

《原 著》

In-111 標識モノクローナル抗体 96.5 および ZME 018 による
ヒトメラノーマのイメージングについて

小山田日吉丸* 石原 和之** 福喜多博義*** 早坂 健一**

要旨 われわれは、米国 Hybritech 社から帝人株式会社を介して入手した 2 種類の抗ヒト・メラノーマ・マウス・モノクローナル抗体 (96.5 と ZME 018) をそれぞれ In-111 で標識し、イメージングを試みたので、その結果について報告した。

対象は、96.5 についてはメラノーマ 11 例、基底細胞癌 1 例、ZME 018 についてはメラノーマ 6 例、基底細胞癌 1 例であり、両薬剤による画像およびそれらの体内挙動についての比較検討を行った。

メラノーマについては In-111-96.5 は 31 病巣中 24 病巣を描出し、In-111-ZME 018 は occult lesion 2 病巣を含む 10 病巣中 9 病巣を描出した。しかし、後者については病巣数が少ないので両者の陽性率を単純に比較することはできない。基底細胞癌は両抗体でともに、ごく淡かったが描出された。体内挙動の差は両抗体の間でごく僅かなものと考えられた。あわせて治療への応用についても考察を加えた。

I. はじめに

Köhler と Milstein¹⁾ によるモノクローナル抗体作成法の開発以来、癌関連抗原を認識するモノクローナル抗体 (MoAb) を放射性核種 (RI) で標識して行う癌の画像診断は、それを一歩進めた治療への応用とともに、癌の臨床において一つの大きな研究分野となってきた。そして in vivo でこのような手法は今や癌のみならず他の良性疾患、例えば心筋梗塞や血栓症などの診断への応用にまで発展しつつあり²⁻⁴⁾、一方、in vitro の分野でも血中の癌関連抗原やその他の各種微量物質の測定にまで広く応用されるに至った。

画像診断においては、RI 標識 MoAb を人体に投与する必要があるが、この MoAb は現時点では異種動物 (マウスが主体) を介して作られているた

め、わが国においては安全性との関連で諸外国にくらべ臨床例数が格段に少ない。その中にあってわれわれは、帝人株式会社を介して米国 Hybritech 社より入手した抗メラノーマ・マウス・モノクローナル抗体を In-111 で標識し、他施設との協同研究の形で治験を行ってきた。この治験は、最初北里大学、京都大学、国立がんセンターの 3 施設が参加して 96.5 という MoAb について行われ (代表世話人：西山茂夫北里大学医学部皮膚科学教授)、ついで 6 施設 (熊本大学・金沢大学・東京大学・埼玉大学・千葉大学・横浜市立大学) が加わって ZME 018 という MoAb について行われた。これら MoAbs はともに IgG_{2a} である (whole IgG)。このうち、国立がんセンターにおける 96.5 の成績についてはすでに発表済みである⁵⁾ が、今回は同センターにおける ZME 018 についての成績をまとめ、96.5 についてのそれと比較検討したので、両者の成績をあわせてここに報告する。

II. 対象および方法

対象は、96.5 については既報のごとくメラノーマ 11 例 (男性 7 例：34 歳～57 歳、平均 48.9 歳；女性 4 例：42 歳～70 歳、平均 54.8 歳) と 59 歳の

* 癌研究会附属病院アイソトープ部

** 国立がんセンター皮膚科

*** 同 放射線診断部

受付：元年 6 月 1 日

最終稿受付：元年 9 月 11 日

別刷請求先：東京都豊島区上池袋 1-37-1 (☎ 170)

癌研究会附属病院アイソトープ部

小山田 日吉丸

基底細胞癌の 1 例 (女性) の計 12 例で, ZME 018 についてはメラノーマ 6 例 (男性 2 例: 45 歳と 72 歳, 平均 58.5 歳; 女性 4 例: 40 歳~80 歳, 平均 56.0 歳) と 76 歳の基底細胞癌 1 例 (男性) の計 7 例である。

これら MoAbs に標識する核種としては In-111 111 MBq (3 mCi) ないし 185 MBq (5 mCi) が用いられたが, 標識および投与の方法は 96.5 についてすでに発表してあるものと全く同様である⁵⁾。また, 集積度の判定基準は治験実施に際して定められたところに従った。すなわち, “-:バックグラウンド (BG) とかわらず, ±: BG より多少多い, +: BG より明らかに多い, ++: 心臓の取り込みと同程度, +++: 心臓よりも強い取り込み” とした。

III. 結 果

1. 標 識 率

両抗体についての標識率を Table 1 に示す。96.5 については最初の 2 例を除いて良好な値が得られ (平均 $94.3 \pm 0.7\%$), ZME 018 についても 96.5 よりは僅かに低いとはいえ, 一応良好な値 (平均 $92.0 \pm 0.6\%$) が得られている。

2. 尿中排泄率

投与後 4 日間にわたる放射能量でみた尿中排泄率の推移を Fig. 1 に示す。96.5 については第 3 例目以降の, 全尿採取が可能であった 7 例についての平均であり, ZME 018 についてもやはり全尿採取が可能であった 5 例についての平均である。最初の 24 時間値における両抗体の差は標識率の差を反映しているようにも見えるが, 統計学的には有意差はなかった (ただし標識率には有意差あり)。それ以降は両抗体ともに数%の排泄率であるが, 日を追って微増の傾向を示している。そして, かつ ZME 018 の方がやや低く推移してはいるものの, 統計学的にはやはり有意差はなかった。

3. 全身計測値

両抗体についての, 全身計測による体内残留放射能の推移を Fig. 2 に示す。96.5 については, 標識率が良好な抗体を投与された症例のうちの 7 例

Table 1 Labeling efficiency

96.5	
1st and 2nd cases	60-70%
3rd to 12th cases	$94.3 \pm 0.7\%$
ZME 018	
All cases (7 cases)	$92.0 \pm 0.6\%$

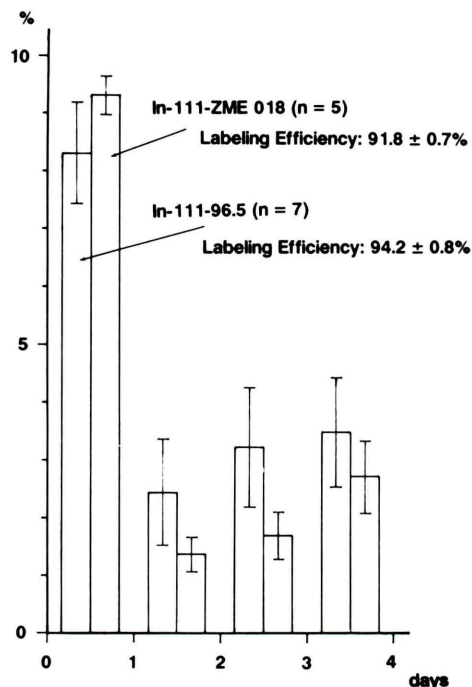


Fig. 1 Urinary excretions of In-111-96.5 and In-111-ZME 018.

についての平均であり, ZME 018 については 7 例全例についての平均である。両者ともに非常によく似たカーブを示しているが, はじめのうち ZME 018 の方がやや低値を示しており, その後 96.5 と交叉している。ちなみに, slow component についての $T/2$ は 96.5 で $0.693/0.285 = 2.432$ days となり, ZME 018 で $0.693/0.266 = 2.605$ days であった。

4. 血中クリアランスについて

両抗体についての血中放射能の推移を Fig. 3 に示す。96.5 については標識率が良好な抗体を投与

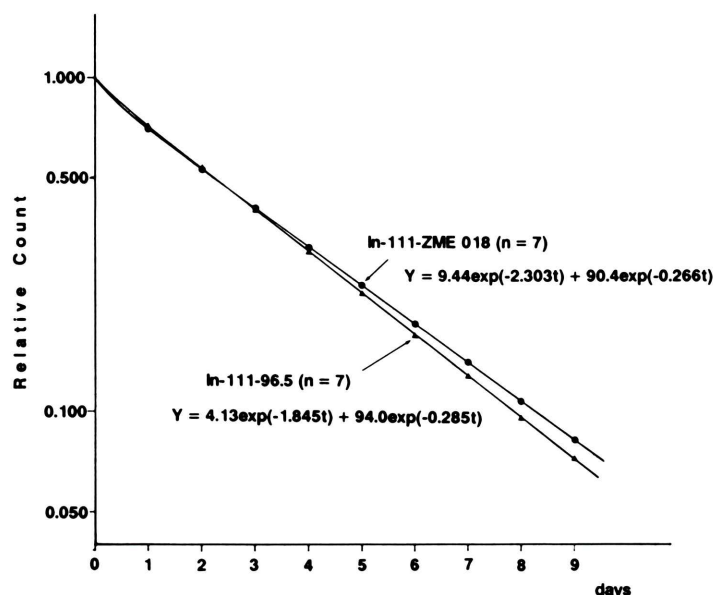
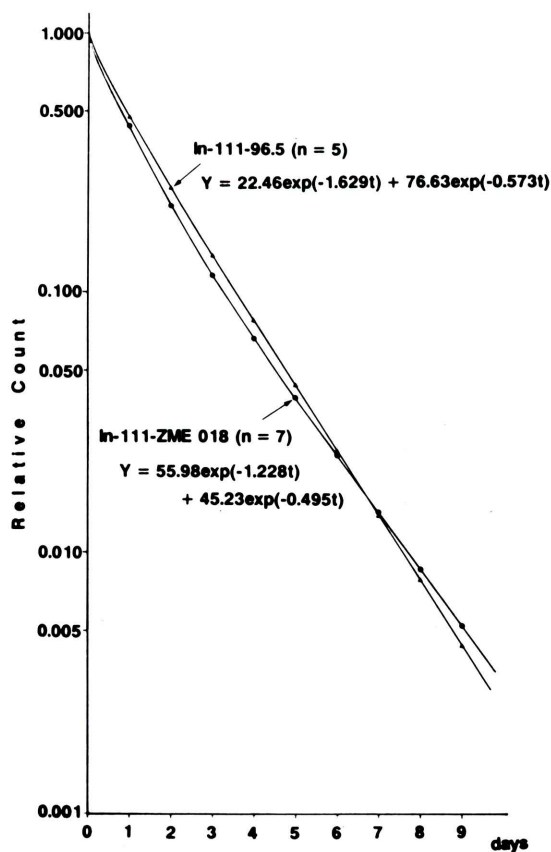


Fig. 2 Whole body retention curves of In-111-96.5 and In-111-ZME 018.



された症例のうちの 5 例についての平均であり、ZME 018 については 7 例全例の平均である。両抗体ともよく似た推移を示しているが、やはり全身計測値の推移と同じような交叉が途中でみられる。ちなみに、slow component についての $T_{1/2}$ は 96.5 で $0.693/0.573 = 1.209$ days, ZME 018 で $0.693/0.495 = 1.400$ days であった。

5. 成績

メラノーマ症例に関しての 96.5 についての成績は Ga-67-citrate による成績と対比してすでに報告してあるが、今回は ZME 018 についての成績をそれと合わせて Table 2 に示す。ZME 018 の症例についても 5 例において Ga-67-citrate によるシンチグラムが行われた。

ZME 018 のシリーズでは、それで陽性に描出されながら Ga-67-citrate で描出されなかった病巣がありはしたもの、全体に症例数が少なく、陽性率を Ga-67-citrate や 96.5 の場合と単純に比較することはできない。ただ、筆者らの漠然とした

Fig. 3 Blood clearance curves of In-111-96.5 and In-111-ZME 018.

Table 2 Results

In-111-96.5

In-111-96.5 31 known lesions				Ga-67-citrate 16 known lesions				Combined	
+++	9	} 24 (77.4%)		+++	4*	} 12 (75.0%)		} 26 (83.9%)	
++	6			++	2				
+	9			+	6				
±	2	} 7 (22.6%)		±	1	} 4 (25.0%)		} 5 (16.1%)	
-	5			-	3				

*including one lesion with a marked inflammation

I-111-ZME 018

In-111-ZME 018				Ga-67-citrate				Combined	
8 known lesions		2 occult lesions		6 known lesions		2 occult lesions			
+++	2	} 9 (90.0%)	2	+++	2	} 6 (75.0%)		} 9 (90.0%)	
++	2			++					
+	3			+	4				
±				±					
-	1			-	2				

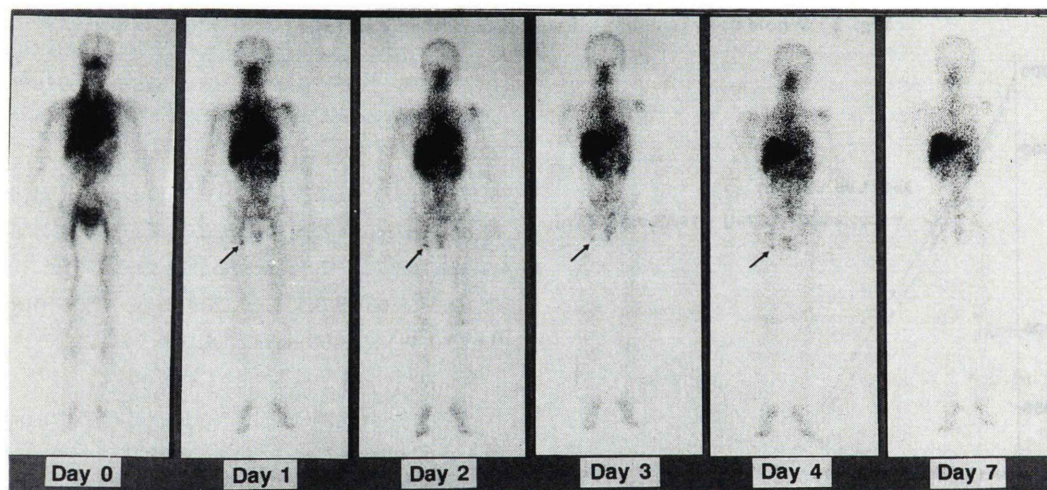


Fig. 4 T.C., 47 y, female, No. 271697.

Day by day distribution pattern of In-111-ZME 018 in a case with malignant melanoma in the right inguinal region. The lesion was visualized as indicated by arrows.

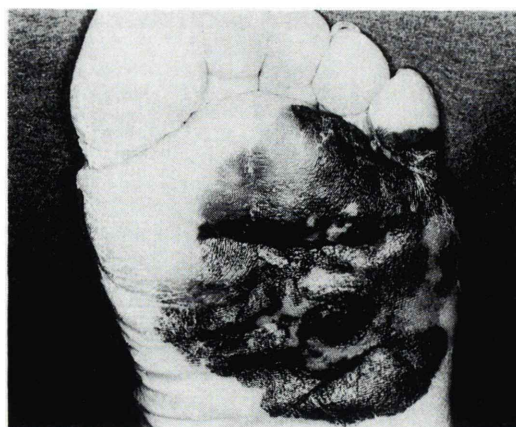
印象を述べるならば、両抗体はメラノーマに関しては似たような描出能をもっているように思われる。

基底細胞癌についてはそれぞれ1例ずつ試みられたが、いずれもごく淡く描出された。

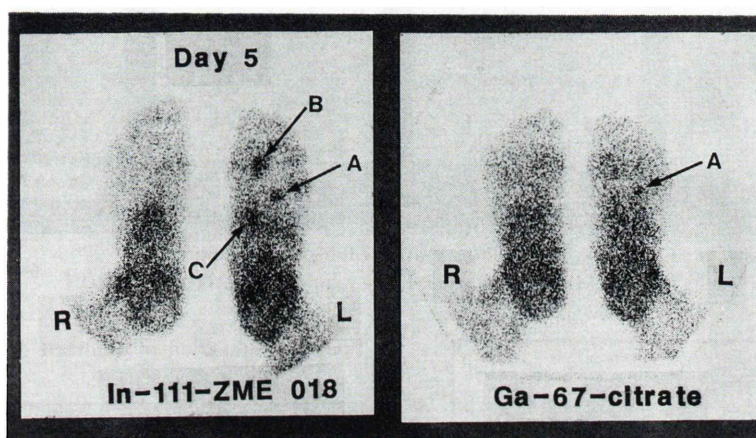
6. 実際の症例について

Figure 4にZME 018を用いた症例の日を追っ

ての画像を示した。すでに報告してある96.5の場合と同様に、心、大血管系の描出が投与後数日間にわたって認められるほか、肝への強い取り込みや骨髄の描出などが目立つ。これらを含んだ全体の分布パターンおよび画像の推移は96.5の場合と大差ないように思われる。この例では右鼠径部の2×2 cmのリンパ節転移巣が淡く描出されている。



5a



5b

Fig. 5 K.Y., 72 y, male, No. 313668.

- a A photograph of the left sole, showing a marked pigmentation. See text.
- b Scintigrams taken with In-111-ZME 018 and Ga-67-citrate. Pathological diagnoses were established after surgery as follows. A: malignant melanoma, B: malignant melanoma in situ, C: intraepidermal growth of atypical melanocytes. See text.

Figure 5 は左足底部に大きな色素沈着のある症例であり、ZME 018 による画像と Ga-67-citrate による画像をあわせて呈示した。術後の組織学的検討では、矢印 A で示された集積はメラノーマ (Level 3, Breslow 4 mm) で、矢印 B は in situ とのことであった。そして矢印 C で示されたものは、表皮内にとどまっている異型性を伴ったメラノサイトの増殖と判定された。したがって、ZME 018 については、集積巣 A, B, C すべてが true

positive ということになり、Ga-67-citrate については集積巣 B, C はともに false negative ということになる。

Figure 6 は左第 4 指のメラノーマの症例であるが、大変強い集積が認められている。この症例では画像上で病巣への In-111-ZME 018 の集積率を測定してみたが、それによると 0.055% ID/g という非常に高い値が算出された。そこで吸収線量の算出を試みてみたので次にそれについて述べる。

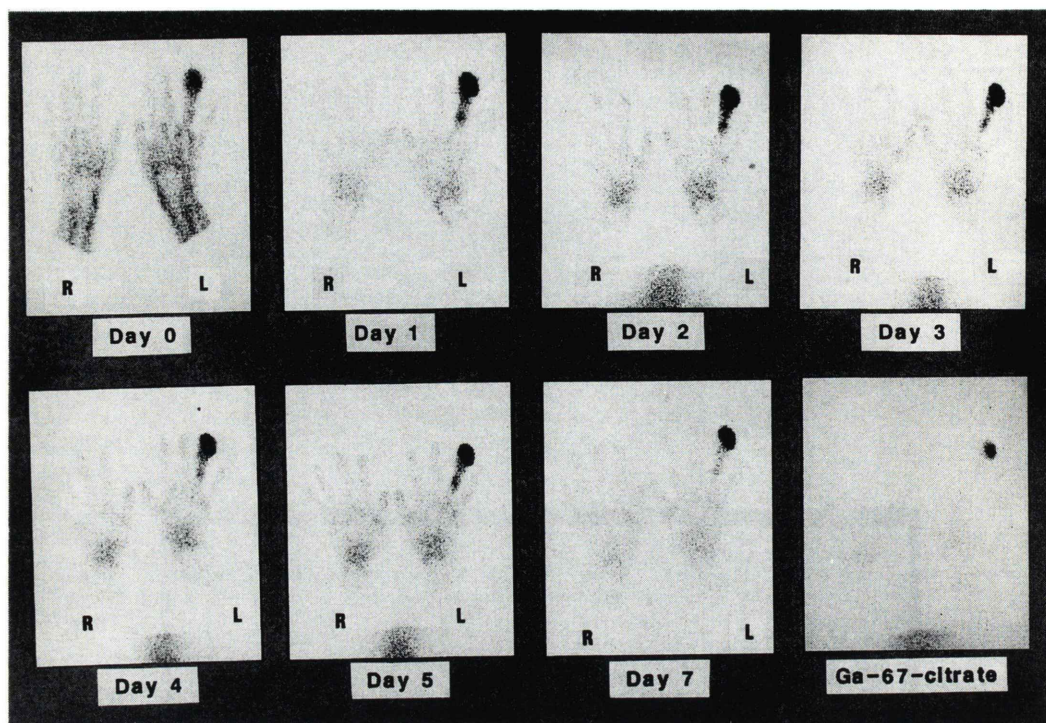


Fig. 6 E.N., 40 y, female, No. 310167. Malignant melanoma.
In-111-ZME 018 was used. Body weight: 72 kg, Height: 155 cm

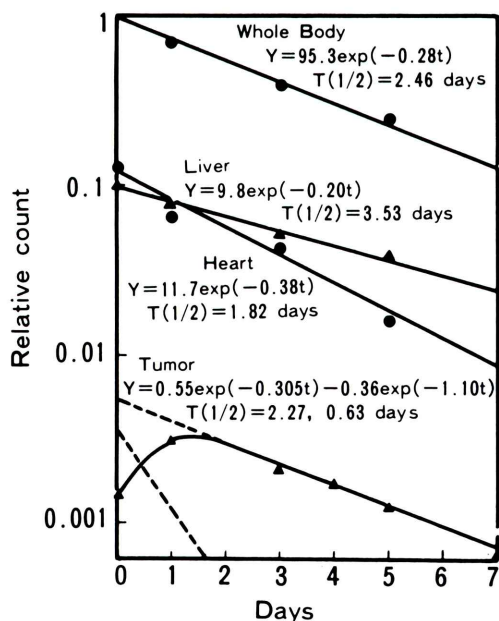


Fig. 7 Time-activity curves of the whole body, liver, heart, and tumor in the case shown in Fig. 6.

Table 3 Estimation of absorbed dose in the case of Fig. 6 (See text)

	In-111-ZME 018 cGy/37 MBq	Y-90-ZME 018 cGy/37 MBq
Whole Body	0.58	2.60
Liver	2.19	15.5
Tumor*	2.83	108.9

*Uptake ratio (extrapolated to time zero):
0.055 %ID/g

7. 診断時の吸収線量と β 線放出核種を用いた 場合の吸収線量について

Figure 7は、Fig. 6 に示した症例の診断時における画像上から求めた全身、肝臓、心臓、病巣についての放射能の推移を示す。病巣以外は片対数グラフ上に直線で近似してある。 β 線放出核種としては Y-90 を考慮し、Y-90-ZME 018 の体内での挙動が In-111-ZME 018 のそれと全く同じであるものと仮定して Y-90-ZME 018 についての吸収

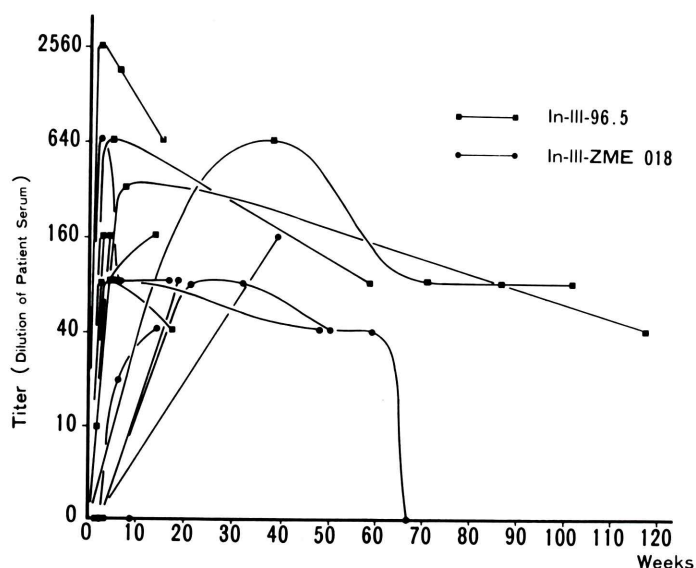


Fig. 8 Time-courses of HAMA titers in both 96.5 and ZME 018 groups after administration of these MoAbs.

線量の算出を行った。その詳細については筆者らの一人福喜多が別に発表の予定である。

吸収線量の算出結果を Table 3 に示す。この症例にみるように、病巣への集積が良好で、それを減らすことなく肝への非特異的集積をもう少し低下させることに成功すれば（当然全身の吸収線量も減少し）、Y-90-ZME 018 によるメラノーマの治療も可能になってこよう。

8. Human Anti-Mouse Antibody (HAMA) について

用いた MoAbs は異種動物を介してのものであり、投与後にはそれに対する抗体 (HAMA) の発生が十分考えられる。そこで、株式会社帝人バイオサイエンスラボラトリーズに依頼して HAMA を測定していただいたので、その結果を Fig. 8 に示す。両抗体ともほとんどの症例で HAMA titer の上昇をみているが、ずいぶん長期間にわたってそれが上昇したままであることがわかる。また、ZME 018 の方が 96.5 よりは僅かに遅れて HAMA が出現する傾向にあるようにも見受けられるが、その点に関しては症例が少ないため断定的なことは言えない。

9. 直接的な副作用について

両抗体ともに投与後に血圧、脈拍、呼吸数、心電図、末梢血、血液生化学、尿などの所見には特別な異常をみなかった。

IV. 考 案

RI 標識 MoAb を用いたラジオイムノイメージングによる癌の画像診断は、現在大きな期待をもって世界的な規模で研究されている。今回、われわれは他施設との協同治験研究の形で行われたメラノーマのイメージングについて、国立がんセンターで扱われた症例分をとりまとめてここに報告した。96.5 に関してはすでに報告してある⁵⁾が、ここにはその分も含め、ZME 018 のデータと対比して示した。京都大学や千葉大学からも ZME 018 についての似たような成績が最近報告されている^{6,7)}。われわれの場合は、ZME 018 を用いたメラノーマ症例は 6 例にすぎず、陽性率について 96.5 と詳細に比較検討することはできない。しかし、さきにも述べたごとく、体内での両者の分布像には大差なく、病巣の描出能についても似たようなものであると思われる。なお、In-111-ZME

018について Taylor ら⁸⁾は、添加する非標識 MoAb の量を 2.5 mg から 40 mg の範囲でいろいろと変えてイメージングを行い、全体で 77% の陽性率を得ている。一方、Murray ら⁹⁾も同様に、ZME 018 の量を 1 mg から 20 mg の範囲で投与し、5 mg 未満では 28 病巣中 8 病巣 (29%) しか集積を認めなかったが、それ以上では 77 病巣中 55 病巣 (71%) が集積を示したと報告している。

われわれが用いた 2 種の MoAbs は、いずれも米国 Hybritech 社から入手したもので whole IgG であり、標識核種としては In-111 が用いられた。このように whole IgG を In-111 で標識した場合には、肝への非特異的集積が大変強いことが最大の欠点であり、また骨髄への取り込みや、血中残留時間の長いことからくる心大血管系の描出も画像診断にとってはマイナス要因である。そのような欠点に対してはクリアランスの早い F(ab')₂ や Fab などの fragment を用いることも一つの方法ではある。しかし、抗 CEA 抗体の F(ab')₂ と抗 CA 19-9 抗体の F(ab')₂ を I-131 で標識した IMACIS-1 によるイメージングでは、筆者の経験に関する限り良好な画質とはいえなかった。結局、われわれ臨床側からは、最近注目を浴びている Tc-99m による標識¹⁰⁾や、バックグラウンドをさげるいろいろな試み (bifunctional antibody^{11,12)}, avidin-biotin chelate system^{13,14)}, metabolizable spacer¹⁵⁾などの開発や、immunoreactivity の高い fraction の使用¹⁶⁾など)に期待したいところである¹⁷⁾。

一方、このラジオイムノイメージングには HAMA の問題が常につきまとい、今回のわれわれの経験でも、whole IgG を用いていることもあって、ほとんどの症例で HAMA の発生をみている。したがって、この点に関してはキメラ抗体の開発¹⁸⁾とか、免疫抑制剤の使用についての検討¹⁹⁾などに期待したい。

RI 標識 MoAb を治療に用いた場合の線量については、われわれは病巣への取り込みが際立ってよかった (0.055% ID/g) 1 例についてだけ計算を試みてみた。その結果から考えるに、この程度の

病巣への集積率が達成され、しかも肝への非特異的な集積を何らかの方法によって減少させることができれば pure β emitter あるいは α emitter を標識しての癌の治療も夢ではなくなるものと思われる。しかし、メラノーマ症例についてのわれわれの経験では、このように良好な集積を示す症例ばかりではない。結局、radioimmunoimaging および radioimmunotherapy の将来は、いかにバックグラウンドを減らしながら病巣への取り込みをよくすることができるのかにかかっていると言えよう。さらなる発展が期待される所以である。

謝辞：筆者らの一人小山田が国立がんセンター在職中、本論文に関係するイメージングにご協力をいただいた技師のみなさまに心から感謝いたします。

(本論文の内容の一部は厚生省がん研究助成金 1-40 による)

文 献

- 1) Köhler G, Milstein C: Continuous Cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature* **256**: 495-497, 1975
- 2) Khaw BA, Gold HK, Yasuda T, et al: Scintigraphic quantification of myocardial necrosis in patients after intravenous injection of myosin-specific antibody. *Circulation* **74**: 501-508, 1986
- 3) Khaw BA, Strauss HW, Moore R, et al: Myocardial damage delineated by In-111 antimyosin Fab and Technetium-99m pyrophosphate. *J Nucl Med* **28**: 76-82, 1987
- 4) Oster ZH, Som P: New Perspectives in thrombus-specific imaging: Radiolabeled monoclonal antibodies. *AJR* **152**: 253-260, 1989
- 5) 小山田日吉丸, 石原和之, 早坂健一, 他: In-111 標識モノクローナル抗体 (96.5) によるメラノーマイメージングの試み. *核医学* **23**: 1595-1611, 1986
- 6) Koizumi M, Endo K, Watanabe Y, et al: Immunoscintigraphy and pharmacokinetics of Indium-111-labeled ZME-018 monoclonal antibody in patients with malignant melanoma. *Jpn J Cancer Res (Gann)* **79**: 973-981, 1988
- 7) 村上康二, 養島 聡, 宇野公一, 他: In-111 標識モノクローナル抗体 (ZME 018) と Ga-67 シンチグラフィによる悪性黒色腫のイメージング. *核医学* **26**: 113-119, 1989
- 8) Taylor A Jr, Milton W, Eyre H, et al: Radioimmunodetection of human melanoma with

- Indium-111-labeled monoclonal antibody. *J Nucl Med* **29**: 329–337, 1988
- 9) Murray J, Rosenblum MG, Lamki L, et al: Clinical parameters related to optimal tumor localization of Indium-labeled mouse antimelanoma monoclonal antibody ZME-018. *J Nucl Med* **28**: 25–33, 1987
 - 10) Schwarz A, Steinsträsser A: A novel approach to Tc-99m-labeled monoclonal antibodies. *J Nucl Med* **28**: 721, 1987
 - 11) Frinke JM, Chang CH, Ahlem CN, et al: Pharmacokinetics of bifunctional antibody delivered In-111 benzyl EDTA to colon tumors in nude mice. *J Nucl Med* **27**: 1042, 1986
 - 12) Stickney DR, Frinke JM, Slater JB, et al: Bifunctional antibody technology; Clinical applications for CEA expressing tumors. Abstract of “Third International Conference on Monoclonal Antibody Immunoconjugates for Cancer”, San Diego, 1988, p. 24
 - 13) Goodwin DA, Meares CF, McCall MJ, et al: An avidin-biotin chelate system for imaging tumors. *J Nucl Med* **28**: 722, 1987
 - 14) Hnatowich DJ, Virzi F, Rusckowski M: Investigation of avidin and biotin for imaging application. *J Nucl Med* **28**: 1294–1302, 1987
 - 15) Yokoyama K, Paik CH, Quadri SM, et al: Amplification of antibody tumor targeting by chemical modification with ester bond. *J Nucl Med* **28**: 572, 1987
 - 16) Yokoyama K, Paik CH, Reynolds JC, et al: Immunoreactivity affects the biodistribution and tumor targeting of radiolabeled anti-p97 Fab fragment. *J Nucl Med* **28**: 651, 1987
 - 17) 小山田日吉丸：腫瘍を巡るラジオイムノイメージングの現状. *Innervision* **8**: 5–10, 1988
 - 18) Horwitz AH, Chang CP, Hellstroem I, et al: Production of functional anti-tumor Fab protein by secretion from yeast cells. Abstract of “Third International Conference on Monoclonal Antibody Immunoconjugates for Cancer”, San Diego, 1988, p. 21
 - 19) Ledermann JA, Begent RHJ, Riggs SR, et al: Suppression of the human anti mouse antibody response by Cyclosporin A (CsA) during therapy with a monoclonal antibody. Abstract of “Third International Conference on Monoclonal Antibody Immunoconjugates for Cancer”, San Diego, 1988, p. 26

Summary

Radioimmunoimaging of Malignant Melanoma with In-111-Labeled Monoclonal Antibodies 96.5 and ZME 018

Hiyoshimaru OYAMADA*, Kazuyuki ISHIHARA**, Hiroyoshi FUKUKITA***
and Kenichi HAYASAKA**

**Department of Nuclear Medicine, Cancer Institute Hospital*

***Department of Dermatology, National Cancer Center Hospital*

****Department of Diagnostic Radiology, National Cancer Center Hospital*

This paper includes the results of imaging and kinetic studies on two kinds of In-111-labeled monoclonal antibodies (MoAbs), 96.5 and ZME 018, which are known to have capability of recognizing different surface antigens present in malignant melanoma cells. These MoAbs were supplied by Hybritech Inc. through Teijin Ltd. The former MoAb (96.5) was used on 11 cases of malignant melanoma and one case of basal cell carcinoma, and the latter MoAb (ZME 018) was used on 6 cases of malignant melanoma and one case of basal cell carcinoma.

As for the malignant melanoma, the results obtained from both patients groups were compared to each other. Twenty-four out of 31 lesions in the former group and 9 (including 2 occult lesions) out of 10 lesions in the latter group were visualized. However, these positive ratios can not be compared to each other because of the very small number of the lesions in the latter group. One basal cell carcinoma each from both groups were faintly visualized.

Distribution patterns of these In-111-labeled MoAbs were similar to each other. Except for the first two cases in the former group, labeling ef-

ficiencies were $94.3 \pm 0.7\%$ with 96.5 and $92.0 \pm 0.6\%$ with ZME 018. Urinary excretions on the 1st day were $8.3 \pm 0.9\%$ with the former and $9.3 \pm 0.3\%$ with the latter. However, there was no statistical difference. Following the 1st day, these values changed at the level of several per cent from the 2nd to 4th day, showing a subtle and gradual rise and slightly lower values for In-111-ZME 018. But, again, there were no statistical differences. Whole body retention curves in both groups were similar to each other, and blood clearance curves were also found similar in both groups. HAMA titers were checked in all patients and were found elevated after the administration in most of the cases.

Although the number of patients tested in this series is small, especially with In-111-ZME 018, both MoAbs labeled with In-111 seem to be equally capable of visualizing malignant melanoma. Possibility of the treatment of malignant melanoma with this kind of technique was also discussed.

Key words: Monoclonal antibody, Radioimmunoimaging, Radioimmunotherapy, Malignant melanoma, Indium-111.