追試を 2 回実施した。治療薬 (Bevacizumab) の蛍光標識による動態画像化と投与群、プラセボ群での比較を実施した。移植腫瘍径、SUVmax (g/ml), TLG (g), %ID/g をモニターした結果いずれの指標も平行に相関し、ベースラインから 22 日の治療薬投与後にて 2 群間に有意差を認めた (図 4)。インテグリン特異的標識 PET 製剤 ⁶⁸Ga-DOTA-RGDfK は正しく治療効果を表現できるツールと考えられた。ヒト投与を目的として立案したインテグリン特異的標識 PET 製剤の ⁶⁴Cu-DOTA-(PEG)-RGDFKD ペプチドあるいは類似化合物を合成する方針である。

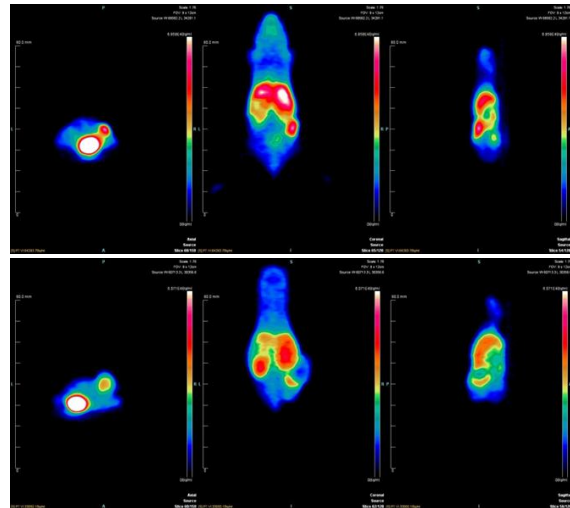


図 4 : Bevacizumab 投与前後 (22 日間) の ⁶⁸Ga-DOTA-RGDfK PET 画像。上段は投与前、下段は投与後を示す。治療前後で腫瘍 (左下腹部) への集積が変化している。

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 9 件)

- ① 立石 宇貴秀、B細胞性悪性リンパ腫治療のパラダイムシフト B細胞リンパ腫診療におけるFDG-PETの意義、血液フロンティア、査読無、21巻、2011、1411-1421
- ② 立石 宇貴秀、PET/CT allows stratification of responders to neoadjuvant chemotherapy for high-grade sarcoma: a prospective study.、Clin Nucl Med、査読有、36巻、2011、526-532
- ③ 立石 宇貴秀、Relevance of monitoring metabolic reduction in patients with relapsed or refractory follicular and mantle cell lymphoma receiving bendamustine: a multicenter study.、Cancer Sci、査読有、102巻、2011、414-418
- ④ 立石 宇貴秀、GIST の画像診断、外科治療、査読無、102巻、2010、126-132
- ⑤ 立石 宇貴秀、PET assessment of disease activity in children with juvenile idiopathic arthritis、Pediatric Radiology、査読有、40巻、2010、1781-1788
- ⑥ 立石 宇貴秀、A meta-analysis of (18)F-Fluoride positron emission tomography for assessment of metastatic bone tumor、Ann Nucl Med、査読有、24巻、2010、523-531
- ⑦ 立石 宇貴秀、PET-CT を用いた癌の治療効果判定、画像診断、査読有、29巻、2009年、1458-1465

⑧立石 宇貴秀、Comparative study of FDG PET/CT and conventional imaging in the staging of rhabdomyosarcoma、Ann Nucl Med、査読有、23 卷、2009 年、155-161

⑨立石 宇貴秀、Chronic thyroiditis in patients with advanced breast carcinoma: metabolic and morphologic changes on PET-CT. Eur J Nucl Med Mol Imaging.、査読有、36 卷、2009、894-902

[学会発表] (計 3 件)

①立石 宇貴秀、核医学の進歩と展望 PET 導入後の新たな展開、日本医学放射線学会総会 (招待講演)、2011 年 4 月 8 日、パシフィコ横浜

②立石 宇貴秀、PET、PET/CT の将来展望と課題 造影 PET/CT、日本医学放射線学会総会 (招待講演)、2010 年 4 月 10 日、パシフィコ横浜

③立石 宇貴秀、PET/CT と治療計画、日本医学放射線学会総会 (招待講演)、2009 年 4 月 18 日、パシフィコ横浜

[図書] (計 3 件)

①立石 宇貴秀、中山書店、最新治療・主要検査ガイド、2011、214

②立石 宇貴秀、中山書店、悪性腫瘍診断のための PET/CT パーフェクトガイド、2010、150

③立石 宇貴秀、井上 登美夫、秀潤社、エキスパートによる PET/CT がん病期診断、2009 年、375

6. 研究組織

(1) 研究代表者

立石 宇貴秀 (TATEISHI UKIHIDE)

横浜市立大学・医学部・准教授

研究者番号：20415524

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

山田 康秀 (YAMADA YASUhide)

国立がん研究センター中央病院・消化器内科・医長

研究者番号：20802909