

令和 4 年 6 月 16 日現在

機関番号：12301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K08221

研究課題名(和文) 臨床応用を目指したトリプルネガティブ乳癌に対する分子標的RI内用療法の開発

研究課題名(英文) Development of an targeted radionuclide therapy of triple-negative breast cancer for clinical application

研究代表者

勝又 奈津美 (Katsumata, Natsumi)

群馬大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：50588811

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：RI標識抗体を用いたがん治療において副作用の原因となる、薬剤の血中滞留性の低減を目的として、ガラクトース結合アルブミン(GSA)を用いた血液クリアランス促進法の開発研究を行った。タグを結合したタグ化抗体を投与24時間後に、タグと反応するセンサーを結合したGSAを投与したところ、腫瘍への集積は保持したまま、血液の放射能を大きく低減することに成功した。以上より、本手法はRI標識抗体の治療効果を損なうことなく副作用のみを低減可能であると考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究成果は、RI標識抗体の治療効果を損なうことなく副作用を低減できる手法を開発したものであり、RI標識抗体によるがん治療の可能性を大きく拡大するものである。本手法は生体に適合するアルブミンを使用していることから、臨床応用に向けて支障はなく、本手法を臨床応用することで新たながん治療法が可能となり、我が国のがん医療に大きく貢献することが期待できる社会的意義の大きい研究成果であるといえる。

研究成果の概要(英文)：To reduce radiolabeled antibody retention in the blood, which is a cause of side effects in cancer therapy using radiolabeled antibodies, we conducted research on the development of a blood clearance enhancement method using galactose conjugated albumin (GSA). When GSA with a sensor that reacts with tag was administered 24 hours after a antibody with a tag was administration, the radioactivity in the blood was greatly reduced without reducing the accumulation in the tumor. Therefore, this method is considered to be useful of reducing only the side effects of radiolabeled antibodies without compromising their therapeutic efficacy.

研究分野：放射線科学

キーワード：内用放射線療法 血液クリアランス トリプルネガティブ乳がん クリックケミストリー

1. 研究開始当初の背景

乳癌は比較的小さな時期から微小転移していることが多く、原発巣の摘出に加えて、適切な薬物療法を行うことが重要である。抗がん剤に加えてホルモン療法や抗体療法のような分子標的治療が非常に有効であるが、エストロゲンレセプターとプロゲステロンレセプターの2つのホルモン受容体および HER2 受容体が発現していない「トリプルネガティブ乳癌 (TNBC)」には、有効な分子標的治療薬が存在しておらず、他のタイプの乳癌に比べて予後が悪いことが知られている。近年、国内外において TNBC に対する分子標的治療薬の開発研究が盛んに行われているが、現在のところ有用な分子標的治療薬は報告されていない。

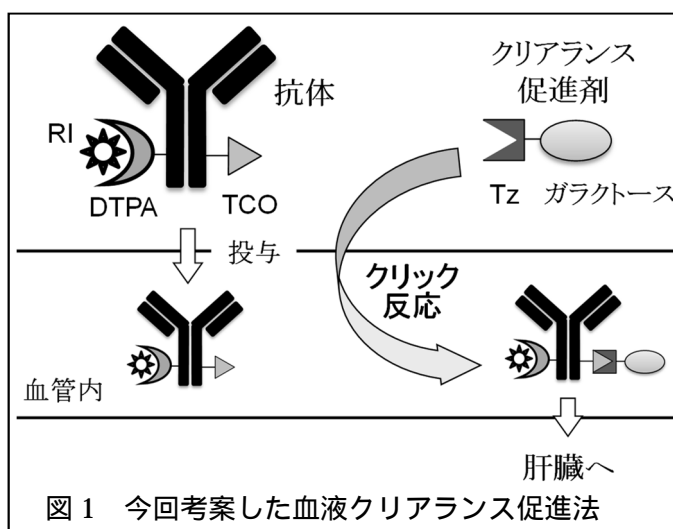
核医学分野においては、早期発見を目的とする画像診断のみならず、標的部位に選択的に集積する抗体等に放射性同位元素 (RI) を結合し、生体内に投与することで RI をがん運搬させ、がん組織に存在する RI からの放射線により、がん細胞を殺傷する治療法『分子標的 RI 内用療法』が開発され、注目されている。我が国でも治療用 RI であるイットリウム-90 (^{90}Y) で標識した抗 CD20 抗体 (ゼヴァリン) が悪性リンパ腫の治療薬として認可され、臨床において高い治療効果を示している。このことから TNBC に対しても分子標的 RI 内用療法が有用ではないかと考え、我々は TNBC への集積が報告されている血管内皮細胞増殖因子「VEGF」に対する抗体ペバシズマブを選択し、『 ^{90}Y 標識ペバシズマブ』の開発研究を行った。担がんマウスを用いた検討において ^{90}Y 標識ペバシズマブによる治療効果が認められたが、ペバシズマブの高い血中滞留性が血液毒性の原因となり、最大許容投与放射能は他の ^{90}Y 標識抗体を用いた場合に比べて低かった。そこで血中滞留性を解消するために抗体をビオチン化してマウスに投与、ビオチン化抗体投与 24 時間後に血液クリアランス促進剤としてアビジンを投与することで、血中に残った抗体を肝臓へとクリアランスさせることに成功した。血中滞留性を低減したことで投与放射能を 2 倍に増やすことができ、担がんマウスにおける優れた治療効果を得た。これらの結果より、本手法は有望ながん治療法であると考えられる。一方でタンパク質であるアビジンの投与は生体内において免疫反応を惹起する可能性があり、実際に臨床を使用することは難しいと予想された。

2. 研究の目的

そこで本研究では、我々が開発した ^{90}Y 標識ペバシズマブ治療法の臨床使用を目指して、アビジンを使わない安全性の高い新たな血液クリアランス促進法を開発すること目的として研究を行った。アビジンによりビオチン化抗体が肝臓へとクリアランスされるのは、アビジンが含有しているガラクトースが肝臓で認識され速やかに取り込まれるためである。従って、アビジンを用いなくても、投与一定時間後に抗体に対してガラクトースを付加することができれば、血中から抗体をクリアランスさせることが可能であると予想された。

3. 研究の方法

本研究ではアビジン-ビオチンの代替として、近年の有機化学の分野において注目されている、「タグ」と「センサー」の役割を持った2つの化合物間の特異的で速やかな反応『クリック反応』を利用することを考案した。利用するクリック反応としては、反応性が高く触媒を必要としない Trans-Cyclooctene (TCO) と Tetrazine (Tz) の組合せを選択した (右図 1)。標識部位としてキレート剤である DTPA およびタグとして TCO を結合したペバシズマブを作製し、クリアランスを促進させるための分子として肝臓への高い移行性が知られているガラクトース結合アルブミン (GSA) に対してセンサーである Tz を結合した分子を作製した。



作製した TCO-ペバシズマブを ^{111}In で標識し、マウスにおける体内動態および腫瘍集積性・滞留性、Tz-GSA のクリアランス促進剤としての効果を検討した。担がんマウスとしては、TNBC 細胞株である MDA-MB-231 細胞を移植したものをを用いた。既に優れた効果を報告しているビオチン-アビジンシステムで得られた結果と比較することで、血液クリアランスシステムとして十分な性質を有しているかが評価した。十分な効果を発揮する TCO-ペバシズマブと Tz-GSA が得られた後、 ^{90}Y 標識抗体による担がんマウス治療実験を行った。治療効果の評価は腫瘍サイズ測定および生存曲線により検証した。

4. 研究成果

¹¹¹In 標識ペバシズマブを作製し、ノーマルマウスにおける体内分布を検討したところ、¹¹¹In 標識-TCO 結合ペバシズマブは、TCO が結合していない ¹¹¹In 標識ペバシズマブと同様の血中滞留性を示した。クリアランス促進剤として、まずはアルブミン 1 分子あたり 40 個程度のガラクトースを結合させた GSA に対して Tz 結合した Tz-GSA 作製し、評価を行った。あらかじめチューブ内でクリック反応により ¹¹¹In 標識ペバシズマブ-GSA を作製し、複合体としてマウスに投与したところ、血中から速やかにクリアランスされ、投与早期にほとんどが肝臓へと移行した。続いて ¹¹¹In 標識 TCO 結合ペバシズマブ投与 24 時間後に Tz-GSA を投与したところ、一時間後には血中放射能が大きく低減し、肝臓の放射能が増加した。その一方で腫瘍集積性は、Tz-GSA 投与による影響は認められなかった。この結果より、当初の予定通り GSA との結合によりペバシズマブは速やかに肝臓へと移行すること、血中でクリック反応が起こり、ペバシズマブと GSA の複合体が形成され、血液から肝臓へと移行すること、GSA の投与は腫瘍集積性に影響を及ぼさないこと、が明らかとなり、本システムによる血液クリアランス促進の可能性が示された。一方で血中放射能の低減効果は限定的であり、ビオチン-アビジンシステムと比べて効果が不十分であった。その原因として、用いた GSA の肝臓移行性が早く、血中で抗体と反応する前に速やかに肝臓に移行してしまうことが考えられた。

そこでアルブミン 1 分子あたりのガラクトース結合数を 20 個程度に減らして、肝臓移行性を弱めた GSA を作製し、さらなる検討を行った。¹¹¹In 標識 TCO 結合ペバシズマブを投与し 24 時間後に Tz-GSA を投与したところ、3 時間後（抗体投与から 27 時間後）の血中放射能は非投与群（コントロール）に比べて大きく低減し、肝臓の放射活性が大きく上昇した（下図 2）。このことから、Tz-GSA 投与により血液から放射能が消失し、肝臓へと移行したと考えられる。一方で腫瘍への放射能集積は、Tz-GSA 投与による影響を受けなかった。さらにそこから 24 時間後（抗体投与から 51 時間後）の体内分布を検討したところ、コントロール群および Tz-GSA 投与群ともに 27 時間後とほぼ同様であった。一方、Tz-GSA 投与群において肝臓の放射能は大きく低下したことから、肝臓へと移行した放射能は、その後排泄されることが示唆された。腫瘍への集積性に関しては、27 時間後と 51 時間後で相違は認められなかった。この血液クリアランス促進効果は、ビオチン-アビジンシステムを用いた場合よりも顕著であったことから、本手法は有用であると考えられた。

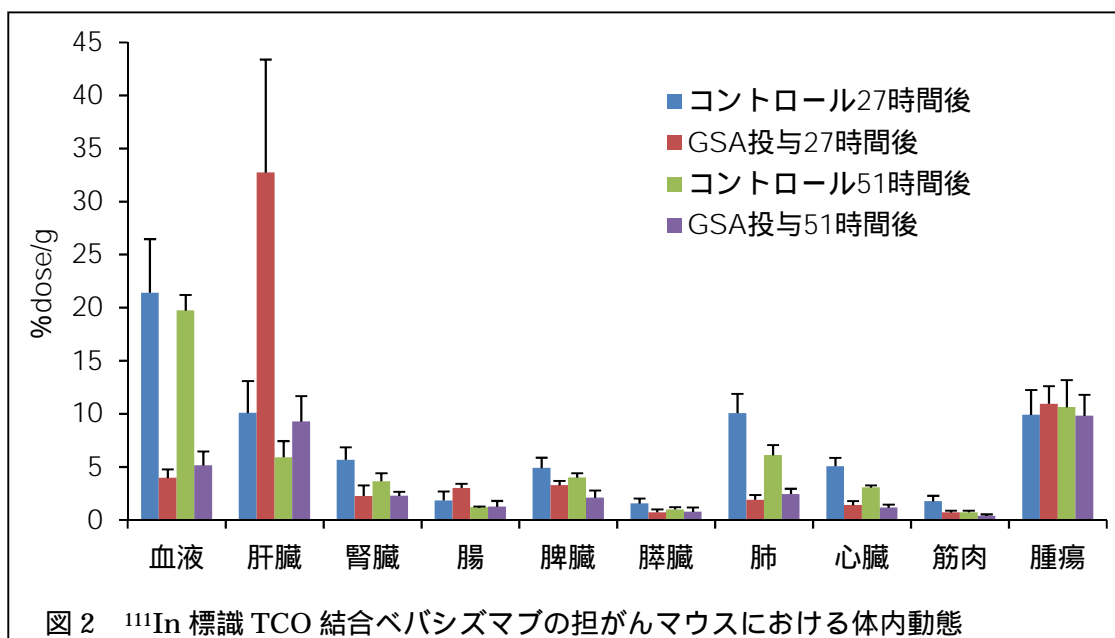


図 2 ¹¹¹In 標識 TCO 結合ペバシズマブの担がんマウスにおける体内動態

担がんマウスの体内分布実験において期待通りの結果が得られたことから、⁹⁰Y 標識ペバシズマブを用いた治療実験を行った。⁹⁰Y 標識 TCO 結合ペバシズマブを投与し 24 時間後に Tz-GSA を投与した。その結果、ある程度の治療効果が得られたものの、多くのマウスが死んでしまった。標識条件の関係で、投与抗体量が体内分布実験に比べて数倍多くなってしまい、その結果クリアランス促進効果が十分に発揮されなかったのではないかと考えている。今後、実験条件を再度検討し、新たに治療実験を実施する予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
研究分担者	花岡 宏史 (Hanaoka Hirofumi) (50361390)	関西医科大学・医学部・教授 (34417)	

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