

論文の内容の要旨

論文題目 RI標識化癌特異的抗体を用いた腫瘍イメージングおよび
放射免疫療法に関する研究

氏名 古山 桂太郎

放射免疫療法(Radioimmunotherapy, RIT)とは放射性同位元素(RI)で標識した癌特異的抗体を用いた癌治療法であり、抗体に結合した RI からの放射線の細胞障害作用を利用する。放射線を RI 標識化抗体が結合した細胞のみならず隣接する他の細胞にも照射することとなり、この作用によって、血管に乏しい腫瘍や付近の腫瘍細胞にも放射線を照射させることが出来る。また、RI 標識化抗体は目的病変に特異的に結合する一方で、正常臓器には非特異的集積を認めるもののその程度は低いことから、副作用が少ない治療法として注目されており、実際に悪性リンパ腫に対する RIT 薬剤は臨床応用されている。また、RI を変更することによって、RI 標識抗体は癌特異的な放射性画像診断薬としても応用可能であり、診断能向上への利用にも期待がかけられている。

そこで、本研究では RIT 創薬の開発を目的として、肝細胞癌および肺小細胞癌の細胞膜表面に特異的に発現が亢進している ROBO1 を標的抗原とした抗 ROBO1 抗体を利用して、担癌マウスをモデル系とした実験を二つのテーマで施行した。一つ目のテーマとして、RIT 創薬における小動物用 MicroPET を用いた RI 標識抗体による腫瘍 Imaging の有用性を確認することを目的とした実験を施行した。RIT 創薬の流れにおいて、臨床試験の前段階として、モデル担癌動物を用いた核種標識抗体の腫瘍への集積性/薬物体内動態、抗腫瘍効果の評価や毒性試験等が必要であるが、腫瘍への集積性/薬物体内動態評価に関しては、主として、解剖によって摘出した臓器に集積している RI 標識化合物の放射エネルギーをカウントする解剖法が施行されている。しかし、解剖法では、ある一匹の経時変化を追跡できない、大量の飼育数が必要であり動物の犠牲が増えるといった短所があり、生きた状態で腫瘍への集積や薬物体内動態の評価が可能である *in vivo imaging* の開発が求められている。その中でモダリティとしては、定量性にも優れる PET が特に有用と考えられることから、本研究では MicroPET を用いた RI 標

識抗体による担癌マウスの腫瘍 Imaging を施行し、MicroPET Imaging の RIT 創薬に対する有用性を評価した。対象腫瘍として肝細胞癌を用いて、ポジトロン核種 ^{64}Cu 標識抗 ROBO1 抗体による腫瘍 Imaging を施行し、標的腫瘍組織、主要臓器への集積程度および生体内分布の経時的変化を確認し、解剖法の結果と比較することで、MicroPET Imaging の有用性を評価した。二つ目のテーマとして、肺小細胞癌に対する RIT 創薬の開発を目的として、担癌マウスをモデル系とした実験を施行した。肺小細胞癌は原発性肺癌の 10-15% を占め、進行が早く、全身に拡がりやすい特徴があり、難治性の癌として知られている。従って、現状の薬物療法や放射線外照射療法とは異なった治療法の開発が求められており、肺小細胞癌に対する新規な RIT 製剤の開発は実臨床にも貢献出来ると考えられる。実際には、肺小細胞癌の細胞膜表面に特異的に発現している ROBO1 抗原に対する抗 ROBO1 抗体を調製し、最初にポジトロン核種 ^{64}Cu 標識抗 ROBO1 抗体を用いた MicroPET による腫瘍イメージングを施行して、腫瘍への抗体の集積を *in vivo* で確認した後、 β 線放出核種 ^{90}Y 標識抗 ROBO1 抗体による RIT を施行し、肺小細胞癌に対する抗腫瘍効果達成の有無を確認した。また、血球数測定による RIT による副作用の評価、 ^{90}Y 標識抗 ROBO1 抗体の追加投与による抗腫瘍効果改善への検討、 ^{18}F -FDG PET Imaging を用いた抗腫瘍効果の評価に関する実験も施行した。

RIT 創薬における小動物用 MicroPET を用いた RI 標識抗体による腫瘍 Imaging の有用性の確認を目的とした実験の結果に関しては、まず ^{64}Cu 標識抗 ROBO1 抗体による肝細胞癌担癌マウスの PET Imaging を投与後から 72 時間後まで施行したところ、移植されている腫瘍に核種が徐々に集積されることを PET 画像上認め、 ^{64}Cu 標識抗 ROBO1 抗体の腫瘍への集積が確認された。一方、72 時間後でも心内腔血液プールおよび大血管が描出されたことから、核種の血中滞留性が高いことが示唆され、RIT 時においては骨髄などへの長期的被曝が懸念された。

次に ^{64}Cu 標識抗 ROBO1 抗体の肝細胞癌担癌マウス中の体内動態を解剖法によって評価し、腫瘍、肝臓などにおける動態挙動を PET Imaging および解剖法で比較したところ、両者より算出された腫瘍と肝臓への集積程度に概ね有意差を認めなかった。このことより、RIT における標識化抗体の集積程度の評価において、PET Imaging から得られる集積評価は体内動態解析の標準的な方法である解剖法と同等の結果が得られる可能性が示された。

続いて、 ^{111}In 標識抗 ROBO1 抗体の肝細胞癌担癌マウス中の体内動態解析を解剖法によって施行したところ、 ^{111}In 標識抗 ROBO1 抗体の解剖法から得られた腫瘍への集積程度は、 ^{64}Cu 抗 ROBO1 抗体を用いた PET Imaging から得られた集積程度と有意差はなかった。このことから、 ^{111}In 標識化抗体の解剖法による体内動態解析が RIT で用いられる ^{90}Y 標識化抗体の体内動態評価目的に標準的に施行されている実際において、 ^{64}Cu 標識化抗体の PET Imaging から得られる腫瘍への集積の定量データが、抗体のアフィニティ能評価や RIT 時の腫瘍の被曝放射線量の算出にも適応出来る可能性が示唆された。一方、 ^{111}In 標識抗 ROBO1 抗体の血中における滞留は 10 日間以上遷延しており、RIT 時の骨髄への長期的被曝が予見される結果も得られた。

肺小細胞癌に対する RIT 創薬の開発を目的としたテーマに関する実験の結果は、まず ^{64}Cu 標識抗

ROBO1 抗体による肺小細胞癌担癌マウスの PET Imaging を投与 72 時間後まで施行したところ、肝細胞癌担癌マウスに投与した際と同様に、腫瘍への核種の集積が徐々に増強していることを認め、⁶⁴Cu 標識抗 ROBO1 抗体の腫瘍への集積が確認された。一方、72 時間後でも心内腔血液プールの描出を認め、核種の血中滞留の遷延も確認した。

PET Imaging によって、肺小細胞癌腫瘍への抗 ROBO1 抗体の集積が確認されたことを踏まえて、RIT として、肺小細胞癌担癌マウスに ⁹⁰Y 標識抗 ROBO1 抗体 0.18mCi を投与して、腫瘍体積の経時変化を確認したところ、Control 群の腫瘍はいずれも増大傾向を呈していたのに対し、RIT 群の腫瘍はいずれも著明な縮小を認めたことから、RIT による抗腫瘍効果の達成が確認された。

RIT 群の血球に関しては、経過中に赤血球、白血球、血小板のいずれの減少を認め、特に血小板の減少が目立った。これら血球減少は、PET Imaging で示された核種の血中の長期滞留によって生じた骨髓への被曝が原因と考えられた。

次に、RI 非標識化抗 ROBO1 抗体投与による抗腫瘍効果を確認したところ、Control 群と同等の腫瘍増殖挙動を示し、抗腫瘍効果は確認されなかった。この結果より、この系では抗 ROBO1 抗体自体による抗腫瘍効果は有しておらず、RIT による抗腫瘍効果は ⁹⁰Y からの照射によってのみ生じたと考えられた。また、⁹⁰Y 標識抗 ROBO1 抗体の投与放射エネルギーを変化させて RIT を施行したところ、投与放射エネルギーを増加させるにつれ、抗腫瘍効果が向上し、抗腫瘍効果の放射エネルギー依存性が確認された。

また、ROBO1 に affinity が低い抗体である抗 gp64 抗体を用いて、PET Imaging および解剖法によって、RI 標識抗 ROBO1 抗体と RI 標識抗 gp64 抗体の腫瘍への集積程度を測定したところ、いずれも、RI 標識抗 ROBO1 抗体の方が集積は高かった。更に肺小細胞癌担癌マウスに ⁹⁰Y 標識抗 gp64 抗体を投与しても抗腫瘍効果が確認されたが、⁹⁰Y 標識抗 ROBO1 抗体による RIT がもたらす抗腫瘍効果の方が有意差をもって ⁹⁰Y 標識抗 gp64 抗体投与による抗腫瘍効果より高かったことから、ROBO1 抗原と抗 ROBO1 抗体の affinity 結合に起因した腫瘍への被曝による抗腫瘍効果の達成が確認された。

続いて、抗腫瘍効果の改善に向けて ⁹⁰Y 標識抗 ROBO1 抗体の再投与を一回目投与の 21 日後に施行したところ、追加投与によって、腫瘍の再縮小が達成され、マウス生存期間延長が可能となった。

最後に、細胞の糖代謝を評価するトレーサである ¹⁸F-FDG を用いて、RIT 施行マウスの ¹⁸F-FDG PET Imaging を施行し、その腫瘍への集積程度から RIT の抗腫瘍効果を評価した。その結果、RIT 群は腫瘍体積の減少につれて ¹⁸F-FDG の集積は減少していき、抗腫瘍効果を ¹⁸F-FDG の集積程度でも確認することが可能となった。

以上、本研究では、RIT 創薬の開発を目的として、まず ⁶⁴Cu 標識抗 ROBO1 抗体を用いて、肝細胞癌担癌マウスの MicroPET による腫瘍/生体内分布イメージングを施行し、MicroPET Imaging による ⁶⁴Cu 標識化抗体の体内動態評価が RIT 創薬の開発において基盤的情報を与える可能性を示した。また、MicroPET Imaging によって、⁶⁴Cu 標識抗 ROBO1 抗体の肺小細胞癌細胞への集積を確認した後、⁹⁰Y 標識化抗 ROBO1 抗体を用いた RIT による肺小細胞癌細胞に対する抗腫瘍効果を達成し、⁹⁰Y 標識抗 ROBO1 抗体を用いた肺小細胞癌への RIT 創薬の可能性も示した。