

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 2 日現在

機関番号：21601

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24591833

研究課題名(和文)放射線による抗腫瘍免疫誘導の解明と、その増強に関する基礎的・臨床的研究

研究課題名(英文)Basic and clinical research about radiation-induced anti-tumor immunity

研究代表者

鈴木 義行 (SUZUKI, YOSHIYUKI)

福島県立医科大学・医学部・教授

研究者番号：60334116

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：放射線治療による腫瘍免疫の誘導・活性化について基礎・トランスレーショナル的に検討し、1)食道癌患者において、化学放射線治療により腫瘍特異的免疫が活性化すること、2)この放射線による免疫の活性化には、照射後に腫瘍細胞から放出されるストレスタンパク質・HMGB1が関与していると推測されること、3)温熱化学放射線療法により、腫瘍のHLA class I発現が増強すること、4)マウスモデルにて、抗CTLA4抗体の併用にて局所治療効果が増強すること、等を報告した。

研究成果の概要(英文)：I investigated about radiation-induced anti-tumor immunity in vitro and in vivo and reported about 1) The tumor antigen-specific T-cell response was induced by chemoradiotherapy in patients with esophageal squamous cell cancer, 2) Stress protein, HMGB1, released after irradiation played important role in the activation of tumor specific anti-tumor immunity, 3) In patients with rectal cancer, hyperthermo-chemo-radiotherapy enhanced the expression of HLA class-I in the tumor cells, and 4) In a mouse model, the immune response plays an important role in local and systemic therapeutic efficacies of radiotherapy, which can be augmented by immune checkpoint blockade (antiCTLA4 antibody etc.).

研究分野：放射線腫瘍学

キーワード：放射線治療 腫瘍免疫 HLA HMGB1 免疫療法

1. 研究開始当初の背景

近年、放射線が、直接的な殺細胞効果だけでなく宿主の免疫システムを活性化することにより、全身性に抗腫瘍効果を発揮する可能性が指摘されている。実際に、ごく稀ではあるものの、放射線治療により（放射線が照射されていない）離れた部位にある転移巣も同時に縮小した事例が報告されている。これは、局所の放射線照射により全身性の抗腫瘍免疫が活性化されたため、と推測されているがそのメカニズムについては未だ明らかとはされていない。本研究の研究代表者（鈴木）は放射線治療による抗腫瘍免疫誘導に注目し、これまでに、1)リンパ腫移植マウスは放射線治療後に腫瘍特異的な抗腫瘍免疫を獲得し、腫瘍の再移植を拒絶すること、2)同じリンパ腫を移植した免疫不全マウスでは、放射線治療により局所は制御されるものの全身転移により死亡すること、を明らかにした。これらの結果は、放射線治療が、直接的な殺細胞効果のみならず、それにより誘導される抗腫瘍免疫が腫瘍の制御に重要な役割を果していることを示している。

また、実際に放射線治療が行われる患者体内における抗腫瘍免疫を検討するために、放射線治療開始後の腫瘍特異的 CTL 誘導の検討をしており、既に数例で CTL の活性化を検出している。抗腫瘍免疫の誘導が放射線治療の効果に影響している可能性は以前より想像されていたが、ここ数年の細胞生物学的検討、マウスモデルでの検討によりこの仮説に科学的根拠が与えられつつある。このことが、ヒトがんの臨床でも予後へ寄与することを検討し、新しい治療に応用するためには、ヒトがんにおいて抗腫瘍免疫が誘導されることを立証し、その効果的な増強法を確立する必要がある。

2. 研究の目的

本研究は、放射線治療による抗腫瘍免疫の誘

導に着目し、1)実際に放射線治療が行われる患者体内において、放射線治療開始後に抗腫瘍免疫、特に腫瘍特異的な細胞障害性 T 細胞 (CTL) が誘導されること、2)マウスモデル、における、放射線治療による CTL 誘導能増強のメカニズムの解明、を目的とする。具体的には、本施設で放射線治療されている食道がん・などの患者の血液から分離したリンパ球を治療前後で比較することにより腫瘍特異的 CTL が誘導されていることを確かめる。また、3)生検により得られた腫瘍組織を免疫染色することにより、放射線治療前後でその所見が変化するかどうかを検討する。検討項目は、細胞死による HMGB1 などの “danger signal” 発現、それによる HLA class I の発現、などで、臨床検体を用いてヒトがんでの抗腫瘍免疫の誘導について検討する。

3. 研究の方法

1) 臨床検体（血液）における HLA 拘束性腫瘍特異的 CTL の検出

腫瘍特異的な HLA 拘束性抗原が複数知られており、そのような抗原に特異的な CTL について検討する。患者の頬粘膜を少量採取し、HLA を決定する。治療前・中・後に採血を行いリンパ球を分離する。分離したリンパ球から、既知の HLA 拘束性抗原に反応する CTL を検出するために ELIspot assay を行い、腫瘍特異的な CTL 活性を評価する。また、同時に血清中の HMGB1 についても測定する。

2) マウスモデル、における、放射線治療による CTL 誘導能増強のメカニズムの解明

同系腫瘍移植マウスモデルにて、アブスコパル効果モデルの確認と抗 CTLA4 抗体・抗 CD8 抗体などによる免疫能の修飾が、生存率や放射線の局所効果に影響を及ぼすかについて検討する。

3) 臨床検体（生検組織）における腫瘍目ね木活性化

抗腫瘍免疫が殺細胞効果を示すには、腫瘍

細胞での HLA Class I の発現が必要と考えられている。術前照射が施行された直腸がん患者症例において、治療前後の HLA Class I 発現を特異抗体を用いた免疫組織化学的手法による免疫染色により確認する。また、食道がん患者において腫瘍の HMGB1 発現についても免疫組織化学的に検討する。

4 . 研究成果

化学放射線療法が施行された食道がん患者のうち、HLA が A2 もしくは A24 の患者から臨床検体（血液）を採取して研究を行い、そのうち約 40% の患者において、癌精巢抗原特異的細胞障害性 T リンパ球が治療中～治療後に有意に増加すること、血清中の HMGB1 濃度が上昇すること、が確認された。更には、同じく食道がん患者にて、腫瘍組織（術前および手術時のもの）を用いて研究を行い、化学放射線療法にて有意に首相組織内の HMGB1 の増加が認められ、また、予後と有意に相関することが認められた。

C57/BL/6 マウスに EL4 腫瘍細胞を移植した場合にアプスコパル効果を確認できた。また、C57/BL/6 マウスに Lewis Lung Ca を移植したモデルにて、抗 CTLA4 抗体の併用にて局所治療効果が増強すること、等が確認された。

放射線治療前後の HLA Class I 発現の変化については、直腸がん組織を用いて解析したところ、治療前は 1 例を除き、HLA Class I 発現がほとんど認められなかった（G0 or G1）が、治療後の組織では有意な発現増強が認められた。また、食道がん患者では、HMGB1 発現が強い患者群で予後が有意に良好であった。

これらの成果は、放射線治療によって抗原特異的な抗腫瘍免疫が活性化されたことを証明したものであり、放射線治療と免疫療法の併用療法の可能性を示唆するものである。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 19 件)

1) Inoue HK, Sato H, **Suzuki Y**, Saitoh JI, Noda SE, Seto KI, Torikai K, Sakurai H, Nakano T. **Optimal hypofractionated conformal radiotherapy for large brain metastases in patients with high risk factors.**

Radiat Oncol. 2014;9(1):231. **査読有**

Mimura K, Kua LF, Shiraishi K, Kee Siang L, Shabbir A, Komachi M, **Suzuki Y**, Nakano T, Yong WP, So J, Kono K. **Inhibition of MAPK pathway can induce upregulation of HLA-A without PD-L1- upregulation in contrast to IFN- γ treatment.**

Cancer Sci. 2014;105(10):1236-44. **査読有**

Kudo S, **Suzuki Y**, Noda SE, Mizui T, Shirai K, Okamoto M, Kaminuma T, Yoshida Y, Shirao T, Nakano T. **Comparison of the radiosensitivity of neurons and glial cells derived from the same rat brain**

Exp Ther Med, 2014;8(3):754-758. **査読有**

Inoue HK, Sato H, **Suzuki Y**, Saitoh JI, Noda SE, Seto KI, Torikai K, Nakano K. **Dose-volume prediction of radiationrelated complications after hypofractionated conformal radiotherapy for brain metastases in critical areas.**

Cureus 6(7): e189, 2014. **査読有**

Sato H, **Suzuki Y**, Ide M, Katoh T, Noda SE, Ando K, Oike T, Yoshimoto Y, Okonogi N, Mimura K, Asao T, Kuwano H, Nakano T. **HLA class I expression and its alteration by preoperative hyperthermo-chemoradiotherapy in patients with rectal cancer.**

PLoS One. 2014;9(9):e108122. **査読有**

Yoshimoto Y, **Suzuki Y**, Mimura K, Ando K, Oike T, Sato H, Okonogi N, Maruyama T, Izawa

S, Noda SE, Fujii H, Kono K, Nakano T. **Radiotherapy-induced anti-tumor immunity contributes to the therapeutic efficacy of irradiation and can be augmented by ctla-4 blockade in a mouse model.**

PLoS One. 2014;9(3):e92572. **査読有**

Okonogi N, Nakamura K, **Suzuki Y**, Suto N, Suzue K, Kaminuma T, Nakano T, Hirai H. **Cranial irradiation induces bone marrow-derived microglia in adult mouse brain tissue.**

J Radiat Res. 2014;55(4):713-9. **査読有**

Mimura K, Kamiya T, Shiraishi K, Kua LF, Shabbir A, So J, Yong WP, **Suzuki Y**, Yoshimoto Y, Nakano T, Fujii H, Campana D, Kono K. **Therapeutic potential of highly cytotoxic natural killer cells for gastric cancer.**

Int J Cancer. 2014;135(6):1390-8. **査読有**

Murata K, Noda SE, Oike T, Takahashi A, Yoshida Y, **Suzuki Y**, Ohno T, Funayama T, Kobayashi Y, Takahashi T, Nakano T. **Enhancement of cell motility by carbon ion irradiation via the Rho signaling pathway and its inhibition by a ROCK inhibitor, Y-27632, in lung adenocarcinoma A549 cells.**

J Radiat Res, 2014;55(4):658-64. **査読有**

Inoue HK, Sato H, Seto KI, Torikai K, **Suzuki Y**, Saitoh JI, Noda SE, Nakano T. **Five-fraction CyberKnife radiotherapy for large brain metastases in critical areas: impact on the surrounding brain volumes circumscribed with a single dose equivalent of 14 Gy (V14) to avoid radiation necrosis,**

J Radiat Res, 2014;55(2):334-42. **査読有**

Okonogi N, Saitoh J, **Suzuki Y**, Noda SE, Ohno T, Oike T, Ohkubo Y, Ando K, Sato H, Nakano T. **Changes in Bone Mineral Density in Uterine Cervical Cancer Patients after Radiation Therapy,**

IJROBP, 87, 968-74, 2013. **査読有**

Oike T, **Suzuki Y**, Sugawara K, Shirai K, Noda SE, Tamaki T, Nagaishi M, Yokoo H, Nakazato Y, Nakano T. **Radiotherapy plus Concomitant Adjuvant Temozolomide for Glioblastoma: Japanese Mono-Institutional Results,**

PLoS One, 8, e78943, 2013. **査読有**

Inoue HK, Seto KI, Nozaki A, Torikai K, **Suzuki Y**, Saitoh JI, Noda SE, Nakano T. **Three-fraction CyberKnife radiotherapy for brain metastases in critical areas,**

J Radiat Res, 54, 727-735, 2013. **査読有**

Shirai K, Mizui T, **Suzuki Y**, Okamoto M, Hanamura K, Yoshida Y, Hino M, Noda SE, Al-Jahdari W, Chakravarti A, Shirao T, Nakano T. **X-Irradiation Changes Dendritic Spine Morphology and Density through Reduction of Cytoskeletal Proteins in Mature Neurons,**

Radiat Res, 179, 630-636, 2013. **査読有**

Subedi KS, Takahashi T, Yamano T, Saitoh JI, Nishimura K, **Suzuki Y**, Ohno T, Nakano T. **Usefulness of double dose contrast-enhanced magnetic resonance imaging for clear delineation of gross tumor volume in stereotactic radiotherapy treatment planning of metastatic brain tumors**

J Radiat Res, 54, 135-139, 2013. **査読有**

Suzuki Y, Yamaguchi M, Odaka H, Shimada H, Yoshida Y, Torikai K, Satoh T, Arakawa K, Kawachi N, Watanabe S, Takeda S, Ishikawa SN,

Aono H, Watanabe S, Takahashi T, Nakano T,
**Three-Dimensional and Multi-Energy γ -ray
Simultaneous Imaging Using a Si/CdTe
Compton Camera,**

Radiology, 267, 941-947, 2013. **査読有**

Yoshida Y, Suzuki Y, Al-Jahdari WS, Hamada N,
Funayama T, Shirai K, Katoh H, Sakashita T,
Kobayashi Y, Nakano T, **Evaluation of the
Relative Biological Effectiveness using Rat
Organotypic Slice Culture System on
Cerebellum,**

J Radiat Res, 53, 87-92, 2012. **査読有**

Oike T, Suzuki Y, Al-Jahdari W, Mobaraki A,
Saitoh JI, Torikai K, Shirai K, Nakano T,
**Suppression of HIF-1 and Radiation
Resistance in the Acute Hypoxic Condition,**

Exp Ther Med, 3, 141-145, 2012. **査読有**

Suzuki Y, Mimura K, Yoshimoto Y, Watanabe
M, Ohkubo Y, Izawa S, Murata K, Fujii H,
Nakano T, Kono K, **Immunogenic tumor cell
death induced by chemoradiotherapy in
patients with esophageal squamous cell
carcinoma,**

Cancer Res, 72, 3967-3976, 2012. **査読有**

[学会発表](計 16件)

**Acute Toxicity of Carbon-ion Radiotherapy
for Localized Prostate Cancer**

Suzuki Y, Katoh H, Ishikawa H, et al.

22nd International Conference on the
Application of Accelerators in Research and
Industry. Aug.5-10,2012. Renaissance
Worthington Hotel, Fort Worth, TX, USA

Heavy-ion beam therapy

Suzuki Y

Sep.5,2012. National University of Singapore,

Singapore, SINGAPORE

Heavy-ion beam therapy

Suzuki Y

The 3rd meeting of International Society for
Radiation Neurobiology, Jan.25-26,2013.
Bankoku Shinryokan, Nago, JAPAN

**Radiation-induced anti-tumor immunity and
it's clinical role**

Suzuki Y

The 2nd International Symposium of Gunma
University Program for Leading Graduate
Schools, Jan24,2014, Maebashi Terrsa, Gunma

**Carbon-ion beam and X-ray irradiation
increase a release of an immune mediator
protein high mobility group box 1 (HMGB1)
in various human cancer cell lines**

Suzuki Y, Yoshimoto Y, Oike T, et al.

American Society of Therapeutic Radiology and
Oncology's 56th Annual Meeting,
Sep.14-17,2014. Moscone Center, San
Francisco, CA, USA.

**重粒子線治療：脳腫瘍・頭蓋底腫瘍に対す
る現状と今後の展望**

鈴木義行

2012年5月20日 東京女子医科大学病院 ガ
ンマナイフ治療 6000 症例記念講演会

**放射線による抗腫瘍免疫誘導-免疫放射線
療法の可能性-**

鈴木義行

2013年(平成25年)2月9日 第15回癌治療増
感研究シンポジウム

**食道扁平上皮癌患者における、化学放射線
療法による抗原特異的免疫反応誘導**

鈴木義行、三村耕作、吉本由哉、藤井秀樹、

河野浩二、中野隆史

2013年6月27-28日 第22回日本癌病態治療研究会 東京・ホテル日航

重粒子線の生物学

鈴木義行

2013年10月12日～14日 第49回日本医学放射線学会秋季臨床大会 名古屋国際会議場

放射線による抗腫瘍免疫誘導-免疫放射線療法の可能性-

鈴木義行

2013年10月24-26日 第51回日本癌治療学会学術集会

放射線治療と抗腫瘍免疫 ～基礎研究から臨床試験、そして先進医療へ～

鈴木義行

2014年4月19日 第50回群馬放射線腫瘍研究会

神経膠芽腫に対するtemozolomideを用いた化学放射線治療の臨床成績と次の一手

鈴木義行、野田真永、田巻倫明、尾池貴洋、中野隆史

2014年7月11-12日 第43回放射線による制癌シンポジウム

放射線治療の高度化・個別化のためのトランスレーショナル・リサーチ

鈴木義行

2014年12月11-13日 日本放射線腫瘍学会第27回大会 横浜・パシフィコ横浜

「放射線治療による抗腫瘍免疫誘導と免疫放射線療法の可能性」

鈴木義行

2015年1月21日 第542回S.T.R. Medical Conference 福島県郡山市・総合南東北病

院

放射線治療における腫瘍免疫の重要性

鈴木義行

2015年2月6日 第30回福島県臨床腫瘍病態研究会 福島県郡山市・ホテルハマツ

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕
出願状況(計 0件)

取得状況(計 0件)

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

鈴木 義行 (SUZUKI YOSHIYUKI)
福島県立医科大学・医学部・教授
研究者番号：60334116

(2) 研究分担者

(3) 連携研究者