

令和 5 年 6 月 13 日現在

機関番号：12301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19H03597

研究課題名(和文)局所炭素イオン線治療における遠隔転移がん制御法の戦略的開発研究

研究課題名(英文)Strategic development research for control of distant metastatic cancer in local carbon ion radiotherapy

研究代表者

高橋 昭久(Takahashi, Akihisa)

群馬大学・重粒子線医学推進機構・教授

研究者番号：60275336

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,200,000円

研究成果の概要(和文)：実験実施の行いやすい温熱処理(42℃, 30分間)とケモカイン誘導体の併用を行うと、プラセボ、ケモカイン単独、温熱単独と比べて、有意に温熱処理部位のがん増殖阻害に加えて、肺転移も抑制することを見出した。

また、炭素線1 Gy単独照射と比べて、炭素線1 Gy照射とケモカイン誘導体の化学合成品、アラミン合成ペプチドの投与によって抗腫瘍効果が高まることを確認した。また、投与方法について尾静注と局注で同様の抗腫瘍効果が認められることを確認した。一方、肺転移抑制効果は局注に比べて尾静注で高くなることを確認した。なお、当初予定の各種部分ペプチドの効果検証までは至らなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

生体防御系に影響を与えない炭素イオン線によるがんの局所療法後に、ケモカイン誘導体によって種々の免疫細胞を活性化するという新しいコンセプトによるがん治療法として、動物実験レベルでその効果を確認した。この治療法は単独の細胞を活性化するのではなく、各種のリンパ球やNK細胞が協調して働くことに特徴がある。本研究は、生体内免疫系と、がんの関係解明のためにも、その成果の意義も大きい。将来、動物実験での治験を基に、臨床研究に進むことにより人類の福祉に多大な貢献が期待できる。さらに、本研究を完遂し、革新的に炭素イオン線治療の治療成績向上に寄与する成果を出すことは、日本の責務だと考えている。

研究成果の概要(英文)：We found that the combined use of hyperthermia (42°C, 30 minutes) and chemokine derivatives significantly inhibited cancer growth and suppress lung metastasis at the hyperthermia-treated site compared to placebo, chemokine alone, and hyperthermia alone. In addition, we found that 1 Gy irradiation with carbon-ion beams and administration of chemically synthesized chemokine derivatives and alarmin molecules enhanced the antitumor effect compared with 1 Gy irradiation with carbon-ion beams alone. Furthermore, we confirmed that similar antitumor effects were observed by tail vein injection and local injection. On the other hand, we confirmed that tail intravenous injection was more effective in suppressing lung metastasis than local injection. However, we were not able to verify the effectiveness of various partial peptides as originally planned.

研究分野：放射線生物学

キーワード：炭素イオン線 遠隔転移 免疫応答 ケモカイン アラミン

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

従来の電子線、X線や γ 線を用いた放射線治療と比べて、我が国が誇る炭素イオン線治療は、体内深部のがん病巣周囲のみに線量を集中することができ、がんの微小環境に関わらず付与エネルギー当りの損傷の生成効率が良い。この物理学的・生物学的な特長から、炭素イオン線治療は、局所がんの増殖を効果的に制御し、副作用も少ない。

しかし、炭素イオン線のみでは、遠隔転移がんの制御は困難であり、CTやPETで診断できない微小転移がんの制御は、今後の治療成績向上の為に最も重要な課題であり、その改善は患者の予後に大きな恩恵を与えることが容易に予想できる。化学療法との併用では、免疫細胞への傷害の為に推奨出来ず、照射後の免疫機構の増強こそが最適と考えられる。

既に研究協力者らは、深部に到達しない電子線照射後に、走化性因子のケモカイン誘導体を静注すると、特異的および非特異的な生体防御系を活性化して、照射部位だけでなく非照射部位のがん細胞の増殖を顕著に抑制できることを見出してきた。さらに、このメカニズムは、がん細胞に過剰発現しているアラミン分子が照射後細胞外に放出され、ケモカイン誘導体と共同して免疫賦活に働くためであることを見出してきた (Cancer Res 2014;74:5070-8)。しかし、4万人以上の患者のメタ分析によれば、深部に到達するX線照射後には、顆粒球数とリンパ球数の比が4以上になることが多く (J Natl Cancer Inst 2014;106)、リンパ球の減少を防止する手段を用いなければ、ケモカイン誘導体による免疫賦活は期待できないことが予想された。

そこで、通常の治療に用いられるX線と異なり、線量分布に優れる炭素イオン線とケモカイン誘導体の併用により、転移抑制が可能になるのではないかと着想するに至った。

2. 研究の目的

炭素イオン線とケモカイン誘導体およびアラミン分子の抗腫瘍効果および転移抑制効果を調べ、その有効性を明らかにすると共に、その併用効果について将来の臨床への適応を考慮しながら各種条件の検討を行い、最適条件を調べることを第一の目的とする。また、この効果の各種がんへの適応の可能性、メカニズムの解析、さらには費用などの面を考えて、ケモカイン誘導体およびアラミン分子の活性にそれぞれの必要な部位を、部分ペプチドを用いて検討する。このため、以下の実験を行う。

1. 最適条件の決定
2. メカニズムの解明
3. 効果の普遍性の検討
4. 部分ペプチドの有効性の検討

3. 研究の方法

がん細胞：Colon26 大腸癌細胞

マウス：BALB/c マウス雌，6週齢

薬剤：生理食塩水，ケモカイン誘導体リコンビナント作製品，ケモカイン誘導体化学合成品，アラミン分子，アラミン合成ペプチド

薬剤投与方法：尾静注および局注

炭素イオン線照射：群馬大学重粒子線照射装置 (290MeV/n, 6 cm 拡大ブラッグピーク (SOBP: Spread Out. Bragg Peak) ビーム)

腫瘍サイズ計測：ノギスを用いて、長径 \times (短径)² \times 0.5236

肺転移：肺を摘出し、ブアン液で一晩固定後、すべての肺の表面にある転移性結節葉を肉眼的にカウントした。

4. 研究成果

(1) ケモカイン誘導体の免疫賦活効果の検証

アラミン分子の放出が知られ、実験実施の行いやすい温熱処理を用いて、ケモカイン誘導体を尾静脈内投与し、免疫賦活効果を検証した。その結果、ケモカイン誘導体と温熱処理（42℃、30分間）の併用を行うと、プラセボ、ケモカイン単独、温熱単独と比べて、有意に温熱処理部位のがん増殖、さらに、従来用いて来たりコンビナントで作製のケモカイン誘導体に変えて化学合成品を使用し、同様の結果が得られるかどうかを検討した。その結果、化学合成品でも同様の効果が得られることを確認した。両者は製剤化して臨床に使用する場合、作製費用の面など大きな違いがあり、優位に展開できる利点がある。

おそらく、温熱処理によって誘導されるアラミン分子が、投与したケモカイン誘導体とともににはたらき、顕著な腫瘍増殖阻害と遠隔転移の劇的な減少をもたらしたと考えている。

(2) 炭素イオン線照射の条件検討

骨髄にかからない炭素イオン線の照射条件を検討した。Colon26をBALB/cマウスの右腹側皮下に移植して、腫瘍が10mm径に達したところで、他臓器（特に骨）を避けて腫瘍局所に照射するためにX線透視画像（Multispectral FX PRO）にて位置決めを行い、コリメーターで遮蔽する条件設定を決定することができた。炭素イオン線290MeV/n、SOBP6cmビームを用いて2~3Gy照射ではそれ自体で抗腫瘍効果が高くでてしまい、薬剤併用との効果を確認することができなかった。そのため、線量を下げて炭素イオン線1Gy照射が適切であることを確認した。

(3) 炭素イオン線照射によるアラミン分子の誘導

炭素イオン線3Gyを単回照射した。照射後のマウスを経日的に採血し、血しょう中のアラミン分子量の変動をELISA法で解析した。炭素イオン線単独では、アラミン分子量の増加はわずかなことが明らかになった。そのため、ケモカイン誘導体の効果を増強するために、アラミン分子の投与が必要と考えた。

(4) 炭素イオン線とケモカイン誘導体およびアラミン分子併用療法

炭素イオン線では炎症が起こりにくく、炭素イオン線1Gy単独照射、炭素イオン線1Gy照射とケモカイン誘導体の化学合成品の投与では転移抑制効果は見られないが、炭素イオン線とケモカイン誘導体およびアラミン分子またはアラミン合成ペプチドの投与によって照射部位のがん増殖阻害に加えて、肺転移も抑制することを確認した。この効果は、ケモカイン誘導体およびリコンビナントのアラミンと同様であった。このことは臨床応用にとって意義深い。

(5) 薬剤の投与方法の検討

炭素イオン線とケモカイン誘導体およびアラミン分子併用療法における薬剤の投与方法について、尾静注と局注で同様の抗腫瘍効果が認められることを確認した。一方、肺転移抑制効果は局注に比べて尾静注で高くなることを確認した。

なお、当初予定のメカニズムの解明および各種部分ペプチドの効果検証までは至らなかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 0件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Liqiu Ma, Ryosuke Kambe, Tomoko Tsuchiya, Shiro Kanegasaki, Akihisa Takahashi	4. 巻 11
2. 論文標題 Anti-metastatic benefits produced by hyperthermia and a CCL3 derivative	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cancers	6. 最初と最後の頁 1770
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/cancers11111770	査読の有無 無
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1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Liqiu Ma, Ryosuke Kambe, Tomoko Tsuchiya, Shiro Kanegasaki, Akihisa Takahashi
2. 発表標題 Anti-Metastatic Benefits Produced by Hyperthermia and a CCL3 Derivative
3. 学会等名 第22回菅原・大西記念癌治療増感シンポジウム in 奈良
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>発見を踏まえ群馬大学から特許申請準備中である。</p>

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	吉田 由香里 (Yoashida Yukari) (90431717)	群馬大学・重粒子線医学推進機構・助教 (12301)	

6. 研究組織（つづき）

	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	八高 知子 (Yako Tomoko) (50912317)	群馬大学・重粒子線医学推進機構・研究員 (12301)	

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0件

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