

令和 2 年 5 月 13 日現在

機関番号：13301

研究種目：国際共同研究加速基金（国際共同研究強化）

研究期間：2017～2019

課題番号：16KK0200

研究課題名（和文）高精度多剤耐性予測法に基づく内用放射線治療の効果予測法とがん治療効果増強法の開発（国際共同研究強化）

研究課題名（英文）Development of therapeutic effect prediction method and cancer therapy enhancement method for internal radiation therapy (Fostering Joint International Research)

研究代表者

小林 正和 (Kobayashi, Masato)

金沢大学・保健学系・准教授

研究者番号：30444235

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 11,500,000円

渡航期間： 11ヶ月

研究成果の概要（和文）：本研究では、がんの内用放射線治療薬<sup>[131I]</sup>MIBGの治療効果向上を目指し、<sup>[131I]</sup>MIBGの治療効果予測法と、<sup>[131I]</sup>MIBGのがん細胞外排泄阻害剤の併用投与によるがん治療効果増強法の開発を目的とした。米国内研究施設との共同研究により、<sup>[131I]</sup>MIBGの治療対象であるヒト由来神経芽細胞腫細胞株SK-N-SHにおいて、<sup>[131I]</sup>MIBGはSK-N-SHに発現する排泄型薬物トランスポーターMRP1と4からがん細胞外に排泄されていた。また、MRP特異的阻害剤MK-571やprobenecidを使用し、<sup>[131I]</sup>MIBGをがん細胞内に多く滞留させるがん治療効果増強法を開発できた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本国際共同研究では、小児がんの神経芽細胞腫に対する内用放射線治療薬<sup>[131I]</sup>MIBGの治療効果予測法と、<sup>[131I]</sup>MIBGのがん治療効果増強法の開発に成功した。本研究成果により、<sup>[131I]</sup>MIBG投与前に、<sup>[131I]</sup>MIBGを用いた神経芽細胞腫に対する治療効果を予測できる。また、<sup>[131I]</sup>MIBGのがん細胞排泄阻害剤を併用投与することで、<sup>[131I]</sup>MIBGのがん治療効果を増強できる可能性を示した。

研究成果の概要（英文）：In this study, we aimed to improve the therapeutic effect of <sup>[131I]</sup>MIBG, an internal radiotherapy with radiopharmaceuticals for cancer, by using a method for predicting the therapeutic effect of <sup>[131I]</sup>MIBG and develop the cancer therapy enhancement method with combination of <sup>[131I]</sup>MIBG and the specific inhibitors for efflux transporter from cancer cells. In international collaborators in the United States, <sup>[131I]</sup>MIBG was excreted outside cancer cells via MRP1 and MRP4 in human-derived neuroblastoma cell line SK-N-SH, which is the target of treatment of <sup>[131I]</sup>MIBG. cancer cells. In addition, we have developed the cancer therapy enhancement method by using MRP-specific inhibitor MK-571 and probenecid to retain <sup>[131I]</sup>MIBG in cancer cells.

研究分野：放射線科学

キーワード：核医学 イメージング SPECT 排泄型薬物トランスポーター 内用放射線治療 <sup>[131I]</sup>MIBG

## 1. 研究開始当初の背景

臨床核医学検査では、 $^{99m}\text{Tc}$ sestamibi や $^{99m}\text{Tc}$ tetrofosmine 等を使用した単光子放出断層撮像法(SPECT)と、 $^{11}\text{C}$ verapamil 等を用いた陽電子放出断層撮像法 (PET)を用いた抗がん剤の多剤耐性予測法が行われている。両者とも抗がん剤が、がん細胞に取り込まれた後の細胞外排泄機序である排泄型薬物トランスポータの内、P 糖タンパク(multiple drug resistance (MDR)1)発現を抗がん剤投与前に確認する手法であるが、現在の複雑化した多剤耐性では MDR1 以外の排泄型薬物トランスポータも関係する可能性が指摘されている。本基課題の科研費基盤研究(C)[課題番号 15K09949]の研究成果において、排泄型薬物トランスポータを単一発現させたベシクルを用いて両  $^{99m}\text{Tc}$  製剤の多剤耐性を詳細に確認した結果、 $^{99m}\text{Tc}$ sestamibi では MDR1 と multidrug resistant associated-protein (MRP)1 が関与し、 $^{99m}\text{Tc}$ tetrofosmine では MDR1 と MRP1 のみならず MRP2 も関係することが判明した。これらの排泄型薬物トランスポータの関与が、ヒト由来腫瘍細胞株でも同様に確認できるかを各トランスポータの発現を把握した腫瘍細胞株とそのトランスポータの阻害剤を用いて検討した結果、各  $^{99m}\text{Tc}$  製剤において、阻害剤により腫瘍細胞内の集積が向上するとともに、ベシクルの結果と同じトランスポータの関与があることが判明した。

本研究では、前述の排泄型薬物トランスポータ単一発現ベシクルと腫瘍細胞株を用いて本基課題で独自に確立した核医学検査薬剤による抗がん剤の高精度多剤耐性予測法の成果を応用し、内用放射線治療薬剤 $^{131}\text{I}$ MIBG 等における治療効果予測法を開発した。 $^{131}\text{I}$ MIBG は、本邦において神経内分泌腫瘍の内用放射線治療薬剤として利用されているが、 $^{131}\text{I}$ MIBG の治療効果は患者間で大きく異なることから、その要因が腫瘍細胞の多剤耐性と考え、その細胞外排泄に関与する排泄型薬物トランスポータを明らかにする。さらに、申請者のこれまでの研究成果から $^{131}\text{I}$ MIBG による内用放射線治療効果の向上を期待し、本国際共同研究によって、排泄型薬物トランスポータを介した $^{131}\text{I}$ MIBG のがん細胞外排泄を安全かつ一過性に阻害する薬剤の併用投与によるがん治療効果増強法の開発を試みた。

## 2. 研究の目的

本研究では、本基課題において独自に確立した抗がん剤の高精度多剤耐性予測法を、3 つの国際共同研究先の協力も得て、内用放射線治療薬剤 $^{131}\text{I}$ MIBG 等の治療効果予測に応用するとともに、当該内用放射線治療薬剤の細胞外排泄阻害剤の併用投与によるがん治療効果増強法を開発し、個人差の大きい内用放射線治療の治療効果を向上させることを目的とした。

## 3. 研究の方法

### ① 排泄型薬物トランスポータ単一発現ベシクルと腫瘍細胞株を用いた実験 (米国テキサス大学 MD アンダーソンがんセンター(MDACC)との共同研究)

内用放射線治療薬剤 $^{131}\text{I}$ MIBG の治療効果予測法の確立を目指した本実験において、MDACC の Kleinerman 教授が主宰する研究室には、本邦では入手困難な種々の排泄型薬物トランスポータ単一発現ベシクルや多くのヒト由来腫瘍細胞株を所持していたため、それらの材料を用いて MDACC において実験を行った。一方、本邦で入手可能なベシクルや腫瘍細胞株を用いた実験に関しては、本学大学院生や本研究グループの技術補佐員の協力も得て実験した。最終的に本実験に使用したベシクルは、MDR1、MDR3、MRP1、MRP2、MRP3、MRP4、Breast Cancer Resistance Protein (BCRP)であった。

## ② 排泄型薬物トランスポーター阻害剤の開発とその評価 (米国国立衛生研究所 (NIH) との共同研究)

NIH の Innis 博士が主宰する PET 分子イメージング部門では、精神神経疾患の早期発見のための PET 薬剤の開発や向精神薬の効果予測に関する研究を行っている。その向精神薬の治療効果予測法では、向精神薬投与前に、その効果を低下させる血液脳関門上の排出型薬物トランスポーターを予め測定することが重要であり、それぞれ単一の排出型薬物トランスポーター機能を測定可能な PET 薬剤の開発を報告している。また、彼らは、血流により脳内に取り込まれた向精神薬が血液脳関門に発現する排出型薬物トランスポーターによって、即座に脳外に排泄された場合に、この向精神薬を脳内に滞留させるための手段として、向精神薬の脳外排泄阻害剤の開発に取り組んでいる。これらの排泄型薬物トランスポーターはがん細胞にも発現し、 $[^{131}\text{I}]\text{MIBG}$  と  $[^{177}\text{Lu}]\text{DOTATATE}$  の内用放射線治療薬剤のがん治療効果増強法に用いる阻害剤の開発に繋がると期待できたため、本研究では、 $[^{131}\text{I}]\text{MIBG}$  では MRP の特異的阻害剤 MK-571 と probenecid を使用し、 $[^{177}\text{Lu}]\text{DOTATATE}$  では MDR1 と MRP1 の両方を阻害する薬剤 verapamil の構造類似体 VP-1 を開発し、 $[^{131}\text{I}]\text{MIBG}$  と MK-571 及びその構造類似体を併用投与したがん治療効果増強法における有効性を評価した。

## ③ $[^{131}\text{I}]\text{MIBG}$ 以外の内用放射線治療薬剤への応用 (スタンフォード大学との共同研究)

本邦で臨床使用されている内用放射線治療薬剤数が限られているため、共同研究先で使用可能な薬剤を加えることにした。特に、米国の放射線関連の施設が充実されたスタンフォード大学では本邦では基礎研究に使用しにくい samarium-153、lutetium-177 等の  $\beta$ 線放出核種や、最近目覚ましく発展してきた astatine-211、radium-223 等の  $\alpha$ 線放出核種が利用可能であり、これらを標識した内用放射線治療薬剤を本研究に適用することを考えた。実験の初めに、本邦では基礎研究に使用しにくい lutetium-177 を標識した内用放射線治療薬剤  $[^{177}\text{Lu}]\text{DOTATATE}$  における排泄型薬物トランスポーターとの関連性の実験を排泄型薬物トランスポーター単一発現ベシクルとヒトの肺由来神経内分泌腫瘍細胞株 NCL-H727 を用いて行った。また、NIH から  $[^{177}\text{Lu}]\text{DOTATATE}$  の排泄阻害剤として提案された verapamil とその構造類似体 VP-1 を併用投与し、これらの阻害剤の有効性を評価した。

## 4. 研究成果

### ① 排泄型薬物トランスポーター単一発現ベシクルと腫瘍細胞株を用いた実験 (MDACC との共同研究)

MDACC 内で種々の排泄型薬物トランスポーター単一発現ベシクルとヒト由来腫瘍細胞株を用いて検討した結果、 $[^{131}\text{I}]\text{MIBG}$  は MRP1 と MRP4 から細胞外に排泄されている可能性が示された (図 1)。また、 $[^{131}\text{I}]\text{MIBG}$  の治療対象でもある神経芽細胞腫 SK-N-SH に MRP が発現しており、 $[^{131}\text{I}]\text{MIBG}$  は MRP1 と MRP4 から SK-N-SH 外に排泄されていることが判明した。

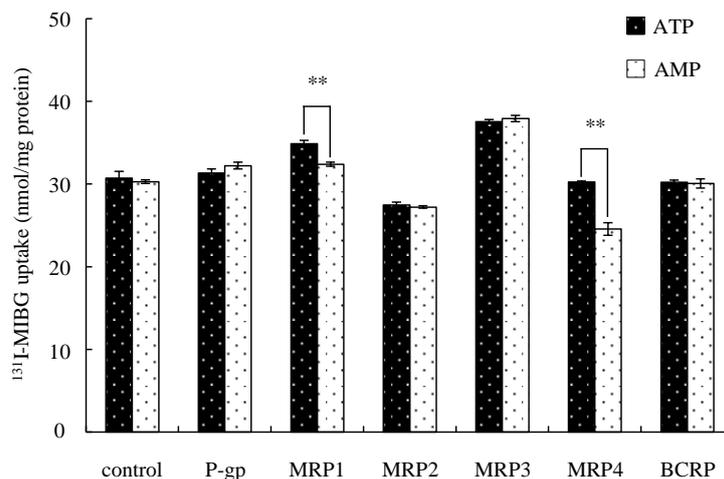


図 1  $[^{131}\text{I}]\text{MIBG}$  のベシクルに対する集積量 (n = 4, \*\*: P < 0.01 compared with AMP solution)

## ② 排泄型薬物トランスポーター阻害剤の開発とその評価 (NIH との共同研究)

①で $^{131}\text{I}$ MIBG はがん細胞に発現する MRP1 と MRP4 を介してがん細胞から排泄される可能性が考えられたため、MRP 特異的阻害剤 MK-571 と probenecid を併用投与して排泄阻害を試みた結果、これらは SK-N-SH における集積増加に有効であった (図 2)。また、生体内安全性の高い probenecid を用いて神経芽細胞株 SK-N-SH における有効性を評価した結果、probenecid 負荷時に SK-N-SH に対する $^{131}\text{I}$ MIBG の集積が投与後 10 分以降に有意に増加した (図 3)。更なる MRP 阻害効果の向上を目指し、NIH の研究グループが MK-571 や probenecid の構造類似体を開発し、その有効性を SK-N-SH で評価したが、期待通りの有効性は確認できなかった。

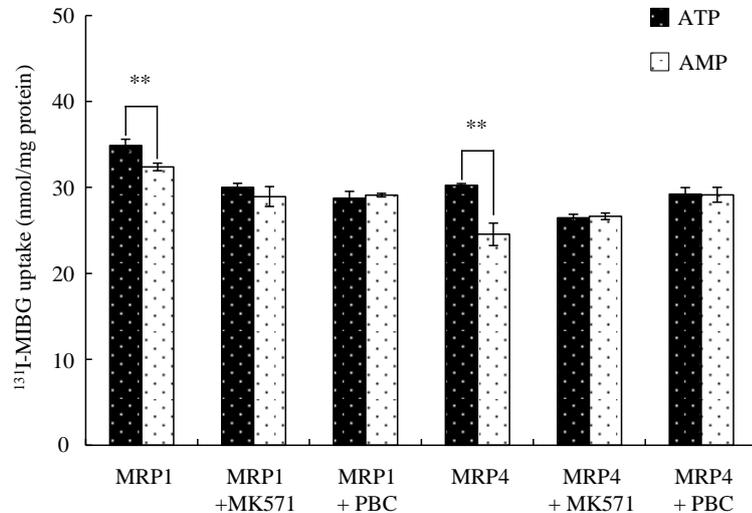


図 2 MRP 特異的阻害剤の併用投与による $^{131}\text{I}$ MIBG の集積量の変化 (n = 4, \*\* P < 0.01 compared with AMP solution, PBC; probenecid)

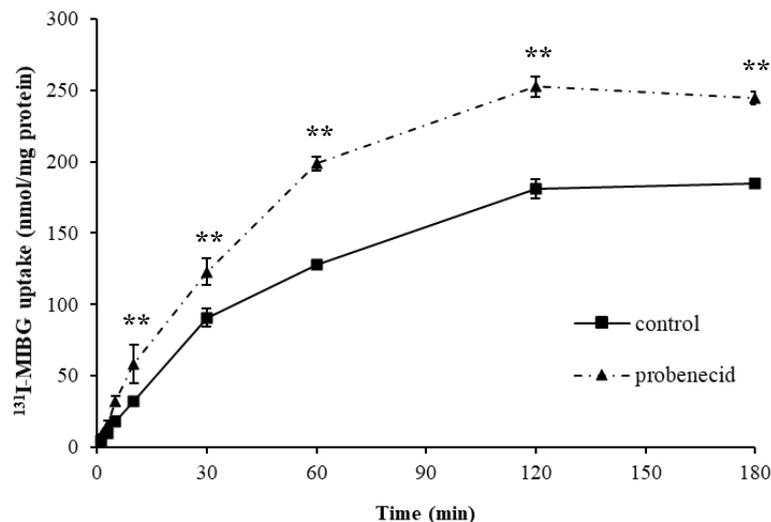


図 3 SK-N-SH 細胞株での MRP 特異的阻害剤 probenecid の併用投与による $^{131}\text{I}$ MIBG の集積量の時間変化 (n = 4, \*\* P < 0.01 compared with control)

## ③ $^{131}\text{I}$ MIBG 以外の内用放射線治療薬剤への応用 (スタンフォード大学との共同研究)

内用放射線治療薬剤 $^{177}\text{Lu}$ DOTATATE と排泄型薬物トランスポーターの関連性を検討した結果、MDR1 と MRP1 が $^{177}\text{Lu}$ DOTATATE の細胞外排泄に関与していることが明らかになった。その後、NIH の研究グループに MDR1 と MRP1 を両方同時に阻害する阻害剤の調査を依頼し、verapamil とその構造類似体 VP-1 を提案されて検討した結果、 $^{177}\text{Lu}$ DOTATATE と VP-1 を併用投与することで、ヒト肺の神経内分泌腫瘍株 NCL-H727 における $^{177}\text{Lu}$ DOTATATE の集積量を若干増やすことができたが、有意な増加は見られなかったため更なる検討が必要であった。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Tsujikawa T, Tsuyoshi H, Kanno M, Yamada S, Kobayashi M, Narita T, Kimura H, Fujieda S, Yoshida Y, Okazawa H	4. 巻 9
2. 論文標題 Selected PET radionomic features remain the same.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Oncotarget	6. 最初と最後の頁 20734-20746
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.18632/oncotarget.25070	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Nishii R, Higashi T, Kagawa S, Arimoto M, Kishibe Y, Takahashi M, Yamada, Saiki M, Arakawa Y, Yamauchi H, Okuyama C, Hojo M, Munemitsu T, Sawada M, Kobayashi M, Kawai K, Nagamachi S, Hirai T, Miyamoto S.	4. 巻 2018
2. 論文標題 Diagnosis of brain tumors using system A amino acid transport PET imaging with C-11-MeAIB: A comparison study with C-11-methionine PET imaging.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Contrast Media & Molecular Imaging	6. 最初と最後の頁 1292746
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1155/2018/1292746	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Shrestha S, Singh P, Cortes-Salva MY, Jenko KJ, Ikawa M, Kim MJ, Kobayashi M, Morse CL, Zoghbi SS, Gladding RL, Fujita M, Innis RB, Pike VW.	4. 巻 9
2. 論文標題 3-Substituted 1,5-Diaryl-1 H-1,2,4-triazoles as Prospective PET Radioligands for Imaging Brain COX-1 in Monkey. Part 2: Selection and Evaluation of [11C]PS13 for Quantitative Imaging.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 ACS Chemical Neuroscience	6. 最初と最後の頁 2620-2627
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1021/acchemneuro.8b00103	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する
1. 著者名 Kobayashi M, Tsujiuchi T, Mizutani A, Nishi K, Nakanishi T, Nishii R, Fukuchi K, Tamai I, Kawai K.	4. 巻 36
2. 論文標題 Different Efflux Transporter Affinity and Metabolism of 99mTc-2-Methoxyisobutylisonitrile and 99mTc-Tetrofosmin for Multidrug Resistance Monitoring in Cancer.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Pharmaceutical Research	6. 最初と最後の頁 18
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s11095-018-2548-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kobayashi M, Kato T, Washiyama K, Ihara M, Mizutani A, Nishi K, Flores LG 2nd, Nishii R, Kawai K.	4. 巻 14
2. 論文標題 The pharmacological properties of 3-arm or 4-arm DOTA constructs for conjugation to alpha-melanocyte-stimulating hormone analogues for melanoma imaging.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 PLoS One	6. 最初と最後の頁 e0213397
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0213397	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Zhu Wen Jing, Kobayashi Masato, Yamada Kohei, Nishi Kodai, Takahashi Kotaro, Mizutani Asuka, Nishii Ryuichi, Flores Leo G., Shikano Naoto, Kunishima Munetaka, Kawai Keiichi	4. 巻 59
2. 論文標題 Development of radioiodine-labeled acetaminophen for specific, high-contrast imaging of malignant melanoma	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Nuclear Medicine and Biology	6. 最初と最後の頁 16-21
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.nucmedbio.2017.12.008	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計1件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 水谷明日香, 神山友里恵, 井原正明, 小林正和, 川井恵一
2. 発表標題 123I-MIBGを用いた消化管吸収機能の選択的測定法の検討
3. 学会等名 第58回日本核医学会学術総会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
主たる渡航先の主たる海外共同研究者	クライナーマン ユージニ  (Kleinerman Eugenie)	テキサス大学・Division of Pediatrics・Professor	

## 6. 研究組織 (つづき)

	氏名 (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
主たる渡航先の主たる海外共同研究者	イニス ロバート  (Innis Robert)	米国国立衛生研究所・National Institute of Mental Health・Chief	
主たる渡航先の主たる海外共同研究者	ガンビア サンジ  (Gambhir Sanjiv)	スタンフォード大学・Department of Radiology・Professor	
その他の研究協力者	川井 恵一  (Kawai Keiichi)  (30204663)	金沢大学・保健学系・教授   (13301)	
その他の研究協力者	玉井 郁巳  (Tamai Ikumi)  (20155237)	金沢大学・薬学系・教授   (13301)	
その他の研究協力者	西井 龍一  (Nishii Ryuichi)  (60463212)	国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構・放射線医学総合研究所・主幹研究員   (82502)	
その他の研究協力者	浅田 祐士郎  (Asada Yujiro)  (70202588)	宮崎大学・医学部・教授   (17601)	