

総括研究報告書

1. 研究開発課題名：「分子イメージング技術」

(胃がん転移の PET イメージングのための小分子化抗体プローブ作製)

2. 研究開発代表者： 国立大学法人東京大学 先端科学技術研究センター 浜窪隆雄

3. 研究開発の成果

胃がんは我が国でもっとも多いがんであり、死亡者数は年々減少しているものの、よりよい診断法・治療法の開発は急務である。胃がんの外科的治療において、病巣の広がり、転移の有無を正確に診断することは、患者への侵襲の軽減や再発防止に有効であり、治療成績の向上につながる。本プロジェクトの目的は胃がんおよびリンパ節転移巣に高率にみられる膜タンパク質であるカドヘリン 17 (CDH17) に対するモノクローナル抗体を用いて、病巣の広がりを診断するイメージングプローブを作製することにある。モノクローナル抗体は特異的にがん細胞に結合し、転移巣を正確に診断することができる。しかし、分子量が大きいため、がん組織に集積するまでに投与後 2～3 日を要する。そこで、遺伝子工学を用いて、IgG 抗体から結合の機能のみを残した小分子化した抗体を作製し、迅速にがん細胞に集積して診断できる小分子化プローブを開発することが目的である。

我々は、先行研究により取得した複数の CDH17 に対するモノクローナル抗体の中から、小分子化 (scFv 化) により活性を失わないクローンを選択し、イメージングのためのキレート剤付加や放射線ラベル化に関する条件検討を行った。その結果、scFv 化にても安定な D2101 抗体を選定した。本抗体は、胃がん培養細胞 (AGS 細胞) を移植した担癌マウスにおいて、高い腫瘍集積性 (27%ID/g) を示した。しかしながら scFv では、マウス血中における安定性が悪いことから、ヒト IgG の Fc の CH3 部位を持つ scFv-CH3 ミニボディ (minibody) を作製した。マウス SP2/0 細胞系とバキュロウイルス発現系にて検討を行った結果、バキュロウイルス発現系がラボレベルの培養精製で安定してイメージング検討のための必要量を得られることから、本研究ではバキュロウイルス発現系により精製したミニボディを用いて、安定性試験およびキレート剤付加 (NOTA 化) の検討を行った。ただし、NOTA 試薬の安定供給が困難と判明したため、キレターを NODAGA に変更し、条件検討を行った結果、活性低下を伴わない安定的なラベルが可能であることがわかった。得られた、NODAGA 化ミニボディは、熱安定性もよく、血中安定性も確保でき、 ^{64}Cu 標識も活性を失うことなくラベル可能であることが判明し、イメージングに供した。

PET 核種である ^{64}Cu で標識したミニボディにより、胃がん培養細胞 (AGS 細胞) の担癌マウスモデルを用いて PET イメージングを行った結果、良好な腫瘍への集積が確認された。腫瘍への集積率は 24 時間後に最大 3.75 ± 0.7 %ID/g であった。その後 48 時間以降減少傾向にあり、血中からほとんど排泄された 72 時間時点でも腫瘍が描出されていることから、本抗体が AGS ゼノグラフトへの集積性を有していると考えられる。しかし、これまでのミニボディを用いた腫瘍集積の報告に比べ、肝臓への集積が高く、また whole 抗体の集積に比べて腫瘍への集積度の低下が懸念されたことから、より定量的な解析が可能な ^{111}In を用いた体内動態試験を行った。 ^{111}In による体内動態試験の際には、精製過程で生じる多量体の影響を除外するため、ゲルろ過による精製過程を増やして検討した。その結果、投与後 6 時間でピークに達し、48 時間まで維持される良好な結果が得られた。Whole 抗体との比較では、24 時間での腫瘍・血液比が、whole 抗体では 1.66 に比べ、ミニボディでは 13.0 であり、48 時間ではさらに whole 抗体 4.23 に対して 56.1 と高いコントラストが得られ、血中からのクリアランスの良いことが判明した。

以上、本プロジェクトにより胃がん転移診断用プローブとしてカドヘリン 17 ミニボディを開発した。