

放射線災害・医科学研究拠点

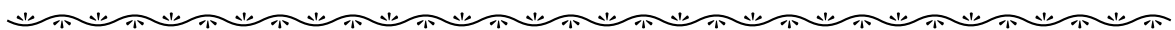
ニュース レター

2022
Vol.10

contents

放射線災害・医科学研究拠点 第5回カンファランス報告	1
広島大学原爆放射線医科学研究所 放射線先端医学実験棟が完成（広島大学）	3
長崎大学 被ばく医療総合研修センターの 開所について（長崎大学）	9
幹細胞を標的とした ²¹¹ At 標識抗 CXCR4 抗体による急性骨髄性白血病の標的 α 線治療 （福島県立医科大学）	12
2022年度 放射線災害・医科学研究拠点 共同研究課題公募要項	16

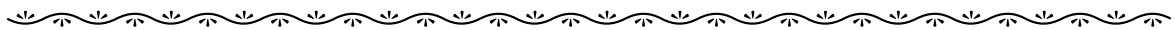


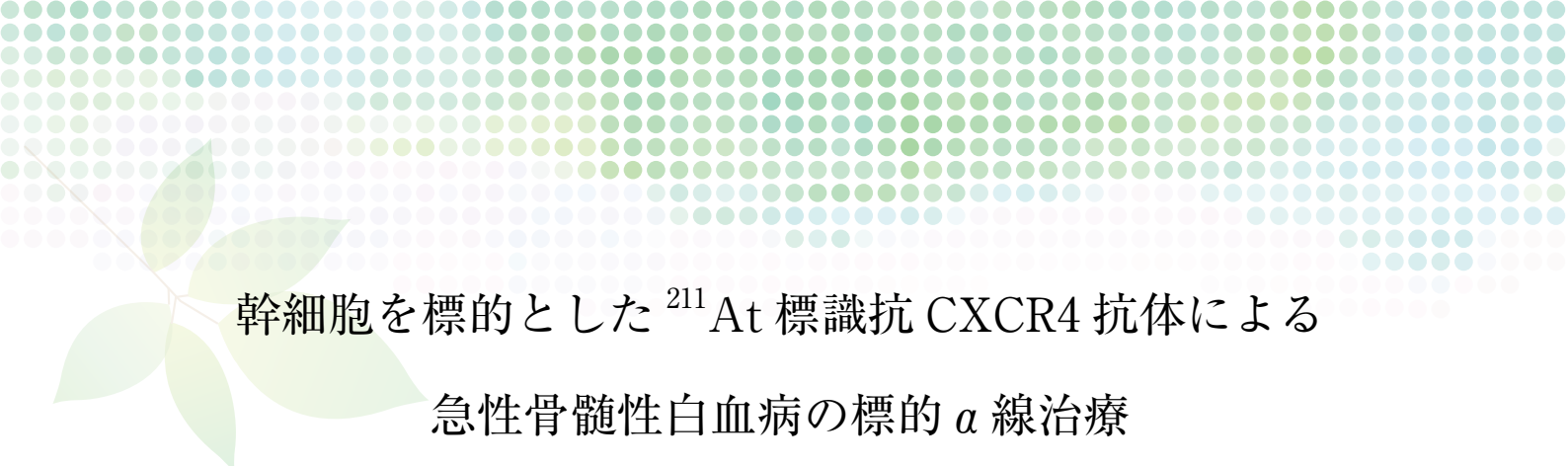


表紙写真について

福島県立医科大学 ふくしま国際医療科学センター PET/MRI

PET (positron emission tomography) は様々な放射性薬剤を用いることにより、各種の生体機能を画像化することができる装置であり、がんの進行度や再発の診断などに用いられている。一方、PET の空間分解能は正確な生体の形態情報を得るには不十分であるため、形態情報を得る画像診断装置である CT を組み合わせた PET/CT 装置が開発され広く普及している。MRI (magnetic resonance imaging) は CT と比べ組織コントラストに優れ、より精度の高い形態情報を得ることができる画像診断装置である。MRI 装置の内部に PET 装置を組み込んだ統合型 PET/MRI 装置は、MRI の磁場中で PET を正確に動作させる技術が完成して実現した装置であるが、その国内第 1 号機が本学に設置されている。PET と MRI を同時に撮像できるという利点を生かし、主に頭頸部や骨盤部のがんの診断に用いられている。





幹細胞を標的とした²¹¹At 標識抗 CXCR4 抗体による 急性骨髄性白血病の標的 α 線治療

福島県立医科大学 Fukushima International Medical Science Center 教授 織内 昇

【本研究のポイント】

- ・がん幹細胞 (CSC) を標的とした治療が有効との仮説をもとに、腫瘍の微小環境で CSC を標的とした飛程が短くエネルギー特性の優れた α 線による治療が有用と考え、急性骨髄性白血病 (AML) に対する抗 C-X-C chemokine receptor type4 (以下、CXCR4) 抗体による新規の放射免疫療法を着想しました。
- ・α 線放出核種アスタチン 211 (²¹¹At) 標識抗 CXCR4 抗体を作製し腫瘍モデルにおける薬物動態解析と吸収線量評価を行いました。
- ・治療の有効性を示す薬物動態と腫瘍吸収線量ならびにリスク臓器の許容しうる毒性指標が得られたことから、²¹¹At 標識抗 CXCR4 抗体による AML 治療の有用性が示唆されました。

【背景】

CXCR4 は、7 回膜貫通型のケモカイン受容体で、細胞内のシグナル伝達を介した細胞分裂と運動性の亢進、すなわち腫瘍の増殖、浸潤ならびに転移の促進に関与しています。CXCR4 は正常細胞にも発現しますが、がん幹細胞 (CSC) に広く発現し、多くの固形癌や血液腫瘍における発現が報告されています。

腫瘍組織を構成する細胞には多様性があり、がん細胞が免疫細胞や間質細胞を制御して腫瘍の生存や増殖に有利な微小環境を形成しています。腫瘍細胞自体も均一ではなく、腫瘍組織に存在する CSC は、自己複製するとともに前駆細胞とし

て分化・増殖し、分化した細胞とともに腫瘍を形成するという階層性モデルが提唱され支持されています。治療抵抗性の獲得や再発には様々な因子が関与していますが、CSC は治療に抵抗性を示す腫瘍細胞のクローンを誘導し、治療抵抗性の細胞が優勢になることにより、腫瘍の増大とともに悪性度が増してその治療は臨床的に無効となります。したがって腫瘍増悪の鍵となる CSC を標的とした治療が癌の制圧に有用と考えられます。

核医学治療は、¹³¹I が放出する β 線によるバセドウ病や分化型甲状腺癌の治療が主体でしたが、近年 α 線核種の臨床応用が可能となり、β 線核種で治療効果が不十分な癌に対して α 線核種が有効であった臨床例が数多く報告され脚光を浴びています。α 線は飛程が 100 μm 未満と短く β 線よりも線エネルギー付与や生物学的効果が大きいため、標識薬剤を取り込んだ組織の障害が大きい反面、周囲の正常組織への影響は小さくなります。α 線核種による治療は、わが国でも保険診療として実施されている²²³Ra (塩化ラジウム) による去勢抵抗性前立腺癌骨転移の治療の他、海外ではアスタチン (²¹¹At)、ビスマス (²¹³Bi)、アクチニウム (²²⁵Ac) などを用いた臨床研究が行われています。最も注目を集めているのは²²⁵Ac-DOTATATE による神経内分泌腫瘍の治療と²²⁵Ac-PSMA-617 による前立腺癌の治療です。これらは β 線核種であるルテチウム (¹⁷⁷Lu) 標識体に不応あるいは再発した患者に投与して寛解に導いた成績が報告され、標的 α 線治療 (Targeted α-particle Therapy: TAT)

として今後の発展が期待されています。

α 線による核医学治療は、飛程が短い特徴から血液腫瘍に対する治療が有効と考えられることから、CXCR4に対する抗体に α 線放出核種 ^{211}At を標識した治療薬によるCXCR4を標的とした治療の開発を目的として ^{211}At 標識抗CXCR4抗体(^{211}At -CXCR4 mAb)の薬物動態と吸収線量を評価するpreliminaryな研究を行いました¹⁾。

【研究方法】

抗CXCR4抗体(Abcam, UK)に ^{211}At および ^{125}I を標識し、 ^{211}At -CXCR4 mAbおよび ^{125}I -CXCR4 mAbを作製しました。 ^{125}I は市販の ^{125}I sodium iodide (Perkin Elmer, USA)を購入し、 ^{211}At は本学のサイクロトロンMP-30 (Sumitomo Heavy Industry, Japan)で製造・精製を行い使用しました。腫瘍系としてヒト急性骨髄性白血病(AML)細胞株U937 (ECACC, UK)を10%牛胎児血清、ペニシリンならびにストレプトマイシンを添加したRPMI1640培養液中で5% CO_2 、37°Cの条件で培養しました。

8週齢の雄BALB/cマウスの背部皮下に、 1×10^7 個のU937細胞を注射し、腫瘍モデルを作製しました。投与後2-3週、腫瘍体積が200-300 mm^3 となった時点で摘出した腫瘍をホルマリン固定した後パラフィンに包埋して染色用切片を作製し、CXCR4抗体による免疫組織染色を行い、マウスモデルの腫瘍におけるCXCR4の発現を確認しました。

次に ^{211}At -CXCR4 mAbおよび ^{125}I -CXCR4 mAbの腫瘍集積ならびに体内動態を明らかにするため、腫瘍モデルにおける経時的な体内分布を測定しました。腫瘍長径が10mm程度となった時点で、標識抗体を抗体量5 $\mu\text{g}/100 \mu\text{L}$ に調整して各々320kBq、60kBqを尾静脈から投与し、1分、1、6および24時間後に動物を安楽死させ、体重を

測定した後、血液と主要な臓器および腫瘍を摘出しました。それらの検体は、重量と放射能を測定し、標識抗体の腫瘍および臓器への集積を% ID/gで定量化しました。甲状腺は正確な重量が測定できないため、% IDで定量化しました。動物実験は機関の動物実験委員会で承認された計画書に基づき、動物実験規程を順守して実施しました。

治療の有効性と毒性を評価する目的で、線量計算ソフトOLINDA/EXM ver.2.0 (Hermes Medical Solutions, Sweden)を用いてマウス体内動態のデータから外挿してヒトの臓器吸収線量を算出しました。また同じ線量計算ソフトを用いて球体モデルによる解析から腫瘍の吸収線量を求めました。

【研究成果】

U937腫瘍の免疫組織染色では、腫瘍細胞の細胞膜と細胞質が染色され、U937はCXCR4を発現していることを確認しました。U937移植ヌードマウスにおける ^{211}At -CXCR4 mAbの血中動態は ^{125}I -CXCR4 mAbよりやや速く、血中半減期はそれぞれ15.0時間、18.0時間でした。両者の体内分布は多くの主要臓器において相同でしたが、甲状腺は ^{211}At -CXCR4 mAbが ^{125}I -CXCR4 mAbと比較して著明に高く、 ^{211}At -CXCR4 mAbの体内での不安定性と脱アスタチン化が示唆されます。

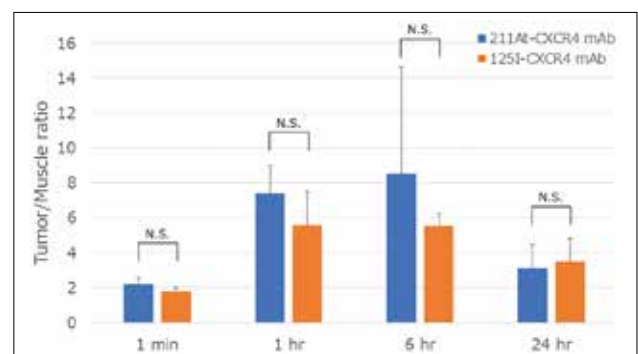


図1 : U937移植マウスにおける ^{211}At -CXCR4 mAbおよび ^{125}I -CXCR4 mAb投与後の腫瘍対筋肉比 (Sci Rep. 2020 Apr 22;10 (1):6810.)

腫瘍対筋肉比は、1時間後から6時間後で最も高く、24時間後には低下しました（図1）。一般にIgGは血中動態が遅いため、 ^{211}At のように物理学的半減期が7時間と短い核種による治療には、より血中動態の早い抗体フラグメントの使用やプレターゲットング法の応用によって腫瘍対バックグラウンド比を高める必要があると考えられています。しかし抗体の血中動態や腫瘍集積は、腫瘍や抗体によって変わり得るものであり、今回の結果は、 ^{211}At の物理学的半減期を考慮すると適当な薬物動態であり、使用した抗体は ^{211}At による治療応用に適しているものと考えられます。

以上より、 ^{211}At -CXCR4 mAbは体内で一定程度不安定であるが、U937腫瘍に発現するCXCR4に集積し、その集積は治療効果を与え得る程度に持続しているものと推察されます。

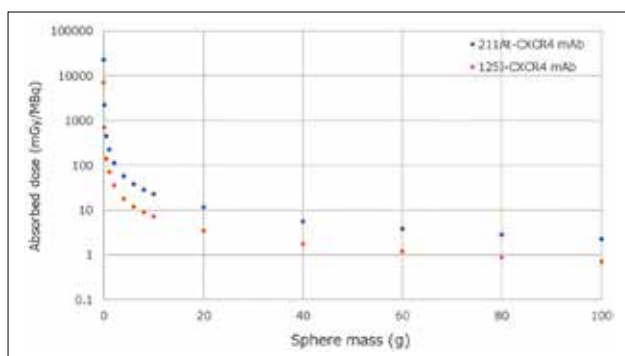


図2：U937移植マウスにおける ^{211}At -CXCR4 mAbおよび ^{125}I -CXCR4 mAb投与後の腫瘍吸収線量
(Sci Rep. 2020 Apr 22;10(1):6810.)

腫瘍の吸収線量は、実験に用いたマウスモデルの腫瘍の重量として ^{211}At -CXCR4 mAbについては 0.299 ± 0.249 、 ^{125}I -CXCR4 mAbについては 0.116 ± 0.024 を用いて算出しました（図2）。そのため ^{211}At -CXCR4 mAbの吸収線量が3倍程度大きい値となりました。腫瘍が10gの場合、 ^{211}At -CXCR4 mAbの吸収線量は22.8mGy/MBq、腫瘍対骨髄比と腫瘍対腎臓比は、それぞれ44.5、79.4となりました。

【考察と今後の展望】

CSCを標的としたAMLの α 線による放射免疫療法の開発を目的として、CXCR4に対する抗体を ^{211}At で標識した ^{211}At -CXCR4 mAbの腫瘍モデルにおける薬物動態の解析と線量評価を行いました。 ^{211}At -CXCR4 mAbの血中半減期は15時間であり、 ^{211}At の物理的半減期7時間と比較して大きな不均衡はありませんでした。投与後6時間の腫瘍集積は5.05% ID/g、腫瘍対筋肉比は 8.51 ± 6.14 でした。ヒト成人ファントムに外挿した吸収線量は、骨髄が0.512mGy/MBq、腎臓が0.287mGy/MBq、他の主要臓器はいずれも1mGy/MBq未満でした。腫瘍の吸収線量は、腫瘍が10gの場合に22.8mGy/MBqであり、その場合に腫瘍と対比したリスク臓器の許容線量の指標とされるTherapeutic indexは、腫瘍対骨髄比と腫瘍対腎臓比がそれぞれ44.5と79.4であり概ね許容範囲内でした。

本研究で用いた ^{211}At -CXCR4 mAbの腫瘍集積は、他の放射免疫療法に用いる標識抗体と比較して十分には高くありませんでしたが、これはCXCR4が腫瘍特異的な抗原ではなく、使用した細胞のCXCR4発現が低い可能性や使用した抗体のCXCR4抗原への親和性などの可能性が考えられます。本研究では、用いた細胞のCXCR4発現を定量化していませんが、in vitroにおいて標識抗体の細胞結合は、非標識抗体によって阻害されることを確認しており、標識抗体は抗体活性を有しCXCR4抗原に結合していることは明らかです。 ^{211}At -CXCR4 mAbは、腫瘍が発現するCXCR4に特異的に結合し、腫瘍モデルにおいて高い腫瘍対筋肉比が得られたことから、今回のAML腫瘍モデルに対する ^{211}At -CXCR4 mAbによる治療は、合理性があるものと考えられます。

放射線治療では、線量分布に基づいて必要な線量を腫瘍に集中させ、周囲の正常臓器への線量を

可能な限り少なくする治療計画が行われます。核医学治療は、病巣に特異性が高く体内で安定な放射性薬剤を製造したうえで、薬剤の体内分布から線量計算を行い、前述の用量制限因子となる臓器の吸収線量を限度以下に抑えられるよう投与量を含めた投与方法を最適化して治療を行います。腫瘍の血流、細胞密度や組織の不均一性、組織の低酸素など治療効果に影響する要因は多くありますが、線量評価に基づく治療は合理的であり、それによって制御率の向上と合併症の軽減が期待できます。本研究で得られた Therapeutic index は、腫瘍対骨髄比が 44.5 であり、理想とされる 50 には届きませんでした。血液腫瘍であることを考えると、腫瘍細胞は血中に浮遊するか、あるいは骨髄中でコロニーを形成していることが推測されるため、実際には十分な Therapeutic index が得られるものと考えられます。

核医学によるがん治療では、これまで線量評価に基づいて個別化した治療計画はされず、体重あたり一定量の投与や経験的な投与が行われてきましたが、今後の治療開発や臨床応用では、骨髄および副作用が問題となり得る臓器の吸収線量の評価が望まれます。 α 線の線量評価、特に細胞レベルのマイクロドシメトリーは確立していない中で、single cell で血中に浮遊し骨髄中でも少数の細胞がコロニーを形成していることが推測される血液腫瘍の血液毒性や臓器毒性ならびに治療効果を予測する線量評価は課題です。それは同時に正常細胞の障害の評価にもつながります。そのことを踏まえて、筆者は ^{211}At による正常細胞障害を染色体解析によって評価する研究を行っています。

標識薬剤の病巣集積を画像化し定量化することは、臨床的には線量評価の他に、治療適格性や毒性予測にも役立つ情報を与えるとともに、治療効果や予後を予測するサロゲートマーカーともなり得ます。最近の治療薬は遺伝子発現や変異をパネ

ル検査で明らかにして適応決定するものが多くあります。したがって画像マーカーとしては、遺伝情報の下流にある分子の発現を評価する標識薬の開発も重要です。新規薬剤の開発において、全身の薬剤分布を画像化して腫瘍やリスク臓器の吸収線量を定量化することは、非臨床動物試験による安全性と有効性の検証のカギとなります²⁾。標的臓器の吸収線量を推定して最大耐量や用量制限毒性を評価し、薬理試験により薬物動態のデータから薬効量を決定する際にも、画像による評価には大きな役割があります。

今回の研究成果をもとに、AML の他、同様に CXCR4 を発現し放射線感受性の高い悪性リンパ腫や固形がんに対しても、本治療法の有効性についての原理実証や、 α 線による正常細胞の障害など、効果と安全性の観点からの検討を行い、TAT の実用化に向けた研究を続けていく所存です。

【謝辞】 本研究は、ふくしま国際医療科学センター 趙 松吉教授をはじめとする研究者による核種製造、標識合成、動物実験等、および血液内科学講座 池添隆之教授の貢献による成果であることを特記し深甚なる謝意を表します。

【文献】

1. Oriuchi N, Aoki M, Ukon N, Washiyama K, Tan C, Shimoyama S, Nishijima K, Takahashi K, Ito H, Ikezoe T, Zhao S. Possibility of cancer-stem-cell-targeted radioimmunotherapy for acute myelogenous leukemia using ^{211}At -CXCR4 monoclonal antibody. *Sci Rep.* 2020 Apr 22;10 (1) :6810. doi:10.1038/s41598-020-63557-9.
2. 織内 昇. 我が国の Theranostics の現状 現行の核医学治療における画像の役割と新規治療開発への展開 *臨床放射線* 64 : 1505-1511, 2019.