

令和元年9月4日現在

機関番号：82502

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K10375

研究課題名(和文) 大腸がん微小転移巣に対する個別化増感放射免疫療法の開発

研究課題名(英文) Personalized radiosensitized radioimmunotherapy for peritoneal dissemination

研究代表者

吉井 幸恵 (Yoshii, Yukie)

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 分子イメージング診断治療研究部・主幹
研究員(定常)

研究者番号：10397242

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：腹腔内微小転移巣は現在有効な治療がなく、新規治療の開発が求められている。治療用放射性標識抗体を体内に投与する「放射免疫療法」は、腹腔内微小転移巣に対する有望な治療法として期待される。我々はこれまでに、放射性⁶⁴Cu標識抗EGFR抗体を用いた放射免疫療法が、消化器がん由来の腹腔内微小転移巣の放射免疫療法剤として有用であると報告してきた。しかし、本法の実用化に向けては、さらなる最適化が望まれる。本研究では、3Dがん培養スクリーニングを用い、抗EGFR放射免疫療法においてがん特性に応じた効果的な増感剤を選択する方法を開発した。また、選択増感剤が、in vivoで効果があることを実証した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

消化器がんは、本邦で罹患数が多く、死因上位を占める疾患である。また、消化器がんにおける腹腔内微小転移は現在有効な治療がなく、新規治療の開発が求められている。本研究では、3Dがん培養スクリーニングを用い、抗EGFR放射免疫療法においてがん特性に応じた効果的な増感剤を選択する方法を開発した。また、選択増感剤が、腹腔内微小転移に対し効果があることをマウスモデルを用い実証した。

研究成果の概要(英文)：There is currently no effective treatment for peritoneal dissemination, and development of new treatment is needed. Radioimmunotherapy with antibodies labeled with therapeutic radionuclides is a promising method to treat peritoneal dissemination. We have previously reported that the radioimmunotherapy using the radionuclide ⁶⁴Cu-labeled anti-EGFR antibody was effective for peritoneal dissemination of gastrointestinal cancers. However, further optimization is desired for use of this therapy. In this study, we developed a method to select sensitizers that are effective in radioimmunotherapy with ⁶⁴Cu-labeled anti-EGFR antibody, with a 3D tumor cell culture screening. Also, we demonstrated that the drugs selected by the sensitizer screening are actually effective in vivo.

研究分野：核医学

キーワード：核医学 PET がん 放射線

1. 研究開始当初の背景

がん腹腔内微小転移巣に対する治療法の開発の必要性

消化器がん(大腸がん・胃がん)は、本邦で罹患数が多く、死因上位を占める疾患である。特に、消化器がんにおいては腹腔内微小転移が生じやすく、こうした腹腔内微小転移巣に対しては化学療法が行われているが、効果は不十分であり、より有効な治療法の開発が課題となっている。

がん腹腔内微小転移巣に対する放射免疫療法の可能性

これに対し、治療用放射性核種で標識した抗体(放射性抗体)を体内に投与する「放射免疫療法」は、こうしたがん腹腔内微小転移巣に対し放射性抗体が結合し、細胞を放射線により近傍から攻撃できるため、有望な治療法として期待されている(Koppeら J Nucl Med 2006)。一方、研究代表者はこれまでに、消化器がんにおいて多くの患者で高発現する上皮成長因子受容体(Epithelial Growth Factor Receptor, EGFR)を標的とした抗EGFR抗体を放射性核種⁶⁴Cuで標識した⁶⁴Cu標識抗EGFR抗体を開発し、同薬剤を用いた放射免疫療法が有望であることを見出してきた。しかし、抗EGFR放射免疫療法の実用化に向けては、さらなる治療効果の向上のための最適化が望まれる。一方最近、放射線に対するがんの応答経路は多様であることが報告されており(Kleimanら PLOS ONE 2013)、最適な放射線増感剤(放射線の効果を高める薬剤)を選択することにより、より効果の高い放射免疫療法を提供できると考えられる。

研究代表者が研究開発してきたナノプリント培養法と本研究への発展

一方、研究代表者は、ナノプリント表面加工プレート(底面に物理的に凹凸を刻みつけた培養器)を用いることにより、生体内のがん組織の特性を再現できる三次元がん細胞スフェロイドを簡単に培養できる新法(ナノプリント培養法)を研究開発してきた(Yoshiiら Biomaterials 2011, 2015)。本法は、がん細胞を三次元で培養することを可能にし、既存の平板培養法と比較し、より生体内のがん組織に近い環境を *in vitro* で再現できる。また、本法により薬剤感受性試験を行うことで、各がん細胞に最適な薬剤を選択することも見出している。このことから研究代表者は、ナノプリント培養法を用い、放射免疫療法における最適な増感剤を選択し、選択された薬剤と放射免疫療法を併用することで、がん腹腔内微小転移巣に対しより効果的な治療を提供できると考えた。

2. 研究の目的

そこで本研究では、3Dがん培養スクリーニングを用い、抗EGFR放射免疫療法においてがん特性に応じた効果的な増感剤を選択する方法を開発した。また、選択増感剤が、*in vivo* で効果があることを実証した。

3. 研究の方法

本研究では、下記項目につき研究を実施した。

(1) 放射性抗体の合成

本検討で用いる放射性抗EGFR抗体を合成した。放射性標識核種には、これまでに治療用放射性抗体の標識に用いられ、治療における有用性が非臨床試験で報告されている⁶⁴Cu(半減期12.7h、 β^- 線・オージェ電子を放出)を使用した(Connett Clin Cancer Res 1999他)。⁶⁴Cuの製造方法は、放射線医学総合研究所でこれまでに確立している手法を用いて行った。

(2) 増感剤スクリーニングキット作製、ナノプリント培養法による増感剤の選定

本検討では、ナノプリントがん培養に対し、増感剤スクリーニングを行い、最適増感剤を選択した。そのためにまず、これまでに有効性が報告されている増感剤を含むスクリーニングキットを作成した。スクリーニングキットは、過去文献(Kleimanら PLOS ONE 2013他)を参考に、主要な放射線応答経路の阻害が可能になるよう設計し、一般的な増感剤である5-FUやシスプラチンの他、PI3K-Akt/mTOR阻害剤、PARP-1阻害剤、proteasome阻害剤、Chk1/2阻害剤等の増感剤を含むキットを作成した。次に、ヒト消化器がん細胞赤色蛍光タンパク質(Red Fluorescent Protein, RFP)安定発現株を用い、ナノプリント培養を行い、⁶⁴Cu標識抗EGFR抗体を添加した後、増感剤スクリーニングキットを適用し、感受性試験を行った。

(3) 生体内での治療効果試験・副作用評価

(2)で選定した増感剤の効果を *in vivo* で検証した。本検討では、消化器がん微小転移巣を疑似するモデルとして、マウス腹膜播種モデルを作製し、選定された増感剤を併用した⁶⁴Cu標

識抗 EGFR 抗体実験を行い、その有効性を確かめた。また、治療中の体重変化、血球数変化を検討したほか、生化学検査を行い、副作用も評価した。

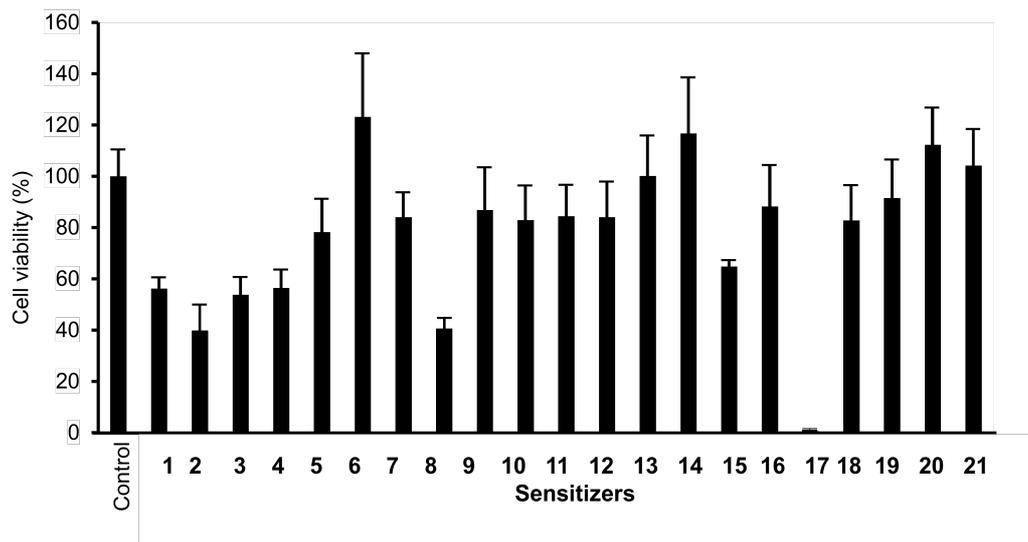
4. 研究成果

(1) 放射性抗体の合成

本研究で、⁶⁴Cu標識抗EGFR抗体の製造に成功した。

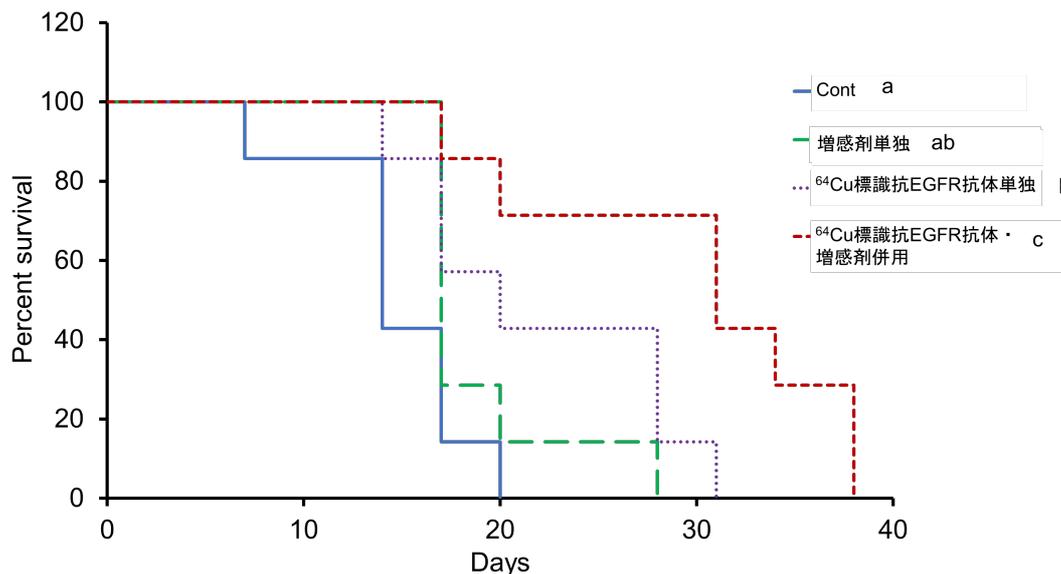
(2) 増感剤スクリーニングキット作製、ナノプリント培養法による増感剤の選定

本検討では、ナノプリントがん培養に対し、増感剤スクリーニングを行い、最適増感剤を選択する感受性試験を行った。これにより、最適な増感剤を選定した(下図)。



(3) 生体内での治療効果試験・副作用評価

選定した増感剤の効果を *in vivo* でマウス腹膜播種モデルを用い検証した。その結果、⁶⁴Cu標識抗 EGFR 抗体と選択された増感剤を併用した場合、Control 群(生理食塩水投与)、⁶⁴Cu標識抗 EGFR 抗体単独投与群、増感剤単独投与群と比較し、有意に生存が延長した(下図)。また、その際、体重減少、血液毒性、腎毒性、肝毒性などの副作用は見られなかった。



abc;異なる文字間で有意差あり (P<0.05)

(4) まとめ

本研究では、3Dがん培養スクリーニングを用い、抗EGFR放射免疫療法においてがん特性に応じた効果的な増感剤を選択する方法を開発した。また、選択増感剤が、腹腔内微小転移に対し効果があることをマウスモデルを用い実証した。本法は、個別のがんに適用することで、将来的には個別化増感放射免疫療法に応用できると期待される。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 2 件)

[1] ^{64}Cu -intraperitoneal radioimmunotherapy: a novel approach for adjuvant treatment in a clinically relevant preclinical model of pancreatic cancer. Yukie Yoshii, Hiroki Matsumoto, Mitsuyoshi Yoshimoto, Yoko Oe, Ming-Rong Zhang, Kotaro Nagatsu, Aya Sugyo, Atsushi B. Tsuji, and Tatsuya Higashi. Journal of Nuclear Medicine. 2019. In press.

[2] Integrated treatment using intraperitoneal radioimmunotherapy and positron emission tomography-guided surgery with ^{64}Cu -labeled cetuximab to treat early- and late-phase peritoneal dissemination in human gastrointestinal cancer xenografts. Yukie Yoshii, Mitsuyoshi Yoshimoto, Hiroki Matsumoto, Hideaki Tashima, Yuma Iwao, Hiroyuki Takuwa, Eiji Yoshida, Hidekatsu Wakizaka, Taiga Yamaya, Ming-Rong Zhang, Aya Sugyo, Sayaka Hanadate, Atsushi B. Tsuji, Tatsuya Higashi. Oncotarget. 2018 9(48):28935-28950.

〔学会発表〕(計 6 件)

[1] Oral presentation. Efficacy of combination use of intraperitoneal radioimmunotherapy and PET-guided surgery with ^{64}Cu -labeled-cetuximab in a mice model of colon cancer peritoneal dissemination. Yukie Yoshii, Mitsuyoshi Yoshimoto, Hiroki Matsumoto, Hideaki Tashima, Yuma Iwao, Hiroyuki Takuwa, Eiji Yoshida, Hidekatsu Wakizaka, Taiga Yamaya, Ming-Rong Zhang, Aya Sugyo, Sayaka Hanadate, Atsushi B. Tsuji, Tatsuya Higashi. June 23-26, 2018. SNM Annual Meeting (Philadelphia, PA, USA).

[2] Oral presentation. Feasibility of a PET-guided surgery system with ^{64}Cu -labeled-cetuximab in an orthotopic mouse model of pancreatic cancer. Kohei Sakurai, Yukie Yoshii, Hideaki Tashima, Yuma Iwao, Yoko Oe, Mineko Igarashi, Sayaka Hanadate, Eiji Yoshida, Hidekatsu Wakizaka, Taiga Yamaya, Mitsuyoshi Yoshimoto, Hiroki Matsumoto, Ming-Rong Zhang, Tsuji B Atsushi, Tatsuya Higashi. June 23-26, 2018. SNM Annual Meeting (Philadelphia, PA, USA).

[3] 口頭発表、ポスター発表. PET-guided surgery system with ^{64}Cu -PCTA-cetuximab for accurate resection of intraperitoneal tumors in a mice model. Yukie Yoshii, Hideaki Tashima, Yuma Iwao, Hiroyuki Takuwa, Eiji Yoshida, Hidekatsu Wakizaka, Taiga Yamaya, Mitsuyoshi Yoshimoto, Hiroki Matsumoto, Ming-Rong Zhang, Aya Sugyo, Atsushi B Tsuji, Tatsuya Higashi. 2018年5月31日~6月1日. 第13回日本分子イメージング学会. 東京

[4] Poster. Evaluation of a PET-guided surgery with ^{64}Cu -labeled cetuximab to resect tumors deeply located in the mouse peritoneal cavity. Yukie Yoshii, Hideaki Tashima, Yuma Iwao, Hiroyuki Takuwa, Eiji Yoshida, Hidekatsu Wakizaka, Taiga Yamaya, Mitsuyoshi Yoshimoto, Hiroki Matsumoto, Ming-Rong Zhang, Aya Sugyo, Tsuji B Atsushi, Tatsuya Higashi. April 20-24, 2018. 12th World Congress of the World Federation of Nuclear Medicine and Biology (Melbourne, Australia)

[5] 口頭発表. 腹膜播種に対する ^{64}Cu 標識セツキシマブを用いた腹腔内放射免疫療法の有用性の検討. 吉井 幸恵, 吉本 光喜, 松本 博樹, 張 明栄, 須堯 綾, 辻 厚至, 東達也. 2017年10月5日. 第57回日本核医学会学術総会.

[6] Oral presentation. Feasibility of a PET-guided surgery system with ^{64}Cu -PCTA-cetuximab for accurate resection of intraperitoneal tumors in a mice model of peritoneal seeding. Yukie Yoshii, Hideaki Tashima, Yuma Iwao, Hiroyuki Takuwa, Eiji Yoshida, Hidekatsu Wakizaka, Taiga Yamaya, Mitsuyoshi Yoshimoto, Hiroki Matsumoto, Ming-Rong Zhang, Aya Sugyo, Tsuji B Atsushi, Tatsuya Higashi. June 10 - June 14, 2017. SNM Annual Meeting (Denver, Colorado, USA)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕なし

6 . 研究組織

(1)研究分担者 なし

(2)研究協力者 なし