

令和 2 年 9 月 8 日現在

機関番号：82502

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K15335

研究課題名（和文）放射免疫療法後の腫瘍微小環境の形成阻害による治療効果への影響

研究課題名（英文）Combination therapy of radioimmunotherapy and antifibrotic drug

研究代表者

藤原 健太郎（Fujiwara, Kentaro）

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・博士
研究員（任常）

研究者番号：80766907

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）：小細胞肺癌モデルマウスを用いて、放射免疫療法（RIT）と抗線維化薬による併用治療実験を行った。その結果、併用治療群はRIT単独群と比べて腫瘍の再増殖が遅延する傾向が見られた。胃癌モデルマウスを用いて、転移がんの高精度な診断を目的とした抗体イメージングプローブの開発を行った。胃癌で高発現しているタンパク質CDH17を標的とした抗体プローブを用いたSPECTイメージング、PETイメージングを実施した。その結果、胃癌移植腫瘍をクリアに描出できることを確認した。これらの成果は2編の論文として発表した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

がん細胞を効率よく殺す治療法の組み合わせを検討するため、放射免疫療法と線維化阻害剤の併用治療の効果を評価した。併用による効果は限定的であったが、プロトコルの最適化により有効な治療法となり得る。がんの転移を高い精度で診断することは、治療方針を決める上で極めて重要である。抗体イメージングは高精度な診断を実現できる手法の一つである。本研究で開発した2種類のプローブIn-111標識抗CDH17IgGとCu-64標識抗CDH17ミニボディは、胃癌のリンパ節転移を高精度に検出し、最適な治療方針を決定するための有用な診断薬となる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：Combination therapy of radioimmunotherapy (RIT) and antifibrotic agent for small cell lung cancer xenograft mice was performed in this study. The combination therapy group showed a higher therapeutic effect than RIT alone group.

Immuno-imaging study for gastric cancer xenograft mice was performed. We developed two CDH17-targeted immuno-imaging agents. These agents showed high accumulation of CDH17-positive xenografts and visualized the tumors in vivo study. These results were reported as two original journal articles.

研究分野：核医学

キーワード：放射免疫療法 線維芽細胞 抗体イメージング

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

本研究では、(1) 小細胞肺癌に対する放射免疫療法 (RIT) の治療効果を増強するための研究と、(2) 胃癌に対する抗体イメージングの開発を行った。

(1) RIT の治療効果増強に関する研究

RIT は、がん細胞表面に高発現している抗原に結合する抗体を放射性同位元素 (RI) で標識し、その薬剤を投与することでがん細胞に集積させ、標識した RI で直接がん細胞に放射線を照射する治療法である。一般的な放射線治療として挙げられる外部照射はがんの局在、すなわち照射部位が明らかである必要がある。一方、RIT は血流に乗せて全身に薬剤を運ぶため、診断で発見できない小さながんに対しても治療を行うことができ、外部照射では治療ができない進行がん患者にも効果が期待できる。

筆者はこれまでの研究で、小細胞肺癌で高発現している膜タンパク質 ROBO1 に対する RIT 薬剤 Y-90 標識抗 ROBO1 抗体を開発した。小細胞肺癌モデルマウスを用いた実験で、本抗体は小細胞肺癌移植腫瘍に対し、腫瘍の縮小等の良好な治療効果を発揮することを確認した。しかし、本抗体単独では投与量を増やしても根治には至らなかった。そのため、RIT と他の治療法との併用の必要性を考えた。

(2) 胃癌に対する抗体イメージングの開発

がん治療において、転移の有無は治療方針に大きく影響する。胃癌においても、リンパ節転移のある患者は術前化学療法が推奨されるなど、転移の有無は治療方針を決定する上で重要な要素となっている。現状、胃癌のリンパ節転移の診断は CT や MRI によって行われているが、感度・陰性的中率は 60~70% 程度であり、十分ではない。転移を今以上に高精度に検出できる診断手法が開発されれば、患者ごとにより適切な必要な治療を行うことが可能となる。そのための手法として、筆者は抗体を用いた SPECT/PET イメージングに注目した。抗体は細胞表面に発現している標的抗原を特異的に認識し結合するため、抗原を発現しているがんの特異的に集積する。その抗体にイメージング用の核種を標識することで、腫瘍をクリアに描出することができる。本研究では、胃癌で高率に発現している膜タンパク質カドヘリン 17 (CDH17) を標的とした SPECT/PET イメージング薬剤の開発を行った。

2. 研究の目的

(1) RIT の治療効果増強に関する研究

RIT を行った後の腫瘍には、壊死した細胞を貪食し掃除するための創傷治癒に関連する細胞が集積する。その一つとして挙げられるのが線維芽細胞である。筆者はこの線維芽細胞が腫瘍の治療抵抗性に関与している可能性に注目した。そのため、小細胞肺癌モデルマウスに対し、Y-90 標識抗 ROBO1 抗体による RIT と線維芽細胞の働きを阻害する線維化阻害剤との併用治療実験を実施した。

(2) 胃癌に対する抗体イメージングの開発

CDH17 は胃腺がんの約 60% で高発現している膜タンパク質である。そのため、CDH17 は胃癌を高精度に検出するためのイメージング標的として有望であると考えた。筆者は抗 CDH17 抗体を SPECT 用核種である In-111 で標識した In-111 標識抗 CDH17 IgG を開発し、胃癌モデルマウスによる体内動態解析と SPCT イメージング実験を実施した。

一般的に、抗体イメージングで診断を行うためには、血中を循環するイメージング剤が体外に排泄され、バックグラウンドが十分に低い状態で撮像を行う必要がある。IgG は分子量が大きいために血中からの排泄が遅く、およそ 1 週間の waiting time を必要とする。これは筆者が開発した In-111 標識抗 CDH17 IgG も同様である。そこで、In-111 標識抗 CDH17 IgG の血中クリアランスの改善を目指し、投与後速やかに体外に排泄される人工小分子化抗体「抗 CDH17 ミニボディ」を開発した。ミニボディは排泄速度が IgG と比べて早いため、投与後 1~2 日程度で撮像できる可能性がある。抗 CDH17 ミニボディを PET イメージング薬として運用するため、PET 用核種 Cu-64 で標識した Cu-64 標識抗 CDH17 ミニボディを作製した。本ミニボディの性能評価として、胃癌モデルマウスによる体内動態解析と PET イメージング実験を実施した。

3. 研究の方法

(1) RIT の治療効果増強に関する研究

小細胞肺癌モデルマウスに Y-90 標識抗 ROBO1 抗体を投与し、同日から 28 日目まで線維化阻害剤の継続投与を行い、腫瘍体積と体重を定期的に測定し、生存期間への影響を評価した。生理食塩水を投与した生食群、線維化阻害剤のみを投与した線維化阻害剤単独群、RIT のみを行った RIT 単独群、RIT と線維化阻害剤を投与した併用治療群の 4 群で評価を行った。

(2) 胃癌に対する抗体イメージングの開発

胃がんのリンパ節転移において CDH17 が発現しており、イメージング標的となり得ることを確認するため、胃がんマイクロアレイ切片を用いた CDH17 免疫染色を行い、原発巣とそれにマッチするリンパ節転移における CDH17 の陽性率を評価した。

抗 CDH17 IgG を SPECT 核種 In-111 で標識し、胃がんモデルマウスに投与して胃がん移植腫瘍および臓器への集積性を評価した。また、SPECT イメージング実験を行い、イメージング薬剤としての性能を評価した。

抗 CDH17 IgG を人工的に改変し、小分子化させた抗 CDH17 ミニボディを開発し、PET 核種 Cu-64 で標識した。Cu-64 標識抗 CDH17 ミニボディを胃がんモデルマウスに投与して胃がん移植腫瘍および臓器への集積性を評価した。また、PET イメージング実験を行い、イメージング薬剤としての性能を評価した。

4. 研究成果

(1) RIT の治療効果増強に関する研究

小細胞肺癌に対する RIT と線維化阻害剤の併用治療実験を実施した。線維化阻害剤単独群では腫瘍への治療効果は認められず、生食群と比較して生存期間の延長効果は認められなかった。RIT 単独群と併用治療群はいずれも生食群と比較して生存期間が有意に遷延した。RIT 単独群と比較して、併用治療群では縮小した腫瘍の再増殖までの期間が遅延するなど、治療効果が増強している傾向は見られたが、観察終了時点で両群間に生存期間の有意差は認められなかった。RIT 単独群、併用治療群で一過性の体重減少を認めたが、人道的エンドポイントを超過することはなく、両群間で体重減少に有意差は認められなかった。

(2) 胃がんに対する抗体イメージングの開発

胃がんマイクロアレイ切片を用いて、CDH17 の免疫染色を行った。胃がん原発巣と、それに対応するリンパ節転移サンプルの染色を行い、陽性率はいずれも約 60% だった。そして、原発巣で陽性のサンプルは、対応するリンパ節転移でも高い確率で陽性であることを確認した。これは、内視鏡検査等で採取した原発巣のサンプルが CDH17 陽性であった場合、そのリンパ節転移も CDH17 陽性であり、下記の CDH17 標的抗体イメージングで検出できる可能性があることを示唆している。先行研究で胃がんのイメージング標的分子として報告されている HER2 の陽性率は約 30% である。CDH17 のイメージングと組み合わせることで、より広範囲の患者をカバーでき、正確な診断を行えるようになることが期待できる。

In-111 標識抗 CDH17 IgG の胃がん移植モデルマウスにおける体内動態解析を行った。In-111 標識抗 CDH17 抗体の移植腫瘍への集積率は CDH17 陽性腫瘍、陰性腫瘍でそれぞれ 39.2% ID/g、4.8% ID/g であり、本抗体が CDH17 陽性腫瘍への特異的集積性を有することを確認した。正常臓器への非特異的集積は認められなかった。SPECT イメージング実験により、CDH17 陽性腫瘍がクリアに描出され、非特異的な集積は認められなかった。以上のことから、本抗体が CDH17 陽性胃がんのイメージング診断に有用である可能性が示唆された。本研究は *Annals of Nuclear Medicine* (2019 年) に原著論文として発表した。

In-111 標識抗 CDH17 IgG の課題であった血中半減期 (26 時間) の改善を目指し、人工小分子化抗体である抗 CDH17 ミニボディを開発し、それを基にした PET 用薬剤 Cu-64 標識抗 CDH17 ミニボディの体内動態解析を行った。その結果、Cu-64 標識抗 CDH17 ミニボディの血中半減期は 6.5 時間と、In-111 標識抗 CDH17 IgG の 26 時間と比べて大幅な改善を得た。腫瘍集積は投与後 24 時間時点で CDH17 陽性腫瘍、陰性腫瘍でそれぞれ 16.4% ID/g、1.5% ID/g であり、本ミニボディの CDH17 陽性腫瘍への特異的集積性を明らかにした。また、PET イメージング実験を実施し、本ミニボディが CDH17 移植腫瘍を明瞭に描出することを確認した。

本研究により、Cu-64 標識抗 CDH17 ミニボディによるイメージングであれば、投与後 1~2 日程度での迅速な診断を実現できる可能性が示唆された。本研究成果は *Nuclear Medicine Communications* (2020 年) に原著論文として発表した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2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 Kentaro Fujiwara, Atsushi B. Tsuji, Hitomi Sudo, Aya Sugyo, Hiroki Akiba, Hiroko Iwanari, Osamu Kusano-Arai, Kouhei Tsumoto, Toshimitsu Momose, Takao Hamakubo, Tatsuya Higashi	4. 巻 34
2. 論文標題 111In-labeled anti-cadherin17 antibody D2101 has potential as a noninvasive imaging probe for diagnosing gastric cancer and lymph-node metastasis.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Annals of Nuclear Medicine	6. 最初と最後の頁 13-23
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s12149-019-01408-y.	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 Kentaro Fujiwara, Hiroki Akiba, Atsushi B. Tsuji, Hitomi Sudo, Aya Sugyo, Kotaro Nagatsu, Ming-Rong Zhang, Hiroko Iwanari, Osamu Kusano-Arai, Shota Kudo, Chika Kikuchi, Kouhei Tsumoto, Toshimitsu Momose, Takao Hamakubo, Tatsuya Higashi	4. 巻 -
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 -
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 オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 藤原健太郎
2. 発表標題 小細胞肺癌に対する放射免疫療法と治療後の病理学的変化
3. 学会等名 第27回日本癌病態治療研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 藤原健太郎
2. 発表標題 胃がんに対する64Cu標識抗CDH17ミニボディのPETイメージング
3. 学会等名 第14回小動物インビボイメージング研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 藤原健太郎
2. 発表標題 胃がんに対する64Cu標識抗CDH17ミニボディのPETイメージング
3. 学会等名 第58回日本核医学会学術総会
4. 発表年 2018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
--	---------------------------	-----------------------	----