

令和 5 年 5 月 11 日現在

機関番号：14501

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2021～2022

課題番号：21K20990

研究課題名（和文）前立腺癌に対する超音波照射と免疫チェックポイント阻害薬の併用治療の検討

研究課題名（英文）Combination therapy of ultrasound irradiation and immune-check point inhibitors on prostate cancer

研究代表者

前田 光毅（Maeda, Koki）

神戸大学・医学部附属病院・医員

研究者番号：20899843

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,300,000円

研究成果の概要（和文）：高強度超音波照射による前立腺癌細胞への抗腫瘍効果、ならびに動物実験での免疫チェックポイント阻害剤との併用による治療効果の相乗効果について検討を行ってきた。細胞実験では超音波照射による治療効果が、照射後短時間で発現すること、また、細胞膜の一過性の破綻によりアポトーシス誘導されることが主なメカニズムであることが示された。動物実験では、超音波照射尾と免疫チェックポイント阻害剤の併用により、抗腫瘍効果の増強が確認できた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

前立腺癌は男性の悪性疾患の中で最も高い罹患率となっている。手術、放射線、ホルモン治療や抗がん剤などの優れた治療方法がある一方で、それぞれの治療による合併症がある。また、前立腺癌は免疫チェックポイント阻害剤による治療効果が限定的であることも知られている。今回の研究により、超音波照射が前立腺癌の局所治療の選択肢となる可能性を示せただけでなく、免疫チェックポイント阻害剤と超音波照射の併用により全身治療の選択肢となる可能性も示すことが出来た。

研究成果の概要（英文）：We have investigated the antitumor effects of high-intensity ultrasound irradiation on prostate cancer cells, as well as the synergistic effects of the treatment in combination with immune checkpoint inhibitors in animal experiments. In cell experiments, it was shown that the therapeutic effect of ultrasound irradiation is manifested within a short time after irradiation, and that the main mechanism is the induction of apoptosis by transient disruption of cell membranes. In animal experiments, the combination of ultrasound irradiation tails and immune checkpoint inhibitors was found to enhance the anti-tumor effect.

研究分野：泌尿器科

キーワード：超音波照射 免疫チェックポイント阻害剤 前立腺癌

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

研究課題名：前立腺癌に対する超音波照射と免疫チェックポイント阻害薬の併用治療の検討

超音波は主に診断に用いられてきたが、出力を最適化することで治療にも用いられることが知られている。我々は高強度の超音波照射を行うことで、細胞の膜破壊による抗腫瘍効果を示せる可能性があることを細胞実験で示してきた。

また、前立腺癌は現在では男性で最も罹患率の高い悪性疾患となり、根治治療による合併症（手術では尿失禁、放射線では晩期の出血など）が問題となっている。また、ホルモン治療に抵抗性を示すようになった去勢抵抗性前立腺癌では、新規薬剤や抗がん剤が出現しているが、最終的には治療抵抗性を獲得してしまうことが問題である。さらに、前立腺癌は免疫学的に「cold」な腫瘍であり、免疫チェックポイント阻害剤の有効性が非常に限られている。

2. 研究の目的

今回の申請研究では、超音波照射による前立腺癌の治療効果の検討、ならびに超音波照射と免疫チェックポイント阻害剤を併用することで相乗的な治療効果が得られるかを検討することが目的である。

3. 研究の方法

細胞実験

マウス前立腺癌細胞株：TRAMP-C2 を用いて超音波照射による抗腫瘍効果を検討した。

・細胞増殖実験

超音波照射により、コントロール群と比較して、1Hz・10Hz で治療効果を認めた。

・フローサイトメトリー：アポトーシスの評価

超音波照射により、コントロール群と比較してアポトーシス細胞の増加を認めた。

ヒト前立腺癌細胞株のうち、ホルモン治療感受性の LNCaP 細胞、ホルモン治療抵抗性の PC-3 を用いて、超音波照射による抗腫瘍効果を検討した。

・細胞増殖実験

超音波照射により、照射後 3 時間という短時間で増殖抑制効果を認めた。

・フローサイトメトリー

超音波照射により、照射直後でも後期アポトーシス細胞の増加を認めたが、ネクローシスによる細胞死はほとんど起こっていなかった。アポトーシス阻害剤を用いても同様の結果であり、超音波照射による抗腫瘍効果はアポトーシスが主体であることが示された。

・LDH アッセイ

超音波照射により細胞内容物である LDH が細胞外に放出されていることが示された。

フローサイトメトリー・LDH アッセイの結果から、超音波照射により細胞膜に微小な小孔が形成されることで、細胞内容物が細胞外に放出されるが、小孔はネクローシスに至るほどの穴にはならず、膜の恒常性により塞がってしまうこと、そして超音波照射によりアポトーシス誘導効果が起こることが、超音波照射による抗腫瘍効果のメカニズムと考えられた。

動物実験

・ヒト前立腺癌細胞株を皮下移植したヌードマウスでの実験

上述した LNCaP・PC-3 細胞をそれぞれ皮下移植したヌードマウスに、超音波照射を行うことで抗腫瘍効果を認めた。また照射部位には皮膚障害などは認めなかった。

・マウス前立腺癌細胞株を皮下移植したマウスでの実験

ヌードマウスでは免疫系の評価が困難なため、マウス前立腺癌細胞株での実験を行った。腫瘍体積はコントロール群と比較して優位に小さく、増殖抑制効果を示した。

・超音波照射と免疫チェックポイント阻害剤併用を行った、マウスでの実験

PD-1 阻害剤を併用することで、単独の治療よりも抗腫瘍効果の相乗効果を認めた。

・超音波照射後の抗腫瘍効果

超音波照射単独でも、治療後約 4 週間でもコントロールと比較して腫瘍の増大を抑制し、サイ

ズの増大傾向も認めなかった。

4 . 研究成果

上記の実験により、超音波照射による抗腫瘍効果、ならびに免疫チェックポイント阻害剤との併用による治療効果の相乗効果について検討を行ってきた。超音波照射による治療効果は、照射後短時間で発現し、細胞膜の一過性の破綻によりアポトーシス誘導されることが主なメカニズムだと示された。免疫チェックポイント阻害剤との併用により、治療効果の相乗効果も示された。今回の研究成果は、学会発表ならびに論文化を行っている。

学会発表

第 37 回日韓泌尿器科会議

The anti-tumor effect of ultrasound irradiation for the prostate cancer

Koki Maeda, Koichi Kitagawa, Fuuka Hayashi, Aya Hiraoka, Noriaki Maeshige, Yong-Ming Yang, Takeshi Kondo, Katsumi Shigemura, Masato Fujisawa

2022 American Urological Association

Combined Treatment with ultrasound and immune checkpoint inhibitors for prostate cancer

Fuuka Hayashi, Katsumi Shigemura, Koki Maeda, Noriaki Maeshige, Aya Hiraoka, Tooru Ooya, Yong-Ming Yang, and Masato Fujisawa

論文発表

Combined Treatment with Ultrasound and Immune Checkpoint Inhibitors for Prostate Cancer. J Clin Med. 2022 Apr.

Hayashi F, Shigemura K, Maeda K, Hiraoka A, Maeshige N, Ooya T, Sung SY, Yang YM, Fujisawa M.

Proapoptotic effect of non-thermal pulsed ultrasound on prostate cancer cells in a nude mouse model. The Prostate. in press.

Koki Maeda, Katsumi Shigemura, Fuuka Hayashi, Yuki Kan, Aya Hiraoka, Atomu Yamaguchi, Minoru Ueda, Yong-Ming Yang, Noriaki Maeshige, Tooru Ooya, Yuzo Nakano, Masato Fujisawa

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2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 Fuuka Hayashi, Katsumi Shigemura, Koki Maeda, Aya Hiraoka, Noriaki Maeshige, Tooru Ooya, Shian-Ying Sung, Yong-Ming Yang, Masato Fujisawa	4. 巻 11
2. 論文標題 Combined Treatment with Ultrasound and Immune Checkpoint Inhibitors for Prostate Cancer	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Medicine	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） 10.3390/jcm11092448	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 該当する

1. 著者名 Koki Maeda, Katsumi Shigemura, Fuuka Hayashi, Yuki Kan, Aya Hiraoka, Atomu Yamaguchi, Minori Ueda, Yong-Ming Yang, Noriaki Maeshige, Tooru Ooya, Yuzo Nakano, Masato Fujisawa	4. 巻 in-press
2. 論文標題 Proapoptotic effect of non-thermal pulsed ultrasound on prostate cancer cells in a nude mouse model	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 The Prostate	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） 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2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Fuuka Hayashi, Katsumi Shigemura, Koki Maeda, Noriaki Maeshige, Aya Hiraoka, Tooru Ooya, Yong-Ming Yang, and Masato Fujisawa
2. 発表標題 Combined Treatment with ultrasound and immune checkpoint inhibitors for prostate cancer
3. 学会等名 American Urological Association. 2022. (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Koki Maeda, Katsumi Shigemura, Koichi Kitagawa, Fuuka Hayashi, Aya Hiraoka, Atomu Yagamuchi, Yong-Ming Yang, Noriaki Maeshige, Takeshi Kondo, Yuzo Nakano, Masato Fujisawa
2. 発表標題 The anti-tumor effect of ultrasound irradiation for the prostate cancer
3. 学会等名 The 37th KOREA-JAPAN Urological Congress (国際学会)
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
---------	---------