

令和 5 年 6 月 23 日現在

機関番号：17301

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2022

課題番号：19K18058

研究課題名（和文）HER2陽性乳癌のイメージガイド下手術におけるtracer検索

研究課題名（英文）Tracer search in image-guided surgery of HER2-positive breast cancer

研究代表者

大坪 竜太（Otsubo, Ryota）

長崎大学・病院（医学系）・講師

研究者番号：80570043

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,000,000円

研究成果の概要（和文）：術前投与した分子標的薬がトラスツズマブ(Tmab)・ペルツズマブ(Pmab)に蛍光色素を付着したトレーサーの機能を抑制するマスク効果を生じるという仮説を立て、マウスを用いた実験を行った。術前治療としてのTmab投与後にTmab+蛍光色素を投与した群では投与後2-8日の全ての期間で術前治療としてのTmabがない対照群と比較して蛍光強度が低い傾向あり。また、術前治療としてのPmab後にPmab+蛍光色素を投与した際にも同様の傾向あり。また、HER2受容体とTmab・Pmab+蛍光色素が細胞内に取り込まれる細胞内移行が癌細胞株を用いた実験で認められ、この細胞内移行が前述のマスク効果を回避していた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

HER2陽性乳癌は乳房部分切除の際に癌が露出する断端陽性となる可能性が高く、術中に癌細胞を可視化するイメージガイド下手術の開発が望まれている。また、HER2陽性乳癌の予後は元来不良であるが、TmabやPmabによる分子標的治療薬と化学療法が予後を大きく改善させている。今回実験で証明したマスク効果と細胞内移行はHER2陽性乳癌のイメージガイド下手術の開発の際に重要となってくる、病変の描出不良の原因の一つとなりうる。そのため、マスク効果が生じる前の可視化、つまり手術直前のトレーサー投与、または細胞内移行が完了した後のトレーサー投与が有効である可能性を示唆する結果となった。

研究成果の概要（英文）：We hypothesized that a molecularly targeted drug administered preoperatively would produce a masking effect that would inhibit the function of tracers with fluorescent dye attached to trastuzumab (Tmab)/pertuzumab (Pmab), and we conducted experiments in mice. The Tmab + fluorescent dye group after preoperative Tmab administration tended to have lower fluorescence intensity than the control group without preoperative Tmab at all time points from 2-8 days post administration. The same trend was observed when Pmab+Fluorescent Dye was administered after Pmab as preoperative treatment. In addition, intracellular translocation of the HER2 receptor and Tmab/Pmab + fluorophores was observed in cancer cell lines, and this intracellular translocation circumvented the masking effect described above.

研究分野：乳腺外科

キーワード：image-guided surgery 乳癌 HER2陽性 近赤外線 蛍光色素

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

Human epidermal growth factor receptor 2 (HER2)陽性乳癌は全乳癌の20-25%を占め、増殖活性が高く、予後不良である。HER2 受容体は細胞膜貫通型チロシンキナーゼ受容体で、細胞外成分、膜貫通成分と細胞内成分で構成されている。Trastuzumab (Tmab、ハーセプチン®)はHER2受容体細胞外成分のドメイン4に結合するヒト化モノクローナル抗体で、化学療法と併用する事によりHER2陽性乳癌の予後を大きく改善した。また、Pertuzumab (Pmab、パージェタ®)は転移性HER2陽性乳癌に対するヒト化モノクローナル抗体で、HER2受容体細胞外成分のドメイン2に結合し、Tmabと化学療法の併用で転移性HER2陽性乳癌の全生存率を改善した。

現在HER2陽性乳癌の治療は術前にTmabと抗癌剤を投与する事で病変を縮小させた後に手術を行う術前化学療法が主流となっており、病変が完全に消失する病理学的完全奏功が60%にも及び、手術を省略できる患者が存在すると考えられている。しかし、現在術前に病理学的完全奏功を正確に診断できる方法がないため、診断的治療目的の乳房部分切除を行っている。一方、乳房部分切除は術前画像診断と術中の触診所見のみで切除範囲を決定しているのが現状で、病変を完全に切除できず癌が遺残している確率が17-38%、局所再発率が6-16%と報告され、術中に病変の範囲を同定できる新規診断法の開発が望まれている。特にHER2陽性乳癌は増殖活性が高く、局所再発の危険が高いため、術中に癌病変を可視化して適切な切除を行うイメージガイド下手術(Image-guided surgery, IGS)の有用性が期待され、蛍光標識や放射線同位元素標識したTmabを用いた前臨床研究が行われている。しかし、術前治療のTmabがHER2受容体を占拠するmasking、受容体の細胞外成分が切断されるshedding、受容体が細胞内に取り込まれるinternalizationがtracerとしてのTmabの結合を阻害する可能性がある。現在HER2陽性乳癌のIGSでは、適切なtracerが決定しておらず、Tmabによる術前治療の影響も解明できていない。

2. 研究の目的

本研究の目的は、HER2陽性乳癌の手術中に病変範囲を蛍光色素で可視化するIGSにおける適切なtracerを検索する事である。また、将来的にはIGSに関する国際共同臨床試験を行う事と、至適tracerに放射性同位元素を結合させ、HER2陽性乳癌病変をより鋭敏に術前評価する事で術前に完全奏功と診断した症例の中で手術を省略できる患者を選出する事を最終目標としており、共に学術的独自性を有する。理論上Tmabを術前治療で利用するとHER2受容体に影響を与えるため、TmabはIGSにおけるtracerとして不適切と予想される。そのため、Tmabとは異なるHER2受容体細胞外ドメインに結合するPmabに加え、protein AのIgG結合ドメインの一部を改変して作製した蛋白質ライブラリーから抽出され、標的蛋白質であるHER2受容体に特異的に結合するAffibodyをtracer候補とした。

3. 研究の方法

(1) in vitroでの各tracerの親和性(flow cytometry、蛍光顕微鏡)

HER2陽性乳癌細胞株(HCC1954)とHER2陰性乳癌細胞株(MCF7)に対して術前治療を想定した非標識Tmabを投与し、Fluorescein(FITC)で蛍光標識したTmab、Pmabを用いたflow cytometryを行い、術前治療のTmabによる間接的なmasking effectと各tracerの親和性を評価する。また、蛍光顕微鏡でも同様に評価を行い、蛍光色素の出現パターンと頻度を評価する。

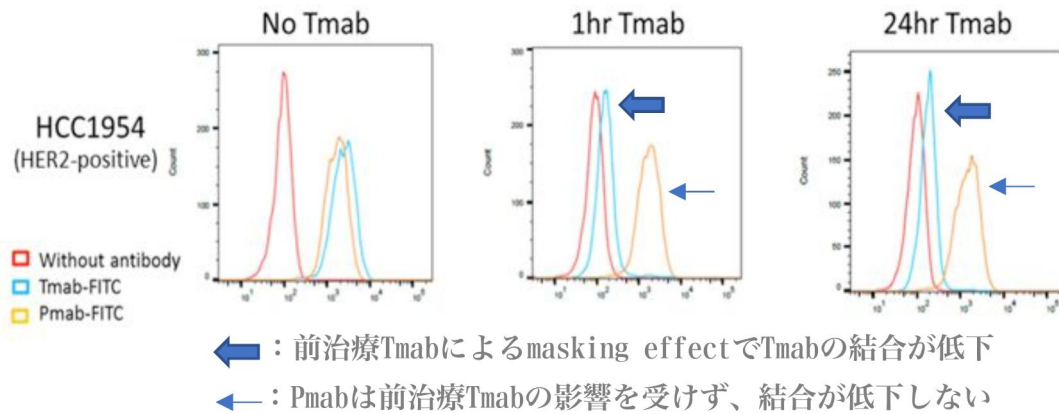
(2) マウスを用いた in vivo モデルでの各 tracer の親和性

腹部の皮下に HCC1954 と MCF7 を注入した HER2 陽性乳癌マウスモデルを作成し、術前治療を想定した Tmab と Pmab を 10 日前に投与し、トレーサーである Tmab-IRDye800CW (蛍光色素) と Pmab-IRDye800CW を投与し、それから 2 日から 8 日後の蛍光強度を測定した。

4. 研究成果

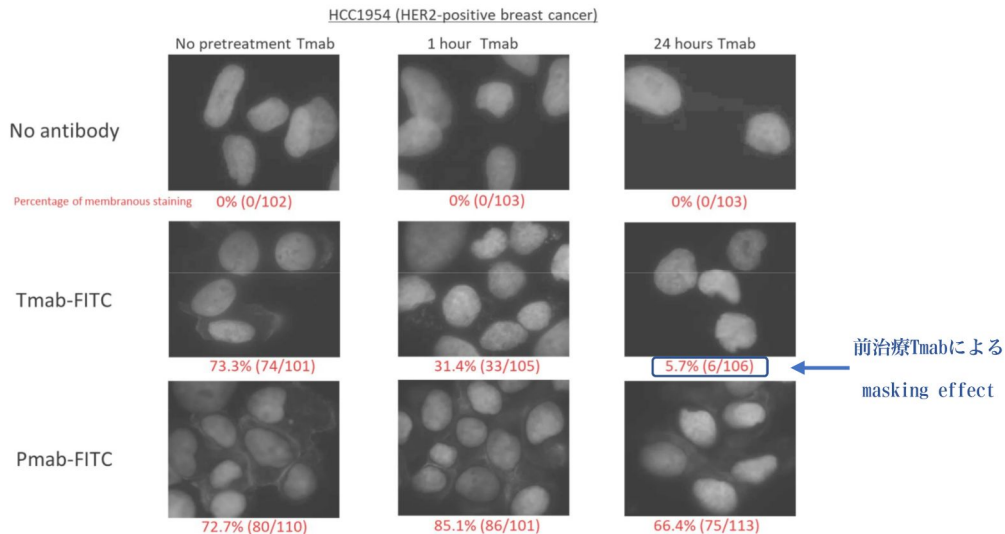
(1) 蛍光標識 Tmab と Pmab を用いた flowcytometry と蛍光顕微鏡で蛍光標識 Tmab の結合阻害を認めたと、蛍光標識 Pmab では認めなかった。

(図 1: 蛍光標識 Tmab・Pmab を用いた Flowcytometry)



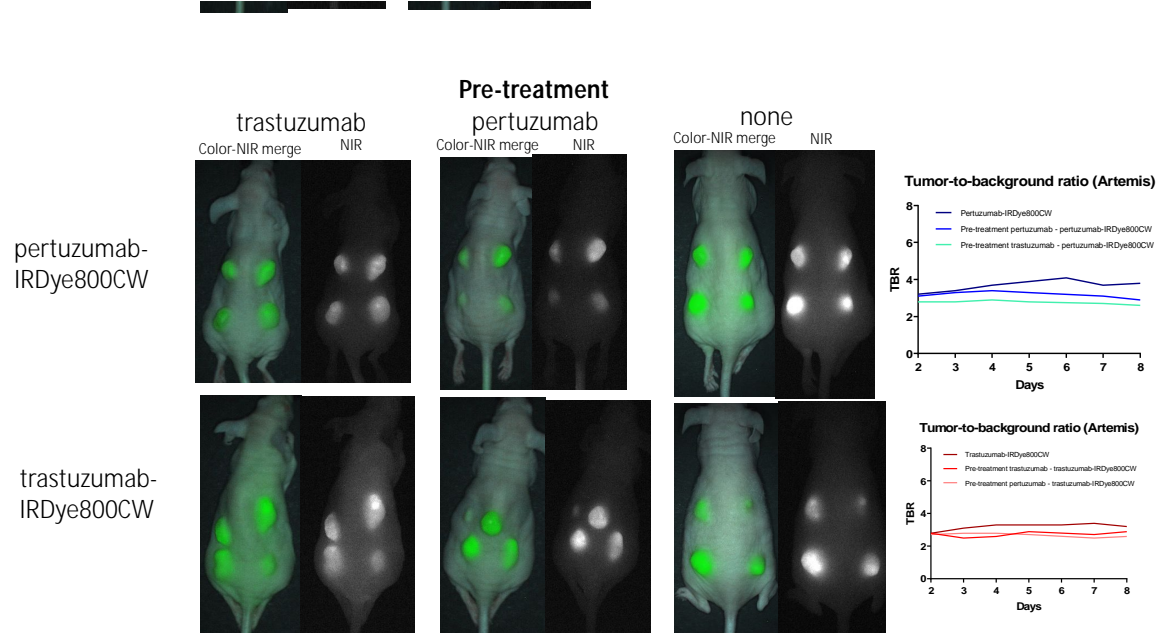
Flowcytometry と同様に、前治療 Tmab を投与していない群では、tracer の蛍光標識 Tmab・Pmab は共に HER2 陽性乳癌細胞の細胞膜に結合した。前治療 Tmab を 1・24 時間投与した群では 蛍光標識 Tmab の結合は阻害されたが、蛍光標識 Pmab の結合は阻害されなかった。特に 24 時間投与した場合の細胞膜蛍光染色の割合は、蛍光色素 Tmab 5.7% に対して蛍光色素 Pmab 66.4% と大きな差を認めた。

(図 2: 蛍光標識 Tmab・Pmab を用いた蛍光顕微鏡)



(2) 術前治療としての Tmab 投与後に Tmab-IRDye800CW を投与した群では投与後 2-8 日の全ての期間でコントロール群(術前治療としての Tmab を投与していない群)と比較し、蛍光強度が低い傾向が認められたが有意差は認められなかった。また、術前治療としての Pmab 後に Pmab-IRDye800CW を投与した際にも同様の傾向が認められた。なお、Affibody を用いたトレーサーはライデン大学の研究担当者の離職により開発できなかった。

(図3: 術前治療後マウスにトレーサーを投与した際の蛍光強度)



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

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			
オランダ	Leiden University Medical Center			