

博士課程用 (乙)

(論文博士) (様式 4)

学位論文の内容の要旨

(吉本 由哉) 印

主論文

Radiotherapy-induced anti-tumor immunity contributes to the therapeutic efficacy of irradiation and can be augmented by CTLA-4 blockade in a mouse model.

(放射線治療が惹起する抗腫瘍免疫は治療効果に寄与しCTLA-4阻害により増強される)

副論文

Carbon-ion beams induce production of an immune mediator protein, high mobility group box 1, at levels comparable with X-ray irradiation.

(炭素線照射によりX線照射と同レベルで免疫調節タンパクHMGB1が誘導される)

主論文の要旨 (主論文と副論文で2,000字程度、A4判)

抗腫瘍免疫のメカニズムの解明が進み、抗癌剤や放射線など、免疫抑制的な作用を持つと考えられていた治療法が、むしろ免疫促進的に働く場合のあることが明らかになりつつある。放射線治療により抗腫瘍免疫が誘導されること、その免疫の治療効果への寄与を証明するために、動物の放射線治療モデルを構築し、検討した。

C57BL/6マウスを用いて、同系のEL4リンパ腫細胞を大腿皮下に移植した。EL4は増殖し、全身転移することでマウスは死に至る。局所に放射線治療を行うと、EL4細胞の増殖は抑制されマウスは生存する。この生存したマウスにEL4細胞を再移植したところEL4細胞は生着しないことより、EL4に対する抗腫瘍免疫を獲得したと考えられた。一方で、ネガティブコントロールとして他の同系のB16メラノーマ細胞を移植されたマウスではEL4細胞の生着は妨げられなかった。EL4細胞移植後に放射線治療を行ったマウスでは、EL4細胞特異的なIgG1抗体が検出され、また脾細胞からは、EL4細胞に反応してIFN γ を産生する細胞が検出されたことより、これらのマウスは腫瘍特異的な液性免疫、細胞性免疫を獲得していた。放射線治療により誘導される抗腫瘍免疫が治療効果に与える影響についても検討した。EL4細胞を両側の大腿皮下に移植し、測定可能な大きさの腫瘍になるまで10日間待機した後(腫瘍は約100 mm³に達する)、片側の腫瘍のみを照射した。照射された腫瘍は速やかに退縮し、4日後にはほぼ触知できない程の大きさになるが、照射されなかった反対側の腫瘍の増殖も抑制された。非照射のマウスと比較すると、9日後の腫瘍径はおよそ半分であった。この効果は免疫不全ヌードマウスでは観察されないことより、宿主の免疫が放射線治療効果に必須の役割を果たしていると考えられた。また、C57BL/6マウスにLewis肺癌を移植してRTを行ったところ、その増殖遅延効果及び生存期間延長効果はanti-CD8抗体投与によるCTL除去により抑制された。これらの結果よりRTにより特異的な抗腫瘍免疫が誘導されること、CTLによる抗腫瘍免疫が放射線の治療効果に寄与していることが示された。

抗腫瘍免疫が放射線照射の治療効果に関与しているということより、免疫反応を強化することで治療効果を増強できる可能性が考えられる。そこでC57BL/6マウスのLewis肺癌移植モデルへのRTにanti-CTLA-4抗体投与を組み合わせた。CTLA-4 (cytotoxic T-lym

phocyte-associated protein 4) は活性化T細胞の表面に発現する免疫機能調節分子 (免疫チェックポイント) であり、T細胞上のCTLA-4を遮断することで抗腫瘍免疫の増強が得られる。その結果、RTの増殖遅延効果及び生存期間延長効果が増強された。つまり、免疫チェックポイントを阻害・遮断することにより腫瘍特異的なT細胞をさらに活性化し、放射線の治療効果を高められる可能性を示した。

副論文の要旨

High mobility group box 1 (HMGB1) は、細胞内に存在する非ヒストン核蛋白質であり、細胞死に伴って細胞外に放出され、樹状細胞の活性化やサイトカインの増加に関わる。著者らは、食道癌患者に対する化学放射線治療 (X線治療) により、患者血中・組織でHMGB1が上昇することを見出している。今回、複数のヒト腫瘍細胞株を用いて、X線照射と炭素イオン線照射によるHMGB1放出量を比較した。食道癌細胞株TE2、KYSE70、肺癌細胞株A549、H460、大腸癌細胞株WiDrにそれぞれ、X線照射 (TITAN-225S (1.3 Gy/min))、炭素イオン線照射 (群馬大学重粒子線照射装置 (290 MeV/nucleon、-50 KeV/um)) を行った。各細胞株には、10%細胞生存率を得る線量 (D10) を照射した。照射後48、72、96時間の培養液中のHMGB1量を、ELISAにより定量した。TE2、KYSE70、A549、H460、WiDrにおけるD10は、それぞれ、X線で2.1 Gy、6.7 Gy、8.0 Gy、4.6 Gy、7.1 Gy、炭素イオン線で0.9 Gy、2.5 Gy、2.7 Gy、1.8 Gy、2.7 Gyであった。全ての細胞株で、X線照射と炭素イオン線照射それぞれの群で、非照射群と比較して有意なHMGB1量の上昇を認めた ($p < 0.01$)。炭素イオン線によるHMGB1量の上昇は、X線によるそれと同等であった。ヒト腫瘍細胞株に対する炭素イオン線照射は、X線照射と比較して、同じ生存率となる線量を照射した場合では、ほぼ同等のHMGB1の放出量であった。このことより、炭素イオン線照射により、X線照射と同様に、抗腫瘍免疫が活性化する可能性を示した。