

令和 4 年 6 月 28 日現在

機関番号：12102

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2021

課題番号：18K07626

研究課題名（和文）抗IL-6受容体抗体を利用した光免疫療法による関節リウマチの新規治療法の開発

研究課題名（英文）A novel treatment of rheumatoid arthritis by photoimmunotherapy with anti-mouse IL-6R antibody

研究代表者

中島 崇仁（NAKAJIMA, TAKAHITO）

筑波大学・医学医療系・教授

研究者番号：70375559

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：本研究課題では、がん治療に対して有望な治療方法として新たに開発された光免疫療法の技術を関節リウマチに用いるものである。光免疫療法ではがん細胞の表面に発現する抗原に対する抗体にIR700という薬剤を付加した薬剤を作成し、静脈内投与後24時間で近赤外線を照射することで治療を行う。今回、臨床で治療に用いられているIL-6受容体をターゲットに光免疫療法を行った。用いた抗体はマウス抗IL-6受容体抗体で、これにIR700を標識した薬剤を作成した。コラーゲン誘発関節炎マウスモデルを作成して、関節や脾臓などに近赤外線を照射することで、関節炎の進行度合いを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

関節リウマチは早期に治療介入することで、二次性の変形性関節症を予防して、患者のQOLの改善を期待できる。一方で、現在用いられている生物学的製剤や抗体療法はまれに重篤な副作用を来することが分かっており、光免疫療法の技術を応用することで、より少ない抗体量で、より高い効果を期待できる。これまでがん治療に用いられてきた光免疫療法を関節リウマチに応用した新しい着眼点による研究である。

研究成果の概要（英文）：The technology of photoimmunotherapy, which was developed for cancer treatment, is applied to the murine arthritis model. In photoimmunotherapy, after making a conjugate with a photosensitizer called IR700 and an antibody against an antigen expressed on the surface of cancer cells, near-infrared light is irradiated 24 hours after administration of a conjugate intravenously or intraperitoneally. In this study, photoimmunotherapy was performed targeting the IL-6 receptor, which is used for treatment in clinical practice. A conjugate with a mouse anti-IL-6 receptor antibody and IR700 was created. A mouse model of collagen-induced arthritis was treated by photoimmunotherapy, and the degree of progression of arthritis was clarified by irradiating the joints and spleen with near-infrared light.

研究分野：放射線診断

キーワード：関節リウマチ 光免疫療法 抗体 IL-6受容体

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

研究代表者は米国 NIH で開発された新しい癌治療薬である光免疫療法の研究を行ってきた。光免疫療法では、IR700 と呼ばれる光増感剤とがん細胞表面に発現する抗原に対する抗体との複合体を作製した後、静脈内または腹腔内に投与して 24 時間後に近赤外光を照射することで、様々な癌腫のがん細胞を壊死させることができる。本研究課題では、がん治療に利用されている光免疫療法を関節リウマチの治療に応用しようという新しい試みである。

関節リウマチは早期に治療介入することで、二次性の変形性関節症を予防して、患者の QOL の改善を期待できる。一方で、現在用いられている生物学的製剤や抗体療法はまれに重篤な副作用を来すことが分かっており、光免疫療法の技術を応用することで、より少ない抗体量で、より高い効果を期待できる。これまでがん治療に用いられてきた光免疫療法を関節リウマチに応用することで、新しい光免疫療法の応用を探求する。

2. 研究の目的

がん治療で培った光免疫療法の技術をマウス関節炎モデルに応用して、関節リウマチの新しい治療方法を確立する。臨床では関節リウマチの治療薬として、抗 IL-6 受容体抗体を使った治療が行われており、本研究課題では、マウスの IL-6 受容体に対する抗体を使った IR700 複合体を作成し、コラーゲン誘発関節炎モデルマウスに対する光免疫療法の確立を目指す。

3. 研究の方法

【コラーゲン誘発関節炎マウスモデルの作成】

DBA/1 マウスを使って、尾根部にウシ型コラーゲン注入およびフロイント完全アジュバントによるブースターを行い、コラーゲン誘発関節炎マウスモデルを作成した。

【抗マウス IL-6 受容体抗体と IR700 の複合体作成】

連携施設より提供された抗マウス IL-6 受容体抗体に対して、IRDye700DX NHS ester を 1:4.5 のモル比で共有結合させ、複合体を作成した。作成された複合体に対しては、収率や結合比について UV 光度計にて計測を行う。

【細胞による IR700 複合体の特異性の確認】

作成された IR700 複合体をマウスの腹腔内洗浄液から回収したマクロファージ (primary culture) の播種された dish に 8 μ g/mL の濃度で投与して 6 時間培養した後、flowcytometry での計測および蛍光顕微鏡での観察を行い、抗原特異性およびマウスのマクロファージに親和性があるかどうかを確認する。

また、マウスマクロファージ細胞株である RAW-264 を用いて、細胞レベルでの光免疫療法の効果について、Flowcytometer を用いて細胞死の割合を検討する。

【IR700 複合体の投与】

DBA/1 マウスは黒毛であるため、尾静脈からの静脈投与には技術が必要である。今回の実験系では IR700 複合体を DBA/1 マウス (コラーゲン誘発関節炎マウスモデル) の腹腔内投与する。

【In-111 標識による IR700 複合体の体内分布の観察】

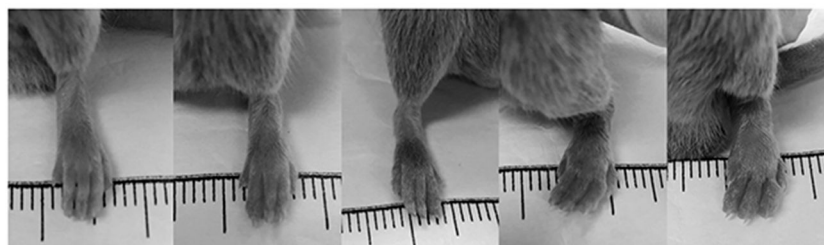
生体内への抗マウス IL-6 受容体抗体の体内分布を調べるために、抗体に放射性同位元素 In-111 を標識したものを静脈内投与して 24 時間後にガンマカウンターにて各臓器への分布を確認する。

【近赤外線照射】

近赤外線照射については、当初、関節炎の発症した関節自体に照射を行っていたが、研究の初期段階で照射部位の腫脹が発生することが判明し、照射ターゲットを脾臓に変更している。脾臓への照射方法としては、体外からの脾臓への照射および脾臓について血管を保持したまま体外へ露出した状態での脾臓への照射の 2 通りを行う。

【関節炎の評価指標】

関節炎の解析については、ノギスによる週 2~3 回の手・足関節の厚さをそれぞれ 3 回計測し、平均値を使用した関節炎スコアと、治療後 2 週、4 週、5 週、6 週で FDG-PET による判定量的計測が行われた。



Score 0	Score 1	Score 2	Score 3	Score 4
炎症がない	足趾の 1 つ	2 つ以上の足趾	足部まで	足部全体

4. 研究成果

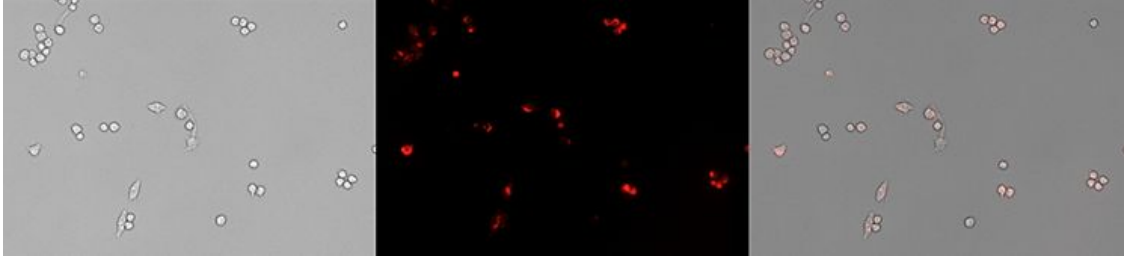
【準備について】

薬剤やモデルマウスは以下の如く、作成が成功している。

- ・ コラーゲン誘発関節炎マウスモデルの作成
- ・ 抗マウス IL-6 受容体抗体-IR700 複合体

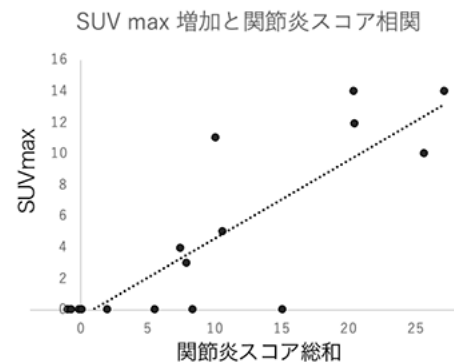
【細胞実験 (in vitro 実験)】

IR700 複合体はマウス腹腔内洗浄液から採取されたマクロファージ (+ LPS 刺激) および RAW-264 の両者において特異的な集積が認められた。



【FDG 集積と関節スコアの相関】

FDG-PET は光免疫療法の治療後 2 週、4 週、5 週、6 週で撮像され、個々の関節の FDG 値をカウントした。また、同じマウスにおいて、ノギスにて用手的に手や足の関節の厚さが計測された。両者の関係は、統計上有意な相関が認められた。



【体外での脾臓の近赤外線照射による光免疫療法】

脱毛した体表からの近赤外線照射による光免疫療法により、関節炎の進行を止めることができた (n=5)。しかし、その再現性が乏しく、体外に脾臓を取り出し近赤外線照射を行い、体内に脾臓を戻す操作で光免疫療法を行った。

【今後の展開】

今回の抗マウス IL-6 受容体抗体-IR700 複合体による光免疫療法はコラーゲン誘発関節炎マウスモデルの関節炎を明らかに制御するほどの効果は得られていない。引き続き照射条件や可溶性 IL-6R 受容体による影響などの可能性を考えて研究を続ける必要がある。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Dam TT, Hanaoka H, Nakajima T, Yamaguchi A, Okamura K, Chikuda H, Tsushima Y.	4. 巻 31(2)
2. 論文標題 64Cu-ATSM and 99mTc(CO)3-DCM20 potential in the early detection of rheumatoid arthritis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Modern Rheumatology	6. 最初と最後の頁 350-356
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/14397595.2020.1751945.	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 Dam TT, Hanaoka H, Nakajima T, Yamaguchi A, Okamura K, Chikuda H, Tsushima Y.	4. 巻 23
2. 論文標題 64)Cu-ATSM and (99m)Tc(CO)(3)-DCM20 potential in the early detection of rheumatoid arthritis.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Modern Rheumatology	6. 最初と最後の頁 1-7
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/14397595.2020.1751945	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 Dam TT, Okamura K, Nakajima T, Yonemoto Y, Suto T, Arisaka Y, Tomonaga H, Tachibana M, Tajika T, Vu LD, Chikuda H, Tsushima Y.	4. 巻 49
2. 論文標題 Axillary lymph-node metabolic activity assessment on 18F-FDG-PET/CT in rheumatoid arthritis patients treated with biologic therapies.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scandinavian Journal of Rheumatology	6. 最初と最後の頁 96-104
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/03009742.2019.1650106.	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 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Trang T. Dam, Takahito Nakajima
2. 発表標題 A Pictorial Review of Positron Emission Tomography with 18F-FDG in Rheumatoid Arthritis
3. 学会等名 第105回北米放射線学会（国際学会）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Trang T. Dam
2. 発表標題 A Pictorial Review of Positron Emission Tomography with 18F-FDG in Rheumatoid Arthritis
3. 学会等名 105th Annual meeting of Radiology Society of North America (国際学会)
4. 発表年 2019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
研究分担者	米本 由木夫 (YONEMOTO YUKIO) (50400734)	群馬大学・大学院医学系研究科・研究員 (12301)	
研究分担者	岡邨 興一 (OKAMURA KOICHI) (90527722)	群馬大学・医学部附属病院・講師 (12301)	

	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
研究協力者	TRANG THUY (Trang Dam Thuy)		

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計1件

国際研究集会 105th Annual Meeting of Radiology Society of North America	開催年 2019年～2019年
--	--------------------

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------