

令和 6 年 6 月 11 日現在

機関番号：82502

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K07688

研究課題名（和文）悪性中皮腫根治に向けて - ポドプランニン標的 線放射免疫療法と高精度線量評価法の開発

研究課題名（英文）Development of podoplanin-targeted alpha-radioimmunotherapy and highly accurate dose evaluation method for complete recovery of malignant mesothelioma

研究代表者

須藤 仁美 (Sudo, Hitomi)

国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構・量子医科学研究所 分子イメージング診断治療研究部・主任研究員

研究者番号：10415416

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：我々は、皮下腫瘍モデルを用いて中皮腫に高発現しているポドプランニンの特異的に認識する抗体をRI標識した放射免疫療法(RIT)が中皮腫の治療として有望であることを示してきた。本研究では、中皮腫同所移植モデルを作成し、<sup>225</sup>Ac標識抗体投与による腫瘍・臓器の吸収線量、治療効果と副作用の検証を行った。<sup>225</sup>Ac標識抗体を尾静脈投与すると、高い治療効果が得られたが、肺や骨髄での吸収線量が高かった。<sup>225</sup>Ac標識抗体を胸腔投与すると、肺や骨髄への集積は抑制でき十分な治療効果を得ることができた。以上のことから、<sup>225</sup>Ac標識した抗ポドプランニン抗体の胸腔投与は、有望な治療法になることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

線放出核種である<sup>225</sup>Ac標識した抗ポドプランニン抗体が<sup>90</sup>Y標識した抗ポドプランニン抗体に比べ、より高い治療効果を持つことが示され、線放出核種を用いたRIT(-RIT)が中皮腫に対する有望な治療法になることが示唆された。

また、ポドプランニンは脳腫瘍など様々ながんで高発現していることが報告されており、本抗体を用いた-RITが中皮腫以外の固形がんの治療法の開発に大きな進展をもたらすことが期待される。

研究成果の概要（英文）：Using a subcutaneous tumor model, we have demonstrated that radioimmunotherapy (RIT) with RI-labeled antibodies that specifically recognize podoplanin, which is highly expressed in mesothelioma, is a promising treatment for mesothelioma. In this study, we estimated the absorbed doses in tumors and organs and evaluated the therapeutic effect and side effects of <sup>225</sup>Ac-labeled antibodies using an orthotopic mesothelioma model. Administration of <sup>225</sup>Ac-labeled antibody via tail vein showed high therapeutic effect, but the absorbed doses in lungs and bone marrow were estimated higher than those of subcutaneous tumor model. Administration of labeled antibody into thoracic cavity suppressed the absorbed doses in lung and bone marrow and showed high therapeutic effect similarly iv injection. These results suggest that pleural administration of <sup>225</sup>Ac-labeled anti-podoplanin antibodies is a promising treatment.

研究分野：核医学

キーワード：放射免疫療法 ポドプランニン 中皮腫 アクチニウム225

## 様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

分子標的核医学治療は殺細胞効果の高い治療用非密封放射性同位元素(RI)で標識した薬剤を投与し、腫瘍に対して体内から放射線を照射する放射線療法である。がんや正常組織への集積性を治療用と同じ薬剤に画像診断用 RI を標識することで非侵襲的に評価することができるため、治療効果や有害事象を予測できる Theranostic 治療である。すでに臨床で利用されており、欧米で実現に向けて強く推進されている Cancer Precision Medicine で大きな役割を担うことが期待されている。しかし、現時点で十分な治療効果が得られているのは、血液がんや一部の固形がんに限られており、Cancer Precision Medicine の実現のためには、難治性固形がんに対する治療法の開発が必須である。

放射免疫療法 (Radioimmunotherapy:RIT)は、RI キャリアーに抗体を用いた方法で、高い治療効果が期待されている。ポドプラニンでは中皮腫で高発現していることが報告されている膜貫通型糖タンパク質である。我々は、これまでに 線放出核種  $^{90}\text{Y}$  で標識した抗ポドプラニン抗体の投与により、重篤な副作用なしに高い治療効果を得られたことを報告した<sup>1</sup>。しかしながら、悪性中皮腫の根治のためには、さらに高い治療効果が必要とされる。線放出核種は、線放出核種に比べ 1000 倍以上も高い細胞障害性をがんに与えることが可能であり、難治性固形がんに有用な治療核種として注目されている。

### 2. 研究の目的

中皮腫同所移植モデルを用い 線放出核種の一つである  $^{225}\text{Ac}$  で標識した抗ポドプラニン抗体による治療効果と副作用を評価し、悪性中皮腫に対する 線による RIT の有用性明らかにすることを目的とする。

### 3. 研究の方法

#### (1) ルシフェラーゼ発現細胞株の樹立と同所移植モデルの作成

同所移植モデルを作成するために、ヒト中皮腫由来細胞株 H226 にルシフェラーゼ遺伝子を導入し、ルシフェラーゼを安定的に発現する細胞(H226-Luc)を樹立した。樹立した H226-Luc 細胞をヌードマウスの胸腔内に移植し、同所移植モデルを作成した。腫瘍の増殖は in vivo 発光イメージャーで確認した。

#### (2) RI 標識ポドプラニン抗体の体内動態と線量評価

上記(1)で作成した同所移植モデルマウスに、 $^{111}\text{In}$  標識抗ポドプラニン抗体を尾静脈および胸腔内より投与した。投与 2 分、4、24、48、96、168 時間後に腫瘍、血液、臓器(心臓、肺、肝臓、脾臓、腸管、腎臓、筋肉、脛骨)を摘出し、腫瘍及び臓器の重量を測定後、放射活性をガンマカウンターで測定した。これらのデータをもとにそれぞれの投与方法により  $^{90}\text{Y}$  および  $^{225}\text{Ac}$  標識抗ポドプラニン抗体を投与した際の、腫瘍や各臓器の吸収線量を算出した。細胞障害性における  $^{225}\text{Ac}$  の  $^{90}\text{Y}$  に対する生物学的効果比(Relative Biological Effectiveness、RBE)は 5 とした<sup>2</sup>。

#### (3) $^{90}\text{Y}$ および $^{225}\text{Ac}$ 標識抗ポドプラニン抗体の治療効果と副作用の検証

上記(1)で作成した同所移植モデルマウスに  $^{90}\text{Y}$  および  $^{225}\text{Ac}$  標識抗ポドプラニン抗体を尾静脈および胸腔内より投与し( $^{90}\text{Y}$ : 37MBq、 $^{225}\text{Ac}$ : 18.5MBq)、腫瘍増殖を in vivo イメージャーで週 1 回以上、体重を週 2 回以上 8 週間測定した。投与時と比べて 20%以上の体重減少や著しい衰弱が観察された場合は、動物愛護の観点より安楽死させた。また、それぞれの投与方法について、投与前および投与後 3、7、28 日後に腫瘍と臓器(心臓、肺、肝臓、脾臓、腎臓、骨髄)を摘出し、標識核種や投与方法による治療の影響を病理学的に解析した。

### 4. 研究成果

#### (1) ルシフェラーゼ発現細胞株の樹立と同所移植モデルの作成

ルシフェラーゼを安定的に発現する細胞(H226-Luc)を樹立した。樹立した H226-Luc 細胞をヌードマウスの胸腔内に移植すると、6~7 週間で胸腔内に播種性の腫瘍を形成した(図 1)。

(2) RI 標識ポドプラニン抗体の体内動態と線量評価  
同所移植モデルに  $^{111}\text{In}$  標識抗ポドプラニン抗体を尾静脈投与すると、皮下移植モデルと同様に投与 4 日後に腫瘍への集積が最大になり、その後減少した。また、血液中の RI は投与直後が最も高く、時間と共に減少した。臓器では生理的な集積のみ確認できた。これらのデータをもとに 18.5



図1 H226-luc胸腔内移植42日後

kBq の  $^{225}\text{Ac}$  標識抗ポドプランリン抗体を投与した際の、腫瘍や各臓器の吸収線量を算出した。腫瘍では、皮下移植モデルに比べて同所移植モデルの吸収線量が有意に高かった(皮下腫瘍モデル 21.8 Sv、同所移植モデル 40.7 Sv)が、放射線感受性が高い臓器である肺や骨髄の吸収線量も、同所移植モデルの方が有意に高かった(肺・皮下腫瘍モデル: 12 Sv、肺・同所移植モデル: 16 Sv、骨髄・皮下移植モデル: 12 Sv、骨髄・同所移植モデル: 16 Sv)。

$^{111}\text{In}$  標識抗ポドプランリン抗体を胸腔内投与すると、1日後に腫瘍集積が最大になり、その後緩やかに減少した。血液や臓器へは投与2分後から1日後にかけて集積が増加し、その後減少した。尾静脈から投与した時と比べ、最大集積の時間は異なったが、2日後以降の集積は同程度になった。これらのデータをもとに 18.5 kBq の  $^{225}\text{Ac}$  標識抗ポドプランリン抗体を胸腔内投与した際の、腫瘍や各臓器の吸収線量を算出した。同所移植モデルに尾静脈投与した時と比較すると、腫瘍での吸収線量は有意に高く(46 Sv)、肺や骨髄での吸収線量は有意に低かった(肺: 12 Sv、骨髄: 13 Sv)。以上の結果から、胸腔内投与は尾静脈投与より安全に効果的な治療効果が得られると推測された。

### (3) $^{90}\text{Y}$ および $^{225}\text{Ac}$ 標識抗ポドプランリン抗体の治療効果と副作用の検証

$^{90}\text{Y}$  標識抗ポドプランリン抗体を投与すると投与方法に関わらず、一時的に腫瘍のシグナルは増加したが、その後減少した(図2)。 $^{225}\text{Ac}$  標識抗ポドプランリン抗体を投与すると投与方法に関わらず腫瘍のシグナルの増加は観察されなかった(図2)。しかしながら  $^{90}\text{Y}$ 、 $^{225}\text{Ac}$  とも完全なシグナルの消失は見られなかった。以前の皮下移植モデルの結果と同様に、同所移植モデルにおいても、 $^{225}\text{Ac}$  標識抗ポドプランリン抗体は  $^{90}\text{Y}$  標識抗ポドプランリン抗体より高い治療効果を示した。(図2、3)

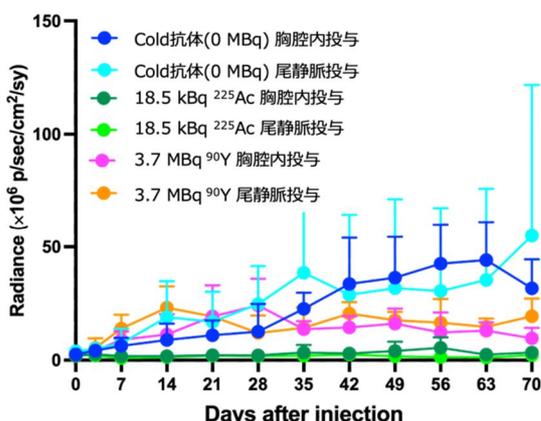


図2  $^{90}\text{Y}$ および $^{225}\text{Ac}$ 標識抗ポドプランリン抗体投与後の腫瘍増殖

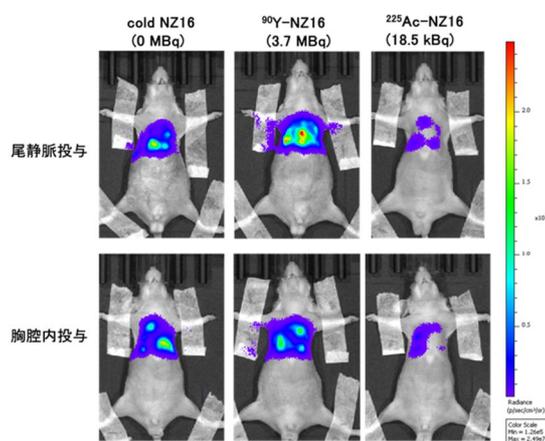


図3 エンドポイント(投与70日後)におけるin vivoイメージング

$^{90}\text{Y}$  標識抗体を投与したマウスではどちらの投与方法でも、重篤ではないが体重減少が観察された(図4)。一方、 $^{225}\text{Ac}$  標識抗体を投与したマウスでも体重減少が観察されたが一過性で回復した(図4)。また、病理解析の結果、どちらの投与方法においても心臓、肺、肝臓、脾臓、腎臓の  $^{90}\text{Y}$  および  $^{225}\text{Ac}$  標識抗ポドプランリン抗体の投与による重篤な副作用は見られなかった。 $^{225}\text{Ac}$  標識抗体を投与7日後の骨髄では出血がみられたが、28日後には回復しており、可逆的であった。今回の結果からは、投与方法による治療効果や副作用の差は観察できなかったが、線放射核種である  $^{225}\text{Ac}$  で標識した抗ポドプランリン抗体による RIT は「がんだけを攻撃する治療」が実現可能であることを示した。

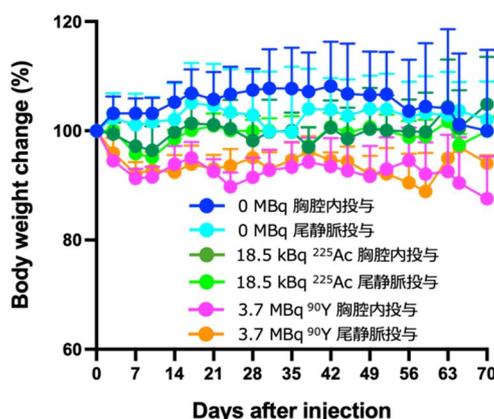


図4  $^{90}\text{Y}$ および $^{225}\text{Ac}$ 標識抗ポドプランリン抗体投与後の体重変化

### < 引用文献 >

1. Sudo H., et al., Therapeutic efficacy evaluation of radioimmunotherapy with  $^{90}\text{Y}$ -labeled anti-podoplanin antibody NZ-12 for mesothelioma. *Cancer Sci.* 2019; 110(5):1653-1664.
2. Sgouros, G., et al., *MIRD Pamphlet No. 22 (Abridged): Radiobiology and Dosimetry*

*of  $\alpha$ -Particle Emitters for Targeted Radionuclide Therapy.* Journal of Nuclear Medicine, 2010. 51(2):311-328.

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Sudo Hitomi, Tsuji Atsushi B., Sugyo Aya, Kaneko Mika K., Kato Yukinari, Nagatsu Kotaro, Suzuki Hisashi, Higashi Tatsuya	4. 巻 10
2. 論文標題 Preclinical Evaluation of Podoplanin-Targeted Alpha-Radioimmunotherapy with the Novel Antibody NZ-16 for Malignant Mesothelioma	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cells	6. 最初と最後の頁 2503 ~ 2503
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cells10102503	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Sudo Hitomi, Tsuji Atsushi B., Sugyo Aya, Harada Yosuke, Nagayama Satoshi, Katagiri Toyomasa, Nakamura Yusuke, Higashi Tatsuya	4. 巻 113
2. 論文標題 FZD10 targeted radioimmunotherapy with 225Ac labeled OTSA101 achieves complete remission in a synovial sarcoma model	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 721 ~ 732
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.15235	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Sudo Hitomi, Tsuji Atsushi B., Sugyo Aya, Harada Yosuke, Nagayama Satoshi, Katagiri Toyomasa, Nakamura Yusuke, Higashi Tatsuya	4. 巻 114
2. 論文標題 Head to head comparison of three chelates reveals DOTAGA promising for <sup>225</sup> Ac labeling of anti FZD10 antibody OTSA101	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 4677-4690
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.15978	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 須藤仁美、辻厚至、須堯綾、原田陽介、長山聡、片桐豊雅、中村佑輔、東達也
2. 発表標題 -Radioimmunotherapy with 225Ac-labeled anti-FZD10 antibody achieves complete response in a synovial sarcoma model
3. 学会等名 第81回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 須藤仁美、辻厚至、須堯綾、金子美華、加藤幸成、東達也
2. 発表標題 Comparison of administration routes of the radiolabeled anti-PDPN antibody NZ-16 in radioimmunotherapy for mesothelioma
3. 学会等名 第82回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2023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
研究協力者	加藤 幸成  (Kato Yukinari)		
研究協力者	須堯 綾  (Sugyo Aya)		

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------