

氏名	岡田 俊輔		
授与した学位	博士		
専攻分野の名称	歯学		
学位授与番号	博甲第5491号		
学位授与の日付	平成29年3月24日		
学位授与の要件	医歯薬学総合研究科病態制御科学専攻 (学位規則第4条第1項該当)		
学位論文の題目	頭頸部癌マウスモデルを用いた分子イメージングによる抗癌剤セツキシマブ感受性の評価		
論文審査委員	上岡 寛 教授	志茂 剛 准教授	浅海 淳一 教授

学位論文内容の要旨

【緒言】

悪性腫瘍の診断において画像検査は必須であり、コンピュータ断層撮影法（Computed Tomography: CT）や核磁気共鳴画像法（Magnetic Resonance Imaging: MRI）といった形態的画像検査により観察されてきた。近年では、腫瘍の増殖や転移に関与する生体内分子も観察が可能となり、ポジトロン断層法（Positron Emission Tomography: PET）に代表される機能的画像検査も臨床応用されている。これらの生体内分子を画像化する手法は分子イメージングと呼ばれている。

PETは、観察対象である生体内分子に対する抗体などを放射性核種で標識したプローブを投与し、核種から放出されるガンマ線を生体外で検出することで、プローブの動態を観察する。代表的なPETプローブとして、ブドウ糖に似た構造体であるフルオロデオキシグルコース（FDG）があり、腫瘍への取り込みを指標として腫瘍の存在を明らかにするが、悪性腫瘍の増殖能や転移能、抗癌剤感受性は予測できない。そこで、腫瘍の増殖や転移に関与する生体内分子を標的としたプローブを作製しPETに用いることで、画像上で腫瘍の増殖能や転移能を予測できないかとの着想を得た。

頭頸部癌において、増殖能や転移能に関わる因子の一つとして、上皮成長因子受容体（Epidermal Growth Factor Receptor: EGFR）が知られており、頭頸部癌の70-100%に過剰発現するとの報告がある。われわれは、増殖能や転移能を予測するPETプローブの標的としてEGFRを選択し、プローブの作製には、抗EGFRモノクローナル抗体セツキシマブ（商品名アービタックス、メルクセローノ）を利用することとした。セツキシマブは、頭頸部癌に用いられる唯一の分子標的抗癌剤である。プローブは、放射性核種で標識するが、半減期が78.4時間のジルコニウム89（⁸⁹Zr）を選択し、モノクローナル抗体の血中濃度半減期（2~4日）に一致させた。

今回われわれは、EGFRを標的としたPET撮像の可能性と、その正当性を検討することを目的とした。

【材料ならびに方法】

1. 実験動物モデル作製

BALB/cAJcl-*nu/nu* マウスに、卵巣癌 SKOV3 株細胞、喉頭癌 Hep2 株細胞、唾液腺癌 HSG 株細胞、舌癌 SAS v を背部皮下にそれぞれ担癌させた。

2. PET プローブの作製

岡山大学自然生命科学研究所支援センター光・放射線情報解析部門鹿田施設にて ^{89}Zr を製造、精製し、セツキシマブを標識し、セツキシマブプローブを作製した。

3. PET 撮像および画像解析

担癌マウスの尾静脈よりセツキシマブプローブを投与し、経時的に PET および CT を撮像した (0~144 時間)。撮像したデータは、解析ソフトにより、腫瘍のプローブ取り込み量を %ID/g tissue 値として算出した。心臓、後脚大腿部での取り込みを対照とした。

4. ガンマカウンターを用いた %ID/g tissue 値の計測

PET 撮像後にマウスを屠殺し、腫瘍ならびに臓器を摘出、ガンマカウンターにて実際のガンマ線量を計測した。

5. EGFR 発現の免疫組織学的検討

Hep2、HSG、SAS 担癌マウスから腫瘍を摘出し、免疫組織化学染色により EGFR 陽性細胞の組織学的検討を行った。

【結果】

1. PET 撮像

Hep2 株、HSG 株、SAS 株の腫瘍部位での取り込みは、腫瘍特異的であり、経時的に増加していた。EGFR 高発現の SKOV3 でも同様の結果を得た。

これにより、セツキシマブプローブは腫瘍への特異性が高く、長時間に渡る安定した結合力を有することが示された。

2. ガンマカウンター

腫瘍組織ならびに肝臓でセツキシマブプローブの高い取り込みを認めたが、PET で高い取り込みを認めた SAS において低値であった。

3. 免疫組織学

EGFR 陽性率は、Hep2 と SAS に比して HSG でやや低いものの、いずれも高値を示し、PET の結果と同様であった。

【考察】

今回、抗 EGFR モノクローナル抗体セツキシマブをプローブに利用し、PET 撮像することが可能であった。また、 ^{89}Zr によるプローブ標識は、腫瘍特異的な長時間にわたる安定した取り込みを可能とした。

PET の結果をガンマカウンターの結果と比較したところ、Hep2、HSG では PET の結果を支持するものであったが、SAS においては結果に相違を認めた。PET では、プローブの取り込み量が高値であり EGFR 発現の高さを示唆したが、ガンマカウンターでは低値であった。

免疫組織化学染色において、SAS の EGFR 発現は Hep2 と同程度に高値であり、PET の結果に一致した。HSG は PET やガンマカウンターと同様にやや低値であった。

今回 SAS において、ガンマカウンターでのプローブ取り込みのみが低く出た原因として、SAS 腫瘍内部のネクロシスが考えられる。ネクロシスの部位においては PET プローブが取り込まれず、ガンマカウンターの結果は重量比であるため実際の取り込み量より低い値が出たと思われる。

【結語】

本研究により抗癌剤であるセツキシマブを ^{89}Zr で標識し、PET プローブとして用いることが可能であった。また、頭頸部癌における EGFR の過剰発現を可視化し、画像上で評価することが可能であった。

論文審査結果の要旨

悪性腫瘍の診断において画像検査は必須であり、コンピュータ断層撮影法（Computed Tomography: CT）や核磁気共鳴画像法（Magnetic Resonance Imaging: MRI）といった形態的画像検査により観察されてきた。近年では、観察対象である生体内分子に結合する抗体などを放射性核種で標識したプローブを投与し、核種から放出されるガンマ線を生体外で検出するポジトロン断層法（Positron Emission Tomography: PET）に代表される機能的画像検査により、腫瘍の増殖や転移に関与する観察が可能となった。これらの生体内分子を画像化する手法は分子イメージングと呼ばれている。代表的な PET プローブとして、ブドウ糖に似た構造体であるフルオロデオキシグルコース（FDG）があり、これは腫瘍への盛んな取り込みが見られるので、腫瘍の指標として存在する部位を明らかにすることは可能である。しかし、腫瘍の増殖能や転移能、抗癌剤感受性は予測できていなかった。

そこで、本研究では、腫瘍の増殖能や転移能に関与する生体内分子を標的とした PET プローブを作製することで、腫瘍の機能的な病態を画像上で予測することを目的とした。頭頸部癌においては、上皮成長因子受容体（Epidermal Growth Factor Receptor: EGFR）が増殖能や転移能に関わる因子の一つであるといわれることから、この受容体を認識する抗体であり、抗癌剤としてすでに使用されている抗 EGFR モノクローナル抗体（セツキシマブ）をジルコニウム 89 (^{89}Zr) で標識し、PET プローブとして解析に用いた。この PET プローブを用いた腫瘍の観察のために、まず、BALB/cAJcl-*nu/nu* マウスの背部皮下に喉頭癌細胞株（Hep2 細胞）、唾液腺癌細胞株（HSG 細胞）、舌癌細胞株（SAS 細胞）をそれぞれ担癌させた。そして担癌 30 日後、PET プローブを投与し、直後から経時的に被験マウスの PET 撮像を行った。また、同時に腫瘍および臓器の CT 画像を取得し、これらの PET/CT 撮像データから腫瘍ならびに臓器における PET プローブの取り込み量を算出した。また、実際の取り込み量を測定するために、PET 撮像後の腫瘍ならびに臓器を摘出し、ガンマカウンターを用いて実際のガンマ線量を計測して、画像からの算出データと比較した。その結果、PET 画像からの算出データとガンマカウンターのいずれにおいても、腫瘍組織に特異的な高い PET プローブの取り込みを認めた。次に、PET の結果と EGFR 発現量の関連を調べるために、免疫組織化学染色にて頭頸部癌における EGFR 発現を検討した。この染色において、いずれの腫瘍においても高い EGFR 発現を認め、PET の結果を支持するものであった。

本論文は頭頸部癌における増殖能や転移能、抗癌剤感受性に関わる EGFR 発現を生体外から画像上で評価できる可能性を示すものであり、極めて有用な知見を与えている。よって、審査委員会は本論文に博士（歯学）の学位論文としての価値を認める。