

分子イメージング技術を利用した抗癌剤の治療効果予測



藤井 博史 Fujii Hirofumi ((国研)国立がん研究センター)

1 がんの抗癌剤治療

がんを治癒に導くためには、体内からがん細胞を 排除することが求められる。がんの病巣が原発部位 に留まっていたり、あるいは、少数の転移病巣に留 まっている場合は、局所治療として、すべてのがん の病巣を外科的に摘除したり、それらに対して放射 線を照射することで、がんの根治を期待することが できる。しかし、これらの局所治療でがん病巣を制 御することが難しい場合は、全身療法として、抗癌 剤治療が考慮される。

最近は,免疫チェックポイント阻害剤のような薬 剤も開発されているが,多くの抗癌剤は,がん細胞 の分裂や代謝経路を障害することにより,がん細胞 の増殖を抑えている。抗癌剤の種類により,効果を 示すがん病巣は異なり,現状では,すべてのがん病 巣に効果を示す抗癌剤は得られていない。一方で, これらの抗癌剤は,正常細胞の分裂や代謝にも影響 を与える。正常細胞の個人差は比較的小さいため, 抗癌剤を投与された患者は同じような副作用に苛ま れることになる。このため,効果の期待できない患 者への抗癌剤の投与は,避けなければならない。し たがって,治療を開始する前に,その抗癌剤の有効 性を予測することは,治療の最適化を図る上で非常 に重要である。

2

抗癌剤治療の感受性予測

がん病巣の抗癌剤に対する反応を評価するため に、以前より抗癌剤感受性試験が検討されている。 抗癌剤感受性試験では、一般に、がん病巣から腫瘍 組織を採取し、得られたがん細胞やがん組織に抗癌 剤を曝露させて、これらのがん細胞やがん組織の増 殖を観察し、感受性を評価する¹¹ (図1)。

抗癌剤感受性試験で有効性が確認されない場合, その抗癌剤を用いた治療は無効である可能性が高い と考えられるが,抗癌剤感受性試験で有効性が確認 された場合においても,その抗癌剤を用いた治療が 必ずしも有効だとは言えない。この理由の1つとし



図1 抗癌剤感受性試験の1例

がん病巣から組織を採取し、それを種々の濃度の抗癌剤含有培地で培養 し、がん細胞の増殖を評価することで、その抗癌剤に対する感受性を予 測することができる て、抗癌剤の体内動態の問題が考えられる。

人体に抗癌剤を投与して、がんの治療を行う場合、 病巣に治療を行うのに十分な量の抗癌剤が分布しな ければ、治療効果を期待することは難しい。ほとん どの抗癌剤は、静脈から、あるいは、口から体内に 入った後、血流に乗って、がん病巣に到達し、がん 細胞に作用して、抗腫瘍効果を発揮するが、がん病 巣のみに選択的に分布し、そこで停滞し、薬効を発 揮してくれるような理想的な抗癌剤は未だ開発され ていないし、今後もそのような魔法の薬剤の出現を 期待することは難しい。

このため、抗癌剤治療に対する反応を予測するた めには、治療対象であるがん組織の抗癌剤に対する 感受性の評価に加えて、投与した抗癌剤のがん病巣 への分布や集積等の体内動態を確認することが求め られる。これには、投与薬剤あるいはそれと同様の 体内動態を示すことが知られている分子プローブの 体内分布を、分子イメージング技術を活用して *in vivo* で時間を追って観察することが有用である。

例えば、乳癌では、がん細胞の表面に HER2 と呼ばれる上皮成長因子受容体に類似した糖タンパク質がしばしば発現するために、これを標的とした乳癌治療が実施されているが、最近、乳癌病巣における HER2 発現の評価に関して、PET 核種 "Cu で標識した抗 HER2 抗体を利用した PET 検査の検討が始まっている²⁾(図2)。

また、一部の抗癌剤では、細胞内に移行した後に、



図 2 ⁴⁴Cu-DOTA-trastuzumab 乳癌 PET/CT 検査 HER2 発現乳癌病巣への PET 薬剤が集積することが示されている(国立 がん研究センター中央病院 栗原宏明博士の厚意による)

細胞膜に発現したポンプ機能を有した糖タンパク質 (P糖タンパク質等)によって、細胞外に汲み出さ れることが知られている。このような仕組みによる 抗癌剤への耐性の評価に関しては、細胞内に移行し た後にこれらの糖タンパク質によって細胞外へ汲み 出されるような分子プローブを投与して、がん病巣 への集積の経時的変化を *in vivo* イメージング検査 により観察することが抗癌剤感受性の予測に役立 つ³⁾。

一方で,抗癌剤の腫瘍への選択的な移行を促進さ せるための工夫も精力的に研究されている。薬剤送 達系(drug delivery system, DDS)の利用はその1つ で,適切な DDS を利用することにより, enhanced permeability and retention (EPR)効果が認められ, 抗癌剤を効率よく,がん病巣に分布させることがで き,がん病巣に対する治療効果を高め,非がん組織 への無用の障害を抑えることが期待できる⁴⁾。代表 的な DDS としては,脂肪成分からなる球体である リポソームや親水成分と疎水成分の両方を有する両 親媒性物質の会合体であるミセル,特定の抗原に対 して選択的な親和性を示す抗体等が挙げられる。

DDS 技術を用いた抗癌剤のがん病巣への分布は, 薬剤の輸送体であるリポソームやミセル等を分子プ ローブで標識して投与し, *in vivo* イメージング検査 を行うことにより,確認することが可能である。

3 抗癌剤治療の感受性予測における in vivo イメージング技術の応用

筆者らは、リポソームに代表的な抗癌剤であるド キソルビシンを封入した DDS 抗癌剤ドキソルビシ ン塩酸塩リポソーム注射剤(商品名:ドキシル[®]、 ヤンセンファーマ(株)、東京)の薬効の予測に、主 要な分子イメージング技術である核医学検査を応用 してみた⁵。

ヌードマウスに4種類のヒト卵巣癌細胞(Caov-3, SK-OV-3, KURAMOCHI, TOV-112D)を移植して作 成した動物モデルを対象とした。これらの4種類の 担がんマウスモデルにドキソルビシンとドキシル[®] を経静脈的に投与して,経時的に治療効果を観察し たところ,Caov-3,SK-OV-3の2種類のがん細胞を 移植したモデルでは,ドキソルビシンをそのまま投 与した治療に比較して,ドキソルビシンのDDS 製 剤であるドキシル[®]を使った方が,治療効果の有意 な改善が認められた。これに対して,KURAMOCHI, TOV-112Dの2種類のがん細胞を移植したモデルで は,ドキシル[®]治療による治療効果の有意な改善は 認められなかった。

こうしたリポソーム製剤の治療効果の予測に, in vivo 分子イメージング技術が役に立つことを証明するために, 放射性核種を封入したリポソームを使った検 討を行った。

ドキシル[®]と同じ組成のリポソームに SPECT 核種 ^{III}In を封入したものを作成し,治療効果を検討した 4 種類の担がんマウスモデルに経静脈的に投与し て,経時的にがん病巣の放射能を観察したところ, ドキシル[®]治療が有効であった Caov-3, SK-OV-3 の 2 種類のがん病巣には高い放射能が認められ,その 状態が2,3日維持されることが確認できた。更に, 1 匹当たりの担がんマウスに投与する ^{III}In 封入リポ ソームの放射能を 20 MBq 程度に調整すると,がん 病巣への ^{III}In 集積の程度を SPECT 画像上で評価す ることも可能であった。図3に示されているように, ドキシル[®]治療が有効であった Caov-3 の病巣には放射 性核種封入リポソームが良好な集積を示し,72 時間 後まで集積の持続が確認されたが,治療が有効でな



図 3 ^{III}In 封入リポソームを投与した担癌マウスのがん病巣 の SPECT/CT 画像(文献 5 の Fig4 の一部を転載)

かった KURAMOCHI 及び TOV-112D の病巣には放 射性核種封入リポソームの集積は乏しかった。また, SK-OV3 の病巣への集積はばらつきがあり,多くの 病巣には放射性核種封入リポソームが良好な集積を 示したものの (No.1 は集積が良好な病巣の代表例), 一部の病巣への集積は乏しかった (No.2 は集積が 乏しい病巣の代表例)。

以上に示したように、興味深いことに、SK-OV-3 のがん病巣への¹¹¹In 集積の程度には個体による違 いが認められることが分かった。この個体差の理由 は明らかではないが、SK-OV-3の担がんマウスモデ ルのがん病巣への¹¹¹In 集積(リポソームのがん病 巣への移行の程度を反映しているものと考えられ る)を SPECT 検査で確認した後に、実際に、ドキ シル[®]を投与して治療を行ったところ、¹¹¹In 集積の 程度とドキシル[®]の治療効果との間には有意な相関 関係が確認され、¹¹¹In 集積が強い SK-OV-3 がん病 巣は良好な治療効果を示した(図4)。

リポソーム製剤ドキシル[®]と治療効果の関係について、病理組織学的にも検証した。図5の上段に示されるように、ドキシル[®]治療が有効な Caov-3, SK-OV-3の2種類のがん病巣には、ドキシル[®]投与後に、ドキソルビシンに由来する強い蛍光が認められ、がん病巣にドキソルビシンが良好に集積していることが確認された。これに対して、治療効果の乏しかった KURAMOCHI, TOV-112Dの2種類のがん病巣は、 蛍光は乏しかった。血管内皮細胞に親和性を示す抗CD31 抗体及び血流に応じて組織に分布する



図 4 SK-OV-3 担がんマウスにおけるがん病巣への ¹¹¹In 集 積とドキシル[®]治療の効果との関係(文献 5 の Fig5 の一部 を改変して転載)

SK-OV-3 の担がんマウスに ¹¹In 封入リボソームを投与して 72 時間後の SPECT 画像における腫瘍筋肉比と、実際のドキシル[®]治療の効果は良好 な相関を示した (R²=0.73)



図 5 担癌マウスのがん病巣へのドキソルビシンの集積と血 管新生との関係(文献 5 の Fig2 の一部を転載)

Hoechst 33342 を用いた検討では、図5の下段に示 されているように、ドキソルビシンが良好な集積を 示した Caov-3、SK-OV-3の2種類のがん病巣では、 血管新生を反映して、抗 CD31 抗体(赤色)でよく 染まり、更に、腫瘍病巣への血流が多いことを反映 して Hoechst33342(青色)でもよく染まった。これ に対して、治療が有効でなかった KURAMOCHI及 び TOV-112D の病巣は抗 CD31 抗体や Hoechst33342 による強い染色は観察されなかった。

これらの結果は、今回、筆者らが検討した抗癌剤 封入リポソームのような DDS 製剤を投与する場合 に、治療を開始する前に、放射性核種で標識した DDS 製剤を投与して、がん病巣の放射能を確認す ることで、DDS 製剤利用の有用性を評価できるこ とを示唆している。このような手法は、抗癌剤治療 の最適化に繋がり、臨床的に有用性の高い検査法に なるものと考えられる。

抗癌剤治療の感受性予測における *in vivo* イメージング技術の将来展望

抗癌剤治療の有効性を非侵襲的に予測するために は、本稿で紹介した筆者らの研究のように抗癌剤を 標識した薬剤やこれと同様の体内動態を示す分子プ ローブを使った in vivo イメージング技術で抗癌剤 のがん病巣への分布を評価することに加えて,がん 病巣の抗癌剤に対する感受性,それ自体を in vivo で可視化する技術の開発が待たれるところである。

現状の抗癌剤感受性試験では、がん病巣の組織を 採取するという侵襲的な操作が行われることに加え て、組織を採取したがん病巣の一部の抗癌剤感受性 しか評価できていない。がん病巣の性状は不均一で あることが知られている。例えば、前述の乳癌細胞 表面に発現する HER2 の分布も不均一である[®]。 *in vivo* イメージング技術を利用して、がん病巣の抗 癌剤に対する感受性を評価することが可能となれ ば、こうした不均一性の影響も克服され、精度の高 い抗癌剤感受性評価が期待できるであろう。

【謝辞】

本稿で紹介した研究の内容は、国立がん研究セン ター共同研究審査委員会の承認を受けて、国立がん 研究センターとエーザイ(株)との間で共同研究契約 を結び実施されたものであり、この共同研究は、エー ザイ(株) 伊藤憲博士、国立がん研究センター機能 診断開発分野 濱道修生博士が中心となって実施し たものである。

参 考 文 献

- 1) 久保田哲朗, 他, 日本臨床, 55 (5), 1050-1053 (1997)
- 2) Tamura, K., et al., J Nucl Med., 54 (11), 1869-1875 (2013)
- 3) Fujii, H., et al., Ann Nucl Med., **12** (6), 307-312 (1998)
- 4) Matsumura, Y., et al., Cancer Res., 46 (12 Pt 1), 6387-6392 (1986)
- 5) Ito, K., et al., Cancer Sci., **107** (1), 60-67 (2016)
- 6) Chivukula, M., et al., Mod Pathol., **21** (4), 363-368 (2008)