

令和 5 年 6 月 9 日現在

機関番号：82502

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2018～2022

課題番号：18H02774

研究課題名（和文）難治性固形癌予後改善に資する間質バリアを克服するための新規放射免疫療法戦略の開発

研究課題名（英文）Development of novel radioimmunotherapy strategies to overcome the interstitial barrier to improve the prognosis of refractory solid tumors

研究代表者

辻 厚至（Tsuji, Atsushi）

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・グループリーダー

研究者番号：60303559

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,200,000円

研究成果の概要（和文）：薬剤到達を阻む間質バリアを克服し、難治性固形癌に有効な新しい放射免疫療法戦略の確立を目的として研究を実施した。癌間質標的抗体の体内動態試験の結果、癌間質が豊富な固形癌モデルに高集積した。抗体をベータ線放出核種Y-90で標識し、治療効果を評価したところ、単独でも膵癌治療法として有望であることが示された。さらに、リリース型ADCを併用したところ、さらに高い治療効果があった。併用群では、特徴的な病理像を認めた。ADCに用いた抗癌剤の影響により分裂期で細胞周期が停止したためと考えられる。この効果で放射線増感効果があったことが想定される。我々の治療戦略は、難治性固形癌の治療に有望であることが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

間質でリリースされるADCを利用することで、ベータ線放出Y-90標識抗体の治療効果を高めることを示すことができた。我々の治療戦略は、難治性固形癌の治療に有望であることが示された。今後、臨床応用が期待される。

研究成果の概要（英文）：The purpose of this study was to overcome the interstitial barrier that prevents drug delivery and to establish a new radioimmunotherapy strategy that is effective against intractable solid tumors. Cancer stroma-targeting antibodies were highly accumulated in a solid tumor model with abundant cancer stroma. The antibody labeled with beta-emitting nuclide Y-90 showed a promising treatment for pancreatic cancer alone. Furthermore, when a release-type ADC was used in combination, an even higher therapeutic effect was obtained. A characteristic pathological image was observed in the combination group. It is considered that the cell cycle was arrested in the mitotic phase due to the influence of the anticancer drug used for ADC. It is assumed that this effect was responsible for the radiation sensitization effect. Our therapeutic strategy has shown promise for the treatment of refractory solid tumors.

研究分野：医学

キーワード：核医学

## 1. 研究開始当初の背景

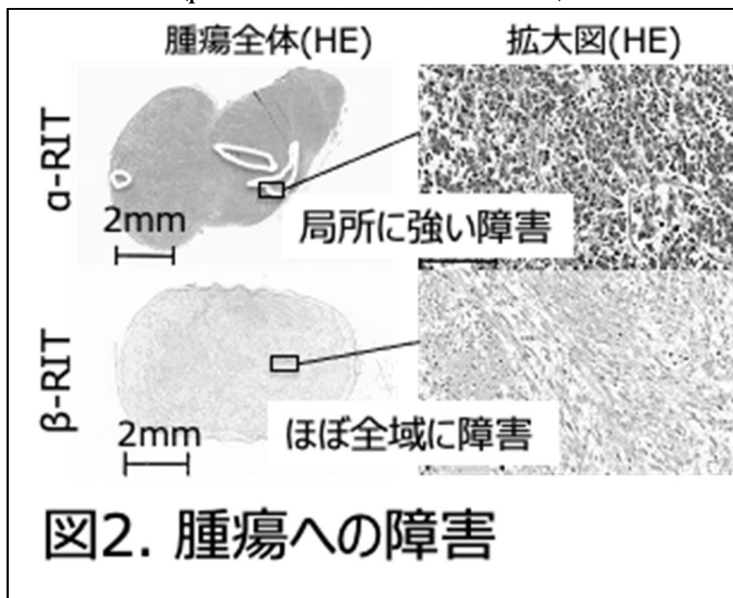
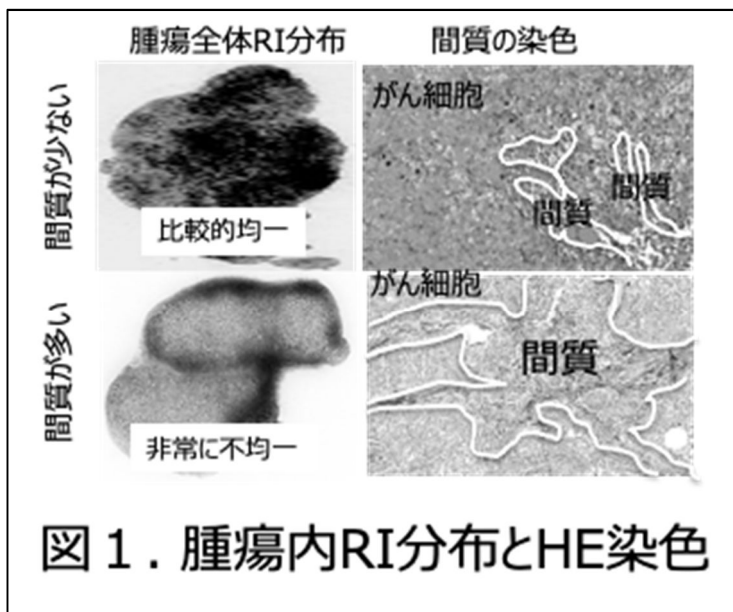
がん治療法の絶え間ない進歩により、癌は治る病気となりつつある。しかし、膵癌等の難治性固形癌の予後の改善は期待に答えられていない。難治性固形癌は、浸潤・転移が多く、外科手術や放射線治療だけでは根治が難しいため、全身治療の併用が欠かせない。しかしながら、難治性固形癌には、原発巣だけでなく、転移巣でさえ、間質が非常に豊富で、治療薬剤の到達を阻む間質バリアが存在する。これを克服する新しい治療法を開発できない限りは、難治性固形癌の根治は不可能である。

放射線による全身治療である標的 RI 治療は、甲状腺癌、神経内分泌腫瘍、前立腺癌等の治療に使用されている。化学療法と異なり、物理シミュレーションにより、治療効果と副作用の予測ができる。また、患者が自覚する副作用はなく、患者マネジメントが容易という利点がある。標的 RI 治療のひとつである放射免疫療法(Radioimmunotherapy, RIT)は、抗体の持つ高い特異性を利用することで、癌組織に多くの治療用 RI を運ぶことができる。日本でもリンパ腫に対する RIT 薬剤 Zevalin が承認されている。

RIT には治療用 RI を大量に運搬できる優れた特性があるが、未だ固形癌での承認はない。最も先行していた<sup>90</sup>Y 標識抗体+抗癌剤の転移性膵癌での phase3 試験では全生存期間の有意な延長が認められず承認に至らなかった(Immunomedics 社プレスリリース, 2016)。この主な原因は、血液癌と異なり、膵癌には間質が多いため、高分子の抗体では治療に十分な RI を癌組織全体に届けられていなかったからである。腫瘍モデルの直径が数 mm の腫瘍でさえ、間質が多いタイプでの RI の分布は、非常に不均一であり(図 1)、ヒトの難治性固形癌では、さらに分布に偏りがある。

線放出核種を利用した RIT ( $\alpha$ -RIT)で克服できるとされていたが、実際は、間質が少ない血液癌でさえ奏効率が高くないが報告されている(phase1 試験, Jurcic, ASH 2016)。腫瘍モデルで

も局所的に高い殺細胞効果は得られるものの(図 2)、直径 0.2-0.4mm 以下でなければ線放出核種による RIT ( $\beta$ -RIT)を超える効果は得られていないことが報告されている(Song, Cancer Res 2009)。それに加え、線の飛程の短さを考えれば、間質バリアが存在する固形癌では、単に核種を変えるだけでは、成功しないこと予想範囲内であり、我々のシミュレーションでも、そのことは示されていた。また、放射線増感効果のある抗癌剤との単なる併用も上述の phase3 試験のように臨床では成功していない。繰り返しになるが、豊富ながん間質が、薬剤の分布を阻害していることが大きな原因のひとつと考えられる。



## 2. 研究の目的

難治性固形癌が豊富な間質、つまり間質バリアを持つことを前提とした新しい治療戦略の確立が欠かせない。癌間質は難治性固形癌に共通した特徴であり、抗体のもつ高い薬剤運搬能力を生かすことができれば、多くの難治性固形癌の治療に使用できると考えられる。

本研究の目的は、難治性固形癌が豊富な間質を持つことを前提とした新しい RIT 治療戦略を確立することである。そのために、我々が開発した癌間質を標的とする抗体を標的とする抗体を利用する。安永等は、これら抗体に間質でリリースさせることができるリンカーを介して抗癌剤

を結合した ADC (Antibody-drug conjugate) である CAST (Cancer stromal targeting) 治療薬を開発し、高い治療効果を示した。さらに、質量顕微鏡イメージングにより、癌細胞領域への抗癌剤の到達量が増加していることも実証している (Yasunaga, Sci Rep 2013)。CAST 治療は高い治療効果を示すが、これまでの治療薬開発の歴史から、膀胱癌を始めとする難治性固形癌の克服のためには、さらに高い治療効果がある治療法開発が必須である。そこで、クロスファイア効果の高い線放出核種を利用する  $\beta$ -RIT を併用し、間質を越えて癌細胞に高いエネルギーを落とすことで治療効果を高める治療戦略を提案する (図 3)。我々は、癌間質を標的とする複数の抗体を放射性標識し、PET/SPECT イメージングに成功し腫瘍への高い集積を報告しており (Hisada, Sci Rep 2013; Takashima, Sci Rep 2017)、我々の予備的な線量シミュレーションから、併用効果が期待できると考えられる。

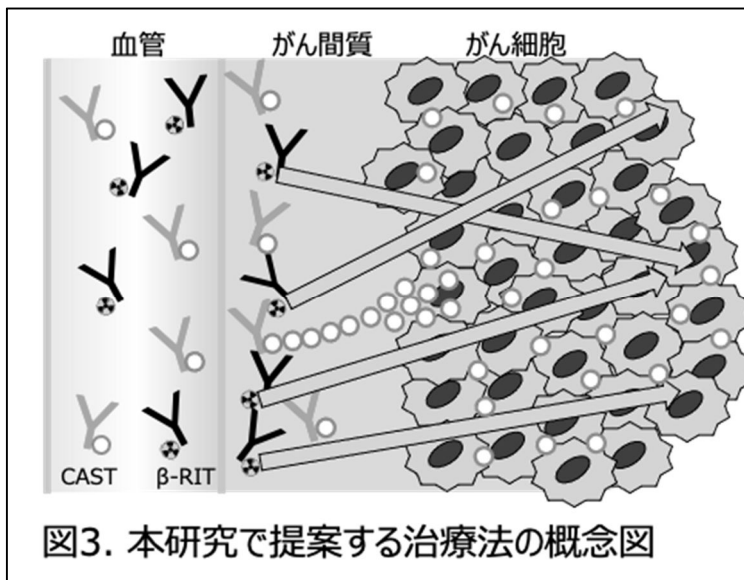


図3. 本研究で提案する治療法概念図

### 3. 研究の方法

癌間質を認識する抗体をガンマ線放出核種 In-111 で標識し、固形癌モデルマウスに投与し、体内分布を評価した。また、その結果から、線量評価を行った。ADC は、新しいリンカーを採用し、抗癌剤は、放射線増感効果が報告されているものを採用した。コントロール ADC として、同じ Fc を有する非特異的抗体を新たに開発して、同様に ADC 化した。治療実験として、ベータ線放出核種である Y-90 で抗体を標識した。Y-90 標識抗体と ADC (癌間質標的抗体、コントロール抗体) の併用、それぞれ単独投与、無処置群を設定し、腫瘍サイズを経時的に計測した。また、経時的にサンプリングし、病理解析を実施した。

### 4. 研究成果

In-111 標識抗体を投与し、5 種類の固形癌モデル腫瘍を形成させたマウスで経時的に体内分布を評価した。SPECT/CT イメージングおよび体内動態試験を実施した結果、癌間質が豊富な固形癌モデルに高集積することが明らかとなった。治療用放射性核種に変えて抗体を投与した場合、腫瘍に 40Gy を照射できると推定された。

治療実験は 6 群 (無処置、コントロール ADC 単独、癌間質標的 ADC 単独、Y-90 標識癌間質抗体単独、コントロール ADC+Y-90 標識癌間質抗体併用、癌間質標的 ADC+Y-90 標識癌間質抗体併用) を設定した。無処置群は、5 週間後に腫瘍サイズがエンドポイントを超えた。コントロール ADC 単独投与群は、無処置群に比べ腫瘍増殖が抑えられた ( $P < 0.01$ )。これは、腫瘍への非特異的集積の影響と考えられる。癌間質標的 ADC 単独投与群では、コントロール ADC 単独投与群よりも増殖速度が低下していたが、コントロール ADC 単独投与群との有意差はなかった。Y-90 標識癌間質抗体単独投与群では、さらに増殖抑制がかかったが、コントロール ADC 単独投与群や癌間質標的 ADC 単独投与群との有意差はなかった。3 種類の単独投与群はいずれも、無処置群とは有意差があった ( $P < 0.01$ )。コントロール ADC+Y-90 標識癌間質抗体併用群は、単独投与群よりもさらに腫瘍増殖速度が低下したが、有意差は、無処置群とコントロール ADC 単独投与群との間のみであった ( $P < 0.01$  vs. 無処置群、 $P < 0.05$  vs. コントロール ADC 単独投与群)。癌間質標的 ADC+Y-90 標識癌間質抗体併用群では、腫瘍増殖抑制だけでなく、5 匹中 2 匹で明らかな腫瘍縮小効果が観察された。うち 1 匹に関しては、投与後 7 週までに腫瘍が完全に消失した。有意差は、無処置群、コントロール ADC 単独、癌間質標的 ADC 単独との間に認められた (いずれも  $P < 0.01$ )。病理解析の結果、併用群では単独群に比べ、巨核細胞の増加、線維化の増加、細胞死の増加が観察された。分裂細胞の増加も見られたが、これは ADC に用いた抗癌剤の影響により分裂期で細胞周期が停止したためと考えられる。この効果で放射線増感効果があったことが想定される。細胞増殖マーカーである Ki-67 陽性細胞も増加していた。病理標本の定量解析を進め、併用効果のメカニズムの解明を進める。

我々の仮説通り、CAST-ADC を利用することで、ベータ線放出 Y-90 標識抗体の治療効果を高めることを示すことができた。今回単回投与だけでも完全寛解の個体が観察された。実臨床では、複数回投与が想定されるため、さらに高い治療効果が期待できる。我々の治療戦略は、難治性固形癌の治療に有望であることが示された。今後、臨床応用が期待される。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計14件（うち査読付論文 14件／うち国際共著 1件／うちオープンアクセス 11件）

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 <sup>225</sup> Ac 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 Takakusagi Yoichi, Sugyo Aya, Tsuji Atsushi B., Sudo Hitomi, Yasunaga Masahiro, Matsumura Yasuhiro, Sugawara Fumio, Sakaguchi Kengo, Higashi Tatsuya	4. 巻 15
2. 論文標題 The natural sulfoglycolipid derivative SQAP improves the therapeutic efficacy of tissue factor-targeted radioimmunotherapy in the stroma-rich pancreatic cancer model BxPC-3	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Translational Oncology	6. 最初と最後の頁 101285 ~ 101285
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.tranon.2021.101285	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, 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 Aung Winn, Tsuji Atsushi B., Sugyo Aya, Fujinaga Masayuki, Zhang Ming-Rong, Higashi Tatsuya	4. 巻 22
2. 論文標題 Quantitative Radionuclide Imaging Analysis of Enhanced Drug Delivery Induced by Photoimmunotherapy	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 8316 ~ 8316
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms22158316	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 Obata Honoka, Tsuji Atsushi B., Sudo Hitomi, Sugyo Aya, Minegishi Katsuyuki, Nagatsu Kotaro, Ogawa Mikako, Zhang Ming-Rong	4. 巻 22
2. 論文標題 In Vitro Evaluation of No-Carrier-Added Radiolabeled Cisplatin ([ <sup>189</sup> , <sup>191</sup> Pt]cisplatin) Emitting Auger Electrons	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 4622 ~ 4622
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms22094622	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 Fujiwara Kentaro, Akiba Hiroki, Tsuji Atsushi B., Sudo Hitomi, Sugyo Aya, Nagatsu Kotaro, Zhang Ming-Rong, Iwanari Hiroko, Kusano-Arai Osamu, Kudo Shota, Kikuchi Chika, Tsumoto Kouhei, Momose Toshimitsu, Hamakubo Takao, Higashi Tatsuya	4. 巻 41
2. 論文標題 64Cu-labeled minibody D2101 visualizes CDH17-positive gastric cancer xenografts with short waiting time	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nuclear Medicine Communications	6. 最初と最後の頁 688-695
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/MNM.0000000000001203	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 -

1. 著者名 Sudo Hitomi, Tsuji Atsushi B., Sugyo Aya, Kurosawa Gene, Kurosawa Yoshikazu, Alexander David, Tsuda Hiroyuki, Saga Tsuneko, Higashi Tatsuya	4. 巻 21
2. 論文標題 Radiolabeled Human Monoclonal Antibody 067-213 has the Potential for Noninvasive Quantification of CD73 Expression	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 2304 ~ 2304
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms21072304	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 Sugyo Aya, Tsuji Atsushi B., Sudo Hitomi, Takano Kanako, Kusakabe Moriaki, Higashi Tatsuya	4. 巻 12
2. 論文標題 Proof of Concept Study for Increasing Tenascin-C-Targeted Drug Delivery to Tumors Previously Subjected to Therapy: X-Irradiation Increases Tumor Uptake	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancers	6. 最初と最後の頁 3652 ~ 3652
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cancers12123652	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 Fujiwara Kentaro, Koyama Keitaro, Tsuji Atsushi B., Iwanari Hiroko, Kusano-Arai Osamu, Higashi Tatsuya, Momose Toshimitsu, Hamakubo Takao	4. 巻 21
2. 論文標題 Single-Dose Cisplatin Pre-Treatment Enhances Efficacy of ROBO1-Targeted Radioimmunotherapy	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 7728 ~ 7728
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms21207728	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 Jin Zhao-Hui, Tsuji Atsushi B., Degardin M?lissa, Sugyo Aya, Obara Satoshi, Wakizaka Hidekatsu, Nagatsu Kotaro, Hu Kuan, Zhang Ming-Rong, Dumy Pascal, Boturyn Didier, Higashi Tatsuya	4. 巻 26
2. 論文標題 Radiotheranostic Agent 64Cu-cyclam-RAFT-c(-RGDfK-)4 for Management of Peritoneal Metastasis in Ovarian Cancer	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Clinical Cancer Research	6. 最初と最後の頁 6230 ~ 6241
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1158/1078-0432.CCR-20-1205	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 該当する

1. 著者名 Sugyo Aya, Aung Winn, Tsuji Atsushi, Sudo Hitomi, Takashima Hiroki, Yasunaga Masahiro, Matsumura Yasuhiro, Saga Tsuneo, Higashi Tatsuya	4. 巻 41
2. 論文標題 Anti?tissue factor antibody?mediated immuno?SPECT imaging of tissue factor expression in mouse models of pancreatic cancer	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Oncology Reports	6. 最初と最後の頁 2371-2378
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/or.2019.7017	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 -

1. 著者名 Aung Winn, Tsuji Atsushi B, Sugyo Aya, Takashima Hiroki, Yasunaga Masahiro, Matsumura Yasuhiro, Higashi Tatsuya	4. 巻 24
2. 論文標題 Near-infrared photoimmunotherapy of pancreatic cancer using an indocyanine green-labeled anti-tissue factor antibody	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 World Journal of Gastroenterology	6. 最初と最後の頁 5491 ~ 5504
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3748/wjg.v24.i48.5491	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, Sugyo Aya, Okada Maki, Kato Koichi, Zhang Ming?Rong, Saga Tsuneo, Higashi Tatsuya	4. 巻 53
2. 論文標題 Direct comparison of 2?amino[3?11C]isobutyric acid and 2?amino[11C]methyl?isobutyric acid uptake in eight lung cancer xenograft models	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 International Journal of Oncology	6. 最初と最後の頁 2737-2744
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/ijo.2018.4596	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 -

1. 著者名 Sugyo Aya, Tsuji Atsushi, Sudo Hitomi, Koizumi Mitsuru, Ukai Yoshinori, Kurosawa Gene, Kurosawa Yoshikazu, Saga Tsuneo, Higashi Tatsuya	4. 巻 19
2. 論文標題 Efficacy Evaluation of Combination Treatment Using Gemcitabine and Radioimmunotherapy with 90Y-Labeled Fully Human Anti-CD147 Monoclonal Antibody 059-053 in a BxPC-3 Xenograft Mouse Model of Refractory Pancreatic Cancer	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 2979 ~ 2979
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms19102979	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 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計1件

1. 著者名 Tsuji, A., Saga, T.	4. 発行年 2019年
2. 出版社 Springer	5. 総ページ数 325
3. 書名 Cancer Drug Delivery Systems Based on the Tumor Microenvironment	

〔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	眞鍋 史乃 (Manabe Shino)  (60300901)	星薬科大学・薬学部・教授  (32676)	

6. 研究組織（つづき）

	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	安永 正浩  (Yasunaga Masahiro)  (80450576)	国立研究開発法人国立がん研究センター・先端医療開発センター・分野長     (82606)	

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