

令和 3 年 6 月 22 日現在

機関番号：12102

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K19465

研究課題名(和文)陽子線照射でがん免疫も賦活する「がん陽子線・在所ワクチン療法」の開発

研究課題名(英文)Development of a novel cancer therapy by a conjunctive use of proton beam irradiation and in situ cancer vaccination

研究代表者

坪井 康次(Tsuboi, Koji)

筑波大学・医学医療系・名誉教授

研究者番号：90188615

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,700,000円

研究成果の概要(和文)：マウス腫瘍モデルを用いて、がんに対する局所的放射線治療後に全身のがん特異的免疫を賦活する新たな治療法の開発研究を行なった。まず、がん抗原を担持できる多孔性メソポーラスシリカナノ粒子を放射線照射後の腫瘍内へ投与することで局所の治癒が得られた場合、強力なアブスコパル効果が誘導されることを示した。次に、骨髄、または人工多能性幹細胞由来の樹状細胞と、抗PD-1抗体を放射線照射後に投与することで、照射された腫瘍が「在所腫瘍ワクチン」に変換され、高い局所治癒とともに強力なアブスコパル効果が誘導された。以上から、局所放射線療法と全身のがん免疫療法を融合する新たな概念の治療法の有用性を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

がんに対する定位的放射線治療では周囲の組織を温存してがん病巣に集中した治療ができるが、照射野外での再発や遠隔転移を防ぐことが患者の予後改善のための大きな課題となっている。本研究課題では、メソポーラスシリカナノ粒子や樹状細胞を照射後に投与することで、照射により誘導された腫瘍細胞の免疫原性細胞死に起因したがん免疫を賦活して、在所ワクチン化できることを示した。定位的放射線照射と全身のがん免疫賦活が融合できれば、お互いが補完され、転移の予防にも高い効果が望める。理論的には、固形がんの種類を問わずに適応可能であることから侵襲性が低く有用性の高い新たながん治療の実現に向けた道筋が示された。

研究成果の概要(英文)：The efficacy of a novel therapeutic approach that activate cancer-specific immune response after local radiotherapy for solid cancers was analyzed using mouse tumor models. First, the immune-adjutant effect of mesoporous silica nanoparticles (HMS-NS) was examined. The administration of HMS-NS into the tumor after radiotherapy induced a strong abscopal effect when the local tumor was cured. Second, the efficacy of combined administrations of bone marrow (BM) or induced pluripotent stem cell (iPS) derived dendritic cells and anti-PD-1 antibody (PD1-ab) after radiotherapy was examined. The results indicated that administration of BM or iPS derived dendritic cells with PD1-ab led to the conversion of irradiated tumors into effective in situ vaccines. The above suggests the usefulness of a new concept of treatment that combines local radiotherapy and systemic cancer immunotherapy.

研究分野：放射線腫瘍医学、放射線生物学

キーワード：がん放射線治療 がん特異的免疫 アブスコパル効果 免疫原性細胞死 メソポーラスシリカ 樹状細胞

## 1. 研究開始当初の背景

近年の定位的放射線治療により、従来の X 線治療に比べ周囲を温存してがん病巣に対して集中した治療が可能となり局所制御率は向上しているが、一方、その高い集中性から照射野外での再発や遠隔転移が患者の予後を制限する大きな障壁となっている。そこで、もし定位的放射線治療と同時に全身的にがん特異的な免疫反応を賦活して周辺再発や遠隔転移を克服できれば、副作用の少ない画期的ながん治療が実現できる。そこで本研究課題では、固形がんに対して定位的 X 線照射を行って局所制御を得ると同時に、全身的ながん特異的な免疫応答を賦活してがんの再発と遠隔転移を防ぐ新たな概念のがん治療法を開発するために、以下の 2 つの目的で研究を行なった。

## 2. 研究の目的

- (1) メソポーラスシリカナノ粒子(HMS-NS)の免疫アジュバント効果: 本課題の第一の目的は、放射線照射によりがん細胞に免疫原性細胞死を誘導し、放出されたがん抗原などを HMS-NS で担持して活性を維持するとともに樹状細胞に貪食されやすい形状にすることにより、がん免疫反応が増強されるかどうかを明らかにすることである。
- (2) マウス骨髄または人工多能性幹細胞から分化誘導した樹状細胞の免疫賦活効果: 第二の目的は、マウス皮下腫瘍モデルに対して、エックス線照射後に骨髄由来樹状細胞 (BM-DC) または人工多能性幹細胞由来の樹状細胞 (iPS-DC) と、抗 PD-1 抗体 (PD1-ab) の投与を併用することで局所腫瘍制御効果と全身的なアブスコパル効果が得られるかどうかを明らかにすることである。

## 3. 研究の方法

- (1) メソポーラスシリカナノ粒子(HMS-NS)の免疫アジュバント効果: クサビラオレンジ蛍光遺伝子をトランスフェクトしたマウス神経膠腫細胞 (GL261-mKO 細胞) をマウスの大腿部に皮下移植して生着させて X 線を照射した。0.1、0.3、1 mg の HMS-NS を照射された大腿の腫瘍内へ毎週 1 回 3 週間 (3 回) あるいは 6 週間 (6 回) 投与した。最後の投与から 4 日後に脳内へ GL261-mKO 細胞を移植チャレンジし、経時的に大腿の腫瘍のサイズを計測するとともに全生存率の解析を行なった。また、マウスから脾細胞を抽出し IFN- $\gamma$  の放出レベルを ELISPOT アッセイにて解析した。
- (2) マウス骨髄または人工多能性幹細胞から分化誘導した樹状細胞の免疫賦活効果: B16 / BL6 メラノーマおよびルイス肺癌 (LLC) 細胞を C57BL / 6 マウスの左大腿部に皮下移植して原発性腫瘍とし、X 線を 8Gy 照射した後に BM-DC または iPS-DC の腫瘍内投与と PD1-ab の腹腔内投与を行った。アブスコパル効果を検証するために、同じ腫瘍細胞を右大腿に移植して、原発腫瘍のみを同じプロトコールで治療した。原発および転移性腫瘍の増殖率と生存率を明らかにするとともに、脾臓 T 細胞の増殖アッセイ、脾臓 T 細胞からのインターフェロン (INF- $\gamma$ ) 放出アッセイ (ELISPOT assay) を行った。

## 4. 研究成果

- (1) メソポーラスシリカナノ粒子(HMS-NS)の免疫アジュバント効果: 局所制御率および全

生存率を照射のみの対照群と比較すると、HMS-NS の 3 回投与群では有意な差は出なかったが、HMS-NS 0.1 mg の 6 回投与群では、局所治癒が得られるとともに予防的アブスコパル効果が誘導され、生存率は有意に改善された。また、この群では、脾細胞からの IFN- 放出レベルが有意に増強していた。以上から、HMS-NS が照射後に放出された腫瘍関連抗原などの分子を担持することで抗原性を高めたと考えられ、局所的な放射線療法と併用できる有望な免疫アジュバントである可能性が示唆された。

- ( 2 ) マウス骨髄または人工多能性幹細胞から分化誘導した樹状細胞の免疫賦活効果 : X 線照射後に BM-DC または iPS-DC、および PD1-ab の投与することで、原発および遠隔部位の腫瘍の増殖は有意に阻害されてマウスの生存時間は有意に延長された。また、T 細胞の増殖と INF- 放出も有意に増加していた。BM-DC と iPS-DC はほぼ同等の抗原導入能と T-細胞増殖能を持ち、原発性腫瘍と転移性腫瘍に対する増殖抑制効果は iPS-DC がやや優れていた。以上から、BM-DC または iPS-DC および PD1-ab の投与により照射された腫瘍が有効な *in situ* ワクチンに変換されたことが示された。

定位的放射線照射と全身性のがん免疫賦活が融合されれば、お互いが補完され、転移の予防にも高い効果が望める。理論的には、固形がんの種類を問わずに適応可能であることから侵襲性が低く有用性の高い新たながん治療が実現できる。さらに最終年度では実臨床において患者の同意のもと、悪性神経膠 1 例、乳がん再発例 1 例に対してサイバーナイフによる定位的 X 線照射を行い、続けて自家腫瘍ワクチンを投与してその経過を観察した。観察期間中、G2 以上の有害事象は認められず、悪性神経膠腫例では観察中に脊髄播種を来したが、乳がん再発例は再発なく現在も経過観察中である。以上から、局所放射線療法と全身的ながん免疫療法を融合する新たな治療法の有用性が示唆された( 、 、 )。

## 引用文献

- Tsuboi K. Advantages and Limitations in the Use of Combination Therapies with Charged Particle Radiation Therapy. *Int J Part Ther.* 2018, 5(1):122-132.
- Wang Y, Zenkoh J, Gerelchuluun A, Sun L, Cai S, Li X, Tsuboi K. Administration of Dendritic Cells and Anti-PD-1 Antibody Converts X-ray Irradiated Tumors Into Effective *In situ* Vaccines. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2019,15;103(4):958-969.
- Tsuboi K. Current Topics of Proton Radiobiology, "Proton Beam Radiotherapy-Physics and Biology" 161-170, Edited by Koji Tsuboi et.al., Published from Springer Nature Singapore in Jan. 2020.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Wang Y, Zenkoh J, Gerelchuluun A, Sun L, Cai S, Li X, Tsuboi K	4. 巻 103(4)
2. 論文標題 Administration of dendritic cells and anti-pd-1 antibody converts x-ray irradiated tumors into effective in situ vaccines	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Int J Radiat Oncol Biol Phys	6. 最初と最後の頁 958-969
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ijrobp.2018.11.019	査読の有無 有
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 -

1. 著者名 Matsumoto Y, Furusawa Y, Uzawa A, Hirayama R, Koike S, Ando K, Tsuboi K, Sakurai H	4. 巻 190(4)
2. 論文標題 Antimetastatic effects of carbon-ion beams on malignant melanomas	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Radiat Res	6. 最初と最後の頁 412-423
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1667/RR15075.1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Gerelchuluun A, Maeda J, Manabe E, Brents CA, Sakae T, Fujimori A, Chen DJ, Tsuboi K, Kato TA	4. 巻 19(2)
2. 論文標題 Histone deacetylase inhibitor induced radiation sensitization effects on human cancer cells after photon and hadron radiation exposure	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Int J Mol Sci	6. 最初と最後の頁 E496
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms19020496	査読の有無 有
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 -

1. 著者名 Tsuboi K	4. 巻 5(1)
2. 論文標題 Advantages and limitations in the use of combination therapies with charged particle radiation therapy	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Int J Particle Ther	6. 最初と最後の頁 122-132
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.14338/IJPT-18-00019.1	査読の有無 有
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 -

1. 著者名 Sato H, Mizumoto M, Okumura T, Sakurai H, Sakamoto N, Akutsu H, Ishikawa E, Tsuboi K	4. 巻 62(3)
2. 論文標題 Long-term outcomes of patients with unresectable benign meningioma treated with proton beam therapy	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Radiat Res	6. 最初と最後の頁 427-437
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jrr/rrab017	査読の有無 有
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8件(うち招待講演 3件/うち国際学会 2件)

1. 発表者名 坪井康次
2. 発表標題 放射線治療と腫瘍免疫の賦活によるロコ・システム融合がん治療法
3. 学会等名 第57回生物部会学術大会・第48回放射線による制癌シンポジウム(招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 坪井康次、王 禹滋
2. 発表標題 X線によるSRS後に樹状細胞と抗PD-1抗体を投与することで効果的なアブスコパル効果を誘導できる
3. 学会等名 第11回日本放射線外科学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 坪井康次、王 禹滋、蔡松潔、孫 略、李 小康
2. 発表標題 腫瘍に対する放射線照射後に樹状細胞と抗PD-1抗体を投与する複合がん治療の有効性
3. 学会等名 第15回がんワクチン療法研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 坪井康次
2. 発表標題 定位放射線治療に役立つ放射線生物学
3. 学会等名 第27回定位放射線治療学会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 佐藤弘茂、水本斉志、奥村敏之、櫻井英幸、阿久津博義、石川栄一、松村 明、坂本規彰、坪井康次
2. 発表標題 手術治療が困難であった26例の髄膜腫に対する陽子線治療の長期予後
3. 学会等名 第77回日本脳神経外科学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yuzi Wang, Lue Sun, Songjie Cai, Xiaokang Li, Koji Tsuboi
2. 発表標題 Effect of a combined treatment with iPS cells derived dendritic cells and proton beam irradiation in a murine subcutaneous melanoma model
3. 学会等名 European Society for Medical Oncology (ESMO) 2018（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 坪井康次
2. 発表標題 陽子線治療における基礎研究の必要性、特に併用療法について
3. 学会等名 放射線影響学会キャッチアップセミナー（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hiroshige Sato, Masashi Mizumoto, Toshiyuki Okumura, Hideyuki Sakurai, Koji Tsuboi
2. 発表標題 Long-term outcomes of patients with inaccessible meningioma treated by proton beam therapy
3. 学会等名 8th Annual Meeting of International Society of Radiation Neurobiology (国際学会)
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 Koji Tsuboi	4. 発行年 2020年
2. 出版社 Springer Nature Singapore	5. 総ページ数 235
3. 書名 Proton Beams Radiotherapy -Physics and Biology-	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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	伊藤 敦夫  (Ito Atsuo)  (30356480)	国立研究開発法人産業技術総合研究所・生命工学領域・上級主任研究員   (82626)	
研究分担者	梨井 康  (Rii Koh)  (60321890)	国立研究開発法人国立成育医療研究センター・移植免疫研究室・室長   (82612)	

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
---------	---------