

論文の内容の要旨

論文題目

小細胞肺癌モデルに対する放射免疫療法の病理学的解析および化学療法との併用による治療効果に関する検討

藤原健太郎

肺癌は世界中で最も罹患率・死亡率の高いがんであり、小細胞肺癌は全肺癌患者の 15% 程度を占めている。小細胞肺癌は大きく限局型と進展型に分けられるが、その 2 年生存率は限局型で 20% 程度、進展型では 5% 程度と予後不良である。特に進展型小細胞肺癌では外科手術や外部照射による放射線治療が適用出来ず、化学療法のみで治療を行わなければならないことが、予後の悪さに繋がっている。このため、進展型小細胞肺癌にも有効な新規治療法の開発が求められている。

放射免疫療法 (RIT) は、放射性同位元素 (RI) で標識したがん特異的モノクローナル抗体を患者に投与し、血流によって病変部にのみ集積させ治療効果を得る放射線治療の一種である。治療用の放射性核種としては ^{90}Y が主に使用されており、日本では悪性リンパ腫に対する治療薬ゼヴァリン® (^{90}Y 標識抗 CD20 抗体) が臨床で用いられ、成果を挙げている。血流によって RI 標識抗体を全身に輸送する化学治療薬に近い運用が可能であるため、原発巣だけでなく転移したがん (診断不可能な微小な転移を含む) に対しても有効であるだけでなく、がん特異的に集積する分子標的治療薬に類似した体内挙動を取るため、化学治療よりも腫瘍選択性が高く、副作用が抑制出来るとされている。小細胞肺癌は放射線高感受性であることから、RIT の有効性が期待されており、先行研究としては c-kit 陽性の小細胞肺癌に対する RIT 薬剤が開発され、モデルマウスを用いた動物実験において有効性が報告されている。

我々は過去の研究において、肝細胞がんや小細胞肺癌で高発現している膜タンパク質 ROBO1 を標的とした RIT 治療薬 ^{90}Y 標識抗 ROBO1 抗体を開発した。ROBO1 は神経の軸索誘導に寄与するほか、がんの血管新生および遊走等にも関与することが報告されている。小細胞肺癌モデルマウスを用いた治療実験では、移植腫瘍は顕著に縮小し、本抗体が有意な治療効果を有していることが確認された。しかし、RIT を行った腫瘍は投与後 20 日頃より再増大を示し、根治を得るためにはさらなる治療法の検討が必要であることが示された。

治療法の検討を行うためには、腫瘍が縮小した際の病理学的変化だけでなく、再増大を示すまでの変化を経時的に観察し、腫瘍の根治を得られなかった原因を明らかにする必要がある。そのため、腫瘍容積の測定のみでなく、病理学的側面からの観察が必要と考え、(1)

RIT 後の腫瘍と正常臓器における経時的な病理学的解析を実施した。また、新たな治療法の創出として、先行研究により、化学治療で用いられる抗がん剤シスプラチンが放射線増感作用を有しており、RIT との併用により有意な抗腫瘍効果の増強が得られることに着目し、(2) RIT と化学治療の併用治療の検討を行った。

研究課題 1. 小細胞肺癌モデルマウスにおける ^{90}Y 抗 ROBO1 抗体を用いた放射免疫療法の病理学的解析

目的 ^{90}Y 抗 ROBO1 抗体を用いた RIT では、小細胞肺癌移植腫瘍は有意な縮小を示した。しかし、投与 20 日目頃より腫瘍の再増大が確認され、根治を得ることは出来ず、治療法の検討が必要であることが示された。そこで本研究では、 ^{90}Y 抗 ROBO1 抗体の抗腫瘍効果と正常臓器への影響を評価すると同時に、腫瘍が再増大した原因を明らかにし、治療法の検討に関する示唆を得るため、RIT 後の腫瘍と正常臓器の経時的な病理学的解析を実施した。

方法 小細胞肺癌モデルマウスに対し、 ^{90}Y 抗 ROBO1 抗体 0.2mCi を尾静脈より投与した (n=3 匹/群)。投与 0, 7, 14, 21, 28 日目に腫瘍および正常臓器 (心臓、肝臓、肺、腎臓、腸管、脾臓、筋肉、胸骨、大腿骨) を採取し、HE 染色、ギムザ染色、Ki-67 免疫染色、TUNEL 法により抗腫瘍効果および副作用の評価を行った。

結果 RIT 後 7 日目において広範な凝固壊死、アポトーシスの増加、細胞分裂能の低下、細胞体の膨化等の細胞変性が認められ、本抗体が抗腫瘍効果を有していることが確認された。RIT 後 14 日目では編成した腫瘍細胞が認められる一方、組織球の集簇や線維化等が確認された。RIT 後 21 日目には投与 0 日と同様の形態を示す腫瘍細胞が認められ、また凝固壊死に陥った領域が見られなくなるなど、治療効果の減弱と腫瘍の回復傾向が確認された。腫瘍体積も 21 日目以降再増大を示しており、病理学的変化と一致している。RIT 後 28 日目には変性を示す細胞は見られず、投与 0 日と同様の形態を呈していた。以上のことから、 ^{90}Y 抗 ROBO1 抗体による RIT では投与 20 日程度で治療効果が減弱し、残存した腫瘍細胞は 28 日目には細胞変性から回復していることが明らかになった。

正常臓器の病理学的解析においては、造血組織 (胸骨、大腿骨、脾臓) 以外の臓器においては深刻な影響は認められず、本抗体による正常臓器へのダメージは造血系に局限していることが明らかになった。造血組織においては造血細胞の減少が確認されたが、一過性であった。また、胸骨と大腿骨では胸骨の方が大腿骨よりも造血細胞へのダメージが強いことが確認された。これは胸骨が腫瘍や心臓、肝臓といった高集積臓器の近くに位置していることが関係していると考えられ、RIT においては高集積臓器に貯留した血中 RI 標識抗体からの被ばくを考慮する必要があることが示唆された。

結論 腫瘍と正常臓器の病理学的解析により、 ^{90}Y 抗 ROBO1 抗体が小細胞肺癌移植腫瘍に対し有意な抗腫瘍効果を有していること、正常臓器への影響は造血系に局限しており、一過性であることが確認された。また、RIT により腫瘍の根治を得るためには、RI 標識抗

体の抗腫瘍効果が得られる間に腫瘍細胞を死滅させる必要があり、RIT の抗腫瘍効果を増強するための検討が必要であることが示された。

研究課題 2. 小細胞肺癌モデルマウスにおける RIT と化学治療の併用治療の検討

目的 上記の研究により、⁹⁰Y 抗 ROBO1 抗体による RIT で小細胞肺癌移植腫瘍の根治を得るためには、本抗体の抗腫瘍効果を増強する必要があることが示された。そこで本研究では、⁹⁰Y 抗 ROBO1 抗体による RIT とシスプラチンによる化学治療の併用治療実験を実施し、それによる治療効果への影響について検討を行った。

方法 小細胞肺癌モデルマウス (n=7 匹/群) に対し、⁹⁰Y 抗 ROBO1 抗体 0.18mCi の単独治療 (RIT 単独群)、またはシスプラチン 5mg/kg シスプラチン+⁹⁰Y 抗 ROBO1 抗体 0.18mCi の併用治療 (併用治療群) を実施し、定期的な腫瘍体積および体重、血球数の測定を行った。また、⁹⁰Y 抗 ROBO1 抗体投与 7 日目の各治療群の腫瘍および正常臓器の病理学的解析を実施した (n=2 匹/群)。

結果 RIT とシスプラチンの併用治療群では RIT 単独治療群よりも survival が有意に改善した。病理学的解析では、併用治療群の腫瘍は RIT 単独群よりもアポトーシスが多く誘導され、凝固壊死に陥った領域が広範囲に認められるなど、併用治療による抗腫瘍効果の増強が確認された。さらに、併用治療群では一例が観察期間 90 日間終了時点で生存しており、その腫瘍は成長が抑制された状態にあったことから、本治療法は腫瘍の成長を長期的に抑制する効果がある可能性が示された。しかしながら、併用治療群のその他の個体では腫瘍の再増大が認められた。正常臓器への影響は併用治療群、RIT 単独群共に汎血球減少が認められたが、一過性であった。また、併用治療群の方が RIT 単独群よりも造血系へのダメージが大きい傾向が見られたが、血球の減少割合に有意差はなかった。

結論 RIT と化学治療の併用治療は RIT 単独治療よりも良好な成績が得られた。さらに、1 個体で腫瘍の成長が長期的に抑制されるなど、本併用治療が小細胞肺癌の survival の改善に有用である可能性が示唆された。しかし、併用治療群においても大部分の個体で再増大が見られたことから、今後の更なる治療法の改善が必要であると考えられる。

以上、⁹⁰Y 抗 ROBO1 抗体を用いた放射免疫療法 of 病理学的解析により、本抗体が有意な抗腫瘍効果を有することを病理学的に明らかにし、今後の治療計画の指針となる知見を得た。さらに、RIT と化学治療の併用治療が RIT 単独治療よりも有意な抗腫瘍効果を示すことを明らかにし、小細胞肺癌の survival の改善に繋がり得る有用な知見が得られた。