

平成 28 年 6 月 21 日現在

機関番号：82502

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26861029

研究課題名(和文)腫瘍局所への炭素イオン線照射により誘導される遠隔腫瘍からの転移抑制機構の解析

研究課題名(英文)Inhibitory effects of metastasis by the local tumor carbon-ion irradiation

研究代表者

馬 立秋(Ma, Liqiu)

国立研究開発法人放射線医学総合研究所・重粒子医科学センター・研究員

研究者番号：70711539

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,700,000円

研究成果の概要(和文)：先行研究では両下肢にがん細胞を移植した担癌マウスを用いて、炭素イオン線の局所照射によって遠隔に存在する照射されていない腫瘍からの転移の抑制が認められた。本現象の一般性を確認するため、癌腫またはマウス系統を変えて同様な実験を行い、転移抑制が認められた。しかし、両下肢にがん細胞を移植した担癌ヌードマウスの片足のみに炭素イオン線照射を行ったが、遠隔腫瘍由来の転移の抑制は認められず、本現象が免疫応答を介したことが明らかになった。また、光子線も炭素イオン線とともに、照射による遠隔腫瘍からの転移抑制が認められた。この結果より、炭素イオン線以外の放射線でも照射による遠隔腫瘍からの転移の抑制が誘導される。

研究成果の概要(英文)：Our previous research showed local C-ion treatment was able to repress lung metastasis from distal (non-irradiated) tumor in Colon-26-bearing BALB/c model. In this study, the universal of this phenomenon had been verified by using LM8-bearing C3H/He model. Similar to Colon-26-bearing BALB/c model, lung metastasis from distal tumor was significantly decreased in the mice treated with C-ion irradiation. However, the metastasis suppression from distal tumor was not observed after C-ion irradiation in Colon-26-bearing BALB/c-nu/nu model. These results indicate that C-ion local irradiation has ability to suppress metastasis from distal tumor by whole body immune system. In addition, the C-ion and photon had been compared as a resource for this phenomenon. The result showed that both C-ion and X-ray irradiation significantly repressed lung metastasis from distal tumor.

研究分野：粒子線治療

キーワード：転移抑制 炭素イオン線 免疫

### 1. 研究開始当初の背景

(1) 粒子線治療は、その物理的性質から局所制御において非常に効果的である一方で、遠隔転移制御が大きな課題であり、特に CT や PET で診断できないような微小転移制御については、今後の治療成果向上の為にも克服すべき重要な問題である。

(2) 申請者の所属する研究チームは、腫瘍局所を炭素イオン線照射することにより、腫瘍の増殖に影響しない低い線量でも転移を抑制する事をこれまで報告してきた。さらに、樹状細胞療法と炭素イオン線療法を併用することにより、高い転移抑制効果があることも示した。しかし、炭素イオン線が転移抑制に寄与する機構や、照射された腫瘍以外、特に遠隔に存在する照射されていない腫瘍にどのような影響を及ぼすかは未だ十分に理解されていない。

(3) 申請者は、複数箇所腫瘍が存在する状態で、その一部の腫瘍に照射した後の非照射腫瘍からの転移に着目した。そこで、両下肢に癌細胞を移植した担癌マウスを用いて、片足の腫瘍への炭素イオン線照射後の肺転移への効果を検証した。その結果、両下肢移植マウスで片足に照射した時の肺転移数は、片足のみに移植したマウスでの転移数より顕著に少ないことが示された。この結果は、炭素イオン線の照射が遠隔に存在する照射されていない腫瘍からの転移も抑制することを示唆している。

### 2. 研究の目的

本研究は腫瘍局所への炭素イオン線照射により誘導される転移抑制機構を明らかにし、炭素イオン線や陽子線といった粒子線によるがん治療、特に転移がすでにある患者への効果的な適応に向けた基礎的なエビデンスを得ることを最終的な目的としている。その中で、本申請では下記の3点を目的としている。

(1) 腫瘍局所への炭素イオン線照射により誘導される遠隔腫瘍からの転移抑制における免疫系の作用機序の検討。

(2) 血流循環がん細胞解析による転移の各段階における炭素イオン線照射効果の解析。

(3) 本現象に対する線質(光子線と粒子線)効果の検証。

### 3. 研究の方法

本研究は、主に両下肢に腫瘍を移植した肺転移マウスモデルを用いて、下記の実験を行う

(1) 炭素イオン線を片側下肢の腫瘍のみに照射したときの遠隔腫瘍(非照射)由来の転移抑制を癌腫またはマウス系統を変えて本

現象の一般性の確認を行う。

(2) 本現象に免疫系の活性化がどの程度寄与し、更にそれ以外のメカニズムが関与しているかを明らかにすることを目的として、ヌードマウスを用いて炭素イオン線照射による転移抑制効果を検討する

(3) 蛍光タンパク質を指標に血流から遊走する癌細胞の数を測定し、炭素イオン線照射による転移が抑制されるメカニズムを解明する。

(4) X線やγ線などの光子線の照射をすることにより炭素イオン線以外の線質においても同様の遠隔腫瘍からの転移抑制効果が誘導されるのかを検証する。

### 4. 研究成果

(1) 炭素イオン線照射による転移抑制機構の解明を目的として、両下肢に腫瘍を移植した肺転移マウスモデルを用いて腫瘍局所への炭素イオン線照射により誘導される遠隔腫瘍からの転移抑制の一般性を確認した。具体的内容は Colon-26 マウス大腸癌細胞株を BALB/c マウス、あるいは LM8 マウス骨肉腫細胞株を C3H/He マウス両下肢担癌マウスの片足のみに照射し、その2-3週間後に肺転移数を測定した。その結果、Colon-26 (BALB/c マウス)と同様に、LM8 (C3H/He マウス) 両下肢担癌モデルの照射群は片足担癌モデルの非照射群の肺転移数より顕著な転移抑制を認められた(図1)。この結果により、炭素イオン線照射後、遠隔腫瘍からの転移を抑制することの一般性を認められた。

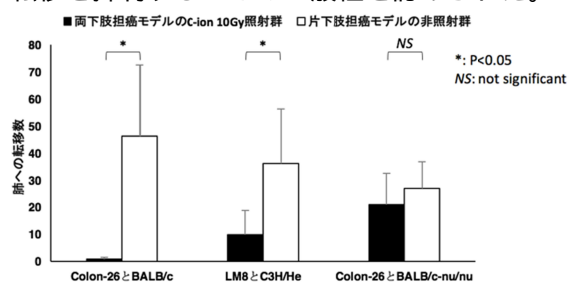


図1. 炭素イオン線照射による遠隔腫瘍からの転移抑制

(2) 更に、本現象における免疫系の関与の程度を検討するために、Colon-26 をヌードマウス両下肢担癌マウスの片足のみに照射し、その2週間後に肺転移を測定した結果、両下肢担癌モデルの照射群では片足担癌モデルの非照射群の肺転移数との顕著な差は認められなかった(図1)。この結果より、炭素イオン線片足照射による遠隔腫瘍(非照射)由来の転移の抑制は認められず、本現象が免疫応答を介したことが明らかになった。

(3) 炭素イオン線照射による転移抑制機構の解明を目的として、蛍光タンパク質を指標

に血中遊走する癌細胞の数を測定した。具体的には Colon-26 がん細胞より蛍光タンパク質を安定発現する細胞 Colon-26<sup>pCherryPicker</sup> を樹立し、BALB/c マウスの大腿皮下に接種させ、7日後に形成した腫瘍に炭素イオン線を照射した。照射後5日目に、血中遊走するがん細胞数を測定した。イメージングサイトメーターを用いた解析の結果、非照射群では血中遊走するがん細胞が検出されたが、照射群では遊走するがん細胞は検出されなかった(図2)。この結果より、炭素イオン線照射後、血流で遊走するがん細胞数の減少が認められた。

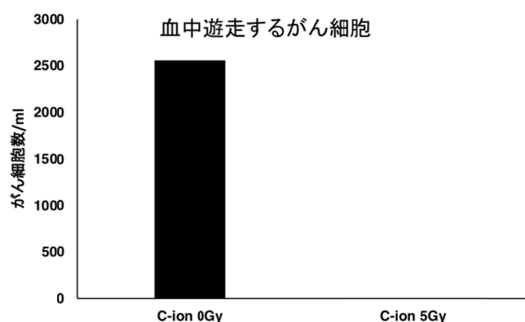


図2. 照射による血中がん細胞の抑制

(4) また、Colon-26 がん細胞を用いて、腫瘍局所への炭素イオン線照射により誘導される遠隔腫瘍からの転移抑制することに対する炭素イオン線以外の線質、光子線においても同様な効果が誘導されるのかを検証した。その結果、遠隔腫瘍からの転移は炭素イオン線とX線同程度、顕著に抑制された(図3)。この結果より、炭素イオン線以外の放射線でも照射による遠隔腫瘍からの転移の抑制が誘導される。

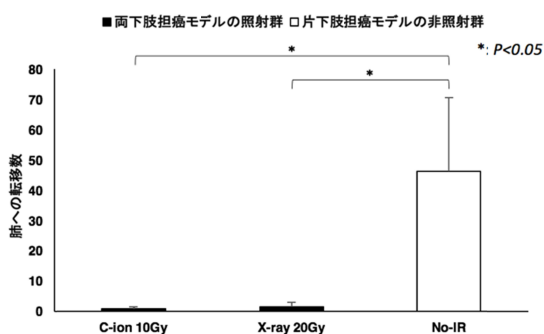


図3. 異なる放射線照射による遠隔腫瘍からの転移抑制

## 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 件)

Liqu Ma, Daisuke Irie, Katsutoshi Sato, Hiromi Otsuka, Hiroyuki Moritake, Takashi Imai, Takashi Shimokawa, A Combined Therapy of Carbon-Ion Irradiation and Immunotherapy in a Mouse Model, 2013 Annual Report of the Research Project with Heavy Ions at NIRS-

HIMAC、査読なし、Vol. 141、2014、pp. 23-24

Liqu Ma, Yoshimitsu Sakamoto, Katsutoshi Sato, Hiromi Otsuka, Hiroyuki Moritake, Takashi Imai, Takashi Shimokawa, Research of Carbon-Ion Irradiation and Immune response in a Mouse Model, 2014 Annual Report of the Research Project with Heavy Ions at NIRS-HIMAC、査読なし、Vol. 143、2015、pp. 27-28

Takashi Shimokawa, Liqu Ma, Ken Ando, Katsutoshi Sato, and Takashi Imai, The Future of Combining Carbon-Ion Radiotherapy with Immunotherapy: Evidence and Progress in Mouse Models, International Journal of Particle Therapy、査読有、Vol. 3、2016、pp. 24-33、DOI: 10.14338/IJPT-15-00023.1

[学会発表](計 件)

馬立秋、入江 大介、佐藤 克俊、大塚 裕美、中里 真弓、菅 和美、森 竹 浩之、今井 高志、下川 卓志、マウスモデルを用いた炭素イオン線治療と樹状細胞療法の併用療法の研究、平成25年度 HIMAC共同利用研究 成果発表会、2014年04月21日~2014 年04月22日、ホテルポートプラザちば

馬立秋、佐藤 克俊、今井 高志、下川 卓志、炭素イオン線-樹状細胞併用療法による転移抑制効果に対する移植腫瘍とマウス系統の影響、第73回日本癌学会 学術総会、2014年09月25日~2014 年09月27日、パシフィコ横浜

Liqu Ma, Katsutoshi Sato, Hiromi Otsuka, Hiroyuki Moritake, Takashi Imai, Takashi Shimokawa, Study of immune response of carbon-ion radiotherapy in an in vivo murine model, Annual conference of the Research Project with Heavy Ions at NIRS-HIMAC、2015年04月20日~2015年04月21日、Port Plaza Chiba

Liqiu Ma, Ken Ando, Daisuke Irie,  
Katsutoshi Sato, Takashi Imai, Takashi  
Shimokawa、 Analysis of Underlying  
Mechanisms for Combination Therapy of  
Carbon-ion Irradiation and Dendritic Cell  
Immunotherapy、 15th International  
Congress of Radiation Research(国際学会)、  
2015年05月25日~ 2015年05月29日、Kyoto  
International Conference Center

Liqiu Ma, Katsutoshi Sato, Takashi Imai,  
Takashi Shimokawa、 Strain-dependent  
effects of metastasis suppression by C-ion  
and iDCs combination therapy、 The 74th  
Annual Meeting of the Japanese Cancer  
Association、 2015年10月08日~ 2015年10  
月10日、 Nagoya Congress Center

〔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：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況(計 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

馬 立秋 (MA, Liqiu)  
国立研究開発法人放射線医学総合研究  
所・重粒子医科学センター・研究員  
研究者番号：70711539

(2) 研究分担者  
( )

研究者番号：

(3) 連携研究者  
( )

研究者番号：