

転移胃がんに対するアルファ線放射免疫療法開発

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
放射線がん生物学研究チーム

長谷川 純崇

1. 緒言

胃がんは世界的にがん関連死の上位を占める疾患である。初期の胃がんは治癒可能な疾患となっているが、腹膜播種や肝転移等の転移性胃がんは、初診時もしくは外科的治療後の再発として認められることが多い。転移性胃がんに対しては効果的な治療法が確立していないために、その予後は極めて不良である。

昨今のがん研究の進歩により、胃がんの分子マーカーとしてHER2（ヒト上皮成長因子受容体タイプ2）が有用であることが判明した。文献により違いはあるものの、胃がんの約10-20%でHER2陽性との報告が多い。この知見を基に、現在、HER2陽性の切除不能進行性・再発胃がんに対しては、抗HER2抗体であるトラスツズマブ投与による分子標的薬治療が行われている。しかしながら、薬剤耐性等もあり、転移性胃がんに対する治療効果は限定的と言わざるをえない。転移性胃がんに対する新たな治療の開発が待ち望まれている。

放射免疫療法は、がん細胞に対して特異的に結合する抗体に細胞殺傷性粒子放射線であるアルファ線やベータ線を放出するアイソトープを付加し、細胞近傍から粒子放射線を照射して標的がん細胞死を誘導する治療法である。臨床では、ベータ線を出すアイソトープであるイットリウム90を付加したゼヴァリン（商品名）が使用されているが、最近では、ベータ線と比べ高い細胞殺傷効果と短い飛程を有するアルファ線の利用に大きな注目が集まっている。アルファ線は細胞数個分の範囲に非常に高いエネルギーを付与するため、細胞に修復困難なDNA損傷を引き起こし細胞死を誘導する。従って、アルファ線放射免疫療法は、優れたドラックデリバリー能を有する抗体との組み合わせで、通常の治療抵抗性となった微小な転移・播種巣に対する効果的な治療法になりえることが示唆されている。

本研究では、アルファ線を放出するアスタチン-211（At-211）を用いたアルファ線放射免疫療法の腹膜播種および肝転移の転移性胃がんに対する治療効果と毒性に関して、モデルマウスを用いた非臨床研究で検証する。

2. 方法

At-211の製造と抗体への標識

At-211は加速器を用い、ビスマスにアルファ粒子を照射する方法にて製造を行った。抗体は抗HER2抗体であるトラスツズマブを用いた。抗体への標識はスズ付加前駆体を用いた標識法に依った。

培養細胞を用いた実験

HER2発現量が異なるヒト胃がんおよび乳がん細胞を用いた。細胞結合実験は、所定の細胞数の細胞に一定放射能のAt-211標識トラスツズマブ（At-211トラスツズマブ）を加え、4℃で1時間反応された後、細胞表面に結合した放射能を測定した。細胞傷害性実験は、所定の細胞数の細胞にAt-211トラスツズマブ（0.37および1.85キロボクセル）を添加、37℃で24時間反応させ、培地交換7日後の細胞を色素で染色し、その染色量を定量的に評価した。

動物モデル

皮下腫瘍モデルはヒト胃がん細胞であるNCI-N87 (N87) 細胞をヌードマウス皮下に移植し作製した。胃がん腹膜播種モデルはルシフェラーゼ遺伝子を組み込み化学発光するN87細胞 (3x10⁵個) をスキッドマウス腹腔内に移植し作製した。胃がん肝転移モデルはルシフェラーゼ遺伝子発現N87細胞を脾静脈に移植し作製した。

生体内薬剤動態実験

作製したモデル動物に一定量のAt-211トラスツズマブを投与し、一定時間後に腫瘍や主要臓器を採取し、臓器重量を測定するとともに、臓器のAt-211量をガンマカウンタで測定した。

アルファ線放射免疫治療実験

皮下、腹膜播種、肝転移モデルにおいて、0.1-1メガベクレルのAt-211トラスツズマブを静脈内（皮下、肝転移モデル）もしくは腹腔内（腹膜播種モデル）に単回投与した。治療効果は、経時的な腫瘍サイズ測定（皮下腫瘍モデル）もしくはルシフェリン投与後に生体内がん細胞からの化学発光量測定（腹膜播種、肝転移モデル）で評価した。また、生存期間についても評価した。毒性については、経時的な体重、白血球数、生化学的検査（肝機能、腎機能）により評価した。

3. 研究成果

At-211トラスツズマブの作製

At-211トラスツズマブの標識率は40.2 ± 6.9%で、放射化学的純度は恒常的に95%以上であった。

HER2高発現ヒト胃がん細胞株に対するAt-211トラスツズマブの細胞結合能と細胞傷害性

HER2高発現のN87細胞に対してAt-211トラスツズマブは高い結合性を示した。逆に、HER2低発現細胞に対してはほとんど結合が見られなかった。N87に対する標識抗体の結合は過剰量の非標識抗体添加によって低下したため、その結合は特異的であることが判明した。細胞傷害性については、HER2低発現細胞株に比べて、高発現細胞株でより効率的な細胞殺傷効果が観察された。

皮下腫瘍モデルにおけるAt-211トラスツズマブの生体内動態、治療効果と毒性

皮下腫瘍モデルにおけるAt-211トラスツズマブの生体内動態実験では、腫瘍内放射能が投与24時間後に最大となること、血中においては投与3時間後に最大になりその後減少することが明らかとなった。0.5メガベクレルのAt-211トラスツズマブの単回静脈内投与で、対照群と比較して統計学的有意に腫瘍抑制効果と生存期間延長が認められた。毒性として、体重変化については対照群と治療群で有意な差は認められなかった。治療群で一過性の白血球数の減少が認められたが、早期に回復した。

胃がん腹膜播種モデルにおけるAt-211トラスツズマブの生体内動態、治療効果と毒性

胃がん腹膜播種モデルにおける最適な薬剤投与方法を決定するため、At-211トラスツズマブを腹腔内もしくは静脈内で投与した後に薬剤動態を解析したところ、腹腔内投与が静脈内投与に比べて高い腫瘍内集積性と低い血中濃度を示した。これに基づき、腹腔内投与が最適と考えられた。1メガベクレルのAt-211トラスツズマブの単回腹腔内投与で、投与した6匹中2匹でがん細胞からの化学発光検出限界以下までの腫瘍退縮、1匹で90%退縮、2匹で50%退縮が認められた。対照群と比較して、1メガベクレルのAt-211トラスツズマブ投与治療群では統計学的有意に生存期間が延長した。体重変化、白血球数については対照群と治療群で有意な差は認められなかった。また、治療群における治療前後の肝機能や腎機能の生化学検査でも明らかな変化は認められなかった。At-211の体外への排出は糞よりも尿からの排出が多かった。

胃がん肝転移モデルにおけるAt-211トラスツズマブの治療効果と毒性

肝転移モデルにおいても単回静脈内投与で良好な治療結果が得られており、現在までのところ明らかな毒性も認められていない。現在、より詳細な解析を行っている。

4. まとめ

本研究により、HER2高発現の転移性胃がんに対して、At-211トラスツズマブによるアルファ線放射免疫療法が効果的な治療の選択肢となり得ることが動物実験で実証された。

5. 発表論文

Li HK, Morokoshi Y, Nagatsu K, Kamada T, and Hasegawa S.

Locoregional therapy with α -emitting trastuzumab against peritoneal metastasis of human epidermal growth factor receptor 2-positive gastric cancer in mice

Cancer Science 108; 1648-1656 (2017)