

令和 3 年 6 月 2 日現在

機関番号：14301

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K17231

研究課題名(和文)ホウ素中性子捕捉療法により誘導される新規宿主腫瘍免疫賦活効果の同定

研究課題名(英文) Investigation of Novel Host Tumor Immunostimulatory Effects Induced by Boron Neutron Capture Therapy

研究代表者

渡邊 翼 (Watanabe, Tsubasa)

京都大学・複合原子力科学研究所・特定准教授

研究者番号：30804348

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：ホウ素中性子捕捉療法(BNCT)とはホウ素原子が中性子を取り込むと線とリチウム原子核に核分裂を起こすことを利用した癌治療である本研究の目的はBNCT後の抗腫瘍免疫応答を調べることである。悪性黒色腫細胞B16を用いたマウス皮下腫瘍モデルを用いてBNCTとCD8+T細胞の除去抗体を同時投与し、明らかな抗腫瘍効果の減退を認め、BNCTにおいてもX線・線と同様に抗腫瘍免疫応答が抗腫瘍効果に寄与していることが明らかとなった。BNCTに対してaPD1を追加した抗腫瘍効果を検討したところBNCT+aPD1併用群にてBNCT単独と比較し良好な抗腫瘍効果の向上を腫瘍曲線の変化・生存率ともに認めた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

実験動物を用いたモデルにおいて、BNCTにおいてもX線・線などの通常放射線治療として用いられる線種と同様に、抗腫瘍効果に対する宿主の免疫応答も重要であることが判明した。そこで、同モデルを用いてBNCTと抗PD-1抗体の同時併用による癌治療効果を検討し、BNCTと抗PD-1抗体の同時併用による乗せ効果を認めた。これは既に一部癌腫に対して保険適応にもなっているBNCTの後治療として抗PD-1抗体が有用である可能性を示唆するものであり、既存の治療とのシナジーを求めて臨床でも併用する根拠の1つとなると考える。

研究成果の概要(英文)：Boron neutron capture therapy (BNCT) is a cancer treatment that utilizes the fission of boron atoms into alpha and lithium nuclei when they capture a neutron. The purpose of this study was to investigate the anti-tumor immune response after BNCT. Using a subcutaneous tumor model of mice with malignant melanoma cells, B16, we simultaneously administered BNCT and aCD8 antibody, and found a clear decrease in the anti-tumor effect, indicating that the anti-tumor immune response contributes to the anti-tumor effect of BNCT as well as X-rays and γ -rays. The combination group of BNCT plus aPD1 showed better anti-tumor effect than BNCT alone in terms of change in tumor curve and survival rate. The results of the study showed that the combination of BNCT and aPD1 improved the antitumor effect compared to BNCT alone in terms of tumor curve change and survival rate.

研究分野：放射線生物学

キーワード：中性子捕捉療法

1. 研究開始当初の背景

放射線による抗腫瘍効果は直接の殺細胞効果のみによるものだと信じられてきたが、X線照射に伴い腫瘍表面の組織適合性複合体(MHC)分子の増加、樹状細胞による抗原提示能の活性化、多様なT細胞受容体クローンの誘導など様々な腫瘍免疫賦活効果があり、免疫賦活効果は放射線照射がもたらす抗腫瘍効果の新たな側面として見直されている。また、放射線を照射すると、腫瘍細胞が免疫原性の高い死に方をして免疫反応を誘導することも知られ、免疫療法との併用の観点からも放射線治療は有用であることがわかってきた。

ホウ素中性子捕捉療法(Boron Neutron Capture Therapy, BNCT)とはホウ素原子(^{10}B)が中性子を取り込むと α 粒子とリチウム原子核に核分裂を起こす特異な物理現象を応用した放射線治療の1つである。発生粒子は殺細胞効果の高い重粒子線であり、各粒子飛程が $10\mu\text{m}$ (細胞の直径)以下と短いことから、 ^{10}B を腫瘍細胞選択的に送達すれば、その後、低エネルギー中性子を照射することで腫瘍細胞選択的な治療が可能である。BNCTは殺細胞効果が高い重粒子線を腫瘍細胞内から照射する治療であること、治療としてホウ素化合物と中性子照射の両方を用いること、1回照射で治療を完了させることなど、通常のX線を用いる放射線治療とは性質が大きく異なっている。従って、細胞死に至るメカニズムとそれに伴い放出されるストレスタンパク質の量や質・誘導される腫瘍特異的抗原は従来の放射線治療とは異なると予想される。加えてX線照射では認められない新たな免疫賦活効果がBNCTに認められれば、免疫療法との併用によりBNCT単独以上の治療効果を望める科学的根拠ともなり、難治性癌根治のための治療法確立につながる糸口を発見することにつながる。

2. 研究の目的

BNCTは特異な核物理反応を用いる放射線治療の1つであるが、BNCTはX線照射と同様の免疫賦活効果があるかどうかはこれまで明らかにされていない。BNCTによって賦活される宿主の免疫反応としてX線照射で知られる免疫賦活効果以外の新たなメカニズムが存在すれば、BNCTと免疫療法との併用による相乗効果もX線治療以上に望める可能性があり、BNCTと免疫療法の併用の科学的根拠となりうる。本研究の目的はホウ素中性子捕捉反応を利用した放射線治療の1つ、ホウ素中性子捕捉療法後の抗腫瘍免疫応答を調べることである。

3. 研究の方法

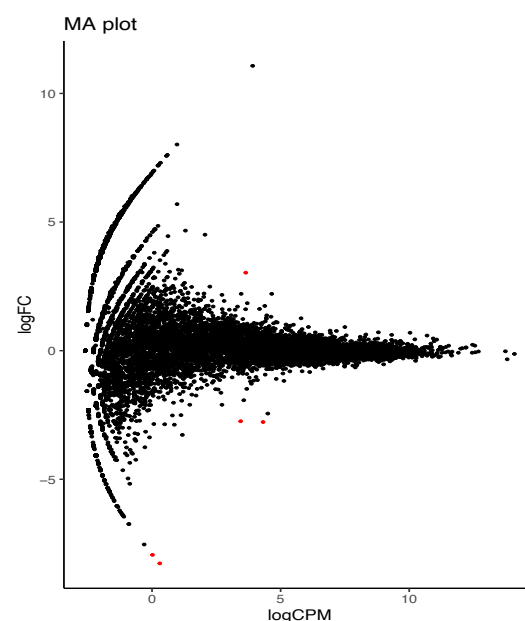
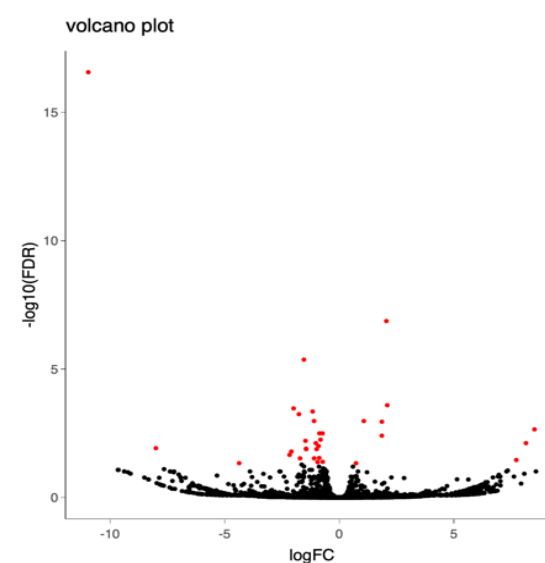
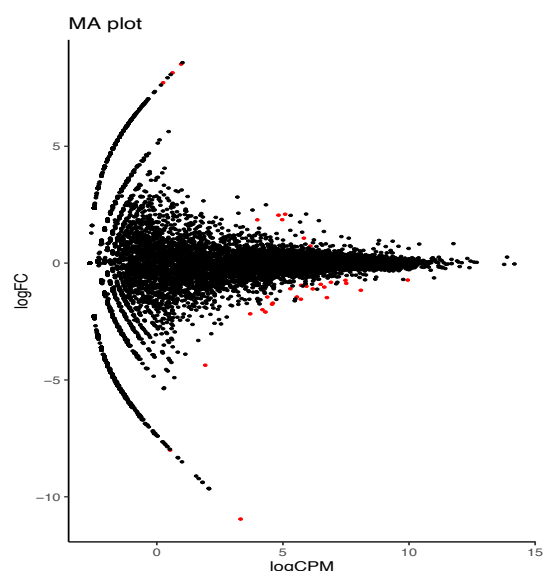
マウス由来悪性黒色腫細胞 B16-Luc (20 万個/匹) を C57BL/6 マウスの下肢皮下へ 20% のマトリゲルとともに移植し、腫瘍の直径が 1cm になったタイミングで γ 線照射、中性子単独照射、BNCT (= ホウ素薬剤+中性子照射) を行い、8 時間後に腫瘍をとりだし、RNA を抽出して腫瘍組織の bulk RNAseq を行った。RNA-seq のシーケンスデータはそれぞれの遺伝子のカウント数を CPM に変換し、それぞれの治療群での遺伝子 log2CPM の値を比較した。 γ 線照射、中性子単独照射、BNCT それぞれの抗腫瘍効果を腫瘍曲線・生存率曲線を用いて評価した。BNCT による抗腫瘍効果の細胞鞘が異性 T 細胞に影響を評価するために、BNCT と同時に aCD8 抗体をマウスへ腹腔内投与と抗体投与の影響を評価した。し、同様のマウスモデルを用いて下肢の皮下腫瘍に対して γ 線、中性子単独照射、BNCT を行い治療後 10 日目に腫瘍組織を取り出し単細胞へ分離し、フローサイトメーターによる解析を行った。BNCT では抗腫瘍効果に対する免疫細胞の影響を認めたことから、BNCT+ 抗 PD1 抗体 (aPD1) 投与を行い、腫瘍の増大への影響、生存率への影響を解析するとともに、治療後 8 時間後に腫瘍を取り出し、RNA を抽出して、腫瘍組織の RNA-seq を行い、BNCT 群と比較した。

4. 研究成果

γ 線とBNCT後のRNA-seqのMA plot及びvolcano plotの結果を右に示す。BNCT群で γ 線群よりも優位に発現が増加していた遺伝子群、優位に発現が低下していた遺伝子群を同定した。フローサイトメーターによりBNCT後10日後および中性子単独照射10日後の腫瘍組織内のCD8+T細胞密度を調べたところ、BNCT群においてCD8+T細胞の上昇を認め、BNCT後でもCD8+T細胞の減少は認められなかった。 γ 線群、中性子単独群、 γ 線と同線量のBNCT群、BNCT+CD8+T細胞除去群の抗腫瘍効果の差を腫瘍曲線及び生存曲線にて比較した。CD8+T細胞をBNCTと同時に除去した結果を見ると、BNCTの抗腫瘍効果は明らかにCD8+T細胞の寄与も存在することがわかった。この結果をもとに、BNCTに対して抗PD1抗体(aPD1)の併用効果を検討することとした。aPD1のアイソタイプ抗体は予想通り治療効果には影響を与えなかった。BNCT+aPD1併用群のRNA-seqも行いBNCT単独治療群と結果を比較することにより遺伝子の優位な発現の増加、遺伝子の優位な発現の低下を認めるものを同定した(MA plot)。

BNCTで用いるホウ素薬剤は必須アミノ酸フェニルアラニンの誘導体(L-BPA)であり、中性アミノ酸トランスポーター(LAT1)を介して腫瘍細胞へ取り込まれることが知られる。本研究の実験結果からは負の影響を認めず、腫瘍内の密度は少なくともBNCT後に減少していなかった。そのため、T細胞のL-BPAによる負の影響は予想していたよりも少ないと判断し、より臨床的にも重要なBNCTと抗PD-1抗体の併用効果を検討することとした。BNCTと抗PD-1抗体の併用効果を認めたが、本実験モデルでは治療後3週間をめどに腫瘍組織の再増殖を認め全例が根治に至るわけではなかった。

実験動物を用いたモデルにおいて、BNCTにおいてもX線・ γ 線などの通常放射線治療として用いられる線種と同様に、抗腫瘍効果に対する宿主の免疫応答も重要であることが判明した。そこで、同モデルを用いてBNCTと抗PD-1抗体の同時併用による癌治療効果を検討し、BNCTと抗PD-1抗体の同時併用による上乗せ効果を認めた。これは既に一部癌腫に対して保険適応にもなっているBNCTの後治療として抗PD-1抗体が有用である可能性を示唆するものであり、既存の治療とのシナジーを求めて臨床でも併用する根拠の1つとなると考える。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Watanabe Tsubasa, Gaedicke Simone, Guffart Elena, Firat Elke, Niedermann Gabriele	4. 巻 26
2. 論文標題 Adding Indoximod to Hypofractionated Radiotherapy with Anti-PD-1 Checkpoint Blockade Enhances Early NK and CD8+ T-Cell?Dependent Tumor Activity	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Clinical Cancer Research	6. 最初と最後の頁 945 ~ 956
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1158/1078-0432.CCR-19-0476	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 該当する

1. 著者名 Satoshi Takeno, Hiroki Tanaka, Tsubasa Watanabe, Takashi Mizowaki, Minoru Suzuki.	4. 巻 82
2. 論文標題 Quantitative autoradiography in boron neutron capture therapy considering the particle ranges in the samples.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Physica Medica	6. 最初と最後の頁 306 ~ 320
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ejmp.2021.02.012.	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 Hiroki Tanaka, Takushi Takata, Tsubasa Watanabe, Minoru Suzuki, Toshinori Mitsumoto, Shinji Kawabata, Shin-ichiro Masunaga, Yuko Kinashi, Yoshinori Sakurai, Akira Maruhashi, Koji Ono	4. 巻 983
2. 論文標題 Characteristic evaluation of the thermal neutron irradiation field using a 30 MeV cyclotron accelerator for basic research on neutron capture therapy	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section A: Accelerators, Spectrometers, Detectors and Associated Equipment	6. 最初と最後の頁 164533 ~ 164533
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.nima.2020.164533	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 渡邊 翼、鈴木 実、Gabriele Niedermann	4. 巻 55
2. 論文標題 放射線と免疫療法における腫瘍微小環境中トリプトファン代謝競合の役割	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 放射線生物研究(Radiation Biology Research Communications)	6. 最初と最後の頁 248 ~ 268
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 -

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 渡邊翼、溝脇尚志、鈴木実、Gabriele Niedermann
2. 発表標題 トリプトファン代謝酵素阻害剤は放射線と抗PD-1抗体併用による治療効果を増強する
3. 学会等名 第32回日本放射線腫瘍学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 渡邊翼、吉村通央、溝脇尚志、鈴木実、Gabriele Niedermann
2. 発表標題 Indoleamine 2,3-deoxygenase阻害剤は放射線治療と免疫チェックポイント阻害剤の効果を増強する
3. 学会等名 第22回癌治療増感シンポジウム
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 渡邊翼
2. 発表標題 硼素中性子捕捉療法により誘導される宿主免疫を介した照射後抗腫瘍効果増感作用の研究
3. 学会等名 第22回癌治療増感シンポジウム
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 渡邊翼
2. 発表標題 放射線照射と免疫療法併用における腫瘍組織内代謝競合の役割
3. 学会等名 日本放射線腫瘍学会第33回学術大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 渡邊翼
2. 発表標題 良好なアブスコパル効果を認めた転移性悪性黒色腫患者の末梢血免疫反応の解析
3. 学会等名 第58回癌治療学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 渡邊翼
2. 発表標題 臓器別シンポジウム「免疫療法時代における局所療法の意義」「放射線治療と免疫療法併用における放射線治療の役割と可能性」
3. 学会等名 第58回癌治療学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 渡邊翼
2. 発表標題 シンポジウム4「高精度放射線治療における放射線生物学」「免疫療法時代における高精度放射線治療の役割」
3. 学会等名 第34回高精度放射線外部照射部会学術大会
4. 発表年 2021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
---------	---------