

令和元年6月21日現在

機関番号：32643

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K06870

研究課題名(和文) 腫瘍免疫に基づくアブスコパル効果のメカニズム解明と画期的な腫瘍治療戦略

研究課題名(英文) Investigation of mechanism of abscopal effect and therapeutic application

研究代表者

白石 憲史郎 (Shiraishi, Kenshiro)

帝京大学・医学部・教授

研究者番号：40447404

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：担癌マウスモデルによる基礎的検討により、照射に端を発する免疫賦活メカニズムを介したabscopal effectの誘導には自然免疫が関与することを明らかにした。エフェクタ細胞としてCD4/CD8陽性T細胞や抗原提示細胞が中心的役割を果たす。通常分割照射でも寡分割照射でも同様の結果を認めた。研究期間を延長し、最小単位でのabscopal effect誘導物質探索のため化学的に合成されたEC1301の部分ペプチドによるeffector候補が判明し、HMGB1とHSP70の関与が証明された。abscopal effectのメカニズム理解には、遺伝子レベルの更なる研究発展が望まれる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

手術や放射線治療の高精度化に依存する局所制御能の向上と同時に、進行再発例に対しても有効かつ低侵襲の治療法を研究・開発することは重要なテーマである。医学物理の技術革新のみに頼らず、生体に備わる免疫応答を増幅し全身的な治療効果すなわちアブスコパル効果を惹起させることは腫瘍学上大変斬新で魅力的であり、革新的な次世代の治療法に貢献し得る。とりわけ近年の免疫チェックポイント阻害剤開発によるがん診療の劇的な変革にあたり、放射線治療の適切な併用によりアブスコパル効果を誘導、免疫学的機序に基づくそのメカニズムを細胞分子レベルで詳細に解析することは次世代の腫瘍治療戦略が構築でき大きく社会貢献を果たすものである。

研究成果の概要(英文)：We found that innate immunity plays a critical role for induction of abscopal effect triggered by local irradiation based on our basic research using tumor-bearing mice. Possible effector cells include CD4/CD8-positive T cells and antigen presenting cells. Significant difference of the effect was not seen in fractionation schedule (conventional fx vs hypofx). Although research duration was extended, we also found putative minimum unit for induction of abscopal effect with chemically-composed partial peptides of EC1301, which run through HMGB1 and HSP70. Further study development is warranted on the gene level to elucidate and understand this effect.

研究分野：放射線腫瘍学

キーワード：アブスコパル 腫瘍免疫 放射線治療

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

革新的な放射線治療法の開発を目指し、腫瘍免疫学的観点に着目し「アブスコパル効果」の再現性の高い誘導と効率的な照射スケジュールの確立を目指した。ECI301 即ち Macrophage inflammatory protein-1 (CCL3)誘導体を利用した免疫賦活と放射線の併用は抗腫瘍作用を著しく増強するが、その背景にあるエフェクター細胞の詳細な解析と分子機序を解明しつつ臨床応用に向けた理論確立が急務であった。

2. 研究の目的

臨床腫瘍学に従事する我々に課された使命は、局所制御能向上への努力のみならず、患者数が多い進行再発例に対しても有効なかつ侵襲の少ない治療法を研究、開発することである。マウス担癌モデルにおける放射線照射による生体の変化を分子レベルで解析し、免疫応答に与える効果を詳細に分析する。in vivo での再現性の高い"abscopal effect"の人為的誘導と、分子生物学的的手法による腫瘍免疫学的背景と機序の完全な解明を目指す。そして得られた知見に基づき、日常臨床への導入を意識した進行再発症例に対する臨床試験実施のための理論を確立することが本研究の目的である。

3. 研究の方法

研究立案及び放射線照射は、多様な癌種の集学的治療における中心的な役割を担う東大放射線科治療部と、緻密で再現性の高い動物・細胞照射実施のため高精度放射線治療の品質保証・管理に経験豊富な医学物理チームとの共同体制で実施した。また、先端医療開発のための東大病院 22 世紀医療センター免疫細胞治療学講座に免疫細胞学の観点から適宜助言をいただいた。細胞・分子生物学的処理においては株式会社エフェクター細胞研究所から免疫賦活剤として質の高いケモカインの提供を受け、サイトカイン研究において世界的業績を有する東京大学大学院医学系研究科社会予防医学講座分子予防医学教室(松島綱治教授)研究員の技術協力の下にマクロ及びミクロ視的解析を行う。東大病院放射線科・東大病院免疫細胞治療部門・分子予防医学教室・帝京大学医学部放射線科の多部門が緊密に有機的連携をしながら円滑かつ効率的に研究を実施した。

担癌マウスモデルにおいては側腹部皮下に各種腫瘍細胞を移植した腫瘍組織に放射線(6MeV 電子線)6Gy を照射した。(具体的には、右腹側部に 2×10^5 個、左腹側部に 1×10^5 個の Colon26 等の腫瘍細胞をそれぞれ皮下移植した。次いで腫瘍径が約 10mm になった時点で、免疫賦活剤としてケモカイン ECI301 を投与して腫瘍の消長を観察、解剖する。腫瘍および免疫担当臓器あるいは遠隔転移部位の臓器を摘出し effector cell の顕微的解析をするとともに、網羅的バイオマーカー検索を行い abscopal effect の誘導メカニズムを探索・確立する。

4. 研究成果

放射線治療と腫瘍免疫併用における基礎的検討

放射線照射と免疫賦活剤併用により、免疫抑制性の環境を克服して抗腫瘍効果を誘導するために、担癌マウスモデルを用いた基礎的検討を行った。CD4⁺、CD8⁺、NK/NKT 細胞が同定された。電子線を腫瘍に照射した後 ECI301 を静脈内投与することで、腫瘍増殖抑制効果があらわれる。しかし ECI301 単独ではこの効果はない。

さらに抗腫瘍作用機序の免疫学的な一役を担うと提唱されている High mobility group box-1 (HMGB1) タンパクに着目した。この ligand である DC 上に発現する Toll 様受容体 (TLR) 4 の関与を明らかにすべく、抗 HMGB1 抗体処理下の皮下腫瘍照射実験を行ったところ、抗腫瘍効果が解除された。

ECI301 が腫瘍増殖抑制するには、放射線照射により引き起こされる炎症状態を必要とする可能性がある。腫瘍、脾臓および血しょうを RT-PCR で解析をしたところ、電子線と ECI301 を併用したサンプルでは HMGB1 が上昇していた。このことより電子線と ECI301 の併用による腫瘍増殖抑制効果には HMGB1 が関与している可能性が考えられる。また、腫瘍内への宿主免疫担当細胞の浸潤が ECI301 で増加しているという preliminary な結果も得られた。

また TLR4 が機能している C3H/HeN マウスでは誘導されたアブスコパル効果が、TLR4 が非機能変異型である C3H/HeJ マウスでは誘導されず、同じ結果がヌードマウスでも確認された。

以上により、本実験系におけるアブスコパル効果の本質として HMGB1 が認識する TLR4 活性化を介した DC の誘導やその他の effector の関与が考えられた。

再現性の高い abscopal effect 誘導を利用した各種照射プロトコルの確立

雌性 7 週齢 C57BL/6 系あるいは MHC class の異なる BALB/c 系マウスの右側部皮下に Lewis lung carcinoma (3LL) あるいは Colon26 細胞を (primary tumor) 左側腹部皮下に 3LL あるいは Colon26/MethA を (secondary tumor) 移植後、右側腹部の腫瘍のみに 6Gy(6MeV 電子線)照射しケモカイン ECI301 を静脈内投与すると有意な abscopal effect が観察された。この abscopal effect は、腫瘍株や MHC class にかかわらず再現性高く誘導され、腫瘍特異性あるいはマウス特異性によらない可能性が示唆された。種々の照射プロトコルで実験を行ったが、conventional fractionation でも SBRT を見据えた寡分割照射でも有意な違いがなかった。

分子メカニズム探索

HMGB1 と HSP70 の関与が証明されたが、さらに予定研究期間を 1 年延長し、最小単位での

abscopal effect 誘導物質の探求のため化学的に合成された EC1301 の部分ペプチドによる effector 候補が判明し、論文化した。

5 . 主な発表論文等

[雑誌論文](計 9 件)

Identification of the active portion of the CCL3 derivative reported to induce antitumor abscopal effect. Tsuchiya T, Shiraishi K, Nakagawa K, Kim JR, Kanegasaki S. *Clinical and Translational Radiation Oncology*, 7-12, 2018 (査読有)

Denosing Projection Data with a Robust Adaptive Bilateral Filter in Low-Count SPECT. Nakabayashi S, Chikamatsu T, Okamoto T, Kaminaga T, Arai N, Kumagai S, Shiraishi K, Okamoto T, Kobayashi T, Kotoku J. *International Journal of Medical Physics, Clinical Engineering and Radiation Oncology*, 363-375, 2018. (査読有)

Robot-assisted radical prostatectomy versus volumetric modulated arc therapy: comparison of front-line therapies for localized prostate cancer. Taguchi S, Shiraishi K, Fujimura T, Naito A, Kawai T, Nakagawa K, Abe O, Kume H, Fukuhara H. *Radiotherapy and Oncology*, in press. (査読有)

Hepatic tumor classification using texture and topology analysis of non-contrast-enhanced three-dimensional T1-weighted MR images with a radiomics approach. Oyama A, Hiraoka Y, Obayashi I, Saikawa Y, Furui S, Shiraishi K, Kumagai S, Hayashi T, and Kotoku J. *Scientific Reports*, in press. (査読有)

A fast skin dose estimation system for interventional radiology. Takata T, Kotoku J, Maejima H, Kumagai S, Arai N, Kobayashi T, Shiraishi K, Yamamoto M, Kondo H, Furui S. *Journal of Radiation Research*, 233-239, 2018. (査読有)

Evaluation of a commercial automatic treatment planning system for prostate cancer. Nawa K, Haga A, Nomoto A, Sarmiento R, Norton I, Shiraishi K, Yamashita H, Nakagawa K. *Medical Dosimetry*, 203-209, 2017. (査読有)

Optimal timing of salvage radiotherapy for biochemical recurrence after radical prostatectomy: is ultra-early salvage radiotherapy beneficial? Taguchi S, Shiraishi K, Fukuhara H, Nakagawa K, Morikawa T, Naito A, Kakutani S, Takeshima Y, Miyazaki H, Nakagawa T, Fujimura T, Kume H, Homma Y. *Radiation Oncology (2016) 11:102* (査読有)

Radiation-induced low-grade fibromyxoid sarcoma of the chest wall nine years subsequent to radiotherapy for breast carcinoma: A case report. Shibata S, Shiraishi K, Yamashita H, Kobayashi R, Nakagawa K. *Oncol Lett*, 2520-2524, 2016. (査読有)

Radical Prostatectomy versus External Beam Radiotherapy for cT1-4N0M0 Prostate Cancer: Comparison of Patient Outcomes Including Mortality. Taguchi S, Fukuhara H*, Shiraishi K, Nakagawa K, Morikawa T, Kakutani S, Takeshima Y, Miyazaki H, Fujimura T, Nakagawa T, Kume H, Homma Y. *PLoS ONE*, e0141123, 2015. (査読有)

[学会発表](計 20 件)

乳腺領域における Surface-IGRT の臨床経験 白石 憲史郎.

第 32 回高精度放射線外部照射部会学術大会, 東京

再発 Glioblastoma に対する再照射 山本健太郎, 白石憲史郎, 澤柳 昂, 熊谷 仁

日本放射線腫瘍学会第 31 回学術大会

モンテカルロシミュレーションによる IVR 術者全身被ばく線量の計算 高田 剛志, 池田 佑太, 近藤 浩史, 山本 真由, 古井 滋, 白石 憲史郎, 小林 毅範, 古徳 純一

第 116 回日本医学物理学会学術大会

IVR 用リアルタイム皮膚線量推定 中林 奨, 高田 剛志, 近藤 浩史, 山本 真由, 古井 滋, 白石 憲史郎, 前島 秀幸, 小林 毅範, 古徳 純一

第 116 回日本医学物理学会学術大会

Five year follow-up of prostate cancer patients treated with volumetric modulated arc therapy (VMAT). Ogita M, Yamamoto K, Shiraishi K, Sawayanagi S, Yamashita H, Nakagawa K.

ESTRO (European Society for Therapeutic Radiology and Oncology Anniversary) 37.

Image classification using persistent homology. Kotoku J, Oyama A, Hiraoka Y, Obayashi I, Shiraishi K, Kondo H, Furui S, Saikawa Y, Kumagai S, Kobayashi T.

第 115 回日本医学物理学会学術大会

Visualize skin dose and air dose in virtual reality. Takata T, Kotoku J, Kobayashi T, Shiraishi K, Yamamoto M, Kondo H, Furui S.

The 103rd Scientific Assembly and Annual Meeting of RSNA (Radiological Society of North America)

乳房照射の照射方法について調査を踏まえた標準化に関する研究 相部則博, 青木昌彦, 赤羽佳子, 小川恭弘, 淡河恵津世, 金森修一, 河守次郎, 齋藤アンネ優子, 白石憲史郎, 関根 広, 立入誠司, 山内智香子, 吉村通央, 唐澤久美子

日本放射線腫瘍学会第 30 回学術大会

CBCT を利用した前立腺癌 IMRT における超音波膀胱容量測定装置の性能評価 熊谷 仁, 上村亮平, 新井範一, 北口真由香, 南谷優成, 白石憲史郎

日本放射線腫瘍学会第 30 回学術大会

Automatic chest X-ray screening with convolutional neural networks. Kotoku J, Hirose T, Kumagai S, Matsushima A, Shiraishi K, Arai N, Haga A, Kobayashi T.

AAPM (American Association of Physicists in Medicine) 59th annual meeting & exhibition.

A clinical trial on hypofractionated whole-breast irradiation after breast-conserving surgery. Nozaki M, Kagami Y, Shibata K, Nakamura Y, Ito Y, Nishimura Y, Kawaguchi Y, Saito Y, Nagata Y, Matsumoto Y, Akimoto T, Nishimura T, Uno T, Tsujino K, Kataoka M, Kodaira T, Shiraishi K, Inoue K, Isohashi F, Hiraoka M, Karasawa K, Izumi S, Sakurai H.

ESTRO (European Society for Therapeutic Radiology and Oncology Anniversary) 36.

乳房温存療法における 5mm マージン陽性基準下でのブースト照射の意義 白石憲史郎, 多田敬一郎, 河守次郎, 清水わか子, 福内 敦, 西 常博.

第 54 回日本癌治療学会学術集会

Impact of tumor bed boost on local control and survival after breast-conserving therapy under stringent '5 mm as positive margin' criteria: Japanese experience. Shiraishi K, Tada K, Kawamori J, Ibukuro K, Fukuuchi A.

Controversies in Breast Cancer (CoBrCa)

Continued risk of secondary cancers after breast conserving therapy in Japan. Shiraishi K, Shinozaki T.

2016 Cancer Survivorship Symposium: Advancing Care and Research

Prognostic impact of proliferation marker Ki-67 on luminal breast cancer treated with breast conservation therapy. 白石憲史郎, 大熊加恵, 中川恵一, 福内 敦, 西 常博.

日本放射線腫瘍学会第 28 回学術大会

乳房温存療法後の二次発癌は独立した予後不良因子である 白石憲史郎, 中川恵一, 河守次郎, 衣袋健司, 福内 敦, 西 常博, 篠崎智大.

第 53 回日本癌治療学会学術集会

Disease progression of metastatic breast cancer by first relapse site after definitive radiotherapy. Shiraishi K, Nakagawa K, Kawamori J, Ibukuro K, Fukuuchi A, Nishi T, Shinozaki T.

The Breast Cancer Symposium, 2015.

ER 陽性 HER2 陰性の乳房温存療法症例に Ki-67 St Gallen 2013 推奨閾値は影響するか 白石憲史郎, 小林伶子, 大熊加恵, 山本健太郎, 中川恵一.

第 23 回日本乳癌学会学術総会

Impact of brachytherapy seeds on dose distributions for prostate VMAT: a phantom study. Shiraishi K, Sakumi A, Haga A, Yamamoto K, Okuma K, Yoda K, Nakagawa K.

The 3rd ESTRO (European Society for Therapeutic Radiology and Oncology Anniversary) Forum.

限局性前立腺癌に対する VMAT 治療の 5 年成績 白石憲史郎, 山本健太郎, 野元昭弘, 作美明, 中川恵一.

第 74 回日本医学放射線学会総会

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年:

国内外の別:

取得状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。