

悪性褐色細胞腫に対する α 線の治療効果— ^{211}At -MABG の標的アイソトープ治療薬としての基礎的評価—



石岡 典子

Ishioka Noriko

((国研)量子科学技術研究開発機構 高崎量子応用研究所 放射線生物応用研究部)

1 はじめに

がん放射線をあて、細胞の増殖を抑えたり、死滅させたりする治療法を放射線治療という。放射線治療というと体の外から放射線をあてる外照射を指すことが多いが、体の内側からがん放射線をあてる内照射による治療法も存在する。内照射の中でも、放射性医薬品として体内に投与した放射性同位元素(RI: ラジオアイソトープ)を用いた治療は、標的アイソトープ治療やRI内用療法と呼ばれている。外照射があらかじめ照準を定めた局所治療であるのに対し、標的アイソトープ治療は全身性の治療である。投与した放射性医薬品は、体内循環により病巣を見つけ出し、がん細胞を照射する。散在するがん細胞に対しても対応可能であることから、体内に潜んでいるがん細胞をくまなく死滅させるような大きな効果も期待できる。がん細胞に取り込まれる化合物にRIを組み込み、がん特異的にRIを送り込んで近接照射するための放射性医薬品は、標的アイソトープ治療において大きな効果を得るために重要な役割を担っている。

本稿では、悪性褐色細胞腫の標的アイソトープ治療を目指して開発した α 線治療薬、 ^{211}At -MABGの開発過程から前臨床における治療効果について紹介する。

2 悪性褐色細胞腫と治療の現状

褐色細胞腫は、主に副腎の髄質に発生する腫瘍で、カテコラミンというホルモンを無秩序に産生・分泌し、高血圧や糖尿病を併発させる。全国の推定患者数は約3,000人と僅かであり、稀少疾患である。褐色細胞腫の90%は良性の疾患で、手術治療により治癒が期待できるが、約10%は再発・遠隔転移を伴う悪性である。悪性の場合、外科手術による根治は難しく、従来、抗がん剤の併用や ^{131}I 標識 meta- ^{131}I iodo-benzylguanidine(^{131}I -MIBG)による β 線の標的アイソトープ治療などが行われてきたが、腫瘍の完全消失まで到達することが少なく、増殖抑制等に留まっていた。悪性褐色細胞腫の根治例はごく稀であり、確実に有効な治療方法が無いのが現状である¹⁾。このような背景から、筆者らは、現在よりも腫瘍だけを集中的に攻撃する効果の高い治療を実現するため、 α 線による標的アイソトープ治療を計画した。

3 α 線の標的アイソトープ治療

昨年(2016年)6月、我が国において初めての α 線放出放射性医薬品、ゾーフィゴ®(塩化ラジウム、 $^{223}\text{RaCl}_2$)が承認された。ゾーフィゴ®が対象とする疾患は、骨に転移した去勢抵抗性前立腺がんであり、骨に集まる ^{223}Ra の性質と ^{223}Ra が出す α 線により、

表1 α 線と β 線の違い

	α 線	β 線
LET 線エネルギー付与	50~100 keV/ μ m	< 0.2 keV/ μ m
イメージ		
RBE 生物学的効果比	3~5	1
飛程	0.05 ~ 0.1 mm	0.2 ~ 10 mm

病巣の選択的かつ効果的な照射が可能である。これまで認可されてきた β 線を有効成分とする治療薬に対し、 α 線を有効成分とするゾーフィゴ[®]は、がん細胞を死滅させる破壊力が大きい上、正常な細胞に影響を及ぼすことが比較的少ない。表1に、 α 線と β 線の特徴をまとめた。 α 線の照射は、単位距離当りに与えるエネルギーが、 β 線の25-50倍程高いため、DNAの二重鎖切断やクラスター損傷を引き起こし、より多くの修復しにくいDNA損傷を与えることから、生物学的効果比（RBE）が大きい。加えて、放射線が到達する距離（飛程）は、0.1 mm以下であることから、細胞数個分の照射となり、周囲の正常細胞に与える影響は限定的である。標的アイソトープ治療そのものが、抗がん剤などと比較して選択性が高く効果的である中、 α 線を利用した標的アイソトープ治療は特に効果が高く、海外では多様なRIを用いた新しい療法が盛んに行われている。一方、現在国内で利用されている標的アイソトープ治療用薬剤はすべて輸入されたものであり、自国開発が進んでいる海外に比べ、国内の対応は遅れているといえる。

4 アスタチン211 (^{211}At)

アスタチンはハロゲン族に属する元素で、安定同位体無く、長いものでも半減期8時間程度の寿命の放射性同位体しか存在しない。このうち、 ^{211}At はがん治療に有用な α 線を放出し、安定な鉛 $^{207}(\text{Pb})$ に壊変する(図1)。 ^{211}At の半減期は7.2時間であり、治療を目的とする核種としては比較的短い

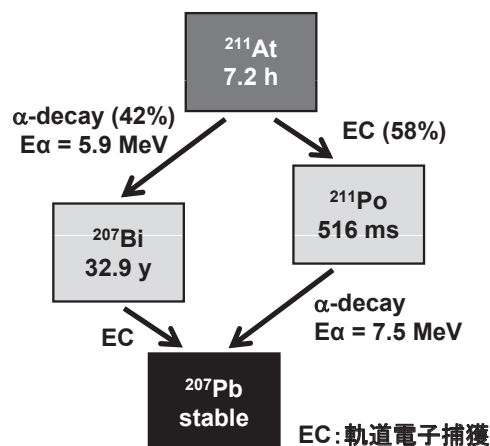


図1 ^{211}At 壊変図

放射性物質由来ではなく、加速器を用いて製造できることが最大のメリットである。半減期の短さについては、反復投与等、投与法の最適化やがん細胞に迅速に集積するRI運搬体の開発などにより、十分克服できると考えられる。RI運搬体の開発については、放射性医薬品に古くから利用されてきた放射性ヨウ素と同族であることから、類似の薬剤設計が活用できる。

5 ^{131}I -MIBG から ^{211}At -MABG へ

褐色細胞腫細胞膜上には、ノルエピネフリントランスポーター（NET）と呼ばれる輸送担体が存在し、細胞外に存在するノルエピネフリン等のカテコールアミンを細胞内へ積極的に取込み再利用する機構が備わっている²⁾。この機構に着目して開発された ^{131}I -MIBGは、NETを介して褐色細胞腫細胞内へ取り込まれ、細胞内に蓄積される^{2,3)}。そのため、 ^{131}I -MIBGは褐色細胞腫に高集積、滞留することが可能であり、 ^{131}I から放出される β 線によってがん細胞を破壊することができる。筆者らは、これまで、褐色細胞腫の画像診断薬として ^{76}Br 標識 meta- ^{76}Br bromo-benzylguanidine (^{76}Br -MBBG)を開発し、PETイメージングによって腫瘍を明瞭に描出できることを明らかにした⁴⁾。この開発過程において、MBBGの体内分布や腫瘍集積性について、臨床応用に用いられてきたMIBGと比較したところ、両化合物間で特徴が一致していることが分かった。この結果は、MIBGに異なるRIを標識しても、ハロゲン元素であれば標的指向性を維持できることを示して

いる。そこで、筆者らは、 ^{131}I の代わりに ^{211}At を標識した *meta*- ^{211}At]astato-benzylguanidine (^{211}At -MABG) の開発を進め、悪性褐色細胞腫の標的アイソトープ治療薬剤としての有用性について検討した。

6 ^{211}At -MABG の治療薬としての評価

^{211}At は Bi 板をターゲットとし、 ^{209}Bi ($\alpha, 2n$) ^{211}At 反応によって製造した^{5,6)}。典型的な ^{211}At 製造では、28 MeV の He ビームを $3.5\mu\text{A}$ で 3 時間照射すると、約 160 MBq (照射直後換算) の ^{211}At を得ることができる。ターゲット中に生成した ^{211}At は、乾式蒸留法を用いて分離し、続く標識原料とした。 ^{211}At -MABG は、Vaidyanathan G. らの報告を参考とし⁵⁾、酸化剤である *N*-chlorosuccinimide 存在下において、標識前駆体に ^{211}At を反応させ、合成した (図 2)。得られた粗反応物を、高速液体クロマトグラフィにより精製し、以降の評価実験に使用した。

合成した ^{211}At -MABG の性能を、生体内外での安定性、細胞取込、細胞障害性、生体内分布、抗腫瘍効果等の観点から評価した。

^{211}At -MABG の細胞内取込については、ラット褐色細胞腫細胞株 (PC12) を用いて実施した。 ^{211}At -MABG は、添加直後から 3 時間後まで急激に取込まれ、その後、12 時間後まで緩やかに上昇し、最大値を示した。更に、PC12 におけるノルエピネフリントランスポーターの mRNA 発現確認、ノルエピネフリントランスポーターの選択的阻害薬 (desipramine) 及び競合阻害薬 (dl-NE) による ^{211}At -MABG の細胞内取込の抑制を確認した。これらの結果から、 ^{211}At -MABG がノルエピネフリントランスポーターを介して細胞内に取り込まれていることを明らかにし、 ^{131}I -MIBG と同様の集積機序を有していると結論付けた。

次に、PC12 に取り込まれた ^{211}At -MABG の α 線が与える細胞障害活性を、コロニー形成法による細



図 2 ^{211}At -MABG 合成反応 (文献 10) より抜粋)

胞増殖抑制効果として求めた。その結果、0.2 kBq/ml から放射能濃度依存的にコロニー増殖が抑制されることを確認した。この結果は、 ^{131}I -MIBG の報告と比較すると、 ^{211}At -MABG は ^{131}I -MIBG の 1/500 – 1/1,000 の放射能濃度によって ^{131}I -MIBG と同等の細胞増殖抑制効果を誘導しており⁷⁾、 ^{211}At -MABG の強力な細胞増殖抑制効果が明らかとなった。更に、 ^{211}At -MABG 添加 24 時間後には、DNA 二重鎖切断、細胞周期停止、細胞死が認められたため、これらの細胞応答が細胞増殖抑制に関与したと示唆される。

ここまで、 ^{211}At -MABG は、 ^{131}I -MIBG と同様の集積機序を示し、500-1,000 倍の細胞毒性を有していることが確認できたが、実際に動物モデルにおいて褐色細胞腫へ高く集積するか、治療効果が得られるか、についてはまだ不明である。そこで、PC12 移植マウスにおける ^{211}At -MABG の体内動態を調べた。具体的には、1 匹あたり 0.1 MBq の ^{211}At -MABG を投与した PC12 移植マウスについて、1, 3, 6, 12 時間後に腫瘍をはじめとする各臓器を取り出して ^{211}At 放射能量を定量し、投与放射能量に対する集積放射能量の割合を求め、臓器 1 g 当たりに換算し比較した。腫瘍へは、1 時間後から高い集積性を示し、3 時間後をピークとしてその後も滞留性を示した (図 3 A)。一方、 ^{211}At -MABG の血液中からの消失は早く、投与 1 時間後の血中濃度は、投与 ^{211}At -MABG に対して 1 % 未満であった (図 3 B)。体内における ^{211}At -MABG の安定性については、 ^{211}At を投与した場合に他臓器よりも集積が顕著な脾臓、胃、肺、甲状腺⁸⁾ に対して高い集積や滞留が認められなかったことから、体内で ^{211}At は脱離することなく、

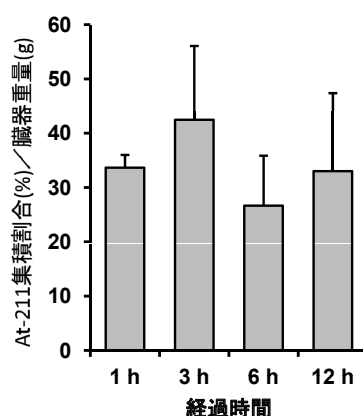


図 3 A PC12 移植マウスにおける ^{211}At -MABG 投与後の腫瘍内放射能の経時変化 (n=3) (文献 10) より抜粋)

$^{211}\text{At-MABG}$ として安定に存在したと推察される。

$^{211}\text{At-MABG}$ の動物モデルにおける抗腫瘍効果の検証のため、PC12 移植マウスに 1 匹あたり 0.56MBq の $^{211}\text{At-MABG}$ を初日に 1 回だけ投与し、30 日間にわたり腫瘍体積を計測した。7 日後の腫瘍は、初日の約半分まで縮小し、増殖抑制は 14 日後まで継続した（14 日後における相対腫瘍サイズ： $355.8 \pm 147.6\%$ (Control) vs. $58.4 \pm 14.1\%$ ($^{211}\text{At-MABG}$), $P < 0.05$) (図 4 A, B)。15 日以降の再増殖については、すべての細胞を死滅させる前に、 ^{211}At が減衰してしまったためと考えられる。今回の結果を、PC12 移植モデルにおける $^{131}\text{I-MIBG}$ を用いた治療実験⁹⁾と比較すると、 $^{211}\text{At-MABG}$ と $^{131}\text{I-MIBG}$ で投与方法が異なるものの、 $^{211}\text{At-MABG}$ は $^{131}\text{I-MIBG}$ の 1/40 ~ 1/100 の放射能を投与することで、 $^{131}\text{I-MIBG}$ と似た腫瘍縮小効果が得られた。実験中の体重減少が認められなかったことから、 $^{211}\text{At-MABG}$ (0.56MBq/匹)

は顕著な副作用なく抗腫瘍効果を誘導したと考えられる (図 4 C)。

7 まとめ

本研究によって、 $^{211}\text{At-MABG}$ は褐色細胞腫モデルにおいて高く集積し、副作用なく腫瘍サイズを縮小できることが明らかとなり、 $^{211}\text{At-MABG}$ の悪性褐色細胞腫治療への有用性が示唆された。一方、1 回の投与では再増殖が認められたことから、投与量の増加や反復投与による治療実験など、 α 線の治療効果を最大限に発揮できる様、 $^{211}\text{At-MABG}$ 治療の最適化が必要である。日本発 / 初の標的アイソトープ治療薬剤の臨床応用までの道のりはまだ長いですが、様々な課題を解決し、次なる安全性研究へと進めていきたい。

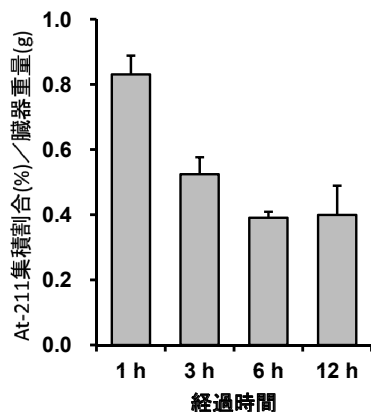


図 3 B PC12 移植マウスにおける $^{211}\text{At-MABG}$ 投与後の血中放射能の経時変化 (n=3) (文献 10) より抜粋)

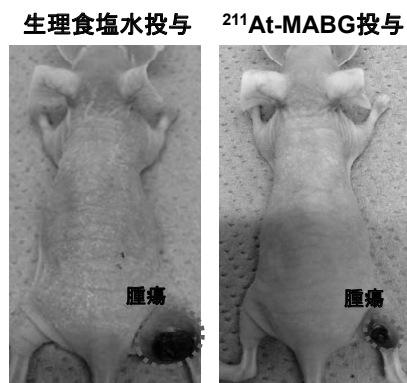


図 4 B 投与 14 日後のマウス写真 (文献 10) より抜粋)

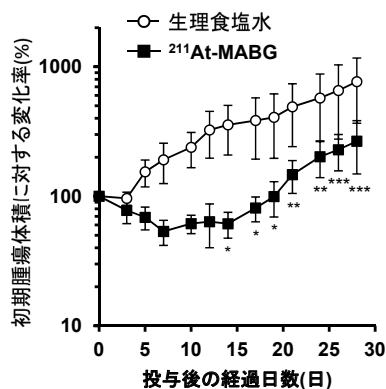


図 4 A PC12 移植マウスにおける $^{211}\text{At-MABG}$ 投与後の腫瘍サイズの経時変化、生理食塩水 (n=4), $^{211}\text{At-MABG}$ (n=5), 投与放射能 : 0.56MBq/匹, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ (文献 10) より抜粋)

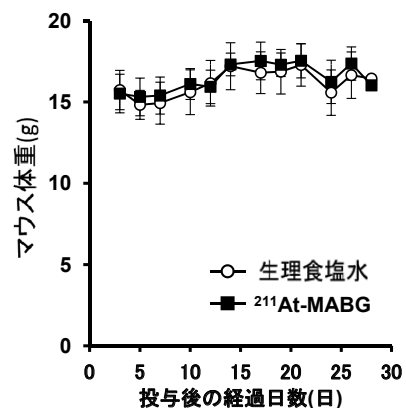


図 4 C PC12 移植マウスにおける $^{211}\text{At-MABG}$ 投与後の体重の経時変化 (文献 10) より抜粋)

文 献

- 1) 成瀬光荣, 立木美香, 難波多挙他, 褐色細胞腫の実態および診断基準と診療アルゴリズム, 日外会誌 **113**, 378-383 (2012)
- 2) Jaques, S., Jr, *et al.*, Sodium dependency of uptake of norepinephrine and m-iodobenzylguanidine into cultured human pheochromocytoma cells: evidence for uptake-one. *Cancer Research*, **47**, 3920-3928 (1987)
- 3) Smets, LA, *et al.*, Active uptake and extravesicular storage of m-iodobenzylguanidine in human neuroblastoma SK-N-SH cells., *Cancer Research*, **49**, 2941-2944 (1989)
- 4) Watanabe, S., *et al.*, PET imaging of norepinephrine transporter-expressing tumors using ^{76}Br -meta-bromobenzylguanidine., *Journal of Nuclear Medicine*, **51**, 1472-1479 (2010)
- 5) Vaidyanathan, G., *et al.*, 1-(m-[^{211}At]astatobenzyl)guanidine: synthesis via astatide demetalation and preliminary in vitro and in vivo evaluation. *Bioconjugate Chemistry*, **3**, 499-503 (1992)
- 6) Nagatsu, K., *et al.*, Production of ^{211}At by a vertical beam irradiation method., *Applied Radiation and Isotopes*, **94**, 363-371 (2014)
- 7) Cunningham, SH., *et al.*, Toxicity to neuroblastoma cells and spheroids of benzylguanidine conjugated to radionuclides with short-range emissions., *British Journal of Cancer*, **77**, 2061-2068 (1998)
- 8) Spetz, J., *et al.*, Biodistribution and dosimetry of free ^{211}At , ^{125}I - and ^{131}I - in rats., *Cancer Biotherapy and Radiopharmaceuticals*, **28**, 657-664 (2013)
- 9) Rutgers, M., *et al.*, [^{131}I] and [^{125}I] metaiodobenzylguanidine therapy in macroscopic and microscopic tumors: a comparative study in SK-N-SH human neuroblastoma and PC12 rat pheochromocytoma xenografts., *International Journal of Cancer*, **90**, 312-325 (2000)
- 10) 大島康弘, ^{211}At -MABG による悪性褐色細胞腫の治療—その基礎的検討と今後の展望—, 臨床画像, **33**, 405-413 (2017)