

令和 5 年 6 月 20 日現在

機関番号：34417

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K18297

研究課題名（和文）甲状腺癌に対するAt-211を用いた標的RI治療と分子標的薬の併用療法の確立

研究課題名（英文）Establishment of targeted RI therapy using At-211 in combination with molecular targeted drugs for thyroid cancer

研究代表者

福井 研太（FUKUI, Kenta）

関西医科大学・医学部・助教

研究者番号：30867437

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）：本研究では難治性甲状腺癌に対する新たな治療法の確立を目指し、線放出核種であるAt-211と分子標的薬の併用療法について検討した。我々は甲状腺癌に従来用いられるI-131とレンパチニブの併用療法について甲状腺癌モデルマウスを用いて検討し、併用療法により高い抗腫瘍効果が得られることを明らかにした。また共同研究機関から供給されたAt-211を担癌マウスに経静脈的投与し、SPECTによるイメージングと、ガンマカウンターによる各臓器へのAt-211集積を検討し、At-211の体内動態を可視化、定量化することに成功した。今後はAt-211と分子標的薬の併用療法についての基礎研究を継続する予定である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年本邦における甲状腺癌の罹患率は上昇傾向にあり、難治性の甲状腺癌に対する新たな治療法の開発が求められている。線核種であるAt-211は、I-131などの線核種と比較して生物学的効果が高く、かつ被爆が少ない点において、甲状腺癌に対する臨床応用が期待されている。At-211と分子標的薬を併用することで、さらなる治療効果が期待され、本研究が持つ学術的・社会的意義は大きいと考えられる。

研究成果の概要（英文）：In this study, we investigated the combination therapy with At-211, an alpha-ray emitting radionuclide, and molecular targeted drugs to establish a new treatment for refractory thyroid cancer. Combination therapy with I-131, the radioisotope that is used conventionally for thyroid cancer, and lenvatinib demonstrated a synergistic antitumor effect for thyroid cancer cells and xenograft model mice. We also performed the experiments using At-211 supplied by the collaborative research institute. Tumor-bearing mice were injected intravenously with At-211, and the accumulation of At-211 in various organs was successfully visualized and quantified by SPECT imaging and the gamma counter. We plan to continue basic research on combination therapy with At-211 and molecular-targeted drugs for thyroid cancer.

研究分野：耳鼻咽喉科・頭頸部外科学

キーワード：甲状腺癌 線放出核種 At-211 I-131 分子標的薬 レンパチニブ 併用療法

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

切除不能甲状腺癌の治療選択肢として従来の放射性ヨウ素 (I-131) 内用療法に加え、2014 年以降ソラフェニブやレンパチニブなどの分子標的薬が適応となり、一定の生存期間の延長が示されたが<sup>1)</sup>、その効果は十分とは言えない。一方、近年核医学治療の分野ではラジウム 233 などの線放出核種が注目されており<sup>2)</sup>、I-131 を含めた従来の線核種と比べて生物学的効果が高く、かつ被爆が少ないことが報告されている。同じく線放出核種であり I と同じハロゲン族元素に属するアスタチン 211 (At-211) は、I-131 に替わる甲状腺癌の新たな標的アイソトープ治療薬としてその臨床応用が期待されている<sup>3)</sup>。

### 2. 研究の目的

甲状腺癌に対する標的アイソトープ治療薬 (I-131、At-211) と分子標的薬の併用についてはこれまで全く検討されていない。本研究では、甲状腺癌細胞と甲状腺癌モデルマウスを用いて I-131 または At-211 と分子標的薬 (レンパチニブなど) の併用による相乗効果を利用した新たな治療戦略の開発を目指す。

### 3. 研究の方法

#### (1) 甲状腺癌に対する I-131 とレンパチニブ併用療法の検討

甲状腺癌細胞の放射線ヨウ素 (I-125) 取り込みについての検討 (*in vitro*):

甲状腺癌細胞 K1 および K1 にナトリウム-ヨウ素共輸送体 (sodium-iodide symporter: NIS) をコードする SLC5A5 遺伝子を導入し NIS を発現させた細胞 (K1-NIS) を用いて、レンパチニブ投与が細胞内の放射性ヨウ素蓄積に与える影響を検討した。具体的には、K1 または K1-NIS 細胞にレンパチニブ (0、3、20 $\mu$ M) を 48 時間投与後、370kBq の I-125 (Perkin Elmer) を加え、1、15、30、45、60 分後にサンプルを回収し、細胞内外の RI 値をシンチレーションカウンター (WIZARD1480) を用いて測定し、薬剤投与による細胞内への I-125 取り込み率の変化を解析した。

甲状腺癌モデルマウスに対する Planar および SPECT/CT を用いた画像評価 (*in vivo*):

K1-NIS 細胞 (5M) を免疫不全マウス (SCID beige) の皮下に移植し、4 週間後に腫瘍サイズが直径約 10mm に達した時点のマウスに滅菌蒸留水またはレンパチニブ (10 mg/kg/日) を 5 日間経口投与した (各群 n=5)。各群のマウスに 3.8MBq の I-123 を経口投与し、10 分、1、3、6 時間後に Planar 像の撮影と、SPECT/CT による *in vivo* イメージングを行い、レンパチニブ投与による放射性ヨウ素取り込みへの影響を可視化した。さらに、腫瘍領域および甲状腺への RI 集積について Regions of interest (ROI) を設定し定量的に評価した。

甲状腺癌モデルマウスに対する併用療法による抗腫瘍効果の検討 (*in vivo*):

K1-NIS 細胞 (5M) を皮下に移植した NOD/SCID マウス (甲状腺癌モデルマウス) を A. コントロール、B. レンパチニブのみ (10mg/kg/日)、C. I-131 のみ (3.7MBq、経静脈投与)、I-131 (3.7MBq、経静脈投与) + レンパチニブ (10mg/kg/日) の 4 群に分け、各群における経時的な腫瘍体積計測および摘出時の腫瘍重量により抗腫瘍効果を比較検討した。

#### (2) 甲状腺癌モデルマウスを用いた At-211 の体内動態の検討 (*in vivo*)

画像検査 (SPECT) による体内動態の確認:

K1-NIS 細胞 (10M) を免疫不全マウス (NOD/SCID beige) の皮下に移植し、8 日後に腫瘍が生着したことを確認したのちに、0.3MBq の At-211 をマウス尾静脈より投与した。At-211 投与 2 時間後に SPECT を撮影し、At-211 の体内動態を検討した。

ガンマカウンターを用いた体内分布の検討:

At-211 投与後の上記マウスを安楽死させた後に解剖し、摘出した各臓器への At-211 集積についてガンマカウンター (2480WIZARD2) を用いて計測した。

### 4. 研究成果

#### (1) 甲状腺癌に対する I-131 とレンパチニブ併用療法の検討

甲状腺癌細胞の放射線ヨウ素 (I-125) 取り込みについての検討 (*in vitro*):

K1 では細胞内への I-125 取り込みをほとんど認めなかったが、K1-NIS では細胞内への I-125 取り込みは良好であった (図 1A、B)。これより、放射性ヨウ素は NIS を介して甲状腺癌細胞内に取り込まれることが確認された。さらに、K1-

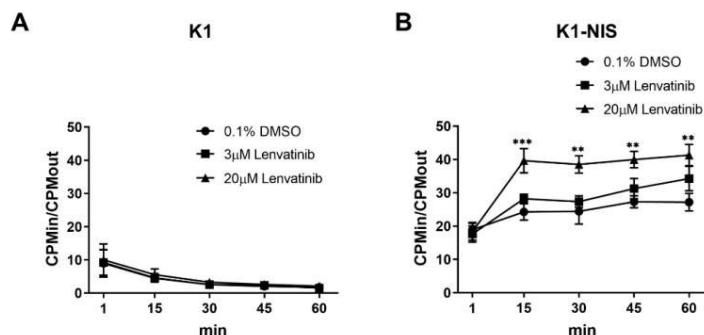


図 1. レンパチニブ投与による甲状腺癌細胞内への I-125 取り込み率の変化 (A: K1 細胞, B: K1-NIS 細胞)

NIS ではレンパチニブ処理後に細胞内への I-125 取り込みは有意に増加した (図 1B)。NIS を発現する甲状腺癌細胞ではレンパチニブ投与後に細胞内への I 取り込みが増加する可能性が *in vitro* において示された。

甲状腺癌モデルマウスに対する Planar および SPECT/CT を用いた画像評価 (*in vivo*):

I-123 投与から 3 時間後をピークに腫瘍への I-123 集積を認めた。 *In vitro* での結果 (図 1) に反して、レンパチニブ投与群ではコントロール群と比較して腫瘍への I-123 集積が有意に低下した (図 2A、B) 一方で、甲状腺への I-123 集積は両群で差がなかった (図 2C)。レンパチニブの血管新生阻害作用により腫瘍への血流が低下したため、I-123 集積が低下したことが示唆された。

甲状腺癌モデルマウスに対する併用療法による抗腫瘍効果の検討 (*in vivo*):

甲状腺癌モデルマウス (K1-NIS) を用いた検討において、I-131 とレンパチニブの併用療法群では他の治療群と比べ有意に高い抗腫瘍効果を認めた。

*In vivo* イメージングの結果 (図 2) を踏まえ、I-131 を先行投与した後にレンパチニブを投与することにより、併用療法による相乗効果が得られた。

(2) 甲状腺癌モデルマウスを用いた At-211 の体内動態の検討 (*in vivo*)

画像検査 (SPECT) による体内動態の確認:

At-211 投与後の SPECT において、腫瘍、甲状腺および胃への At-211 集積を確認した (図 3)。

ガンマカウンターを用いた体内分布の検討:

At-211 投与後のマウスにおける各臓器への At-211 集積を測定したところ、腫瘍、甲状腺、胃、唾液腺において高い集積を認めた。

当初の計画では At-211 と分子標的薬レンパチニブの併用療法の検討を行う予定であったが、共同研究機関からの At-211 供給制限と新型コロナウイルス感染症蔓延に伴う動物実験の制限などから、At-211 を用いた実験については計画通りに遂行することはできなかった。しかしながら、我々の施設においても SPECT やガンマカウンターを用いた At-211 の画像評価、定量化が行えるようになり、国内で At-211 を用いた研究が行える数少ない機関の一つとして今後の研究の発展に繋がるものと考えられる。さらに、本研究と関連して、甲状腺癌モデルマウスに対して I-131 とレンパチニブの併用によって高い抗腫瘍効果が得られることが示され、At-211 についても同様に分子標的薬との併用による相乗効果が期待される。本研究の発展により、難治性甲状腺癌に対する新たな治療戦略として今後の臨床応用に繋がるものと考えられる。

< 引用文献 >

1. M Schlumberger, M Tahara, LJ Wirth, et al. Lenvatinib versus placebo in radioiodine-refractory thyroid cancer. *N Engl J Med* 372: 621-630, 2015.
2. Parker C, Nilsson S, Heinrich D, et al ; ALSYMPCA Investigators. Alpha emitter radium-223 and survival in metastatic prostate cancer. *N Engl J Med* 369: 213-223, 2013.
3. T Watabe, K Kaneda-Nakashima, Y Liu1, Y Shirakami, K Ooe, A Toyoshima, E Shimosegawa, M Fukuda, A Shinohara, J Hatazawa; Enhancement of 211At Uptake via the Sodium Iodide Symporter by the Addition of Ascorbic Acid in Targeted  $\alpha$ -Therapy of Thyroid Cancer. *J Nuc Med* 60: 1301-1307, 2019.

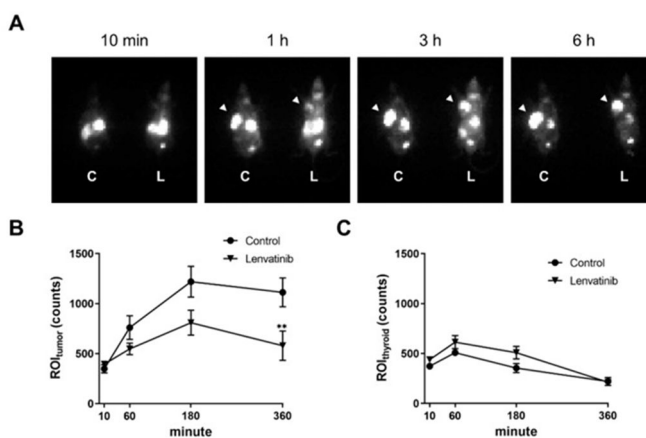


図 2. レンパチニブ投与の有無による I-123 集積の差異。Planar 像 (A) と腫瘍 (B) 及び甲状腺 (C) への I-123 集積の定量。矢印: 腫瘍, C: コントロール群, L: レンパチニブ群

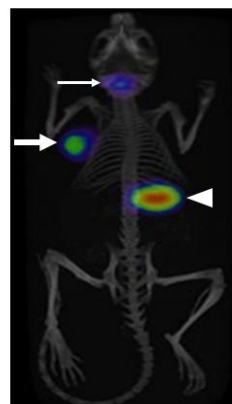


図 3. 甲状腺癌モデルマウスへの At-211 投与後の SPECT (太矢印: 腫瘍, 細矢印: 甲状腺, 矢頭: 胃)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3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 Kensuke Suzuki, Hiroshi Iwai, Keita Utsunomiya, Yumiko Kono, Tadashi Watabe, Yoshiki Kobayashi, Dan Van Bui, Shunsuke Sawada, Yasutaka Yun, Akitoshi Mitani, Kenta Fukui, Haruka Sakai, Hanh Hong Chu, Nguyen Manh Linh, Noboru Tanigawa and Akira Kanda	4. 巻 23(17)
2. 論文標題 Efficacy of Combination Therapy with Lenvatinib and Radioactive Iodine in Thyroid Cancer Preclinical Model	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 9872
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms23179872	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 鈴木 健介, 岩井 大, 宇都宮 啓太, 河野 由美子, 小林 良樹, 尹 泰貴, 三谷 彰俊, 福井 研太, 酒井 遥, 谷川 昇, 神田 晃	4. 巻 73
2. 論文標題 レンパチニブ併用放射線療法による新たな甲状腺癌治療の可能性	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 関西医科大学雑誌	6. 最初と最後の頁 1-5
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.5361/jkmu.73.1	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 鈴木 健介, 岩井 大, 宇都宮 啓太, 河野 由美子, 小林 良樹, Dan Van Bui, 澤田 俊輔, 尹 泰貴, 三谷 彰俊, 福井 研太, 酒井 遥, 谷川 昇, 神田 晃	4. 巻 35
2. 論文標題 レンパチニブ併用放射線療法を用いた甲状腺癌治療に向けての基礎研究	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 耳鼻咽喉科ニューロサイエンス	6. 最初と最後の頁 73-75
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
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 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 1件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 鈴木 健介, 岩井 大, 宇都宮 啓太, 河野 由美子, 三谷 彰俊, 酒井 遥, 福井 研太, 谷川 昇
2. 発表標題 基礎研究からみた甲状腺癌に対するレンパチニブ併用放射線療法の可能性
3. 学会等名 第57回日本医学放射線学会秋季臨床学会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 鈴木 健介, 岩井 大, 宇都宮 啓太, 河野 由美子, 小林 良樹, Dan Van Bui, 澤田 俊輔, 尹 泰貴, 三谷 彰俊, 福井 研太, 酒井 遥, 谷川 昇, 神田 晃
2. 発表標題 レンパチニブ併用放射線療法を用いた甲状腺癌治療に向けての基礎研究
3. 学会等名 第38回耳鼻咽喉科ニューロサイエンス研究会
4. 発表年 2021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
研究協力者	鈴木 健介  (SUZUKI Kensuke)		
研究協力者	岩井 大  (IWAI Hiroshi)		
研究協力者	神田 晃  (KANDA Akira)		
研究協力者	宇都宮 啓太  (UTSUNOMIYA Keita)		
研究協力者	河野 由美子  (KOUNO Yumiko)		

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
研究協力者	渡部 直史  (WATABE Tadashi)		

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