

## がんに対する NIR-PIT

### <背景>

手術、放射線治療、化学療法の 3 大療法は、半世紀以上にわたってがん治療の主流である。しかし、これら従来のがん治療法では、免疫細胞や幹細胞等の正常細胞にも障害を与えてしまうため、がんの再発や回復の遅延につながり、患者の QOL に大きな影響を与えることとなる。第 4 の治療法と呼ばれるがん免疫療法の登場により、がん治療の状況は、この 10 年間で劇的に変化した。がん免疫療法は、一部の患者においては目を見張るような治療効果を示す一方で、奏効率はあまり高くない。大きながんでは、宿主の免疫システムのがんと闘う能力以上の場合があるし、標的外における非特異的な免疫系の活性化により、正常組織において自己免疫様の障害が起こる可能性もある。理論上は、がん細胞を選択的に死滅させ、さらに局所における宿主の免疫反応を活性化する治療法が理想的である。

そのような手法の一つが、近赤外光免疫療法 (near-infrared photoimmunotherapy; NIR-PIT) である。NIR-PIT は、がん細胞を選択的に死滅させ、さらに宿主の抗腫瘍免疫反応を活性化させるという点で、従来のがん治療法とは異なる。Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) を標的とする cetuximab-IR700 (RM1929) を用いた、切除不能な頭頸部扁平上皮がん患者を対象とした、NIR-PIT 初のヒト第 1/2 相臨床試験が 2017 年末に成功裏に終了し、2019 年には「fast-tracked」グローバル第 3 相臨床試験が開始され、そして 2020 年 9 月には日本において認可された。初期の結果では、再発頭頸部がんに対する既存のセカンドラインおよびサードラインの治療法よりも NIR-PIT の方が優れていることが示されており、NIR-PIT は新たながん治療法として有望であると言える。

NIR-PIT は、がんの細胞表面マーカーに結合する抗体と光活性化物質の複合体 (antibody-photoabsorber conjugate; APC) を注射する。モノクローナル抗体の標的指向性に由来したがん特異性が、NIR-PIT の大きな特徴である。APC は、主に標的となるがん関連抗原を過剰に発現しているがん細胞と結合するため、抗体に結合した光活性化物質 IRDye700DX (IR700) が近赤外光照射により活性化されることで、選択的にがん細胞を死滅させることができる。一方で、照射する近赤外光は細胞に対して無害で、組織内を数センチ透過することができる。さらに、IR700 自体は水溶性の光色素であり、光毒性や生体毒性はないため、APC から解離した IR700 は安全であり、速やかに尿中に排泄される。従って、標的特異的な APC と腫瘍に局限した光の照射の組み合わせることで、正常組織へのダメージを最小限に抑えた、高精度ながん治療が可能となる。この理論が正しいことは、初期の第 1/2 相臨床試験の結果が証明している。

重要な点は、既存のがん治療法とは異なり、NIR-PIT による非常に特異的ながん細胞死は、がんに対する宿主の免疫力を損なうことなく、多様な腫瘍特異的な免疫反応を活性化するという点である。NIR-PIT により、がん特異的な抗原や膜損傷時の危険信号が細胞外に急速に放出されることで、局所の樹状細胞が活性化し、その活性化樹状細胞が、がん特異的なナ

イーブ T 細胞を活性化・教育することで増殖し、細胞媒介性のがん細胞死を起こす。この過程は、免疫原性細胞死 (immunogenic cell death; ICD) として知られており、NIR-PIT は、おそらく宿主の免疫を誘導する最も優れた例である。NIR-PIT では、がん細胞に対して十分な APC が結合しなくても、NIR-PIT によって誘発される免疫反応により、NIR-PIT 後に生残したがん細胞を排除することができるため、不均一または不十分な送達、腫瘍自体の不均一性などの、抗体や抗体薬物複合体 (antibody-drug conjugate; ADC) などの従来の抗体ベースの治療の課題をクリアできる。さらに、NIR-PIT には繰り返し治療回数に制限がないため、複数回の NIR-PIT を行うことでも、これらの課題克服につながる。

### <基礎編>

#### 細胞傷害性メカニズム

近年、NIR-PIT による細胞死の分子メカニズムが明らかにされている。近赤外光を照射すると、光化学反応により IR700 から親水性の側鎖が遊離し、残った分子が強い疎水性となる (図 1 上段)。この化学的変化により、APC または APC-抗原複合体の不溶性凝集体が形成され、溶解性が変化する。その結果、物理的なストレスが生じることで細胞膜が傷害され、細胞外の水が細胞内に流入することで細胞が破裂する (図 1 下段)。

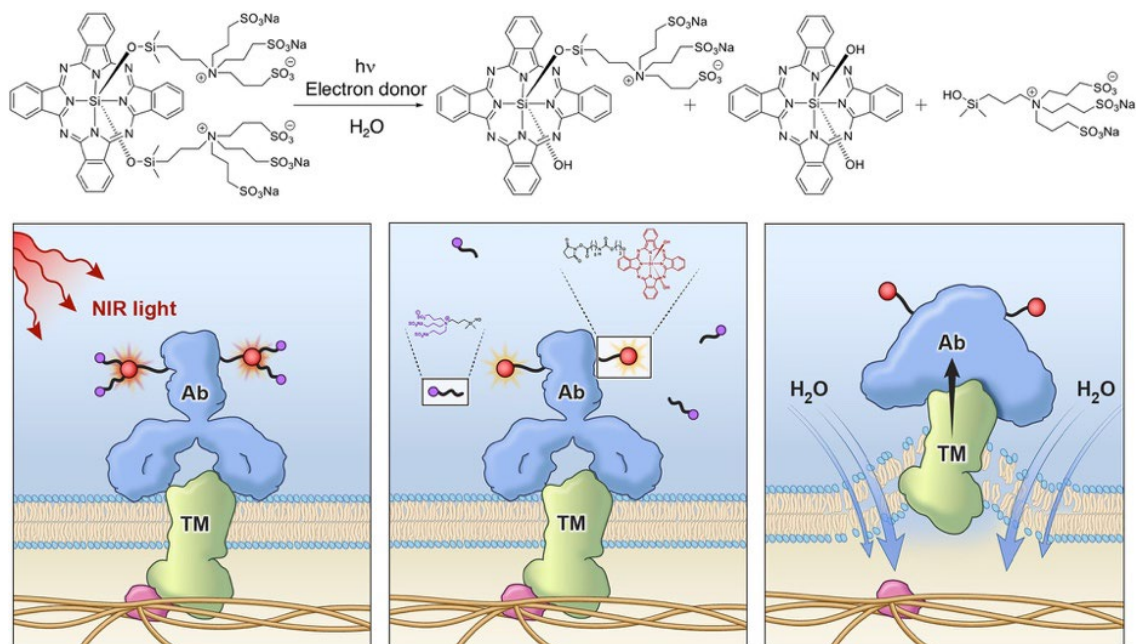


図 1 : NIR-PIT のメカニズム

NIR-PIT の細胞障害性メカニズムについては、三次元ライブセルイメージングや放射性プローブ、蛍光プローブ、生物学的マーカーなどを用いた、さらなる検討が行われている。急激な膨潤によって細胞膜に大きな裂け目が生じ、細胞質内の内容物が細胞外に放出され、一重項酸素消去剤である  $\text{NaN}_3$  を大量に加えても、低温下 ( $4^\circ\text{C}$ ) で NIR-PIT を行なっても、細胞の破裂を妨げることはなかった。しかし、50 mM のデキストランを含む高浸透圧緩衝

液に細胞を入れると、細胞の膨張が抑制された。細胞膨潤時に有機系および高分子の蛍光色素は侵入できなかったが、NIR-PIT 直後に  $H_2^{15}O$  が容易に細胞内に侵入した。以上の結果から、図2のようなメカニズムが想定されている。

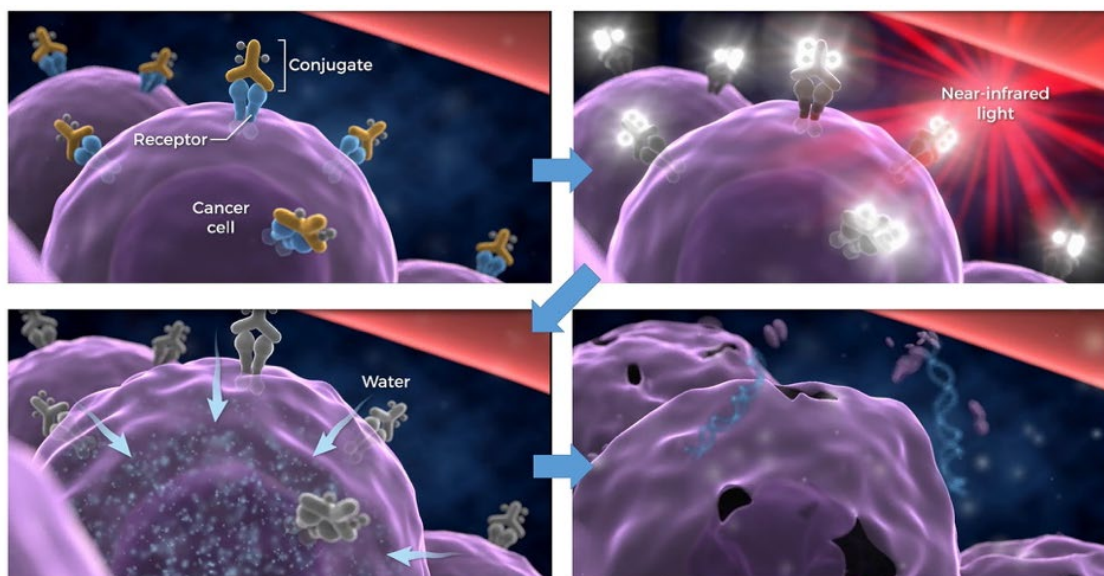


図2：NIR-PITによる細胞死

NIR-PITによる細胞の急速な膨潤と細胞膜の破壊はICDの特徴であり、heat shock protein (HSP) 70やHSP90などのストレスマーカー、カルレティキュリン、ATP、HMGB1などのダイニングシグナルを急速に活性化させ、未熟な樹状細胞の成熟を促し、がん細胞から放出された抗原に対する宿主の免疫反応が始まる(図3)。

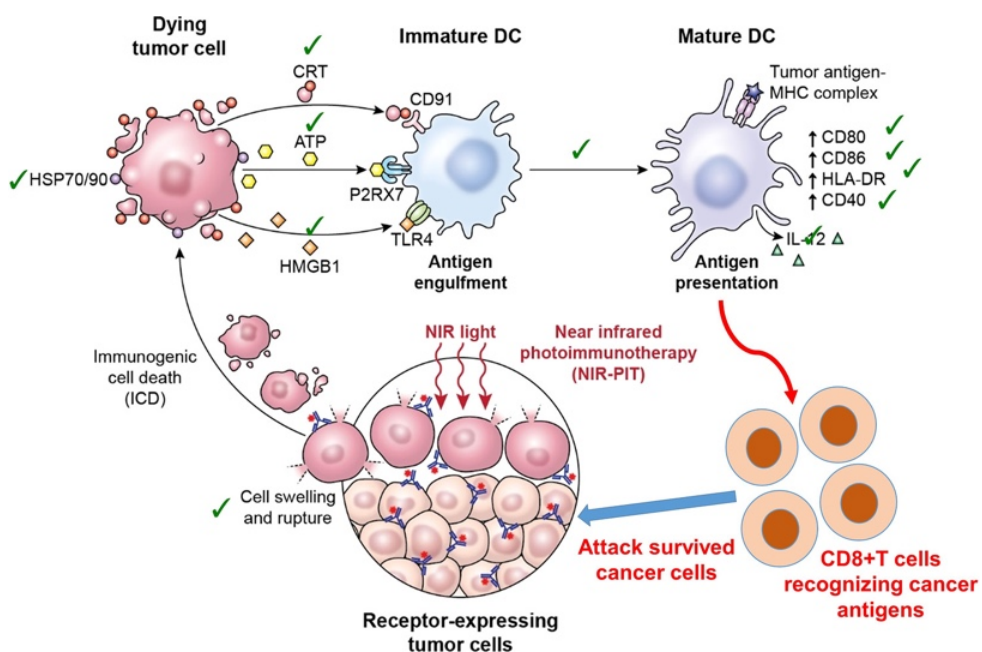


図3：NIR-PITによって誘導される免疫原性細胞死 (ICD)

## 免疫活性化メカニズム

NIR-PIT により ICD が生じることで、がん細胞近傍の微小環境において未熟な樹状細胞の成熟が促進される。それにより、がん細胞から放出された様々ながん抗原に対する CD8+T 細胞の再活性化が起こり、宿主の抗腫瘍免疫が強化される。がん細胞を標的とした NIR-PIT 自体は、腫瘍内のすべてのがん細胞を直ちに死滅させることはできないかもしれないが、宿主の免疫反応により残存したがん細胞を高い割合で死滅させるという結果が得られている。

従来のがん免疫療法として、IL-2 や IL-15 などの T 細胞を活性化するサイトカイン、抗 CTLA4 抗体や抗 PD1/PDL1 抗体などの免疫チェックポイント阻害剤、制御性 T 細胞 (Treg) や骨髄由来抑制細胞 (MDSC) などの免疫抑制細胞を枯渇させる手法などがある。これらの治療法は、腫瘍組織だけでなく、体の他の部位に元々存在している CD8+T 細胞も活性化することとなる。そのため、時には自己免疫疾患のようなオフターゲット効果が起こる。NIR-PIT はこれらの治療法とは異なり、全身に副作用を及ぼすことなく、局所的に宿主の免疫力を高めることができる。さらに、Treg 細胞に対しては CD25 または CCR4、MDSC に対しては CXCR2 を標的とする抗体を用いた NIR-PIT を行うことにより、腫瘍組織内の免疫抑制細胞を選択的に除去し、宿主の免疫力をさらに高めることができる。

抗 CD25 抗体を用いた Treg 標的 NIR-PIT は、シンジェニックマウスモデル (マウス由来がん細胞を免疫正常マウスに移植することで免疫反応を観察することが可能なモデル) において非常に有効であった。NIR-PIT によって Treg を選択的に除去することで CD8+T 細胞と NK 細胞が活性化され、治療を行っていない腫瘍にも効果が認められるという「アブスコパル」効果を示した(図 4)。

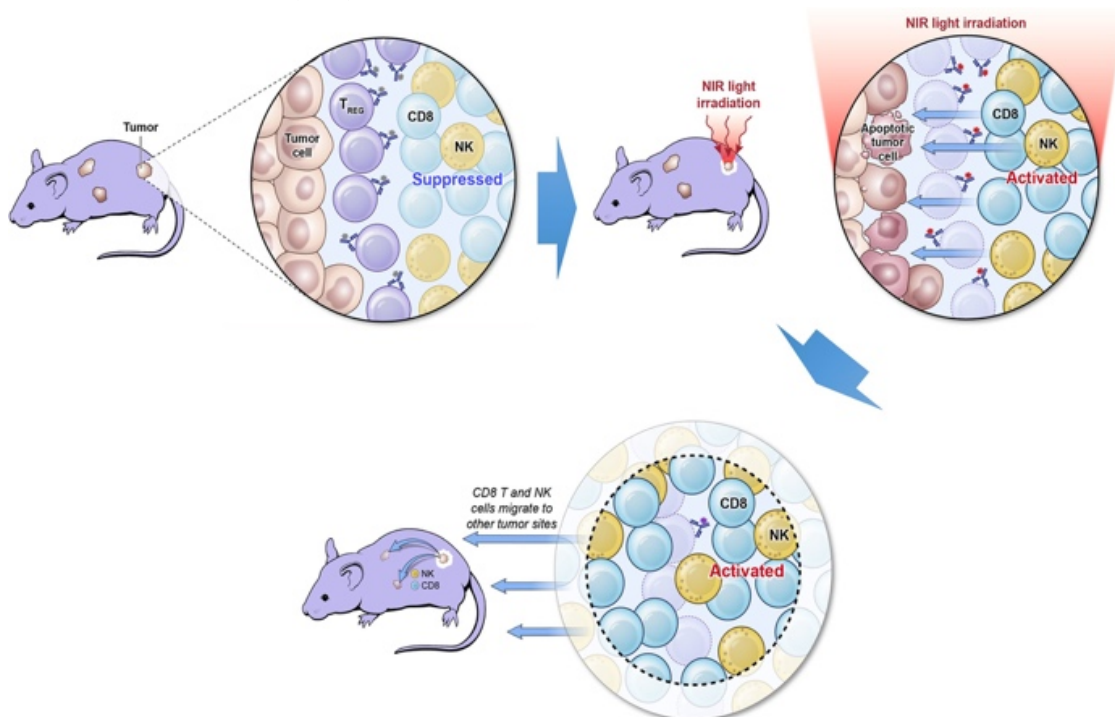


図 4 : CD25 を標的とした NIR-PIT による局所免疫療法のメカニズム



がん細胞を標的とする NIR-PIT は、免疫チェックポイント阻害剤（CPI）を含む従来の全身のがん免疫療法との併用が可能であり、NIR-PIT 後にさらに CD8+T 細胞を活性化させることで治療効果を高められる。マウスモデルにおいて NIR-PIT と CPI の併用により、腫瘍は直ちに縮小しはじめ、治療後数日で消失した。また腫瘍が消失した後に、同じマウスに再び同じがん細胞を植え付けようとしても、腫瘍が生育しなかったことから、これらのマウスは、NIR-PIT により、この腫瘍に対する免疫を獲得したと考えられる（図 5）。CPI との併用は動物モデルでは有効であったが、臨床においては CPI による好ましくない副作用が生じる可能性がある。

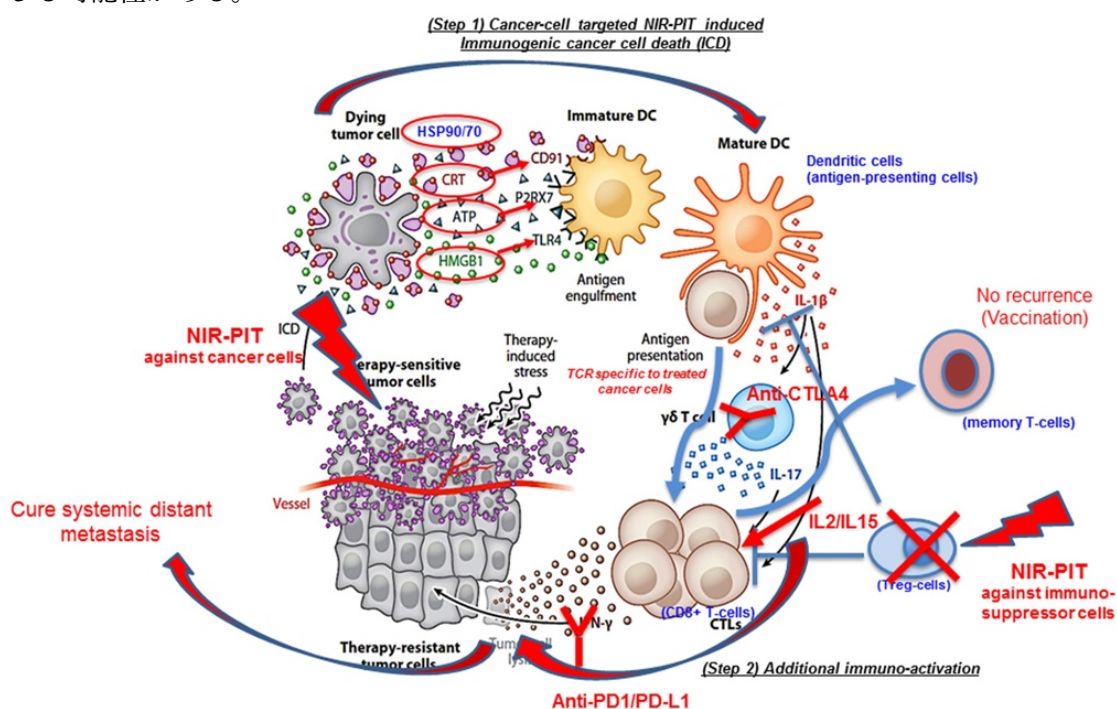


図 5：がん細胞を標的とした NIR-PIT と免疫細胞を標的とした NIR-PIT の併用

### NIR-PIT の適用

NIR-PIT は、適切なモノクローナル抗体が報告されている標的膜タンパク質が過剰に発現しているあらゆるがんに対して適用可能である。これまで、EGFR, HER2, PSMA, CEA, GPC3, mesothelin, CD25, CD20, PD-L1, CD44, CD133, Laminine33, MUC1 を標的とする APC を用いて、in vivo および in vitro において成功を収めている。乳がんおよび膠芽腫において、それぞれのがん幹細胞のマーカーである CD44 および CD133 を標的とした NIR-PIT を実施することにより、腫瘍の再発を抑えることができたことは、特筆される。さらに、異種移植の脇腹、腹膜、胸膜、孤立性または粟粒状の肺転移マウスモデル、胸腺欠損マウスや免疫不全マウスの同所移植がん、トランスジェニックマウスの自然発生肺がんも、NIR-PIT で治療することに成功している。690 nm の光は、表面もしくは光源から 1 cm 程度まで透過してがんを治療できるが、生体深部のがんであっても、カテーテル針や内視鏡に挿入したファイバーオプティカルディフューザーを用いた近赤外光の照射により治療することができる。

## NIR-PIT の治療効果のイメージング評価

NIR-PIT 実施後、すぐには腫瘍の大きさに変化は見られない。治療部位を直接観察すると、腫瘍が白っぽくなっていることが分かるが、常に直接観察できるわけではない。NIR-PIT の治療効果は、いくつかのイメージング手法を用いて観察することができる。IR700 を活性化した後放出される光は、蛍光カメラで検出可能なことから、NIR-PIT 後の蛍光強度減少を測定することで、光の照射によりリガンドの遊離反応が起こった、すなわちその部位に光が十分に照射されたという指標になり得る。しかし、この指標は治療がうまくいったことを示すものではない。NIR-PIT 直後に細胞死が起こるため、 $[^{18}\text{F}]\text{FDG-PET}$  のようなイメージング手法は、迅速な治療応答マーカーとなりうる(図 6)。

また、マウスを用いた実験においては、急性期の NIR-PIT 治療を評価可能な 2 つの先進的なイメージング技術として、蛍光寿命イメージングと生物発光イメージングがあり、治療効果をモニターするための優れた実験ツールとして用いることができる。

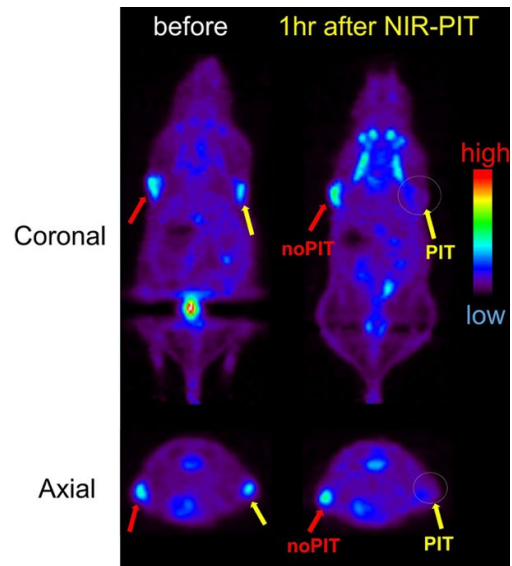


図 6: NIR-PIT 前後に撮像した $[^{18}\text{F}]\text{FDG-PET}$  画像。マウスの両肩に腫瘍を移植し、右肩のみに NIR-PIT を実施。治療前と治療 1 時間後に画像を取得。

## NIR-PIT 後の Superenhanced Uptake and Retention (SUPR)

ほとんどの腫瘍では、血管の漏出性により、物質の透過性と滞留性の亢進 (EPR) が見られるが、NIR-PIT を実施すると、治療直後から特に高分子化合物の血管からの透過性と漏出の顕著な増加が観察される。この現象は、EPR と区別するために SUPR (Superenhanced permeability and retention) 効果と呼ばれている。NIR-PIT 後の初期においては、細胞死の多くは血管周囲の層にある腫瘍細胞で起こるため、腫瘍血管周囲に空間が形成される。これにより、血管透過性が高まり、間質圧が低下するため、残存している腫瘍組織へのナノドラッグの輸送が促進される (図 7)。担がんマウスを用いた検討にお

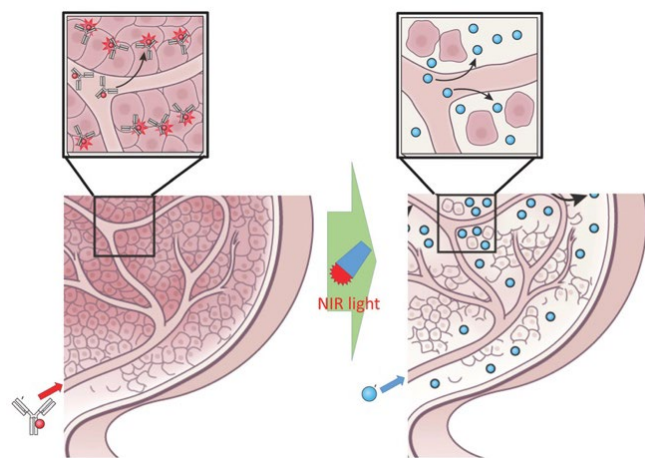


図 7: NIR-PIT による SUPR 効果のメカニズム

いて、NIR-PIT から 1 時間後の腫瘍組織への PEG 化 quantum dot 800 (Qdot 800) の集積はコントロールの腫瘍に比べて大きく増加した (最大 24 倍)。

FDA 承認のリポソームカプセル化ダウノルビシン (DaunoXome) またはナノ粒子アルブミン結合パクリタキセル (Abraxane) との併用治療をマウス異種移植モデルに行なった研究では、NIR-PIT とナノドラッグを併用することで、いずれかの治療法単独よりも有意に優れた治療効果が得られた。従って、NIR-PIT とナノドラッグの併用は有望な治療法となり得る。

### 血中循環腫瘍細胞 (Circulating Tumor Cells; CTCs) の NIR-PIT による治療

血中循環腫瘍細胞 (CTC) は、腫瘍が転移するメカニズムの一つと考えられている。CTC は腫瘍微小環境の形成に重要な正常間質細胞を呼び寄せることが可能な場所に生着するまで血管内を循環している。血中を循環している CTC には特徴的な細胞表面マーカーが存在することが知られており、特定の APC で容易に標的化することができる。プレスレットやネックレスなどの光源を用いて、手首や首などの表面に近い血管に対して継続的に近赤外光を照射することで、NIR-PIT により CTC を定期的に減少させ、生存期間の延長や転移リスクを低減することができると期待される。

### NIR-PIT による再生医療

組織工学という新しい分野では、幹細胞を特定の足場に置いて、新しい臓器を育てたり、傷を治したりすることができる。しかし、これらの細胞が生育する過程で、テラトーマが発生し、移植片が役に立たなくなることがある。このようなテラトーマは、APC の開発に適した特徴的な細胞表面マーカーを持っていることから、NIR-PIT により 2D または 3D 移植組織の正常部分を損傷することなくテラトーマを除去することが可能である。これにより、再生医療のスループットを向上させ、コストを削減することができる。

### 様々ながん種に対する NIR-PIT

NIR-PIT は、がん細胞や間質細胞の表面マーカーに結合する抗体が存在すれば、どのようなマーカーにも適用できる (図 8)。臨床試験や前臨床試験における様々ながんに対する NIR-PIT の利用例については次項からの臨床編にて紹介する。

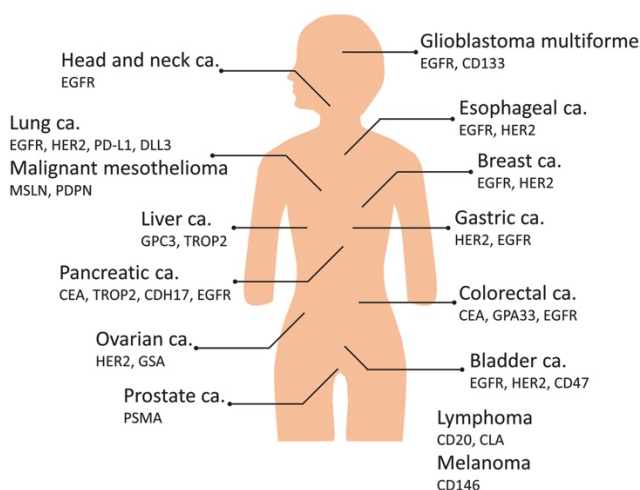


図 8: NIR-PIT の対象となるがん種および標的タンパク質

<臨床編>

まずは、Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) や Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 (HER2) および Prostate-Specific Membrane Antigen (PSMA)を発現する細胞を標的とする NIR-PIT が開発された。その後、様々な膜貫通型タンパク質を標的とする NIR-PIT が開発され、さらにはがん細胞以外の制御性 T 細胞や腫瘍関連マクロファージ、がん関連線維芽細胞、新生血管など、腫瘍微小環境を構成する細胞も標的とすることが可能となってきた。 (図 9)。

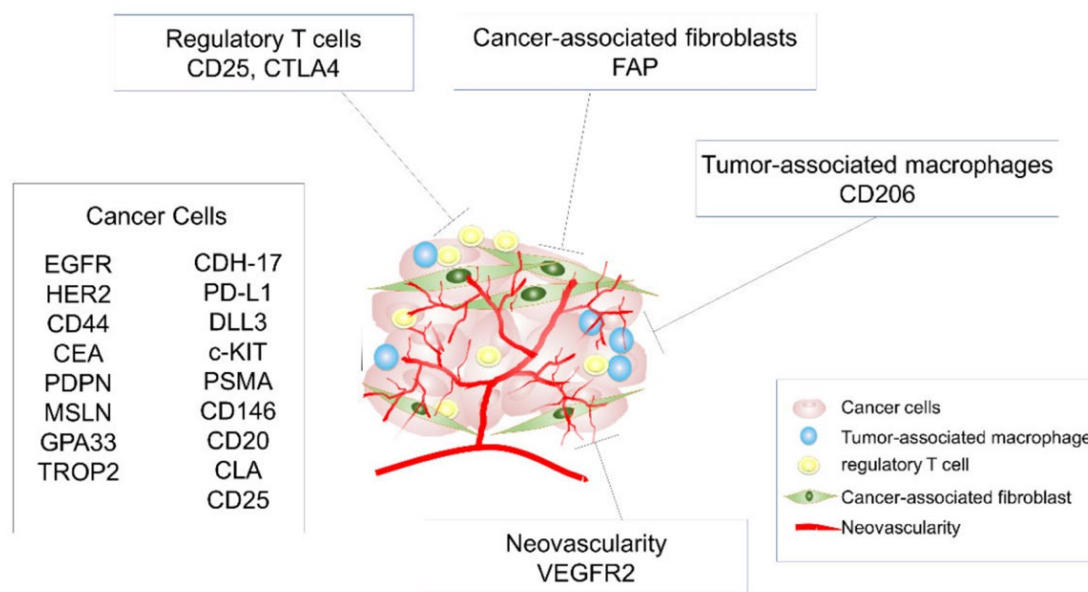


図 9：がん治療のために開発された NIR-PIT の標的分子

● NIR-PIT の標的分子

代表的ながん標的抗原

Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR)

EGFR は膜貫通型のチロシンキナーゼ受容体であり、上皮組織の発生とホメオスタシスを制御している。様々ながんにおいて EGFR の変異や過剰発現が報告されていることから (図 10A)、EGFR を標的とする治療が、いくつかのがんにおいては標準となっている。また頭頸部がん、子宮頸がん、膀胱がん、食道がんなどでは、EGFR の過剰発現が予後不良と関連している。従って EGFR は、NIR-PIT の初期の臨床試験の標的分子として適していると考えられる。EGFR を標的とした NIR-PIT の治療効果は、in vitro およびマウス異種移植モデルの両方の検討において実証されている。セツキシマブはキメラ型 IgG1 モノクローナル抗体であり、EGFR リガンド結合の競合阻害剤として、頭頸部扁平上皮がん、大腸がん、非小細胞肺がんの患者を対象に FDA から承認されている。頭頸部扁平上皮がん患者では、EGFR の過剰発現が非常によく見られる (最大 90%)。頭頸部扁平上皮がんに関与することは比較的容易であること、現在の治療法後に再発した患者の予後が悪いことから、NIR-PIT の臨



床試験は頭頸部扁平上皮がんを対象として開始され、2020年に日本で最初のEGFR標的NIR-PIT薬剤が認可された。また、適用拡大に向けて、セツキシマブ-IR700を用いたEGFR発現食道がんおよび胃がんに対する医師主導型臨床試験が2019年に開始されている。理論的には、EGFRを標的としたNIR-PITは、EGFRが過剰に発現している他の種類のがんにも適用可能である。

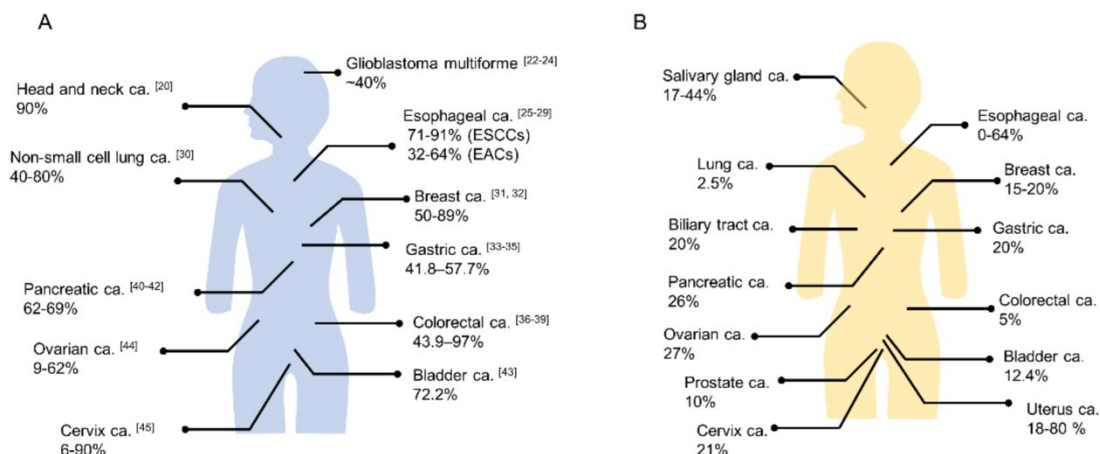


図 10：様々ながんにおける (A) EGFR および (B) HER2 発現の陽性率。(ca.; carcinoma, ESCC; esophageal squamous cell carcinoma, EAC; esophageal adenocarcinoma)

### Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 (HER2)

HER2 は、HER2/neu、c-erbB2 または ERBB2 としても知られる膜型チロシンキナーゼで、ErbB ファミリーのひとつである。HER2 は EGF 様リガンドとは結合せず、代わりに他の ErbB ファミリー受容体とのヘテロ二量体化に依存して活性化する点が、EGFR などの他の ErbB ファミリーとは異なる。乳がん患者における HER2 陽性率は、15-20%と報告されている。HER2 は乳がんの治療標的として確立されており、トラスツズマブやペルツズマブ、ラパチニブ、ネラチニブ、トラスツズマブエムタンシン (T-DM1) など複数の薬剤が HER2 陽性乳がんの治療薬として FDA に承認されている。また、胃がんの約 20%にも HER2 が検出されており、HER2 陽性の胃がん患者に対するトラスツズマブとトラスツズマブ・デルクステカンが FDA により承認されている。さらに、HER2 の増幅や変異、過剰発現は、さまざまな固形がんにおいても報告されている (図 10B)。トラスツズマブ-IR700 を用いた NIR-PIT の検討では、ヒト乳がん細胞株を用いた異種移植モデル、HER2 発現 NSCLC 細胞の胸膜播種モデル、食道がん細胞株を用いた in vitro 実験、そしていくつかの卵巣がん細胞株を用いた皮下腫瘍モデルおよび腹膜播種モデルにおいて有効性が確認されている。

### がん幹細胞マーカー (CD44、AC133)

非キナーゼ型膜貫通糖タンパク質である CD44 は、がん幹細胞(CSC)のマーカーとして良く知られており、細胞間接着を媒介し、上皮から間葉への移行やがんの進行を制御している。頭頸部がん、胃がん、肺がん、大腸がん、乳がん、肝細胞がん等の様々な種類のがんに

CD44 が発現しており、CD44 は有用な診断および予後予測マーカーであり、また抗体ベースの治療法の重要な標的となっている。CD44 を標的とした NIR-PIT は、CD44 陽性の口腔扁平上皮がんの同種移植マウスモデルにおいて、腫瘍の進行を有意に抑制し、生存期間を延長した。さらに、CD44 を標的とした NIR-PIT と PD-1 または CTLA4 チェックポイント阻害との併用は、単独療法よりも効果的であった。CD133 の幹細胞特異的なグリコシル化依存性のエピトープでもある AC133 は、多くの腫瘍で見られる CSC マーカーである。AC133 を標的とした NIR-PIT は、AC133 陽性の膠芽腫幹細胞の皮下および同所移植モデルにおいて、腫瘍の進行を抑制し、生存期間を延長した。

#### Prostate-Specific Membrane Antigen (PSMA)

PSMA は、前立腺がんの細胞膜マーカーとして確立されており、低分化型、転移性、ホルモン抵抗性前立腺がんにおいて最も高く多く発現している。PSMA の発現レベルは、前立腺がんのステージやグレードと関連しており、正常組織での発現は低い。PSMA を標的とした NIR-PIT は、マウスの前立腺腫瘍モデルにおいて、腫瘍の増殖を有意に抑制し、生存期間を延長した。さらに、PSMA を標的とした diabody(Db)や minibody(Mb)などの低分子の二価抗体フラグメントを用いた NIR-PIT も有効であった。

#### Carcinoembryonic Antigen (CEA)

細胞接着に関与する糖タンパク質である CEA は、既に様々ながんの腫瘍マーカーとして使用されており、大腸がん患者では CEA の発現レベルは予後と関連している。最初に発見されてから 50 年以上経った今でも、CEA は大腸がん と正常組織とを区別し (98.8% の症例)、リンパ節転移を検出するための優れたマーカーである。したがって、CEA はがん治療の有望な標的となると考えられる。CEA を標的とした NIR-PIT は胃がんの異種移植モデルだけでなく、同所性膵がんモデルにおいても副作用なく腫瘍の進行を有意に抑制した。膵がんは腫瘍を完全に切除することで全生存率が向上する。CEA を標的とした NIR-PIT は、同所性異種移植モデルにおいて、手術の補助として、残存する膵がんを治療可能であることを明らかにしており、さらに CEA を標的とした NIR-PIT と手術の併用によりがんの再発も減少した。このように、CEA を標的とした NIR-PIT は従来のがん治療のアジュバントとなり得る。

#### ポドプラニン (PDPN)

ポドプラニン (PDPN) は I 型の膜貫通型糖タンパク質で、リンパ管内皮細胞、I 型肺胞上皮細胞、糸球体のポドサイトなどに発現している。また、PDPN は、悪性胸膜中皮腫 (MPM)、血管肉腫、軟骨肉腫、骨肉腫、胚細胞腫、神経膠腫、膠芽腫、卵巣未分化胚細胞腫、皮膚・食道・肺・子宮頸部・頭頸部の扁平上皮がんなど、様々な腫瘍で発現が確認されている。NZ-1 抗体を用いた PDPN を標的とする NIR-PIT では、異種移植および同所性 MPM モデルの両方で腫瘍抑制効果を示した。

#### メソテリン (MSLN)

メソテリン (MSLN) は、細胞表面の糖タンパク質であり、肺がん、膵臓がん、卵巣がん、悪性中皮種などの複数の腫瘍で発現する腫瘍分化マーカーである。MSLN は、全身診断用のバイオマーカーとして使用できるほか、抗体ベース治療法のターゲットにもなる。MSLN を標的とした NIR-PIT は、マウスの異種移植モデルにおいて有効であることが示されている。

#### 糖たんぱく質 A33 抗原 (GPA33)

糖タンパク質 A33 抗原 (GPA33) は、ヒト大腸がんの 95%以上、胃がんの 60%以上、膵臓がんの 50%に高発現している。一方で、正常な腸管上皮では限られた発現しか示していないことから、大腸がんにおける NIR-PIT のターゲットとなり得る。GPA33 を標的とした NIR-PIT は、異種移植モデルにおいて腫瘍の増殖を抑制した。

#### Tumor-Associated Calcium Signal Transducer 2 (TROP2)

Tumor-Associated Calcium Signal Transducer 2 (TROP2)は、46kD の糖タンパク質であり、細胞質のカルシウムを伝達するなど、細胞内において多くの機能的役割を果たしている。TROP2 は、消化器がん、胆管がん、前立腺がん、膵臓がんなど、多くの上皮性がんで過剰発現しており、様々ながんの予後不良と関連している。TROP2 を標的とした NIR-PIT は、胆管がんや膵臓がんのモデルにおいて、腫瘍の増殖を抑制した。

#### カドヘリン-17 (CDH-17)

消化器がんの特異的な細胞表面バイオマーカーであるカドヘリン-17 (CDH-17)は、細胞-細胞間の接着接合分子であり、がん細胞の接着、進行、転移に重要な役割を果たしており、大腸がん、胃がん、膵臓がんなどで高発現している。CDH17 を標的とした NIR-PIT は、膵臓および胃の異種移植モデルにおいて、腫瘍の増殖を抑制した。

#### Delta-like protein 3 (DLL3)

Delta-like protein 3 (DLL3) は、正常組織での発現量はわずかであり、小細胞肺癌 (SCLC) や他の神経内分泌腫瘍の治療標的分子として期待されている。しかし、DLL3 を標的とした最初の抗体薬であるロバルピツズマブ-テシリンの検討は、TAHOE (NCT03061812) および MERU (NCT03033511) の臨床試験の失敗により 2019 年 8 月に終了した。一方で、DLL3 を標的とする NIR-PIT は、SCLC 異種移植モデルにおいて顕著な抗腫瘍効果を示した。ロバルピツズマブはすでにヒト臨床試験で使用されていることから、DLL3 を標的とするロバルピツズマブを用いた NIR-PIT は、容易に臨床に移行することができると考えられる。

#### グリピカン 3 (GPC3)

グリピカン 3 (GPC3) は、65kDa の膜結合型ヘパラン硫酸プロテオグリカンで、肝細胞がん (HCC) に高発現しているが、正常組織には発現していないことから、HCC の有望な治療標的と考えられている。GPC3 を標的とした NIR-PIT は、異種移植モデルにおいて、未治療のコントロール群と比較して腫瘍の増殖を抑制した。さらに、GPC3 を標的とした NIR-PIT とアルブミン結合パクリタキセルのナノ粒子を併用することで、治療効果が高まった。

## c-KIT (CD117)

c-KIT (CD117) は 90%以上の消化管間質性腫瘍(GIST)の細胞膜に発現しているため、NIR-PIT の分子標的となりうる。抗 CD117 抗体を用いた c-KIT 標的の NIR-PIT は、急性ネクロシスを誘発し、GIST 腫瘍モデルにおいて非常に有効であった。

## CD20

B 細胞系に由来する悪性細胞は、CD19 や CD20 などの B 細胞分化抗原を発現していることが多く、これらはモノクローナル抗体の標的となり得る。抗 CD20 モノクローナル抗体リツキシマブを用いた CD20 を標的とした B 細胞リンパ腫に対する NIR-PIT は、腫瘍の増殖を有意に抑制し、高悪性度 B 細胞リンパ腫の異種移植モデルに対する NIR-PIT の治療効果は、放射免疫療法よりも優れていた。

## 皮膚リンパ球抗原と CD25

菌状息肉症の細胞は、皮膚リンパ球抗原 (CLA) を発現していることが報告されており、CLA を標的とした NIR-PIT は、*in vitro* で菌状息肉症の細胞株を特異的に死滅させた。さらに、IL-2 受容体の  $\alpha$  サブユニットであり、成人 T 細胞白血病/リンパ腫 (ATLL) のほとんどの症例で過剰発現している CD25 は、Treg から生じると考えられている。したがって、CD25 は、ATLL の皮膚病変や Treg の殺傷に適した標的分子となる可能性がある。

## CD146

CD146 は、メラノーマ細胞の接着分子として同定されている。メラノーマにおける CD146 の発現は高く、原発性メラノーマの 70%とそのリンパ節転移の 90%に認められる。Wei らは、CD146 を標的とした NIR-PIT が、CD146 陽性のメラノーマ異種移植モデルの腫瘍増殖を抑制することを報告している。

## H タイプレクチン/ $\beta$ -D-グルコースレセプター

抗体以外の薬剤による NIR-PIT は、抗体を用いた NIR-PIT よりも難しいことが分かっている。しかし、galactosyl serum albumin (GSA) のような非抗体薬剤の使用にはいくつかの利点がある。その一つとして、全てのタイプの卵巣がん結合する単一の抗体を見つけることは困難であるが、GSA はほとんどの卵巣腫瘍の表面に過剰発現している H 型レクチンとも呼ばれる  $\beta$ -D-ガラクトース受容体を標的としている点である。GSA リガンドは  $\beta$ -D-ガラクトース受容体に結合した後、速やかに内在化されるため、効果的な NIR-PIT 療法には大量の近赤外光照射が必要であったが、GSA を用いた NIR-PIT は *in vitro* では卵巣がん細胞 (SHIN3) を特異的に死滅させ、腹膜播種モデルにおいて腫瘍の増殖を抑制した。これは、卵巣がんの特異的な抗体が利用できない場合に特に有用であると考えられる。このような抗体を用いない NIR-PIT を開発することは、NIR-PIT の有用性を多くの腫瘍に拡大するための効果的な方法となり得る。

## Programmed Death-Ligand 1 (PD-L1)



PD-1 (CD279) は、自己免疫を抑制する T 細胞免疫チェックポイントであり、PD-L1 (CD274) を発現している細胞の免疫寛容につながる。PD-L1 は、様々な種類の正常細胞（胎盤、血管内皮、膵島細胞、筋肉、肝細胞、上皮、間葉系幹細胞などのほか、B 細胞、T 細胞、樹状細胞、マクロファージ、肥満細胞など）に発現しているだけでなく、メラノーマ、腎細胞がん、非小細胞肺癌、胸腺腫、卵巣がん、大腸がんなど、多くのがん細胞でも過剰発現している。さらに、PD-L1 の過剰発現は予後不良と関連している。近年、PD-1/PD-L1 に対する抗体が複数開発され、臨床応用されている。完全ヒト化 IgG1 抗 PD-L1 抗体であるアベルマブを用いた PD-L1 標的 NIR-PIT は、異種移植モデルにおいて腫瘍の増殖を有意に抑制し、生存期間を延長した。

#### がん細胞以外の細胞を標的とした NIR-PIT

がん免疫療法は、内因性の免疫機構を利用して、がん細胞に対する免疫系を活性化または増強することを目的としている。先駆的な免疫チェックポイント阻害剤として、CTLA4 に対する抗体であるイピリムマブが、進行性メラノーマに対して 2011 年に承認された。ここ数年で、PD-1 や PD-L1 を標的とするチェックポイント阻害抗体や CAR-T 細胞療法など新しい免疫療法が開発され、承認されている。しかしこれらの治療法によって誘導される免疫の増強は、抗腫瘍性の反応を増強する一方で、重篤な、時には致命的な炎症性および自己免疫性の症状を引き起こす可能性がある。そのため、全身ではなく腫瘍組織でのみ免疫抑制細胞を阻害または死滅させる別のアプローチを考える必要がある。そこで、がん細胞ではなく免疫関連細胞を標的とした、新しいタイプの NIR-PIT の開発が行われている。

#### CD25

腫瘍組織内には、がん細胞を認識する T 細胞や NK 細胞が多数存在する一方、Treg などの免疫抑制細胞が近傍に存在することにより、その細胞傷害機能が抑制されている。腫瘍に浸潤した CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>Treg を制御することは、がんに対する免疫反応を高めるために不可欠なステップであると考えられている。しかし CD25 を標的にすると、Treg に加えて CD25 を発現している活性化エフェクター細胞までもが枯渇してしまう。さらに、全身の免疫抑制機構を遮断することは、自己免疫系の障害を誘発するリスクがある。そこで、腫瘍内部の CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>Treg を選択的に枯渇させ、抗腫瘍エフェクター細胞の活性化を誘導するために、CD25 を標的とした NIR-PIT が開発された。CD25 を標的とした NIR-PIT は *in vitro* では CD25 発現 HT-2-A5E 細胞のネクロシスを誘導したが、他のがん細胞では治療効果は観察されなかった。*in vivo* では、CD25 を標的とした NIR-PIT は、腫瘍に浸潤した CD8<sup>+</sup>T 細胞および NK 細胞の急速な活性化と抗原提示細胞の活性化を伴って腫瘍を縮小させた。さらに、治療後には未処置の腫瘍組織においても活性化 CD8<sup>+</sup>T 細胞および NK 細胞が増加しており、未処置の腫瘍にも効果があることが示された。

CD25 は IL-2 受容体  $\alpha$  鎖としても知られている。IL-2 受容体は Treg だけでなく、CD8<sup>+</sup>T 細胞や NK 細胞などの活性化リンパ球にも発現していることから、血中に残存したままの

抗 CD25 抗体-IR700 がこれらの受容体を遮断し、T 細胞の浸潤を妨げる可能性がある。Okada らは、抗 CD25-F(ab')<sub>2</sub> NIR-PIT が抗 CD25-IgG NIR-PIT に比べて、*in vivo* において腫瘍の増殖を抑制し、さらにアブスコパル効果を誘導しやすいことを報告している。抗 CD25-F(ab')<sub>2</sub>-IR700 の方が、血液クリアランスが早く、また抗体依存性または補体依存性細胞傷害が起こらないことで、血中の APC による IL-2 受容体遮断を最小限に抑えたことが要因と考えられる。このように、CD25 を標的とした局所的な NIR-PIT は、腫瘍特異的かつ全身性の抗腫瘍効果をもたらし、離れたところにある同種の腫瘍増殖にも影響を与えた。CD25 の発現と制御に関する研究は多数行われており、様々な知見があることから、CD25 を標的とした局所的な NIR-PIT は、Treg による免疫抑制を軽減し、それに伴い活性化したエフェクター細胞を介したがん細胞の殺傷を増強させる有望な方法である。

#### CTLA4

CTLA4 に対する抗体は、2011 年に免疫チェックポイント阻害剤として認可された。CTLA4 抗体は一部の患者に劇的な効果を示した一方、CTLA4 抗体で治療を受けた患者の最大 90% に免疫関連の有害事象が起きたことも報告されている。この問題の解決策として、がん微小環境でのみ CTLA4 発現細胞を死滅させる、CTLA4 を標的とした NIR-PIT が開発された。CTLA4 を標的とした NIR-PIT は、4 つのがんシンジェニックモデルにおいて T 細胞を介した抗腫瘍効果を引き起こし、腫瘍モデルの 50% 以上で効果が認められた。CTLA4 を標的とした NIR-PIT の後、エフェクター T 細胞と Treg のバランスが改善され、エフェクターとなる腫瘍内 CD8<sup>+</sup>T 細胞が有利になり、局所リンパ節で T 細胞が活性化された。さらに CTLA4 を標的とした NIR-PIT は、腫瘍移植マウスの半数以上にアブスコパル効果をもたらした。従って、CTLA4 を標的とした NIR-PIT は有望な治療法である。しかし、正常細胞とがん細胞の両方において、CTLA4 は細胞膜に発現しているよりもはるか大量に細胞質に存在している。したがって、CTLA4 を標的とした NIR-PIT の効果が細胞内に CTLA4 を大量に蓄えている細胞にどのような影響を与えるのかはまだ不明である。

#### CD206

腫瘍関連マクロファージ(tumor-associated macrophages; TAMs)は腫瘍の浸潤や転移に不可欠な役割を果たし、薬剤耐性の一因となっている。TAM のレベルは様々なヒトのがんの予後不良と相関しており、化学療法や放射線療法への抵抗性および再発の主な要因となっている。ソラフェニブ治療により腫瘍内に M2 マクロファージが誘導された腫瘍モデルにおいて、抗 CD206 抗体を用いた TAM を標的とする NIR-PIT は、皮下腫瘍の増殖を阻害し、肺への転移を防いだ。

#### Fibroblast Activation Protein (FAP)

がん関連線維芽細胞(cancer-associated fibroblasts; CAFs)は腫瘍微小環境に最も多く存在する細胞集団であり、腫瘍の進行、血管新生、転移、および免疫抑制に不可欠な役割を果たし

ている。CAF の特異的な表面マーカーである Fibroblast activation protein (FAP) は CAF の主要な標的分子として知られている。これまでの報告では、全身の FAP 陽性細胞を標的とすることで、腫瘍や間質の増殖を抑制する効果が示されているが、これらの手法では悪液質や貧血などの重篤な副作用が認められる。FAP を標的とした NIR-PIT は、CAFs に特異的かつ局所的に急速な細胞死を誘導するため、食道がんモデルにおいて副作用なく腫瘍の進行を抑制し、化学療法抵抗性を克服した。このように、FAP を標的とした NIR-PIT と従来の抗がん剤治療と併用することで、より効果的な治療戦略が期待される。

#### CD47

CD47 は、"don't eat me" シグナルを介して貪食を回避する細胞表面タンパク質であり、急性骨髄性白血病、非ホジキンリンパ腫、膀胱がんなど、いくつかのヒトのがんに高発現している。CD47 を標的とした NIR-PIT は、ヒト膀胱がんのマウス異種移植モデルにおいて、がん細胞の直接死と貪食を促進し、その結果として、腫瘍の増殖が抑制され、生存率が向上した。同様に、カルレティキュリンは細胞表面のタンパク質であり、CD47 による "don't eat me" シグナルに対して、"eat me" シグナルを与えることが知られている。このような理由から、CD47 を標的とした NIR-PIT によって貪食前のカルレティキュリンの発現を増加させれば、腫瘍の細胞毒性をさらに高めることができると考えられる。

#### Vascular Endothelial Growth Factor Receptor (VEGFR)

血管新生は主に VEGF とその受容体 (VEGFR) の相互作用によって制御されており、多くの悪性腫瘍において、がんの増殖と転移に重要な役割を果たしている。FDA で承認された抗 VEGFR-2 抗体であるラムシルマブを用いた治療により、転移性または切除不能な胃がん患者の全生存期間が大幅に改善される。抗 VEGFR2 抗体を用いた NIR-PIT では腫瘍の増殖抑制と血管の減少をもたらした。

#### 新しい特異な膜貫通抗原の強制発現による NIR-PIT

がん細胞に適切な標的抗原が存在しない場合、遺伝子導入技術を用いて人工的な標的抗原を発現させることで、その分子を APC で容易に標的とすることができる。例えば、HER2 を標的とした NIR-PIT は、HER2 陽性のがんに対して有望な抗腫瘍効果を示している。しかし、乳がん患者の HER2 陽性率は、15% から 20% 程度と報告されている。胃がんにおける HER2 陽性率は、わずか 12.2~22.1% と推定されており、胃がん自体が腫瘍間における HER2 不均一性を示している。分子標的となる抗原の欠如を克服するために、HER2 細胞外ドメインをコードする遺伝子 (HER2-ECD) を含む複製可能なアデノウイルスベクターが開発され、HER2 陰性の乳がんおよび胃がん細胞の表面に HER2-ECD を発現させた。発現した HER2-ECD は、HER2 の細胞内キナーゼドメインを持たないため、HER2 シグナル伝達経路を引き起こすことはない。外因性の HER2-ECD の発現はシグナル伝達経路に明らかな影響を及ぼさなかったが、トラスツズマブによる ADCC 活性は強く増強された。これらの結果は、細

胞表面に発現した人工的な外来ドメインが、NIR-PIT によるがん治療のターゲットになりうることを示している。実際、HER2 を標的とした NIR-PIT は HER2-ECD が遺伝子導入された HER2 陰性乳がん細胞に対して効果を示した。さらに、HER2 陰性胃がんの腹膜播種モデルマウスにおいて、HER2-ECD 投与と HER2 標的 NIR-PIT の併用は、重篤な副作用なしに腹膜転移を抑制し、生存期間を延長させた。しかし、この戦略の明らかな欠点は、すべてのがん細胞に遺伝子を導入することが難しいという点である。しかし、正常な免疫力があれば、NIR-PIT によって引き起こされた大量の ICD により、患者がネオアンチゲンに対する免疫を獲得し、がんの治療が成功する可能性がある。このように、標的抗原を細胞内に導入する遺伝子導入技術と、標的となる NIR-PIT を組み合わせることで、標的陰性または減弱したがん細胞に対しても、分子標的治療を拡大・強化することができる。

### NIR-PIT の併用療法

NIR-PIT は 2 種類以上の異なる APC を同時に注入し、その後に近赤外光を照射することで 2 種類以上の細胞を同時に標的とすることができる。NIR-PIT の組み合わせアプローチは特定のターゲットの発現量に関係なく、広い範囲の腫瘍をより効果的に標的とすることができるというメリットがある。パニツムマブ-IR700 とトラスツズマブ-IR700 を併用した NIR-PIT は膀胱がんの異種移植モデルにおいて、どちらか一方の単剤療法よりも高い効果を示した。さらに、標的が類似しているトラスツズマブ-IR700 (HER2 のドメイン IV に結合) とペルツズマブ-IR700 (HER2 のドメイン II に結合) を用いてヒト胃がん細胞上の HER2 の 2 つの異なるエピトープを標的とした場合、異種移植モデルにおいて併用 NIR-PIT を行うことで相乗効果が得られた。さらに、この NIR-PIT の理論は異なる腫瘍マーカーだけでなく、複数種の細胞を標的にすることにも応用できる。CD44 と CD25 を標的とした併用型 NIR-PIT は、腫瘍内のがん細胞と Treg を同時に治療できる。併用した NIR-PIT はいくつかの同種移植モデルにおいて、どちらかのタイプの NIR-PIT を単独で使用した場合と比較して有意な腫瘍増殖抑制を誘発し、生存期間の延長をもたらした。従って、この NIR-PIT の併用療法は、特に標的抗原の発現量が多く Treg が豊富な腫瘍に対して、長期的な抗腫瘍免疫を誘導するための効果的なアプローチである。

#### ● 各がん種における NIR-PIT

##### 頭頸部がん

- 頭頸部扁平上皮がんの 90% に発現する EGFR を標的とした NIR-PIT (セツキシマブ-IR700) は日本の厚生労働省から条件付承認を受けており、現在は再発頭頸部扁平上皮がんを対象とした第 3 相試験が実施されている。
- EGFR の他に、がん幹細胞マーカー CD44 を標的とした NIR-PIT も前臨床試験で良好な結果を示している。

頭頸部がんは、全世界での新規症例数 (93 万 1,000 人以上) およびがん死亡者数 (2020 年



に 46 万 7,000 人以上) が共に 7 番目に多いがんである。頭頸部扁平上皮がん (head and neck squamous cell carcinoma; HNSCC) は頭頸部がんの中で最も多いタイプである。HNSCC のリスク因子として、たばこの発がん物質への暴露や過剰のアルコール摂取およびヒトパピローマウイルスや EB ウイルスへの感染がある。早期の HNSCC 患者の約 30-40% は手術や放射線治療のみで治癒可能である。一方、患者の 60% 以上を占める後期段階の患者に対しては手術、放射線、化学療法、免疫療法などを含む複合的な治療が必要となることが多い。これらの併用療法の副作用により、音声、味覚、嚥下を制御する繊細な構造にダメージが生じ、生活の質を低下させる原因と考えられ、機能を維持しながらがんを効果的に治療する新たな治療法の開発が望まれている。

頭頸部がんは皮膚や粘膜に近接していることが多いため、NIR-PIT の適用が可能である。深部のがんに対しては、腫瘍組織内に光ファイバーを挿入することができる。また、頭頸部がんは重要な血管構造に浸潤している可能性があるため、NIR-PIT を行う際には注意が必要である。

#### 多形成膠芽腫 (GBM)

- 多発性膠芽腫の 40% に発現する EGFR を標的とした NIR-PIT (セツキシマブ-IR700) は前臨床試験で良好な結果を示していることから、臨床応用も可能ではないかと考えられる。
- GBM に関連するがん幹細胞マーカー CD133 を標的とした NIR-PIT は前臨床試験で良好な結果を示している。

多形性膠芽腫 (glioblastoma multiforme; GBM) は成人において侵襲性の高い腫瘍の一つであり、5 年後の予後はわずか 5.5% と低い。アメリカにおいては、1 年間に 11,833 人の患者が GBM と診断されたと推定される。70 歳未満の GBM 患者に対しては、最大限の外科的切除を行った後に放射線治療とテモゾロミド (TMZ) を併用し、その後 TMZ を補助的に投与するのが現在の標準治療である。高齢の患者ではパフォーマンスステータスが治療方針に影響を与える可能性があり、患者が強力な併用療法に耐えられるかどうかによって決定される。GBM は脳の MRI で見られる境界を越えて広がっていることは良く知られているが、手術や放射線療法、化学療法後の GBM の再発パターンの研究によると、約 80-90% が最初の治療領域内で再発することが示されており、現在の治療法の効果が不十分であると考えられる。NIR-PIT は手術のアジュバントとして、手術部位周囲に浸潤した切除できなかったがん細胞を選択的に死滅させるのに有効である。

NIR 光は頭蓋骨を透過することができるが、GBM の治療に十分な強度であるかどうかは不明である。細い繊維状の光学ディフューザーを小さなカテーテルに挿入して使用するか、開頭手術の補助として NIR-PIT を行う可能性が高い。術野に直接光を当てれば、腫瘍境界部の治療にも役立つと考えられる。また、再発時に必要に応じて光を照射するために、ワイヤレス LED を手術部位に挿入することも可能である。

## 食道がん

- 食道扁平上皮がんの 71-91%、食道腺がんの 32-64%に EGFR が発現していることから、EGFR を標的とした NIR-PIT が有効である可能性がある。
- 食道扁平上皮がんの 64%、食道腺がんの 32%に HER2 が発現していることから、HER2 を標的とした NIR-PIT が有効である可能性がある。
- がん細胞以外にがん関連繊維芽細胞を標的とした NIR-PIT も細胞実験において有用性を示した。

食道がんは全世界で 604,000 人以上が罹患する 11 番目に多いがんであり、がん死亡要因としては 6 番目（2020 年には全世界で 544,000 人以上が死亡）である。食道がんの 2 つの主要なサブタイプは、食道扁平上皮がん（esophageal squamous-cell carcinoma; ESCC）と食道腺がん（esophageal adenocarcinoma; EAC）である。ESCC が世界中の食道がんのうちの 90% を占め、東アジア、東アフリカ、南アメリカで多く発生している。EAC は発展途上国よりも先進国で多く見られる。食道がん患者では化学療法、化学放射線療法、外科的切除を含む複合的治療が行われるが、再発は特に治療が難しい。

NIR-PIT は上部消化管内視鏡検査と組み合わせて使用される可能性が高い。術者はあらかじめ APC を投与された患者の腫瘍位置を特定し、近赤外光を照射することができる。貫壁性腫瘍の治療は食道穿孔を引き起こす可能性があるため、適切な患者選択が必要である。

## 肺がん

- 非小細胞性肺がんの 40-80%に発現する EGFR を標的とするパニツムマブ-IR700 を用いた NIR-PIT は前臨床試験において有効な結果を示した。
- 多くのがん細胞で過剰に発現している PD-L1 を標的とするアベルマブ-IR700 を用いた NIR-PIT は非小細胞性肺がんに対する前臨床試験において有効な結果を示した。
- 小細胞性肺がんによく発現する DLL3 を標的とするロバルピツズマブ-IR700 を用いた NIR-PIT は前臨床試験において有効な結果を示した。
- 手術適応外となる非小細胞性肺がんの胸膜播種の治療に HER2 を標的とした NIR-PIT が有用である可能性が前臨床試験により示された。

肺がんは新規症例が 2,206,000 人以上である世界で 2 番目に多いがんであり、死亡者数は最も多い（2020 年には世界で 1,796,000 人以上）。肺がんの 2 つの主要なサブタイプは非小細胞肺がん（NSCLC）（患者の 85%）と小細胞肺がん（SCLC）（15%）である。

近赤外光は空気をよく透過することから、肺は NIR-PIT を展開する上で特に関心が高い臓器である。主気管支の近くの病変には気管支鏡を使い、より深部の病変には気管支鏡や経皮ファイバーを使用することで光を照射できる。正常な肺に光を当て、肺全体に透過させることで複数の病変を同時に治療することができるかもしれない。術中には、胸膜表面や肺実質に光を照射することができる。

## 悪性胸膜中皮腫

- 悪性胸膜中皮腫の病理マーカーとして用いられる podoplanin を標的とした NZ-1 抗体-IR700 を用いた NIR-PIT は前臨床試験において有効な結果を示している。
- 悪性胸膜中皮腫のマーカーである mesothelin を標的とした NIR-PIT は前臨床試験において有効な結果を示している。

悪性胸膜中皮腫（MPM）は胸膜や腹膜の中皮細胞から発生する悪性腫瘍で、予後は極めて悪く、生存期間の中央値は 8-14 カ月である。多くの場合、胸膜外肺切除術による腫瘍減量が実施されるが、再発が多いがんである。

NIR-PIT は減量手術の際に中皮腫が露出しているため、近赤外光を腫瘍表面に直接照射することができる。場合によっては、気管支鏡下で胸膜に光を照射することも可能かもしれない。

### 乳がん

- HER2 を標的とするトランスツズマブ-IR700 を用いた NIR-PIT は前臨床試験において有効な結果を示している。
- 標準治療法が確立されていないトリプルネガティブタイプの乳がんの 50-89%において EGFR の発現することが報告されており、EGFR を標的とした NIR-PIT（セツキシマブ-IR700）は前臨床試験で良好な結果を示している。
- がん細胞上に適した標的抗原が存在しない場合に遺伝子導入技術を用いて細胞に人工的な標的抗原を発現させ、その抗原に対する NIR-PIT を行う技術も開発されている。

女性の乳がんは全世界の新規症例が 226 万人以上と最も多いがんであり、死亡者数は 5 番目に多い（2020 年には 684,000 人以上）がんである。乳がんは 2 つのホルモン受容体（HR）および HER2 が陽性か陰性かによって、主に 3 つのサブタイプに分類される。上皮成長因子受容体ファミリーの一つである HER2 はシグナル伝達によって細胞の増殖、分化、アポトーシスを制御している。腫瘍は HR と HER2 の発現パターンによって、HR+/HER2-（患者の 70%）、HR±/HER2+（15-20%）、トリプルネガティブと呼ばれる HR-/HER2-（10-15%）の 3 つに分類される。乳がんの治療には集学的療法が用いられる。局所療法としては手術と放射線療法があり、全身療法としては、HR+患者に対するホルモン療法、化学療法、HER2+患者に対する HER2 標的療法、骨修飾薬、BRCA 変異がんに対する poly(ADP-ribose) polymerase (PARP) 阻害剤、免疫療法などがある。

乳がんにおいて様々な手法で NIR-PIT を実施することができる。限局性の腫瘍は組織挿入型ファイバーで治療し、局所再発や胸壁の再発にも同様の手法を用いることができる。肺転移については、肺に光を照射して治療することが可能であると考えられる。

### 胃がん

- 胃がんの 22%に発現している HER2 を標的とするトランスツズマブ-IR700 を用いた NIR-PIT は前臨床試験において有効な結果を示しており、また 5-FU との併用により抗腫瘍効果が増強されることも報告されている。

- トランスツズマブとは異なる HER2 のエピトープを認識するペルツズマブを NIR-PIT に用いることが可能なだけでなく、トランスツズマブ-IR700 と併用することで相乗効果も得られた。
- 胃がんの 41.8-57.7%に発現している EGFR を標的とする NIR-PIT も有用であると考えられる。

胃がんは全世界で 108 万 9,000 人以上の新規症例がいる 6 番目に多いがんであり、死亡者数は 4 番目に多い(2020 年には全世界で 768,000 人以上)。93%以上の胃がん患者において、ヘリコバクターピロリ菌への感染が関与している。

#### 大腸がん

- CEA を標的とする NIR-PIT は前臨床試験において有効な結果を示している。
- 大腸がんの 95%以上に発現している GPA33 を標的とする NIR-PIT は前臨床試験において有効な結果を示している。
- 大腸がん患者の 43.9-97%に EGFR の過剰発現が認められていることから、セツキシマブ-IR700 などを用いた NIR-PIT は有用な可能性がある。

大腸がんは全世界で 188 万人以上の新規症例がいる 3 番目に多いがんであり、死亡者数は 2 番目に多い(2020 年には全世界で 91 万 5000 人以上)。発展途上国よりも先進国において症例が多い。発展途上国の経済発展に伴って、2035 年までには大腸がん患者は 250 万人まで増加するとみられている。

#### 肝がん

- GPC3 を標的とする NIR-PIT は前臨床試験において有効な結果を示しており、また NIR-PIT 後の SUPR 効果により薬物送達が増強されるため、アルブミン結合パクリタキセルと併用することで抗腫瘍効果が増強されたことが報告されている。
- 胆管がんに過剰発現している TROP2 を標的とする NIR-PIT は前臨床試験において有効な結果を示した。

肝臓がんは全世界で 905,000 人以上の新規症例がいる 8 番目に多いがんであり、死亡者数は 3 番目に多い(2020 年には全世界で 830,000 人以上)。肝細胞がん(Hepatocellular Carcinoma; HCC)は、原発性肝悪性腫瘍の中で最も一般的なタイプである。HCC はウイルスによる慢性肝炎による肝硬変および腫瘍の形成が原因となっている。治療法としては手術、放射線、化学療法、免疫療法、肝移植などがあるが、一般的に HCC の死亡率は高い。

肝細胞は通常、肝実質内に存在し、肝臓は光透過性が低いため、カテーテルや光ファイバーを挿入した針を用いてアプローチする必要がある。将来的には、NIR-PIT 後に再発した場合に備えて、光を照射し続けることが可能なワイヤレス LED を体内に残しておくことも可能かもしれない。

胆管がん (Cholangiocarcinoma; CCA) は HCC に次いで 2 番目に多い肝がんであり、世界における原発性肝がんの約 15%、消化器系がんの約 3%を占める。体外から CCA の胆管に



近赤外光を照射することは困難である。しかし、新たに開発された LED 搭載カテーテル装置を用いれば NIR 光を照射することができ、異種移植モデルにおいて腫瘍を抑制することができた。

#### 膵がん

- 膵がんに過剰に発現している CEA、CDH17 または TROP2 を標的とする NIR-PIT は前臨床試験において有効な結果を示している。
- 膵がん患者の 62-69% に EGFR の過剰発現が認められることから、EGFR を標的とする NIR-PIT とその他の抗原を標的とする NIR-PIT を併用することが可能かもしれない。

膵がんは全世界で 495,000 人以上の新規症例がいる 14 番目に多いがんで、死亡者数は 8 番目に多い (2020 年には全世界で 466,000 人以上)。膵がんは進行性であり、特徴的な症状が初期にはほとんど認められないため、多くはかなり進行してから発見される。膵がん細胞は特に悪性度が高く、この数十年で手術の技術や補助療法が向上したにもかかわらず、根治的な外科的切除後の腫瘍再発率は 80% に達している。

膵がん原発巣は光の照射が難しい。膵がんの位置によっては超音波内視鏡による光照射で腫瘍に光を照射できる可能性がある。より現実的には、開腹手術や腹腔鏡手術の補助として NIR-PIT を行う可能性がある。再発率の高さを考えると膵がんでは NIR-PIT の照射範囲を広くすることが特に有益であると考えられる。

#### 消化管間質性腫瘍 (gastrointestinal stromal tumors; GISTs)

- GIST の 90% 以上で高発現している c-KIT を標的とする NIR-PIT は前臨床試験において有効な結果を示している。

GIST は消化管の最も一般的な粘膜下腫瘍 (submucosal tumors; SMTs) である。SMT は間葉系細胞に由来し、一般的に正常粘膜で覆われているため、従来の内視鏡検査では GIST と他のタイプの SMT を区別することは困難である。しかし、c-KIT は GIST の細胞膜の 90% 以上に発現しているため、NIR-PIT の分子標的となりうる。さらに、抗 CD117 抗体を用いた c-KIT 標的の NIR-PIT は急性のネクロシスを誘発し、GIST 腫瘍モデルにおいて非常に有効であった。

#### 卵巣がん

- HER2 を標的とする NIR-PIT は前臨床試験において有効な結果を示しており、卵巣がんの再発に多い腹膜播種モデルにおいても良好な結果を示している。
- 卵巣がんに過剰発現している  $\beta$ -d-ガラクトース受容体に結合する GSA を標的リガントとして用いた NIR-PIT は *in vitro* および腹膜播種モデルで有効な結果を示している。

卵巣がんは全世界で 31 万 3,000 人以上の新規症例がいる 19 番目に多いがんで、死亡者数が 15 番目に多い (2020 年には全世界で 20 万 7,000 人以上)。卵巣がんは転移性が高いため、限局性腫瘍 (ステージ I) と診断されるのは少数 (15%) だが、早期に診断できれば 5 年生存率は 92% に達する。しかし、大多数の症例は 5 年生存率が 25% の播種性腹腔内病変 (ス

ステージ III-IV) がある状態で発見される。卵巣がんの標準治療としては化学療法と手術の併用が行われる。腫瘍減量手術はまず巨視的な病変を全て取り除くために行われ(R0 切除)、R0 切除の成功は予後の指標となる。R1 (1 cm 未満) とされた場合、目に見える病変はすべて取り除かれているが、生存している微細ながん細胞が手術境界に残っていると想定され、再発が多いとされている。そのため、腫瘍減量手術後の腹膜内の残存病変を治療するための新しい治療法の開発が必要である。

再発の典型的なパターンは腹膜であり、開腹手術や腹腔鏡手術において直接光を当てることが可能である。一方、リンパ節転移はより大きな問題であり、手術中に直接光を照射する必要があるかもしれない。NIR-PIT はすべての症例を治療可能なわけではないが、再発した腹膜疾患を死滅させ、再発卵巣がんの主要な症状である悪性腹水を防ぐのに非常に有効である。

#### 膀胱がん

- 膀胱がんに発現している EGFR (72.2%) および HER2 (44.5%) を標的とする NIR-PIT は前臨床試験において有効な結果を示している。
- CD47 を標的とする NIR-PIT は前臨床試験において有効な結果を示している。

膀胱がんは全世界で 573,000 人以上の新規症例がいる 13 番目に多いがんであり、死亡者数が 14 番目に多い (2020 年には全世界で 212,000 人以上)。膀胱がん患者の評価は軟性膀胱鏡検査により行われる。

#### 前立腺がん

- 前立腺がん細胞で過剰発現している PSMA を標的とする NIR-PIT は前臨床試験において有効な結果を示している。
- PSMA を標的とした NIR-PIT の利点としては、既に技術が発達している PSMA-PET によりイメージングが可能な点である。

前立腺がんは全世界で 1,414,000 人以上の新規症例がいる 4 番目に多いがんで、死亡者数は 9 番目に多い (2020 年には全世界で 375,000 人以上)。前立腺がんの治療は手術や放射線治療、低悪性度の場合は監視療法などが選択される。しかし、治療には高い確率で尿失禁や勃起不全などの有害事象が伴うため、代替療法が提案されている。フォーカルセラピーは前立腺がんを物理的に破壊する手法であるが、正常な前立腺組織を損傷する上に浸潤性疾患を完全には治療できないことが多い。

一般的に前立腺生検は MRI と超音波の融合イメージング下で行うため、前立腺がんの NIR-PIT は比較的簡単に行うことができる。生検針の代わりに光ファイバーの針を前立腺に挿入することで、尿道、括約筋、骨盤神経などの重要な構造物を温存しながら、がん細胞を死滅させることができる。

#### リンパ腫

- B 細胞型リンパ腫の細胞に発現している CD20 を標的とする NIR-PIT は前臨床試験に

において有効な結果を示している。

- 菌状息肉症の細胞に発現している CLA を標的とする NIR-PIT は前臨床試験において有効な結果を示している。

リンパ腫は全世界で 627,000 人以上の新規症例がいる 9 番目に多いがんで、死亡者数は 12 番目に多い (2020 年には全世界で 283,000 人以上)。従来、リンパ腫はホジキンリンパ腫 (リンパ腫の約 13%) と非ホジキンリンパ腫に分類される。リンパ腫の大部分 (約 90%) は B 細胞由来である。B 細胞リンパ腫は、CD19 や CD20 などの B 細胞マーカーを発現していることが多く、モノクローナル抗体の標的となり得る。

菌状息肉症 (Mycosis fungoides; MF) は稀ながんではあるが、皮膚型 T 細胞リンパ腫の中で最も多いサブタイプである。MF 細胞は Cutaneous Lymphocyte Antigen (CLA) を発現していることが報告されている。

#### メラノーマ

- 原発性メラノーマの 70%、リンパ節転移の 90% で過剰発現している CD146 を標的とする NIR-PIT は前臨床試験において有効な結果を示している。

メラノーマは最も悪性度が高く、致死率の高い皮膚がんである。メラノーマの治療には外科手術、化学療法、光線力学療法 (PDT)、免疫療法、低分子阻害剤や抗体を用いた標的療法など、集学的な治療法が用いられる。

初期のメラノーマは通常、皮膚表面で発生するため近赤外光の直接照射に比較的適しているが、リンパ節に深く浸潤している場合は腫瘍全体に光を照射するために、カテーテルや光ファイバーを用いる必要がある。

#### 骨転移

骨はがん患者の転移部位の中で 3 番目に多い部位である。光は骨を透過しないため、骨転移に対する NIR-PIT は効果がないと考えられてきた。しかし、*ex vivo* の実験では NIR-PIT は骨を透過するだけでなく、骨の裏側にあるがん細胞も死滅させることができた。さらに、腫瘍の生存率は NIR-PIT によって低下した。したがって、光の透過率は低下するものの、NIR-PIT は骨内のがんを治療することも可能である。