

令和 6 年 5 月 25 日現在

機関番号：32645

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K07072

研究課題名(和文) 不可逆電気穿孔法による免疫賦活効果を応用した新規がん治療法の開発

研究課題名(英文) Development of new cancer therapy using IRE combined with checkpoint blockade

研究代表者

杉本 勝俊 (Sugimoto, Katsutoshi)

東京医科大学・医学部・准教授

研究者番号：20385032

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：今回我々は2つの異なる穿刺局所療法：ラジオ波焼灼療法(RFA)と不可逆電気穿孔法(IRE)の抗腫瘍免疫効果に関して担癌モデルマウスを用いて比較した。RFAとIREの両方とも、主腫瘍を治療後に腫瘍を別の部位に移植しても腫瘍は排除された。抗CD8抗体により腫瘍の増大が見られたことよりCD8+リンパ球が腫瘍の増殖抑制に関与していると考えられた。また、主腫瘍以外に転移があるモデルでは、RFAでは主腫瘍の治療により転移巣の縮小を認めるが、IREでは転移巣の増大を認めた。この現象の背景にはIL-6の関与が示唆された。この腫瘍の増大は免疫チェックポイント阻害薬の投与により抑制された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

2つの異なる穿刺局所療法：ラジオ波焼灼療法(RFA)と不可逆電気穿孔法(IRE)の両方とも長期的な腫瘍免疫を誘導することが分かり、この現象にはCD8+リンパ球が関与していることが示唆された。しかし、IREでは治療を不完全に行うと残存腫瘍が増大する可能性があり、実臨床において注意する必要がある。

研究成果の概要(英文)：We compared the antitumor immune effects of two different local ablation therapies: radiofrequency ablation (RFA) and irreversible electroporation (IRE), using a cancer-bearing mouse model. Both RFA and IRE treatments eliminated tumors when the primary tumor was treated and then transplanted to another site. The observation of tumor growth with the administration of anti-CD8 antibodies suggested that CD8+ lymphocytes were involved in the inhibition of tumor growth. Additionally, in models with metastasis other than the primary tumor, treatment of the primary tumor with RFA resulted in the reduction of metastatic lesions, whereas treatment with IRE led to an increase in metastatic lesions. This phenomenon was suggested to be related to the involvement of IL-6. This tumor growth was suppressed by the administration of immune checkpoint inhibitors.

研究分野：肝臓病学

キーワード：肝細胞癌 穿刺局所療法 ラジオ波焼灼療法 不可逆電気穿孔法 腫瘍免疫

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

近年がん治療において免疫チェックポイント阻害薬が導入され治療成績は格段に向上してきている。しかし、約3割の患者に対しては治療効果が認められず、これらの患者に対して何らかの対策が必要とされている。免疫チェックポイント阻害薬の治療効果には、腫瘍内のリンパ球の多寡が影響すると報告されている。つまり、腫瘍内にリンパ球浸潤が多い“hot tumor”は奏功しやすく、リンパ球浸潤の少ない“cold tumor”は奏功が得られにくい。したがって“cold tumor”をなんとかして“hot tumor”に変える治療戦略が求められている。その方法の一つとして、ラジオ波焼灼療法(RFA)等の穿刺局所治療が期待されている。その機序として、RFAで腫瘍を凝固壊死させることで、腫瘍内に存在する腫瘍抗原が血液中に放出され、それを貪食した免疫担当細胞がリンパ球に対して抗原提示することで、リンパ球に腫瘍への攻撃を強め免疫サイクルを効率的に回していくことが考えられている。現在、穿刺局所治療には熱の力でがんを凝固壊死させるRFAと非熱的にがんをアポトーシスに導く不可逆電気穿孔法(IRE)という手法が存在する。IREの方がRFAと比べ腫瘍内に存在するダメージ関連分子パターン(DAMPs)を血液中に放出し、より強く免疫応答を惹起するとの報告がある。本研究の目的はRFAとIREの免疫賦活効果を担がんモデルマウスを用いて比較し、今後の臨床応用上での基礎的な知見を得ることである。

### 2. 研究の目的

本研究の目的はRFAとIREの免疫賦活効果を担がんモデルマウスを用いて比較し、今後の臨床応用上での基礎的な知見を得ることである。

### 3. 研究の方法

#### 実験1 (RFAとIREの抗腫瘍免疫効果の比較)

実験デザインを以下の図に示す。マウス由来の肝細胞癌であるHep55をマウスの右腰の皮内に移植し腫瘍を形成させる(primary tumor)。その後腫瘍を以下の6つに群分けした: 1. No treatment, 2. No treatment + anti-CD8 antibody, 3. RFA alone, 4. RFA + anti-CD8 antibody, 5. IRE alone, and 6. IRE + anti-CD8 antibody。腫瘍細胞移植7日後にprimary tumorに対してRFAないしIREを行い腫瘍を根絶させ、腫瘍細胞移植35日後にマウスの左腰の皮内に再移植し(secondary tumor)腫瘍の増大を各群で比較した。

#### 実験2 (RFAとIREの免疫チェックポイント阻害薬との併用効果)

実験デザインを以下の図に示す。マウス由来の肝細胞癌であるHep55をマウスの右腰の皮内に移植し腫瘍を形成させる(primary tumor)。その後腫瘍を以下の6つに群分けした: 1. No treatment, 2. Anti-PD-1 antibody alone, 3. RFA alone, 4. RFA + anti-PD-1 antibody, 5. IRE alone, and 6. IRE + anti-PD-1 antibody。腫瘍細胞移植6日後に、マウスの左腰の皮内に再移植し(secondary tumor)腫瘍細胞移植7日後にprimary tumorに対してRFAないしIREを行い腫瘍を根絶させた。その後、secondary tumorの増大を各群で比較した。

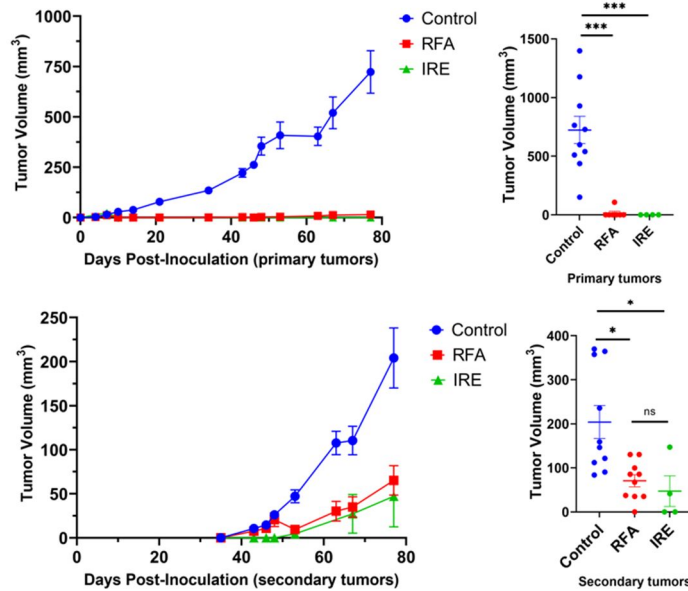
#### 実験3 (RFAとIREの経時的なサイトカイン・ケモカインの変化)

腫瘍に対してRFAとIREを行い、経時的に採血し(before ablation, 2 hours after ablation, 1 day after ablation, and 4 days after ablation)以下のサイトカイン・ケモ

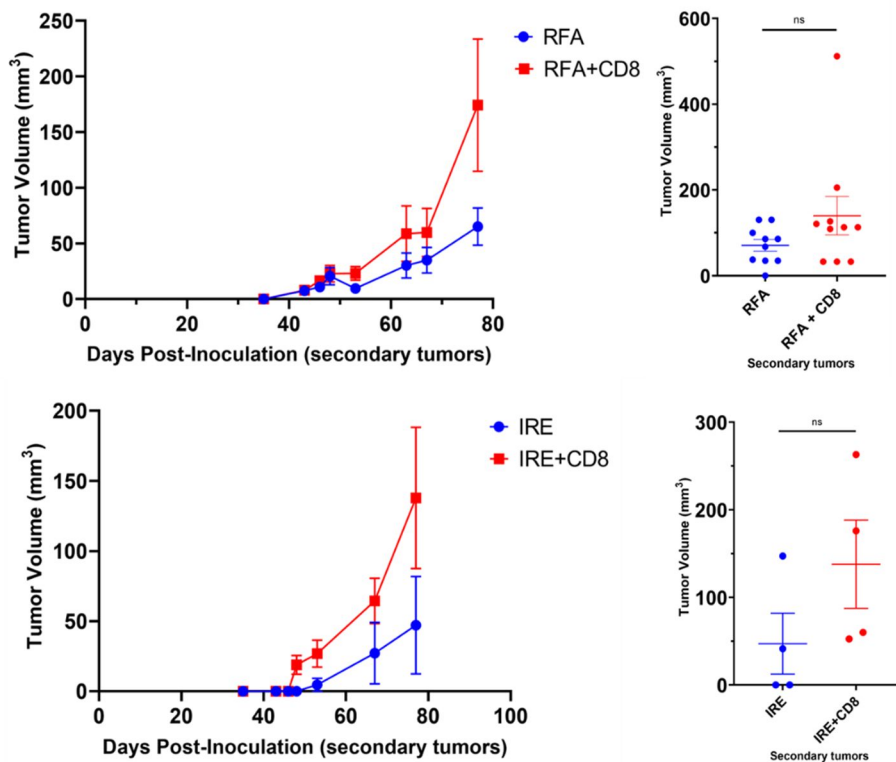
カインを測定した：IL-3, IL-1 , TNF- , LL-9, IFN- , IL-2, IL-13, IL-6, IL-4, MCP-1, IL-5, IL-1 , G-CSF, RANTES, IL-10, KC, IL-17A, GM-CSF, Eotaxin, MIP-1 , MIP-1 , IL-12p70, MIF

#### 4 . 研究成果

1 . RFA と IRE の両方とも良好に primary tumor の成長を抑制し、secondary tumor の成長も抑制した：実験 1

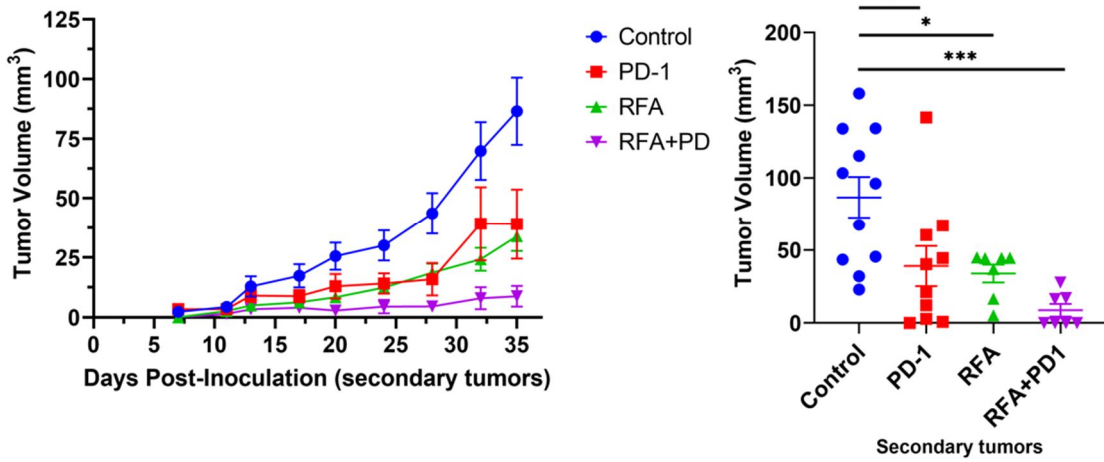


2 . 抗 CD8 抗体により CD8+リンパ球を抑制すると secondary tumor の成長は促進した：実験 1  
このことより、RFA と IRE の両者とも CD8+リンパ球を誘導し腫瘍増大を抑制していると考えられた。

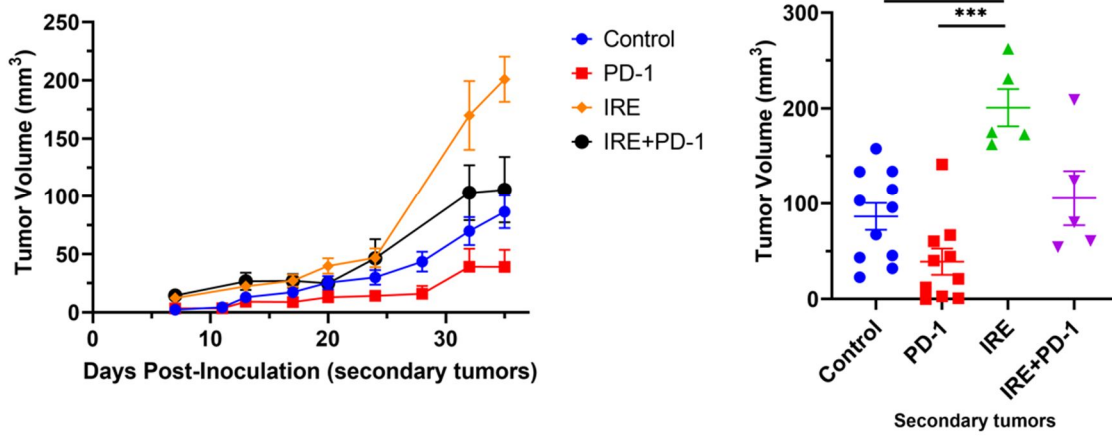


3. RFAは免疫チェックポイント阻害薬の治療効果を増幅させた：実験2

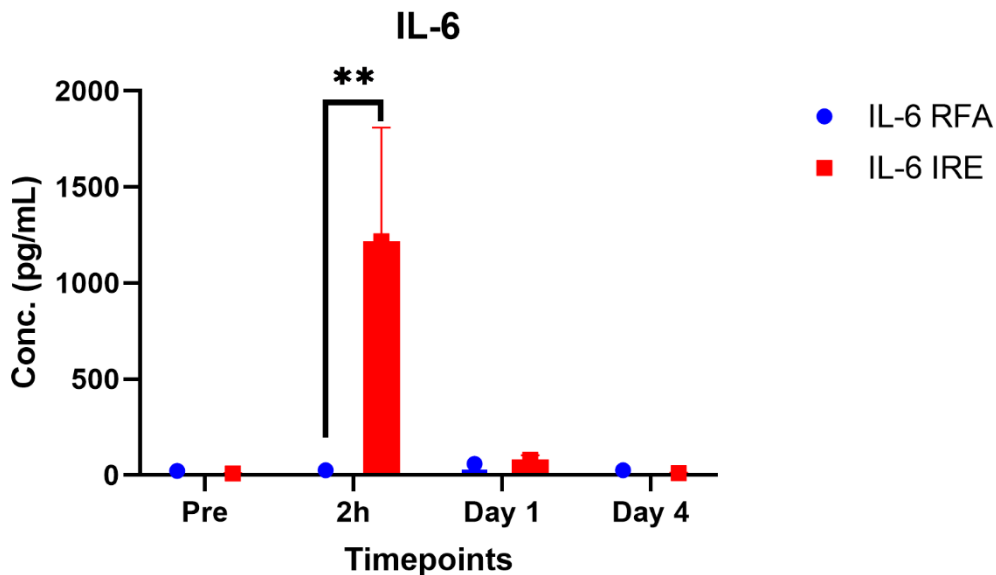
RFA+PD-1群は、PD-1単独群およびRFA単独群と比べより腫瘍の成長抑制を呈した。



4. IREはsecondary tumorの成長を促進したが、免疫チェックポイント阻害薬により成長は抑制された：実験2



5. サイトカイン・ケモカインの経時的変化



RFAとIREにおいて最も顕著に違いがあったのはIL-6であり、治療後2時間においてIREの方がRFAよりも有意に上昇していた。しかしDay1では低下し、RFAとの差は認めなかった。

## 5. まとめ

RFA と IRE の両者とも抗腫瘍免疫を誘導し、腫瘍の増殖を抑制した。抗 CD 8 抗体により腫瘍が増大傾向を呈したことより、CD8+リンパ球がこのことに関与していると考えられた。一方、治療前に腫瘍を移植した場合、RFA ではその腫瘍は抑制されるが IRE では増大するといった相反する結果が得られた。この現象の原因として IRE 後の IL-6 の顕著な上昇が原因と考えられた。

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 1件）

1. 著者名 Wada T, Sugimoto K, Sakamaki K, Takahashi H, Kakegawa T, Tomita Y, Abe M, Yoshimasu Y, Takeuchi H, Itoi T.	4. 巻 15
2. 論文標題 Comparisons of Radiofrequency Ablation, Microwave Ablation, and Irreversible Electroporation by Using Propensity Score Analysis for Early Stage Hepatocellular Carcinoma.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Cancers	6. 最初と最後の頁 732
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/cancers15030732.	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 Sugimoto K, Lee DH, Lee JY, Yu SJ, Moriyasu F, Sakamaki K, Oshiro H, Takahashi H, Kakegawa T, Tomita Y, Abe M, Yoshimasu Y, Takeuchi H, Choi BI, Itoi T.	4. 巻 30
2. 論文標題 Multiparametric US for Identifying Patients with High-Risk NASH: A Derivation and Validation Study.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Radiology	6. 最初と最後の頁 625-634
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1148/radiol.2021210046.	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 Sugimoto K, Abe M, Oshiro H, Takahashi H, Kakegawa T, Tomita Y, Yoshimasu Y, Takeuchi H, Itoi T.	4. 巻 48
2. 論文標題 The most appropriate region-of-interest position for attenuation coefficient measurement in the evaluation of liver steatosis.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Med Ultrason (2001).	6. 最初と最後の頁 615-621
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s10396-021-01124-z.	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 Tago T, Katsumata K, Udou R, Kasahara K, Mazaki J, Kuwabara H, Enomoto M, Ishizaki T, Nagakawa Y, Sugimoto K, Itoi T, Tsuchida A.	4. 巻 41
2. 論文標題 Significance of Radiofrequency Ablation for Unresectable Colorectal Cancer With Liver Metastases.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Anticancer Res.	6. 最初と最後の頁 5539-5547
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.21873/anticancerres.15367.	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2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 和田卓也、杉本勝俊、糸井隆夫
2. 発表標題 肝細胞癌に対する異なる3種類の穿刺局所療法（RFA, MWA, IRE）の有効性と安全性の評価
3. 学会等名 肝臓学会東部会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 征矢 良子、杉本 勝俊、長岡 孝治、木谷 嘉孝、土田 明彦、糸井 隆夫、垣見 和宏
2. 発表標題 Irreversible electroporation (IRE) が腫瘍免疫に及ぼす影響に関する検討
3. 学会等名 第19回日本免疫治療学会学術集会
4. 発表年 2022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	垣見 和宏	東京大学・医学部附属病院・特任教授	
	(Kakimi Kazuhiro)		
	(80273358)	(12601)	

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