

令和 3 年 6 月 13 日現在

機関番号：82606
研究種目：基盤研究(C)（一般）
研究期間：2018～2020
課題番号：18K07698
研究課題名（和文）アルファ核種標識RGDを用いた難治性膵癌に対するペプチド受容体放射性核種療法

研究課題名（英文）Peptide receptor radionuclide therapy using alpha nuclide labeled RGD for pancreatic cancer

研究代表者
吉本 光喜（Yoshimoto, Mitsuyoshi）

国立研究開発法人国立がん研究センター・研究所・主任研究員

研究者番号：00345638
交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：本研究課題では、 ^{225}Ac -DOTA-RGD2を用いた $\alpha_v\beta_3$ インテグリン発現膵がんに対する核医学治療の有用性について検討を行った。 ^{111}In -DOTA-RGD2を用いて、薬物動態実験を行い、腫瘍及び腎臓への高集積を確認した。担癌マウスを用いて治療実験を行った結果、 ^{225}Ac -DOTA-RGD2は顕著に腫瘍増殖を抑制したが、一部で肝毒性が認められた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

膵臓がんは有効な治療方法が確立していない代表的な難治がんであり、その治療方法の開発が熱望されている。本研究では、高い細胞障害性を有するアルファ線核種（ ^{225}Ac ）に着目し、RGDペプチドをキャリアーとして利用したペプチド受容体放射性核種療法について検討した。ある程度の血液毒性などは観察されたものの、 ^{225}Ac -DOTA-RGD2は非常に強い増殖抑制効果を示した。本研究成果は、難治がんに対する新しい治療法開発の一助になり、社会的意義の高いものとする。

研究成果の概要（英文）：In this research project, we investigated the usefulness of radionuclide therapy using ^{225}Ac -DOTA-RGD2 for pancreatic cancers with $\alpha_v\beta_3$ integrin. A biodistribution study of ^{111}In -DOTA-RGD2 revealed high uptake in tumors and kidneys. In a therapeutic experiment, ^{225}Ac -DOTA-RGD2 significantly inhibited tumor growth. However, liver toxicity was found partly.

研究分野：核医学

キーワード：核医学治療 アクチニウム RGDペプチド インテグリン 膵癌

1. 研究開始当初の背景

膵臓がんは早期発見が非常に困難で、有効な治療方法が確立していない難治がんである。部位別のがん罹患率では膵臓がんは低いものの、5年相対生存率は9.6%と顕著に低い(がん情報サービス がん登録・統計)。膵臓がんは自覚症状に乏しいため早期発見が非常に困難で、見つかった時点で病期が進行しており、外科的治療につながらない症例が多い。また、外科的切除を行った症例においても5年生存率は未だに低く、局所再発が高確率で起こることが要因とされている。術後の残存腫瘍の根絶は局所再発や微小転移を抑制し、予後の改善につながる。

切除不能の症例に対しては化学療法や化学放射線療法がおこなわれているが、膵臓がんは間質が豊富で、血流が非常に乏しい低酸素腫瘍である。そのため、十分な薬剤量が腫瘍組織に到達せず、治療効果が得られないと考えられている。また、一般的に低酸素腫瘍は放射線や抗がん剤に対して抵抗性であることがよく知られている。

近年、 ^{211}At (211 アスタチン) や ^{225}Ac (225 アクチニウム) などのアルファ線核種を利用した RI 内用療法が注目され、基礎及び臨床研究が進められている。アルファ線の最大の特徴は、高い線エネルギー付与 (Linear Energy Transfer; LET) と非常に短い飛程 (100 μm 以下) である。アルファ線は DNA を直接電離・励起することにより、致命的な細胞障害を与える。従来の放射線治療 (X 線やベータ線) とは異なり、その細胞障害性は酸素濃度に依存しないため、膵臓がんのような低酸素腫瘍には有効であると考えた。我々は、アルファ線核種の中でも ^{225}Ac に着目した。 ^{225}Ac はその壊変途中でアルファ壊変を 4 回、ベータ壊変を 2 回行うことにより、27.5MeV のエネルギーを放出する (図 1)。また、半減期が約 10 日と長く、治療用核種として有用な特徴を有している。

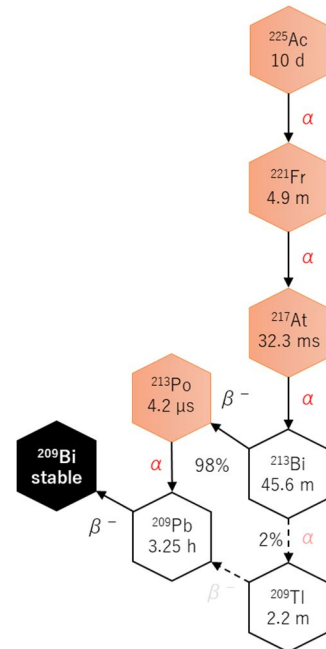


図 1. ^{225}Ac の壊変系列

2. 研究の目的

ヒト膵臓がんにおいて、 ν_3 インテグリンが高発現していることが報告されている。これまで我々は、 $^{90}\text{Y}/^{111}\text{In}$ -DOTA-c(RGDfK)が ν_3 インテグリン発現腫瘍に高集積を示し、診断や治療に有用な放射性薬剤であることを示してきた。本研究では、アルファ線核種の中でもキレート剤 (DOTA) への標識が可能な ^{225}Ac を治療用核種として選択した。また、腫瘍への集積性と滞留性を確保し、高い治療効果を得るために、RGD ペプチドの 2 量体である DOTA-E[c(RGDfK)]₂ を用いて、その治療効果や副作用などについて検討を行った。

3. 研究の方法

(1) $^{111}\text{In}/^{225}\text{Ac}$ -DOTA-E[c(RGDfK)]₂ の合成

塩化インジウム溶液 ($^{111}\text{InCl}_3$) に 3M 酢酸アンモニウム (pH6.0) を加え、室温で 5 分間攪拌した。 ^{111}In 溶液を DOTA-E[c(RGDfK)]₂ に加えた後、95 °C で 15 分間反応させた。当初 ^{225}Ac の標識方法の検討では、東北大学金属材料研究所アルファ放射体実験室が所有する ^{233}U から壊変生成したものを精製して用いた。また、治療実験においては、National Isotope Development Center から購入し、0.2N 塩酸溶液を加えた ^{225}Ac 溶液を実験に使用した。 ^{225}Ac の DOTA-E[c(RGDfK)]₂ への標識は、 ^{111}In 標識と同様の方法で行った。 ^{225}Ac 塩酸溶液に 3M 酢酸アンモニウム (pH6.0) を加え、室温で 5 分間攪拌した。 ^{225}Ac 溶液を DOTA-E[c(RGDfK)]₂ に加えた後、95 °C で 30 分間インキュベートした。標識率は薄層クロマトグラフィー (TLC) により確認し、さらに、精製は高速液体クロマトグラフィー (HPLC) により行った。

(2) 膵臓がん細胞株における ALDH の測定

膵臓がんのがん幹細胞マーカーの一つとして報告されているアルデヒドデヒドロゲナーゼ (ALDH) を指標にして、発現測定を行った。ヒト膵臓がん細胞株 (AsPC-1、BxPC-3、Capan-1、PANC-1、PSN-1) における ALDH 活性は、Aldefluor 測定キットを用いたフローサイトメーター解析により測定した。

(3) ^{111}In -DOTA-E[c(RGDfK)]₂ の体内分布実験

本実験では、 ^{225}Ac に代わり、ガンマカウンターでの測定が容易で、アイソトープ協会からの購入が可能な ^{111}In を用いて検討を行った。 ^{111}In -DOTA-E[c(RGDfK)]₂ をマウス尾静脈より投与し、経時的 (1、4、24 時間後) に屠殺し、腫瘍を含む各組織を採取した。組織重量を測定後、ガンマカウンターにて放射能を測定し、組織重量集積率及び腫瘍正常組織比を算出した。

(4) 担癌マウスを用いた治療評価及び副作用評価

^{225}Ac -DOTA-E[c(RGDfK)]₂をマウス尾静脈より投与し、一定期間ごとに腫瘍サイズを計測した。また、血液毒性を評価するために、尾静脈より採血を行い、白血球数、赤血球数、ヘモグロビン、血小板数の測定を全自動血球計測機により測定した。さらに、実験終了後に採血を行い、遠心分離により血清を採取した。生化学分析装置によりALT、AST、クレアチニン、BUNを測定し、肝毒性及び腎毒性を評価した。

4. 研究成果

(1) $^{111}\text{In}/^{225}\text{Ac}$ -DOTA-E[c(RGDfK)]₂の合成

本研究では、金属核種に対するキレート剤として汎用されている1,4,7,10-Tetraazacyclododecane-1,4,7,10-tetraacetic acid (DOTA)を用いて、RGDペプチドへの ^{111}In 及び ^{225}Ac 標識を行った。HPLCによる精製を行った結果、99%以上の標識率で ^{111}In -DOTA-E[c(RGDfK)]₂及び ^{225}Ac -DOTA-E[c(RGDfK)]₂の合成に成功した。また、標識前駆体であるDOTA-E[c(RGDfK)]₂を分離することにより、比放射能の高い ^{111}In -DOTA-E[c(RGDfK)]₂及び ^{225}Ac -DOTA-E[c(RGDfK)]₂を得ることができた。

(2) 膵臓がん細胞株におけるALDHの測定

ヒト膵臓癌細胞株 (AsPC-1、BxPC-3、Capan-1、PANC-1、PSN-1) において、がん幹細胞マーカーの一つであるALDHの発現を測定した。BxPC-3やCapan-1でALDHの高発現が確認された。

(3) ^{111}In -DOTA-E[c(RGDfK)]₂の体内分布実験

腫瘍組織への ^{111}In -DOTA-E[c(RGDfK)]₂の集積は投与1時間後に7% ID/gと高集積を示し、投与24時間後においても4.5% ID/gと高集積を維持していた(図2)。血液クリアランスは非常に早く、投与1時間後で0.24% ID/gと非常に低地を示した。正常組織の中で腎臓への集積が最も高く、投与1時間後で6.1% ID/gと高集積を示し、投与24時間後においても3.4% ID/gであった。このことから、 $^{111}\text{In}/^{225}\text{Ac}$ -DOTA-E[c(RGDfK)]₂は腎排泄されることが明らかになった。

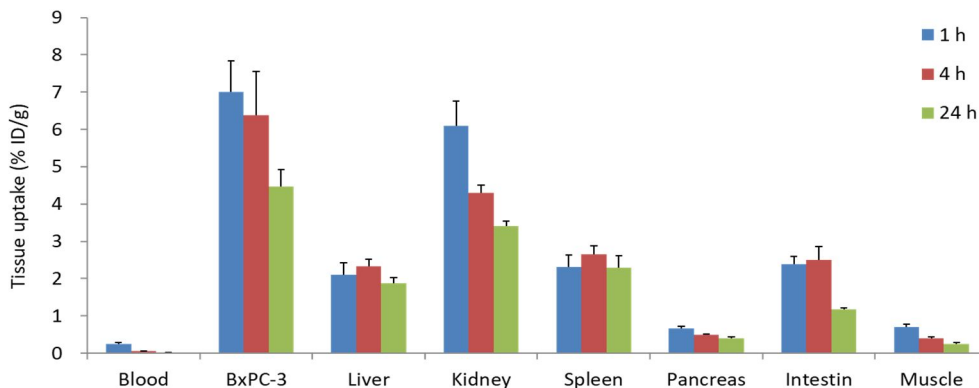


図2. BxPC-3 担癌マウスにおける ^{111}In -DOTA-E[c(RGDfK)]₂の組織集積率

(4) 担癌マウスを用いた治療評価及び副作用評価

BaPC-3 担癌マウス

に ^{225}Ac -DOTA-

E[c(RGDfK)]₂を投与

した後の腫瘍サイズ

変化と体重変化を観

察した結果を図3に

示す。 ^{225}Ac -DOTA-

E[c(RGDfK)]₂は全投

与群において、腫瘍

増殖抑制効果を示し

た。特に、65kBq投

与群では腫瘍サイズ

が著しく抑制され

た。しかしなが

ら、65kBq投与群で

は、投与約40日後

から体重減少が観

察された。

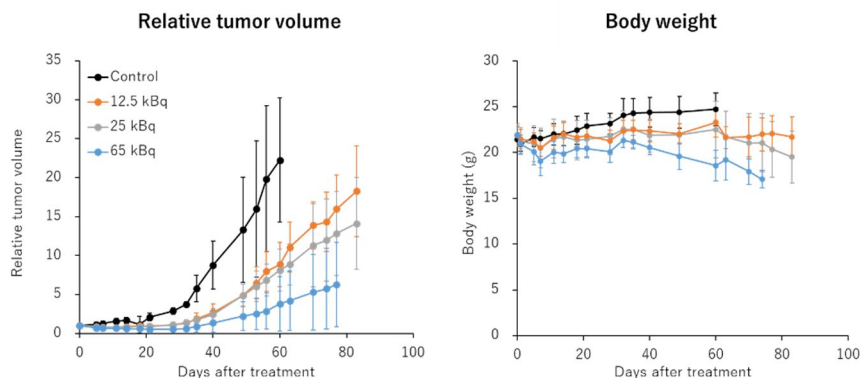


図3. BxPC-3 担癌マウスにおける ^{225}Ac -DOTA-E[c(RGDfK)]₂の腫瘍縮小効果と体重変化

$^{225}\text{Ac-DOTA-E}[\text{c(RGDfK)}]_2$ による治療経過中の血液毒性を経日的に評価した結果を図5に示す。 $^{225}\text{Ac-DOTA-E}[\text{c(RGDfK)}]_2$ は、白血球数はヘモグロビン数に影響を与えなかったが、白血球数やヘモグロビン数の減少が認められた。12.5kBq及び25kBq投与群では徐々に回復する傾向が観察されたが、65kBq投与群では回復する兆候は認められなかった。

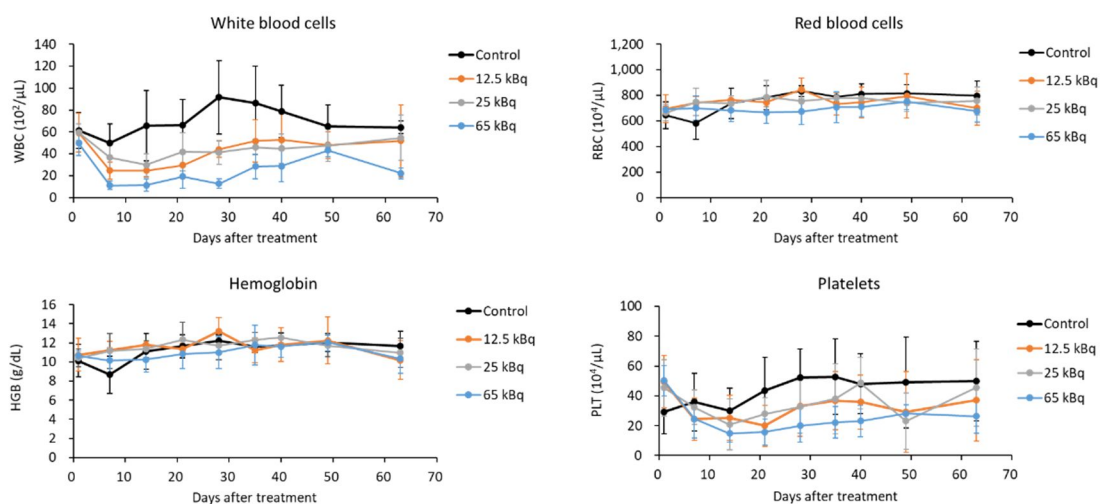


図 4. $^{225}\text{Ac-DOTA-E}[\text{c(RGDfK)}]_2$ による血液毒性評価

実験終了後に血清を採取し、ALT、AST、BUN、クレアチンを測定した結果を図5に示す。肝障害の指標であるALT及びASTは投与量依存的に上昇し、 $^{225}\text{Ac-DOTA-E}[\text{c(RGDfK)}]_2$ による肝障害が確認された。一方、BUNやクレアチンの増加は確認されず、明らかな腎障害は認められなかった。

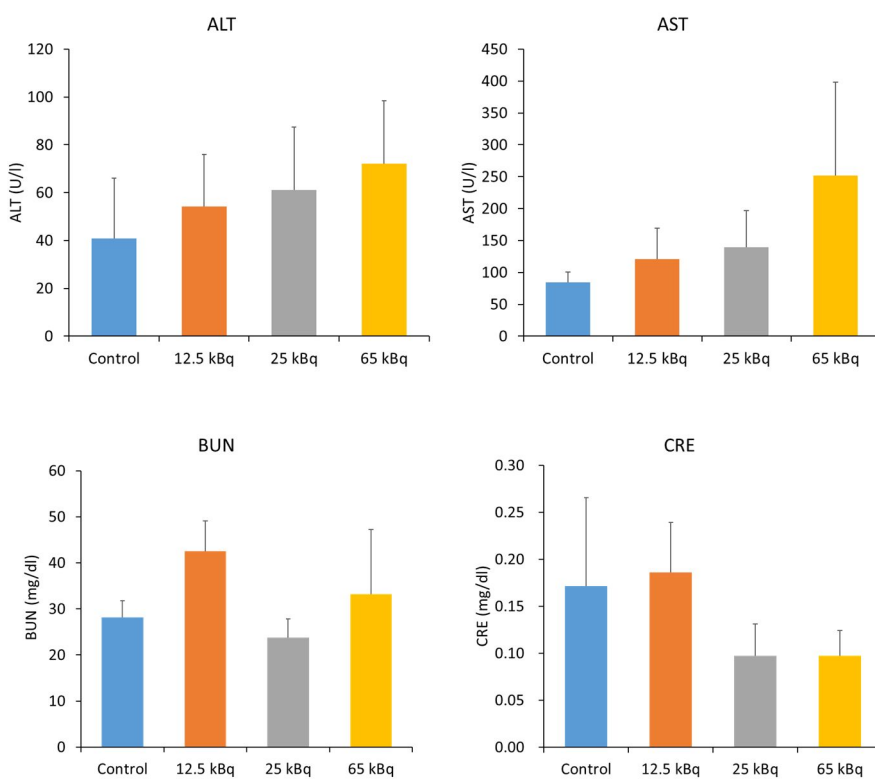


図 5. $^{225}\text{Ac-DOTA-E}[\text{c(RGDfK)}]_2$ による肝障害及び腎障害の評価

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Ohnuki Kazunobu, Yoshimoto Mitsuyoshi, Fujii Hirofumi	4. 巻 48
2. 論文標題 Radiological protection and biological COVID-19 protection in the nuclear medicine department	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging	6. 最初と最後の頁 6~8
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00259-020-05062-9	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2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 高田晃司, 吉本光喜, 大貫和信, 和田俊一, 藤井博史
2. 発表標題 神経膠芽腫の新規radiotheranosticプローブの開発
3. 学会等名 第59回日本核医学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 吉本光喜, 高田晃司, 和田俊一, 大貫和信, 藤井博史
2. 発表標題 膜透過性ペプチドMAP(Aib)が ¹¹¹ In-DOTA-c(RGDfK)の動態に及ぼす影響
3. 学会等名 日本薬学会第140年会
4. 発表年 2020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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------