

厚生労働科学研究委託費（革新的がん医療実用化研究事業）
委託業務成果報告（業務項目）

特異的蛍光内視鏡技術を用いた特異的治療

担当責任者 東京慈恵会医科大学 内科学講座 消化器・肝臓内科 光永真人
国立がん研究センター中央病院・ 消化管内科 医長 山田 康秀

研究要旨

がん特異的モノクローナル抗体(trastuzumab)に光感受性蛍光プローブ(IR700)を結合させた化合物と抗がん剤を併用した治療法によって、分子標的の特異的な蛍光診断および蛍光分子イメージングをガイドとした光線治療(photoimmunotherapy)の効果を増強させることが可能であった。

A．研究目的

モノクローナル抗体やチロシンキナーゼ阻害剤などの分子標的薬を用いたがん治療法は近年の医療に広く普及するようになり、がん患者の予後改善に寄与している。一方で、これらの薬が単独でがん患者に効果を示す疾患は限りがあるため、モノクローナル抗体に放射性物質(radioimmunotherapy; RIT)やトキシン(imunotoxin; ITT)を結合させ、抗体を標的組織へのキャリアーとして使用する方法が開発され臨床応用されているが、治療効果には限界がある。申請者らは蛍光プローブ IR700 とがん治療用モノクローナル抗体を用いて、新たながん特異的近赤外光治療法 photoimmunotherapy を開発し報告してきた。この方法により、消化器内視鏡や手術時における分子標的の特異的な蛍光イメージング(標的分子の発現診断つまりがんの存在診断)とその治療および治療効果判定を近赤外光の照射のみで行うことが可能となった。

本研究では photoimmunotherapy の効果を増強するための方法について preclinical model を用いて検討した。

B．研究方法

HER2 強発現している胃がん細胞株である NCI-N87 および HER2 非発現胃がん細胞株 MKN-45 を対象とした。HER2 標的モノクローナル抗体である trastuzumab に対して蛍光プローブ IR700 を結合させた化合物を作製した (Tra-IR700)。上記細胞株に対する Tra-IR700 と近赤外光照射による細胞障害性および抗がん剤 5-FU による細胞障害性、さらに、併用治療による治療効果について検討した。

次に、ヌードマウスに上記細胞株を移植した腫瘍モデルを作製し、腫瘍生着後に Tra-IR700 を静注し、in vivo イメージングシステムにて IR700 の局在を経時的に評価した。IR700 の局在した腫瘍に対して、近赤外光を照射し、腫瘍体積の変化について in vitro と同様の検討を行った。(倫理面への配慮)本研究の内容は東京慈恵会医科大学実験動物委員会により承認を受けて、動物愛護的に施行された。

C．研究結果

フローサイトメーターによる HER2 分子発現の解析では、NCI-N87 細胞においてその発現を強く認めしたが、MKN-45 細胞においてはその発現は極めて限られていた。各細胞株の MTS assay

による 5-FU の IC₅₀ 濃度は NCI-N87 細胞 4.623 ± 0.421 μM (mean ± SE)、MKN-45 細胞 3.52 ± 0.829 μM であった。上記細胞株において、Tra-IR700 および IC₅₀ 濃度の 5-FU と 24 時間反応後、洗浄してから近赤外光の照射を行った細胞の細胞膜障害性は、HER2 陽性の NCI-N87 細胞において trastuzumab による抗体依存性細胞障害性 (ADCC) に加えて、近赤外光の照射量に依存した細胞障害性を認め、その効果は 5-FU の添加により優位に増強された。一方で HER2 を発現しない MKN-45 細胞においてはわずかに 5-FU の効果がみられるのみで、trastuzumab や近赤外光による細胞障害性は認めなかった。

nu/nu マウスに NCI-N87 細胞および MKN-45 細胞を 3~5 × 10⁶ 細胞の皮下移植し、腫瘍モデルを作製したところ、7 日後には径 5mm 程度の腫瘍が生着した。この時点で 50 μg の Tra-IR700 を静注したところ、HER2 特異的な IR700 の局在を *in vivo* イメージングシステムにて 24 時間後より確認可能であった。IR700 の標的腫瘍特異的な集積は、Tra-IR700 静注 24~48 時間後に最も高かった。そこで、Tra-IR700 静注 24 時間後に IR700 集積腫瘍に対して近赤外光を照射すると、対照群に比して腫瘍体積の増大を抑制することが可能であった。更に、その効果は 5-FU の併用投与により増強された。

D . 考察

がん特異的モノクローナル抗体に IR700 を結合させた化合物と抗がん剤を併用した治療法によって、分子標的・特異的な蛍光診断および蛍光分子イメージングをガイドとした光線治療 (photoimmunotherapy) の効果を増強させることが可能であった。

E . 結論

Photoimmunotherapy は正常組織への障害が少ない低侵襲な治療法であり、本研究の結果を基に、今後の臨床応用が展開されることが期待される。

F . 健康危険情報

該当なし

G . 研究発表

1 . 論文発表

1)Watanabe R, Hanaoka H, Sato K, Nagaya T, Harada T, Mitsunaga M, et al. Photoimmunotherapy targeting prostate-specific membrane antigen: are antibody fragments as effective as antibodies? J Nucl Med. 2015;56:140-4.

2 . 学会発表

1)Activatable Optical Imaging Probes Targeting Prostate-Specific Membrane Antigen; The Role of Antibody Fragment Platform and short PEG linker
Rira Watanabe; Kazuhide Sato; Hirofumi Hanaoka; Toshiko Harada; Takahito Nakajima; Makoto Mitsunaga; Insook Kim; Chang Paik; Anna M. Wu; Peter Choyke; Hisataka Kobayashi. WMIC2014, Seoul, Korea.

2)Photoimmunotherapy Targeting Prostate-Specific Membrane Antigen; The Role of Antibody Fragment Platforms
Rira Watanabe; Kazuhide Sato; Hirofumi Hanaoka; Toshiko Harada; Takahito Nakajima; Makoto Mitsunaga; Insook Kim; Chang Paik; Anna M. Wu; Peter Choyke; Hisataka Kobayashi. WMIC2014, Seoul, Korea.

H . 知的財産権の出願・登録状況 (予定も含む。)

1 . 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし