様　式　C－19、F－19－1、Z－19　(共通)

科学研究費助成事業　　研究成果報告書

令和　４年　６月２０日現在

機関番号：８２５０２

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2021

課題番号：１９Ｋ０７７９０

研究課題名（和文）がんの放射線治療後に起こる免疫反応を利用する改良型・養子免疫療法の開発

研究課題名（英文）Improvement of conventional adoptive cell therapy for cancer utilized tumor-specific immune responses induced by radiation therapy

研究代表者

武島　嗣英（Takeshima, Tsuguhide）

国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構・量子医科学研究所　重粒子線治療研究部・主幹研究員

研究者番号：１０３６０９５０

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費）　　3,300,000円

研究成果の概要（和文）：がんの養子免疫療法のひとつである樹状細胞ワクチン療法の改良版作製を目的に、放射線治療後に血清中に検出されるがん結合抗体を精製し、治療に用いる樹状細胞表面上のFc受容体にそれを結合させ、樹状細胞複合体（TAb-BMDC）を作製した。これをB16-OVA細胞株を移植した担癌マウスの治療を行い、従来の樹状細胞ワクチン療法（BMDC）と治療効果を比較した。TAb-BMDC療法と従来のBMDC療法の間に治療効果に差はなかったが、X線治療と合わせると、TAb-BMDC療法がBMDC療法の効果を上回った。これは、腫瘍内に誘導される腫瘍殺傷性のがん特異的CTLの数の違いで治療効果を説明できることがわかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義
近年の放射線照射技術の向上に伴い、腫瘍の原発巣の制御はある程度可能になったものの、多くの癌種で見られる遠隔転移巣や播種を消失させることは未だに困難であり、放射線治療を受けた患者の主な死因がそれらである。本研究は、放射線治療の効果を向上させ上記問題点を克服するために、治療後に引き起こるがん特異的免疫応答をより高めることを動物モデルを使って目指した。放射線療法に免疫療法（樹状細胞ワクチン療法）を併用することに加え、放射線治療後に血中にできるがん結合抗体を取り出して樹状細胞に結合させ、それを樹状細胞ワクチン療法に使用するというこの治療法の改良版を開発した。

研究成果の概要（英文）：The purpose of this study was to create the improved dendritic cell vaccine therapy for cancer. Tumor-binding antibodies (TAbs), induced in serum after X-ray tumor irradiation, were bound to the Fc receptors on bone marrow-derived dendritic cells (BMDC). The therapeutic effects of the TAb-BMDC were compared to that of the conventional BMDC therapy.
In a murine model of melanoma (B16-OVA), no statistical difference in therapeutic efficacy was seen between TAb-BMDC therapy and conventional BMDC therapy. But when combined with X-ray therapy, the TAb-BMDC was more effective than conventional BMDC in inhibiting tumor growth by augmenting the induction of antitumor cellular immune responses. This multimodality regimen may have translational applications for the treatment of human cancers.

研究分野：腫瘍免疫学、放射線生物学

キーワード：放射線治療　免疫治療　樹状細胞　がん結合抗体　がん反応性CTL

※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、研究者個人に帰属します。

様　式　Ｃ－１９、Ｆ－１９－１、Ｚ－１９（共通）

1. 研究開始当初の背景

放射線療法は、放射線を腫瘍に照射してがん細胞の DNA に損傷を与えがん細胞を死滅させる治療法である。近年になって、治療後はがん細胞が死滅して終わるのではなく、死細胞体由来の物質ががん抗原となって生体内にがんに対する免疫ができ、それががん細胞の死滅を手助けすることがわかってきた。その一つとして、放射線治療後にはがん細胞を直接攻撃するがん反応性キラーT 細胞（がん反応性 CTL）（Takeshima T. Cancer Res. 2010 他）やがん反応性抗体（がん結合抗体）（Yoshimoto Y. PLos One 2014）が体内に誘導されることが見出されている。

ただし、放射線療法は完全ではなく、遠隔に存在する転移巣や散らばって形成する播種、そして局所であっても放射線抵抗性の腫瘍には効かないことから、転移と再発の制御をいかにするかがこの治療法の現在の課題である。これらの課題を解決するために、放射線で誘導される免疫を増幅するため、特にがん細胞を直接殺傷する細胞傷害性 T リンパ球（CTL）を増加させるために、がん免疫療法と併用を行う新しい放射線療法の開発研究が多く行われている。

本研究では、放射線治療が起こす免疫反応により血中に増加するがん結合抗体を利用して既存のがん免疫療法である養子免疫療法（樹状細胞ワクチン療法）を改良した新規治療法を開発する。

2. 研究の目的

本研究の目的は次の二つである。一つは、X 線あるいは炭素イオン線治療後に誘導される液性免疫の応答の違いを明らかにし、放射線治療が起こす抗腫瘍免疫応答の基礎データを得る。二つ目は、臨床応用に向けた新規の放射線・免疫治療法を開発する。具体的には、担癌マウスにそれぞれの照射を行い血中の癌特異的抗体（Tumor-specific antibodies, TAb）を測定する。そして、担癌マウスの放射線治療後に血中に検出される TAb を取り出し、既存の樹状細胞療法（DC 療法）と併せて DC 療法の改良版が有効か検証する。

3. 研究の方法

担癌マウスとして、黒色腫 B16-OVA 株を移植した C57BL/6 を用いた。B16-OVA を移植後、腫瘍サイズが 7-8mm になったところで、X 線を腫瘍に向けて 10 Gy 照射した。

(1) 腫瘍への X 線照射後の血中のがん結合抗体量（TAb）の時間変化の確認

X 線 10 Gy 照射後の血中の TAb 量の時間変化を B16-OVA 細胞を用いてフローサイトメーターにて測定した

(2) 血清からの TAb の分離

腫瘍への放射線照射後のマウスの血清を採取し、そこからプロテイン G カラムを使用して IgG を精製した。精製した IgG は正常細胞（リンパ節内細胞、皮膚細胞、膵臓細胞）に吸着させ、残りの IgG を TAb とした。

(2) TAb と樹状細胞の複合体（TAb-DC）形成の確認

1. マウスの骨髄細胞より樹状細胞（BMDC）を誘導した。

2. ①の抗体が樹状細胞に Fc 受容体が結合し (複合体の形成) フローサイトメーターを使用して確認した。

3. TAb-DC が培養した B16-OVA 癌細胞に結合するかをフローサイトメーターで確認した。

(4) TAb-DC の治療効果確認

担癌マウスの腫瘍近傍の皮下に TAb-DC を移入し、腫瘍サイズの経時変化を測定しした

(5) 治療効果を示す理由を探るため、以下の項目を行った

1. 移入した TAb-DC の腫瘍内部への移行を確認した

2. TAb-DC 治療後の腫瘍内に癌細胞を直接殺傷する癌特異的 CTL の出現頻度を確認した

4. 研究成果

腫瘍への X 線照射後の血中のがん結合抗体量 (TAb) の時間変化を確認したところ、血清中 TAb の量は X 線照射後 7 日目をピークとして、その後は減少に転じていた。この TAb と BMDC の複合体が、BMDC 表面上の Fc 受容体を介して形成できることを確認した。TAb-BMDC は BMDC とよりも B16-OVA 細胞に効果的に結合した。

担癌マウスの治療に TAb-BMDC 用いた実験では、BMDC 移入群と TAb-BMDC 移入群では腫瘍サイズに有意差は見られなかったが、X 線照射をした場合に、両者で有意差を認めた。マウスの両脚に腫瘍を移植して片方の治療を行ったところ、X 線単独群または X 線+BMDC 移入群ではなく、X 線+TAb-BMDC 移入群で未治療側の腫瘍の成長も抑制された。

治療後のがん反応性 CTL (CD8+OVA-Tetramer+細胞) 数を測定したところ、X 線未照射群と X 線単独群、X 線+BMDC 移入群よりも、X 線+TAb-BMDC 移入群で有意に上昇していた。

これらの結果から X 線治療で血中に増加するがん結合抗体を結合させた樹状細胞を用いる改良版樹状細胞ワクチン療法は、樹状細胞のがん細胞貪食量と抗原提示能が増加した結果、従来の治療法よりも多数のがん反応性 CTL が誘導されることで良好な治療効果を示したと考えている。

５．主な発表論文等

〔雑誌論文〕　計0件

〔学会発表〕　計5件（うち招待講演　5件／うち国際学会　1件）

１．発表者名 武島　嗣英
２．発表標題 放射線治療後に起こる抗腫瘍免疫応答を利用した新規がん治療法の開発研究
３．学会等名 第56回日本医学放射線学会秋季臨床大会，日本医学放射線学会（招待講演）
４．発表年 2020年

１．発表者名 武島　嗣英
２．発表標題 Approach for the development of new immunotherapy using radiation-induced anti-tumor immune responses.
３．学会等名 第63回大会日本放射線影響学会（招待講演）
４．発表年 2020年

１．発表者名 武島　嗣英
２．発表標題 Immunomodulatory effects of radiation therapy: Evidence from preclinical studies
３．学会等名 第33回日本放射線腫瘍学会学術大会（招待講演）
４．発表年 2020年

１．発表者名 武島　嗣英
２．発表標題 Basic study on anti-tumor immunity induced by photon and heavy-ion radiation therapy
３．学会等名 1st RAON School of Bio-Medical Research（招待講演）（国際学会）
４．発表年 2019年

1．発表者名 武島　嗣英
2．発表標題 Basic study on radiation-induced anti-tumor immunity
3．学会等名 第62回日本放射線影響学会（招待講演）
4．発表年 2019年

〔図書〕　計0件

〔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

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