

令和元年5月28日現在

機関番号：12301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K16423

研究課題名(和文) 重粒子線照射による免疫応答を介した遠隔腫瘍制御を目的とした併用療法の研究

研究課題名(英文) Research of anti-tumor effect at non-treated site by carbon-ion radiotherapy combined with immunotherapy

研究代表者

馬 立秋 (MA, LIQIU)

群馬大学・重粒子線医学推進機構・研究員

研究者番号：70711539

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：重粒子線局所照射により誘導される生体内抗腫瘍免疫能変動を解析した。重粒子線照射後、免疫細胞が活性化して、生体内腫瘍での免疫原性細胞死関連"eat me"シグナルが先に誘導され、その後免疫応答を制御するPD-L1分子が亢進することが認められた。以上の結果に基づいて、重粒子線治療のさらなる効果向上を目指し、免疫チェックポイント阻害剤(抗PD-1抗体、抗CTLA4抗体)との併用による遠隔非照射腫瘍、肺転移での抗腫瘍効果について検討した。その結果、重粒子線照射と抗CTLA4抗体併用でのみ、肺転移抑制効果、照射側腫瘍と遠隔腫瘍での抗腫瘍増感効果を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本課題で、マウス担癌モデルを用いて重粒子線と抗CTLA4抗体併用により肺転移、照射側腫瘍と照射されていない遠隔に存在する腫瘍も抑制できることを科学的に示した。この研究成果により、局所制御において良好な成績を示している重粒子線療法と抗CTLA4抗体免疫療法併用において、CTやPETで診断できないような微小転移、照射不可能な転移および多臓器転移などの照射されていない遠隔腫瘍を制御する可能性を示し、より広範囲のがん患者への適応や治療成績の向上に繋がることが期待される。

研究成果の概要(英文)：In this study, the changes of anti-tumor immunity after carbon-ion radiotherapy (CIRT) had been analyzed by tumor bearing mouse model. After local CIRT, immunogenic cell death-related "eat me" signals released from dying tumor cells, then immune checkpoint molecular PD-L1 expression increased in cell surface. To improve CIRT, we aimed to find an optimal combination therapy for CIRT. In the current study, we evaluated immune checkpoint inhibitors (anti-PD-1 antibody or anti-CTLA4 antibody). Only anti-CTLA4 antibody combined with 3 Gy CIRT showed significantly suppression of pulmonary metastasis, irradiated and un-irradiated tumor proliferation.

研究分野：粒子線生物

キーワード：重粒子線 免疫 転移抑制 遠隔腫瘍制御

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

放射線治療は低侵襲かつ臓器を温存して治療できるがん治療法である。その中で重粒子線治療は物理的・生物学的に従来の放射線治療とは異なる特徴を持ち、特に局所腫瘍制御においては非常に効果的で、副作用も極めて少ない治療法である。しかしながら、この重粒子線治療を含む全てのがん治療において、遠隔腫瘍の制御、特に CT や PET で診断できない微小転移が問題となっており、今後の治療成績向上を目指す上で克服すべき課題となっている。

放射線治療では、照射されていない遠隔腫瘍も制御される現象“アブスコパル効果”が報告されている (Postow MA, et al., N Engl J Med, 2012)。この現象は、がん細胞が放射線による damage-associated molecular patterns (DAMPs) を介した immunogenic cell death (ICD、免疫原性細胞死) を起こし、その結果、腫瘍免疫系が活性化して、照射されていない遠隔腫瘍を抑制すると考えられている。このアブスコパル効果を確実に誘導できるようになれば、局所腫瘍制御に強みをもつ重粒子線がん治療と組み合わせることで、がんの“根治”の実現へ一歩すすむことが期待できる。

2. 研究の目的

これまでに我々は、重粒子線が効果的にがん細胞の免疫原性細胞死を誘導することを明らかにしてきた。本研究は、重粒子線と免疫療法併用による、より安定的な“アブスコパル効果”の誘導条件を探索する。将来の重粒子線と免疫療法の併用による臨床応用のため、下記3点を検証し、基礎的知見を得ることを目的とした。

- (1)重粒子線局所照射による生体内の抗腫瘍免疫環境変化
- (2)重粒子線と免疫チェックポイント阻害剤の併用効果検討
- (3)重粒子線と免疫細胞(樹状細胞)の併用効果検討

3. 研究の方法

研究目的を達成するために、本研究は、後肢に腫瘍を移植したマウスモデルを用いて下記の実験を行った。

- (1) 重粒子線局所照射による抗腫瘍免疫能を評価するため、扁平上皮癌 NR-S1 細胞を C3H/He マウス後肢に接種し、7 日後に局所腫瘍での炭素線(290 MeV/u、6 cm SOBP 中心)照射により誘導された免疫細胞サイトカインの変動、腫瘍局所の免疫原性細胞死相関因子及び免疫チェックポイント制御因子の変動を解析した。
- (2) 炭素イオン線と免疫チェックポイント阻害剤の併用効果を評価するため、大腸がん Colon-26 細胞を BALB/c マウスの両側後肢皮下に 5×10^5 細胞ずつ移植し、7 日後に形成した片側後肢の腫瘍に 3 Gy あるいは 10 Gy の炭素イオン線を照射した。照射 1 日後から、週 2 回、全 4 回免疫チェックポイント阻害剤の抗 PD-1 抗体あるいは抗 CTLA4 抗体を 200 μ g 腹腔経路投与した。
- (3) 炭素イオン線と免疫細胞(骨髄由来未成熟樹状細胞)の併用効果を評価するため、大腸がん Colon-26 細胞を BALB/c マウスの右側後肢に 1×10^5 、左側後肢に 5×10^5 細胞ずつ接種し、左側後肢の腫瘍径が 10 mm となった段階で、左側後肢腫瘍に 0.5 Gy あるいは 10 Gy 炭素線を照射した。照射後 1.5 日で 1×10^6 未成熟樹状細胞を尾静脈経路投与した。

4. 研究成果

(1) 重粒子線照射により免疫細胞から分泌されるサイトカイン IL-12 が線量に依存して上昇した。免疫原性細胞死相関因子は照射 1 日後から、腫瘍細胞の膜表面の calreticulin (CALR) は発現亢進していた(図 1)。一方、マウス血清中の HMGB1 濃度は照射 2 日後、急に 87 ng/mL に上昇し、その後照射前の状態に戻った(図 2)。免疫チェックポイント制御因子 PD-L1 は照射 2 日目から高発現が認められた。これらの結果から、重粒子線照射後、免疫細胞が活性化して、生体内腫瘍での免疫原性細胞死が先に誘導され、その後免疫応答を制御する PD-L1 分子が亢進することが認められた(図 3)。これらのことから、樹状細胞との併用は照射 2 日後よりも前に、免疫チェックポイント阻害剤との併用は照射 2 日前後が最適の投与タイミングであることが示唆された。

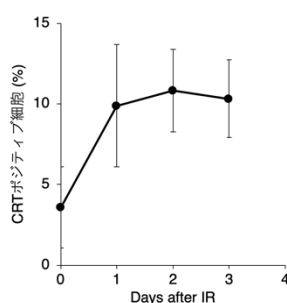


図 1

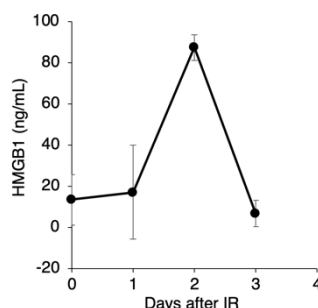


図 2

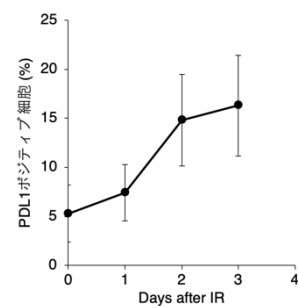


図 3

(2) (1)の結果に基づいて、重粒子線治療のさらなる効果向上を目指し、免疫チェックポイント阻害剤との併用による遠隔非照射腫瘍、肺転移での抗腫瘍効果について検討した。炭素線 10 Gy 照射では、肺転移への転移制御効果が高すぎて、照射単独と比べた併用療法の抗転移増感効果を統計的に評価できなかった(図4)。

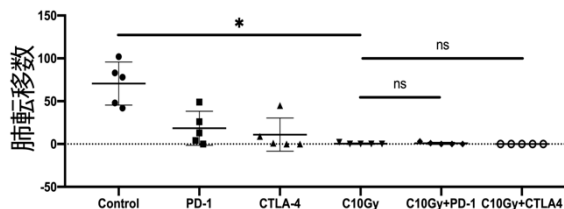


図4

そこで、照射線量を下げた実験を行うこととした。その結果、炭素イオン線 3 Gy 照射では、照射側下肢の腫瘍増殖を抑制した。さらに、抗 CTLA4 抗体との併用でのみ、炭素イオン線照射あるいは抗 CTLA4 抗体単独より抗腫瘍増感効果を認めた(図5)。遠隔非照射側腫瘍について、抗 CTLA4 抗体との併用でのみ、顕著に抗腫瘍効果を増感した(図6)。

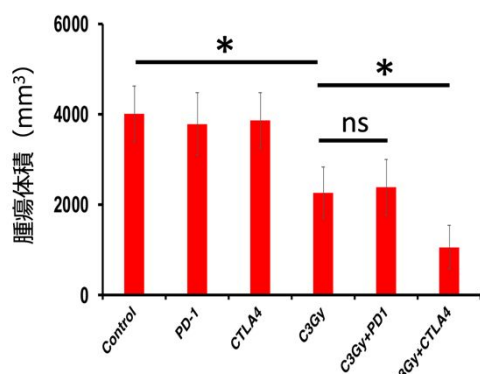


図5

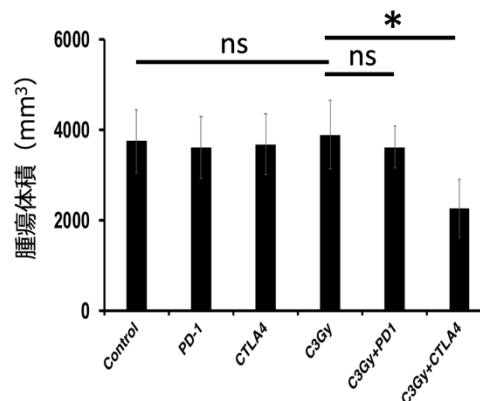


図6

肺転移について、免疫チェックポイント阻害剤の抗 CTLA4 抗体との併用でのみ、炭素イオン線照射単独より抗転移効果を増感した(図7)。これらの併用療法において、肝臓での組織障害は認められなかった。以上の結果から、炭素イオン線照射と抗 CTLA4 抗体併用による肺転移抑制効果、照射側腫瘍と遠隔腫瘍での抗腫瘍増感効果を明らかにした。

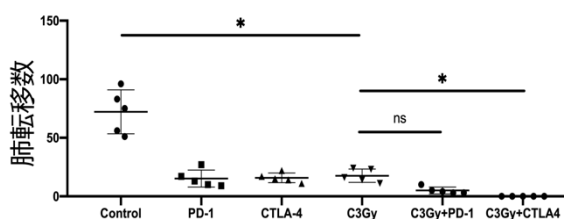


図7

(3) 炭素イオン線と樹状細胞との併用は、いずれの照射線量においても遠隔非照射(右側後肢)腫瘍の増殖抑制(図8)と肺転移抑制が認められなかった(図9)。

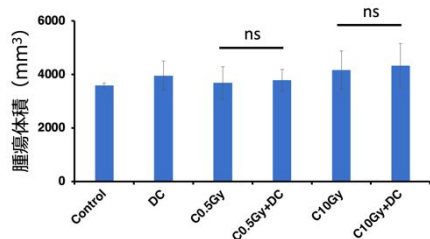


図8

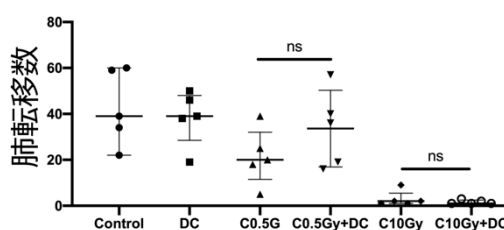


図9

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 件)

〔学会発表〕(計 7 件)

Liqiu Ma, Akihisa Takahashi, Yoshimitsu Sakamoto, Takashi Imai, Takashi Shimokawa, Inhibition effect of metastasis by carbon-ion and dendritic cell combined therapy depends on host genetic background, 56th Annual Conference of the Particle Therapy Co-Operative Group (PTCOG56) (国際学会) 2017 年

馬 立秋、下川 卓志、吉田 由香里、高橋 昭久、重粒子線照射による抗腫瘍免疫応答の検討、第 23 回癌治療増感研究会、2017 年

馬 立秋、吉田 由香里、高橋 昭久、重粒子線誘導性 CRT による遠隔腫瘍の生着拒絶および転移抑制、第 20 回菅原・大西記念 癌治療増感シンポジウム in 奈良、2018 年

Liqiu Ma, Akihisa Takahashi, Takashi Shimokawa, Anti-tumor and anti-metastasis effects of carbon-ion radiotherapy combined with anti-CTLA4 antibody, 57th Annual Conference of the Particle Therapy Co-Operative Group (PTCOG57) (国際学会), 2018年

馬 立秋、下川 卓志、吉田 由香里、高橋昭久、炭素イオン線照射による遠隔腫瘍からの転移抑制における免疫応答の関与、第56回日本放射線腫瘍学会生物部会学術大会・第47回放射線による制癌シンポジウム、2018年

馬 立秋、吉田 由香里、高橋 昭久、重粒子線誘導性 DAMPs を介した遠隔腫瘍の生着拒絶および転移抑制の検討、日本放射線影響学会第61大会、2018年

馬 立秋、吉田 由香里、高橋 昭久、重粒子線照射と免疫チェックポイント阻害剤併用療法による増感効果、第21回菅原・大西記念 癌治療増感シンポジウム in 奈良、2019年

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕
出願状況(計 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 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。