

令和 5 年 6 月 13 日現在

機関番号：15201

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K08652

研究課題名（和文）BNCT併用メラノーマ複合免疫療法へ向けた前臨床探索研究と新規ホウ素薬剤開発

研究課題名（英文）Preclinical exploratory research and development of new boron drugs for Boron-neutron immunotherapy against melanoma

研究代表者

山崎 修（Yamasaki, Osamu）

島根大学・学術研究院医学・看護学系・教授

研究者番号：90294462

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）：ペプチドにより構成されるナノ粒子とホウ素薬剤（BSH）を混合するだけで容易に作成可能な世界初のホウ素薬剤を開発した。従来薬剤（BSH）と比較して数十倍高いホウ素濃度の細胞内取り込みになることを確認した。BNCTがん治療に使用可能な新しいホウ素薬剤の候補薬剤へ寄与できることが期待される。メラノーママウスモデルのBNCT免疫複合療法実験では動物モデルにより抗PD-1抗体＋BNCT併用による免疫増強効果とアブスコパル効果を証明した。さらに『進行期メラノーマ患者における予後調査・解析』の観察研究も順調にエントリーできている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

メラノーマ動物モデルを用いた実験でBNCTによる免疫療法増強効果とアブスコパル効果が確認できた。BNCTが免疫チェックポイント阻害薬が奏効しない進行期メラノーマ患者の治療選択肢として期待でき、共同研究を進めている進行期メラノーマに対するBNCTの複合免疫療法の臨床研究に発展できる。メラノーマに対して研究レベルで局所療法としてBNCTが施行されているが、免疫複合療法という観点から進行期メラノーマ症例に対する新規治療法をめざすことは画期的である。さらに免疫療法との相乗効果を期待できる複合免疫療法構想は、BNCTの適応が予想される頭頸部癌や乳癌、消化器癌などへも発展が期待される。

研究成果の概要（英文）：Immunotherapies with immune checkpoint inhibitors are successful treatments for advanced melanoma; however, it remains important to search for improved combination therapies. Boron-neutron capture therapy (BNCT) is a cell-level local particle beam therapy in which a boron agent taken up by tumor cells is irradiated with neutrons. Tumor-targeted boron drugs are amino acid derivatives that are highly compatible with melanoma and have been successfully turned into a treatment with neutron generators. We confirmed the effectiveness of the world's first combined immunotherapy that incorporates immune checkpoint inhibitors with BNCT. Using an advanced melanoma mouse model, we report strong immunotherapeutic effects by cell-mediated immunity at the irradiation site and distant sites, in addition to the direct antitumor effects of BNCT, without damage to normal tissues.

研究分野：皮膚悪性腫瘍

キーワード：BNCT メラノーマ 複合免疫療法 抗PD-1抗体

1. 研究開始当初の背景

次世代がん治療であるホウ素中性子捕捉療法 (Boron Neutron Capture Therapy, BNCT) は、ホウ素を取込ませた腫瘍へ中性子照射し、ホウ素と中性子の核反応により癌細胞を破壊する BNCT は病院設置可能な中性子源開発が進み、日本各地で BNCT 病院の開設が報道されている。BNCT は 1950 年代より米国にて、1960 年代より日本で臨床研究が開始され、メラノーマ BNCT は 1987 年より行われてきた。既報のメラノーマ BNCT の臨床研究は、局所における高い腫瘍制御効果を証明した。しかし、局所治療法である BNCT は、外科治療よりも創部疼痛及び整容的に優れた一面を有する反面、所属リンパ節への進展や照射外の遠隔部への転移などの制御は困難とされ、標準医療への壁は高い。

近年、進行期メラノーマに対して抗 PD-1 抗体を中心とした免疫チェックポイント阻害薬による治療が主流とされているが、その奏効率は 30% 程度であり、BRAF 遺伝子変異陰性で免疫チェックポイント阻害薬不応例では選択肢は少ない。免疫チェックポイント阻害薬に相乗効果が期待できる併用療法としては既に抗 PD-1 抗体と抗 CTLA-4 抗体の併用療法が保険適応となり、腫瘍溶解ウイルス療法に期待が持たれる。その他、他の免疫療法 (T 細胞輸注療法、ワクチン療法等)、放射線療法 (定位放射線、陽子線治療、腫瘍塞栓術)、抗がん剤、分子標的薬、その他 (凍結療法、サイトカイン、抗腫瘍ペプチド、ナノパルス療法) 等があるが、症例報告レベルのものが殆どである。今回我々は、複合免疫療法として BNCT を提唱する。

2. 研究の目的

現在抗 PD-1 抗体不応の進行期メラノーマ症例に対する BNCT と免疫療法による複合免疫療法の医師主導臨床研究を計画している。本研究においては、臨床研究前に、メラノーマ細胞株を用いて BNCT により誘導される免疫誘導因子についての検討を行う。既に、免疫誘導因子である CSF2 の放出が、通常の X 線治療よりも BNCT で高度に誘発されていることを予備実験にて確認している。また、メラノーマ動物モデルを用いた実験にて、その免疫誘導因子の評価を行う。さらにマウスに抗 PD-1 抗体と BNCT との併用療法による効果、BNCT のアプスコパル効果 (遠達効果) についての解明を行う

3. 研究の方法

【実験】メラノーマ細胞株への BNCT による分泌因子の検討 (in vitro)

メラノーマ細胞株 (ヒト及びマウス) 培養中に BPA を取り込ませた後、チューブへ細胞を移し、BNCT を行い、再度培養を行う。細胞生着後 6 時間、24 時間後に細胞上清液を回収し、2D-PAGE/MS (2 次元電気泳動・質量分析 (MS) プロテオミクス解析)、または、かずさ DNA 研究所での委託研究にてマルチオミクス解析を行う。候補となる免疫増強因子に関しては、ELISA にて定量評価する。さらに、同じ細胞株を用いて X 線放射線照射後の免疫誘導因子の比較検討を行う。この in vitro 実験で BNCT による免疫増強因子を明らかにする。

【実験】メラノーママウスモデルによる BNCT と抗 PD-1 抗体治療

メラノーマ細胞 (B16) 右背部の 2 か所へ移植後、4 日目、7 日目に抗 PD-1 抗体を投与する。8 日目に BNCT を 1 か所に照射し、1 か所は遮蔽する (遠隔部位腫瘍)。さらに 10 日目、13 日目に抗 PD-1 抗体を投与し、経時的に 2 か所 (BNCT 照射部と非照射部) の腫瘍体積と、コ

ントロール群、抗 PD-1 抗体群、BNCT 群、抗 PD-1 + BNCT 群で比較検討する。この実験により BNCT による免疫療法増強効果とアプスコパル効果を検証する。同モデルにおいて、照射部位腫瘍内、遠隔部位腫瘍内、脾臓内の組織より細胞障害性 T 細胞 (CTL) の浸潤について CD8+/CD45+ 細胞の割合をコントロール群、抗 PD-1 抗体群、BNCT 群、抗 PD-1 + BNCT 群を比較検討する。

【実験】新規ホウ素薬剤合成とメラノーマ細胞への取り込み機序解明

既存のホウ素薬剤 BPA の腫瘍細胞標的となるアミノ酸輸送体 (LAT-1) とは異なる、新規の腫瘍特異的な取り込み標的となる生理活性物質輸送体 (特許申請中) へホウ素薬剤を結合させた新規ホウ素薬剤の合成を行う。同時に、ヒトメラノーマ細胞株を用いた取込実験を行い、同時に BPA との併用取り込み作用を行う。

【実験】メラノーマ患者の臨床サンプルを用いた免疫因子の検討 (探索的臨床研究)

免疫チェックポイント阻害薬にて治療前・治療中の進行期メラノーマ患者血清を用いて、実験により決定された免疫増強因子に関する評価を行う。本因子が現在のメラノーマ治療における予後判定因子となるかを検討する。免疫療法著効例の免疫因子のプロテオーム解析をして進行メラノーマ患者 (抗 PD-1 抗体使用) での免疫誘導因子の臨床評価を行う。将来の BNCT を用いた複合免疫療法のバイオマーカー候補となるかを評価する。

4. 研究成果

新たなホウ素薬剤の開発

BNCT の成否を分けるのは、ホウ素薬剤をいかにして、効率的に、確実にがん細胞へ取り込ませるかという点が担っている。ペプチドにより構成されるナノ粒子とホウ素薬剤 (BSH) を混合するだけで容易に作成可能な世界初のホウ素薬剤を開発した。この薬剤は、従来のホウ素薬剤 (BSH) では難しかった、がん組織への高い集積性と、がん細胞内部まで到達するという、新しい機能を有している。また、従来薬剤 (BSH) と比較して数十倍高いホウ素濃度の細胞内取り込みになることを確認した。BNCT がん治療に使用可能な新しいホウ素薬剤の候補薬剤へ寄与できることが期待される。

メラノーママウスモデルによる BNCT と抗 PD-1 抗体治療

メラノーマ細胞 (B16-F10) をマウス (C57BL/6) 背部の 2 か所へ移植後、Day4、7 に抗 PD-1 抗体を投与する。Day 8 に BPA を用いた BNCT を照射。1 か所は遮蔽する (遠隔部位腫瘍)。Day10、13 に抗 PD-1 抗体を投与し、経時的に 2 か所の腫瘍体積測定し、コントロール群、抗 PD-1 抗体群、BNCT 群、抗 PD-1 + BNCT 群で比較検討した。このマウス実験により BNCT による免疫療法増強効果を確認し、BNCT のアプスコパル効果を検証する。BNCT 照射部位では BNCT 群、抗 PD-1 + BNCT 群で腫瘍が有意に縮小した。遠隔部位 (非照射部位) では抗 PD-1 抗体 + BNCT 群のみ縮小した。PD-1 抗体単独では腫瘍増殖抑制は認めなかった。BNCT 照射のみでも照射部位では腫瘍縮小効果はある。抗 PD-1 抗体 + BNCT 併用によりアプスコパル効果を証明した。腫瘍組織中の CTL (CD8+ /CD45+細胞) は抗 PD-1 抗体 + BNCT 併用群で照射部位、遠隔部位とも増加した。Effector Memory T 細胞 (CD8+ CD62L- CD44+) も増加を認めた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計12件（うち査読付論文 10件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Nakamura Y, Namikawa K, Kiniwa Y, Kato H, Yamasaki O, Yoshikawa S, Maekawa T, Matsushita S, Takenouchi T, Inozume T, Nakai Y, Fukushima S, Saito S, Otsuka A, Fujimoto N, Isei T, Baba N, Matsuya T, Tanaka R, Kaneko T, Onishi M, Kuwatsuka Y, Nagase K, Onuma T, Nomura M, Umeda Y, Yamazaki N.	4. 巻 178
2. 論文標題 Efficacy comparison between anti-PD-1 antibody monotherapy and anti-PD-1 plus anti-CTLA-4 combination therapy as first-line immunotherapy for advanced acral melanoma: A retrospective, multicenter study of 254 Japanese patients	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Eur J Cancer	6. 最初と最後の頁 78-87
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.ejca.2022.08.030.	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 Tachibana Kota, Goto Keisuke, Kukita Yoji, Honma Keiichiro, Isei Taiki, Sugihara Satoru, Taniguchi Kohei, Yamasaki Osamu	4. 巻 Publish Ahead of Print
2. 論文標題 BRAF Immunoexpression Can Be Intralesionally Heterogeneous but BRAF V600E Mutation Status Is Intralesionally Homogeneous and Interlesionally Concordant in Melanoma	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 The American Journal of Dermatopathology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1097/DAD.0000000000002146	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 Matsuo T, Yamasaki O, Tanaka T, Katsui K, Waki T.	4. 巻 16
2. 論文標題 Proton beam therapy followed by pembrolizumab for giant ocular surface conjunctival malignant melanoma: A case report	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Mol Clin Oncol	6. 最初と最後の頁 12
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3892/mco.2021.2445.	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 Umeda Y, Yoshikawa S, Kiniwa Y, Maekawa T, Yamasaki O, Isei T, Matsushita S, Nomura M, Nakai Y, Fukushima S, Saito S, Takenouchi T, Tanaka R, Kato H, Otsuka A, Matsuya T, Baba N, Nagase K, Inozume T, Onuma T, Kuwatsuka Y, Fujimoto N, Kaneko T, Onishi M, Namikawa K, Yamazaki N, Nakamura Y.	4. 巻 157
2. 論文標題 Real-world efficacy of anti-PD-1 antibody or combined anti-PD-1 plus anti-CTLA-4 antibodies, with or without radiotherapy, in advanced mucosal melanoma patients: A retrospective, multicenter study	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Eur J Cancer	6. 最初と最後の頁 361-372
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ejca.2021.08.034.	査読の有無 無
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 Kawashima S, Inozume T, Kawazu M, Ueno T, Nagasaki J, Tanji E, Honobe A, Ohnuma T, Kawamura T, Umeda Y, Nakamura Y, Kawasaki T, Kiniwa Y, Yamasaki O, Fukushima S, Ikehara Y, Mano H, Suzuki Y, Nishikawa H, Matsue H, Togashi Y.	4. 巻 9
2. 論文標題 TIGIT/CD155 axis mediates resistance to immunotherapy in patients with melanoma with the inflamed tumor microenvironment.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Immunother Cancer.	6. 最初と最後の頁 e003134,
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1136/jitc-2021-003134.	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 Nakamura Y, Namikawa K, Yoshikawa S, et al	4. 巻 6
2. 論文標題 Anti-PD-1 antibody monotherapy versus anti-PD-1 plus anti-CTLA-4 combination therapy as first-line immunotherapy in unresectable or metastatic mucosal melanoma: a retrospective, multicenter study of 329 Japanese cases (JMAC study).	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 ESMO Open.	6. 最初と最後の頁 100325
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.esmoop.2021.100325.	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 Manabe K, Yamasaki O, Nakagawa Y, Miyake T, Udono H, Morizane S.	4. 巻 48
2. 論文標題 Multifunctionality of CD8+ T cells and PD-L1 expression as a biomarker of anti-PD-1 antibody efficacy in advanced melanoma.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Dermatol,	6. 最初と最後の頁 1186-1192
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1346-8138.15904.	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 Michiue H, Kitamatsu M, Fukunaga A, Tsuboi N, Fujimura A, Matsushita H, Igawa K, Kasai T, Kondo N, Matsui H, Furuya S.	4. 巻 330
2. 論文標題 Self-assembling A6K peptide nanotubes as a mercaptoundecahydrododecaborate (BSH) delivery system for boron neutron capture therapy (BNCT).	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Control Release.	6. 最初と最後の頁 788-796.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jconrel.2020.11.001.	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 Yamamoto K, Oka K, Son R, Honda H, Sakae H, Hasegawa K, Horiguchi S, Kato H, Yamasaki O, Otsuka F.	4. 巻 5
2. 論文標題 Acute pancreatitis without abdominal pain induced by administration of nivolumab and ipilimumab	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Mod Rheumatol Case Rep	6. 最初と最後の頁 425-430
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/24725625.2021.1899444.	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 Michiue H, Kitamatsu M, Fukunaga A, Tsuboi N, Fujimura A, Matsushita H, Igawa K, Kasai T, Kondo N, Matsui H, Furuya S.	4. 巻 330
2. 論文標題 Self-assembling A6K peptide nanotubes as a mercaptoundecahydrododecaborate (BSH) delivery system for boron neutron capture therapy (BNCT).	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Control Release	6. 最初と最後の頁 788-796
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jconrel.2020.11.001.	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 Manabe K, Yamasaki O, Nakagawa Y, Miyake T, Udono H, Morizane S.	4. 巻 -
2. 論文標題 Multifunctionality of CD8+ T cells and PD-L1 expression as a biomarker of anti-PD-1 antibody efficacy in advanced melanoma.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Dermatol	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1346-8138.15904.	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 Yamamoto Koichiro, Oka Kosuke, Son Reina, Honda Hiroyuki, Sakae Hiroyuki, Hasegawa Kou, Horiguchi Shigeru, Kato Hironari, Yamasaki Osamu, Otsuka Fumio	4. 巻 -
2. 論文標題 Acute pancreatitis without abdominal pain induced by administration of nivolumab and ipilimumab	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Modern Rheumatology Case Reports	6. 最初と最後の頁 1~6
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/24725625.2021.1899444	査読の有無 無
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2件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 道上宏之
2. 発表標題 ホウ素薬剤開発の現状 ~基礎研究より橋渡し研究へ向けて~
3. 学会等名 第1回量子医療研究会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Manabe S, Yamasaki O, Eikawa S, Kimura Y, Nakagawa Y, Miyake T, Uono H, Morizane S.
2. 発表標題 CD8 T cells multifunctionality and PD-L1 expression as a biomarker of anti-PD-1 antibodies in advanced melanoma.
3. 学会等名 The 45th Annual Meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology (国際学会)
4. 発表年 2020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
研究 分担 者	道上 宏之	岡山大学・中性子医療研究センター・准教授	
	(Michiue Hiroyuki)		
	(20572499)	(15301)	

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