

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 7 日現在

機関番号：12102

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2011

課題番号：22791169

研究課題名（和文） 放射線照射による宿主の免疫応答を利用した治療法の開発

研究課題名（英文） Research for efficacy of radiation-induced auto-immune response in radiation therapy

研究代表者

石川 仁（ISHIKAWA HITOSHI）

筑波大学・医学医療系・准教授

研究者番号：70344918

研究成果の概要（和文）：

B16 悪性黒色腫細胞移植後の血清および脾細胞培養液中のサイトカイン値は照射により上昇し、0-30Gy では線量依存性を認めた。また、67 匹のマウスを用いて移植後 7-8mm 大となった時点で放射線照射を施行した TCD50 は 40Gy であった。そこで、この線量を 10 匹のマウスに投与し、局所制御できたマウスと局所非制御であったマウスの 28 日目の脾細胞培養中のサイトカインは局所制御群で有意に高かった。以上から、照射後の局所効果には宿主免疫が寄与している可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：

TCD50 of the tumors was estimated to be 40 Gy, and all cytokine levels in the plasma were up-regulated with radiation-dose-dependency. After TCD50 irradiation to the 10 tested tumors, 5 were controlled (C-group) and 5 developed progression within 14 days (R-group). The levels of GM-CSF, IFN- γ , and TNF- α in the supernatants of 48 hr-cultivated spleen cells obtained 28 days after irradiation in the C-group (48 hr) were 37.8 ± 10.1 pg/ml, 5.4 ± 6.9 pg/ml, and 21.2 ± 6.6 pg/ml, respectively, but those in the R-group were 23.7 ± 13.0 pg/ml, 0.6 ± 0.6 pg/ml, and 13.1 ± 5.6 pg/ml, respectively. A significant difference in IFN- γ between the two groups was observed. Similarly, plasma IFN- γ level 28 days after 40 Gy-irradiation in the C-group (12.0 ± 18.7 pg/ml) was higher than that in the R-group (0.9 ± 0.7 pg/ml), but the difference did not reach the significant level.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	2,000,000	600,000	2,600,000
2011 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

研究分野：放射線腫瘍学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・放射線科学

キーワード：腫瘍免疫・放射線治療・サイトカイン

1. 研究開始当初の背景

手術や化学療法と同様、放射線療法は宿主に

対して免疫抑制的に働くと理解されてきた。一方で放射線治療による宿主

の免疫応答は古くから臨床的に認められる現象でもり、Moleは1953年に放射線照射部位以外の遠隔部位での抗腫瘍免疫効果を **Abscopal effect** と定義している。残念ながら、この現象が臨床的に認められることは極めて稀であったことに加え、当時の免疫学的手法ではこの現象を十分理解し、そのメカニズムを解明するまでには至らなかった。

しかし、分子生物学の発展により腫瘍免疫学は著しい進歩を遂げており、放射線治療を含めた局所治療による全身的な影響、すなわち **Distant Bystander effect** についての多くの研究がなされ、**Abscopal effect** が宿主の免疫応答によって仲介されることが明らかとなっており、海外では宿主の抗腫瘍免疫機能を支持する治療法を併用した、いわゆる免疫療法併用放射線治療の臨床試験が開始されるに至った。

2. 研究の目的

本研究の目的は放射線照射後の免疫反応を多くサイトカイン産生および抗腫瘍抗体産生を中心に解析し、臨床的に放射線治療による宿主免疫応答を有利に働かせる治療法の確立を目指す基礎的検討を行うことである。

具体的には移植可マウス悪性黒色腫細胞株 **B16** を用いて、大腿皮下に移植されたこれら腫瘍細胞への放射線照射後にどのような免疫応答が生ずるかについて検討する。特に放射線照射によって誘導された抗腫瘍免疫活性が、局所効果やその後別部位に再移植された腫瘍細胞に対してどのような抗腫瘍効果を獲得するかについて、サイトカイン産生を中心に解析し、放射線照射そのものがどの程度ワクチン療法として機能するかについて検討するとともに、より効率的な免疫療法併用放射線治療の可能性を模索する。

3. 研究の方法

移植可マウス悪性黒色腫細胞 **B16** を用いて、マウス右大腿皮下に移植された腫瘍に対し、線量別に放射線照射を行った後の局所効果および2週後に健側（左）大腿皮下に移植腫瘍拒絶反応としての遠隔効果について検討する。

はじめに、移植後に7-8mmの結節となった時点での放射線感受性としてTCD50を測定する。得られたTCD50を照射して、血清および脾細胞培養液のサイトカイン濃度を測定し、局所効果との相関を見る。

遠隔効果としては、移植腫瘍照射2週後に反対側に腫瘍をあらためて移植し、その腫瘍増殖曲線を腫瘍の局所制御・未制御群で比較する。

4. 研究成果

(1) マウスにB16悪性黒色腫細胞の増殖曲線およ

び放射線照射後のTCD50についての検討
TCD50は40Gyであった。得られた増殖曲線は遠隔効果のコントロールとした。

(2) 移植腫瘍照射後の血清および脾細胞培養液中サイトカインの動向
0-50Gy照射10日目、照射28日目のTNF- α 、INF- γ 、GM-CSF値血清、脾細胞培養液はいずれも照射群で有意に上昇し、0-30Gyでは線量依存性に上昇が認められた。

(3) TCD50照射後のサイトカイン値と局所コントロールとの関係
TCD50の線量を10匹に照射し、照射28日目に摘出した脾細胞培養液中のGM-CSF、INF- γ 、とTNF- α を測定した。
局所制御できたマウスでのそれぞれのサイトカイン値は37.8 \pm 10.1 pg/ml, 5.4 \pm 6.9 pg/ml, and 21.2 \pm 6.6 pg/mlであったのに対し、局所不制御群では23.7 \pm 13.0 pg/ml, 0.6 \pm 0.6 pg/ml, and 13.1 \pm 5.6 pg/mlと低値であった。血清サイトカイン値も同様の結果であった。

(4) 増殖曲線

照射によって腫瘍が制御された群と非制御群で、反対側に腫瘍を移植した結果、腫瘍増殖は腫瘍制御群で抑制された。

以上の結果、照射による宿主の免疫応答が放射線効果に影響している可能性が示唆された。また、照射による遠隔効果として、非照射部位の転移を抑制する可能性も示唆された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計11件)

全て査読あり

1. Okamoto M, Ishikawa H, Ebara T, et al. Rectal bleeding after high-dose-rate brachytherapy combined with hypofractionated external-beam radiotherapy for localized prostate cancer: the relationship between dose-volume histogram parameters and the occurrence rate. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2012, 82(2):e211-7. doi.org/10.1016/j.ijrobp.2011.03.041
2. Tamaki T, Ishikawa H, Takahashi T, et al. Comparison of

- efficacy and safety of low-dose-rate vs. high-dose-rate intraluminal brachytherapy boost in patients with superficial esophageal cancer. Brachytherapy. 2012, 11:130-6. doi.org/10.1016/j.brachy.2011.05.008
3. Ishikawa H, Tsuji H, Kamada T, et al. Carbon-ion radiation therapy for prostate cancer. Int J Urol. 2012, 19:296-305. doi:10.1111/j.1442-2042.2012.02961.x
 4. Shirai K, Tamaki Y, Kitamoto Y, Takahashi T, Ishikawa H, Nonaka T, Murata K, Satoh Y, Higuchi K, Nakano T. Comparison of chemoradiotherapy with radiotherapy alone in patients with esophageal adenocarcinoma. J Radiat Res (Tokyo), 2011;52(3):264-9. doi: JST.JSTAGE/jrr/10166 [pii]
 5. Shirai K, Tamaki Y, Kitamoto Y, Murata K, Satoh Y, Higuchi K, Nonaka T, Ishikawa H, Katoh H, Takahashi T, Nakano T. Dose-volume histogram parameters and clinical factors associated with pleural effusion after chemoradiotherapy in esophageal cancer patients. Int J Radiat Oncol Biol Phys. 2011;80(4):1002-7 doi: S0360-3016(10)00597-3 [pii]
 6. Ishikawa A, Suga T, Ishikawa H, et al. Genetic Variants of NPAT-ATM and AURKA are Associated with an Early Adverse Reaction in the Gastrointestinal Tract of Patients with Cervical Cancer Treated with Pelvic Radiation Therapy. Int J Radiat Oncol Biol Phys. 2011;81(4):1144-52 doi.org/10.1016/j.ijrobp.2010.09.012
 7. Shioya M, Takahashi T, Ishikawa H, et al. Expression of hypoxia-inducible factor 1 α predicts clinical outcome after preoperative hyperthermo-chemoradiotherapy for locally advanced rectal cancer. J. Radiat Res. 2011;6: 821-7. doi.org/10.1269/jrr.11117
 8. Saitoh J, Ishikawa H, Ebara T. et al. A 8-year survivor of unresectable intrapelvic desmoplastic small round cell tumor treated with concurrent chemoradiotherapy. Iran. J. Radiat. Res, 2011;9(3):201-205 <http://apps.webofknowledge.com/full_reco rd.do?product=WOS&search_mode=GeneralSearch&qid=1&SID=N1oEdJ7@oM0jHk1PIk4&page=1&oc=1>
 9. Katoh H, Ishikawa H, Hasegawa M, et al. Protective effect of urinary trypsin inhibitor on the development of radiation-induced lung fibrosis in mice. J Radiat Res. 2010;51(3):325-32. doi.org/10.1269/jrr.09108
 10. Shimazaki J, Tsuji H, Ishikawa H, Okada T, Akakura K, Suzuki H, M. Harada M, Tsujii H. Carbon ion radiotherapy for treatment of prostate cancer and subsequent outcomes after biochemical failure. Anticancer Res, 2010;30(12):5105-11 doi:30/12/5105 [pii]
 11. Nakano T, Ohno T, Ishikawa H, et al. Current advancement in radiation therapy for uterine cervical cancer. J Radiat Res. 2010;51(1):1-8. doi.org/10.1269/jrr.09132
- [学会発表] (計 11 件)
1. 石川 仁: 前立腺癌放射線治療の実践と治療成績 (教育講演) 茨城県泌尿器科地方会、つくば、2012.3.24
 2. Ishikawa H. Radiation therapy principles for prostate cancer. (Educational lecture) IAEA-RCA training course of radiation therapy, Maebashi. 2012.3.5-9
 3. Ishikawa H, Katoh H, Tamaki T, et al. High-dose-rate intraluminal brachytherapy combined with external beam radiation therapy for medically inoperable patients with Stage I thoracic esophageal cancer. The 53rd Annual meeting of American Society of Therapeutic Radiation Oncology, Miami, USA. 2011, 10.2-6
 4. 石川 仁、野田真永、今枝真澄、ら: I 期胸部食道扁平上皮癌に対する高線量率腔内照射併用放射線治療成績 第 65 回日本食道学会学術集会、仙台、2011.9.26、
 5. 石川 仁、加藤弘之、神沼拓也ら:

研究者番号：

- 前立腺癌に対する外部照射併用高線量率組織内照射の治療成績
日本放射線腫瘍学会第24回学術大会、神戸、2011.11.17-19
6. 石川 仁、野田真永、今枝真澄ら：I期胸部食道扁平上皮癌に対する腔内照射併用放射線治療成績
日本放射線腫瘍学会小線源部会第13回研究会、那覇、2011.5.13-14
 7. Ishikawa H, Katoh H, Ebara T, et al. High-dose rate brachytherapy combined with hypofractionated external beam radiotherapy for locally advanced prostate cancer. The 52nd American Society for Radiation Oncology Annual Meeting, San Diego, USA. 2010.10.31-11.4
 8. 石川 仁：放射線治療効果予測に関する基礎的研究 第57回北関東医学会総会、前橋、2010.10.7-8
 9. 石川 仁、加藤弘之、大野達也ら：前立腺癌に対する炭素イオン線治療の初期経験。第7回日本粒子線治療臨床研究会、福井 2010.10.15
 10. 石川 仁、加藤弘之、江原 威ら：中・高リスク前立腺癌に対する高線量率組織内照射の治療成績。
日本放射線腫瘍学会第23回学術大会、浦安、2010.11.18-20
 11. 石川 仁、高橋健夫、玉木義雄ら：I期食道癌に対する高線量率腔内照射と低線量率腔内照射の治療成績比較
第69回日本医学放射線学会学術集会、横浜、2010.4.8-11

[その他]

ホームページ等

<http://www.pmrc.tsukuba.ac.jp/>

<http://www3.pmrc.tsukuba.ac.jp/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

石川 仁 (ISHIKAWA HITOSHI)

筑波大学・医学医療系・准教授

研究者番号：70344918

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()