

放射線と免疫薬剤との併用、生物効果についての基礎的研究

—X線と炭素線と免疫チェックポイント阻害の併用など—

高橋 豊

大阪大学大学院医学系研究科
重粒子線治療学寄附講座

Conflict of Interest Disclosure

I have no financial relationships to disclose.

Contents

(1) 免疫系の概要

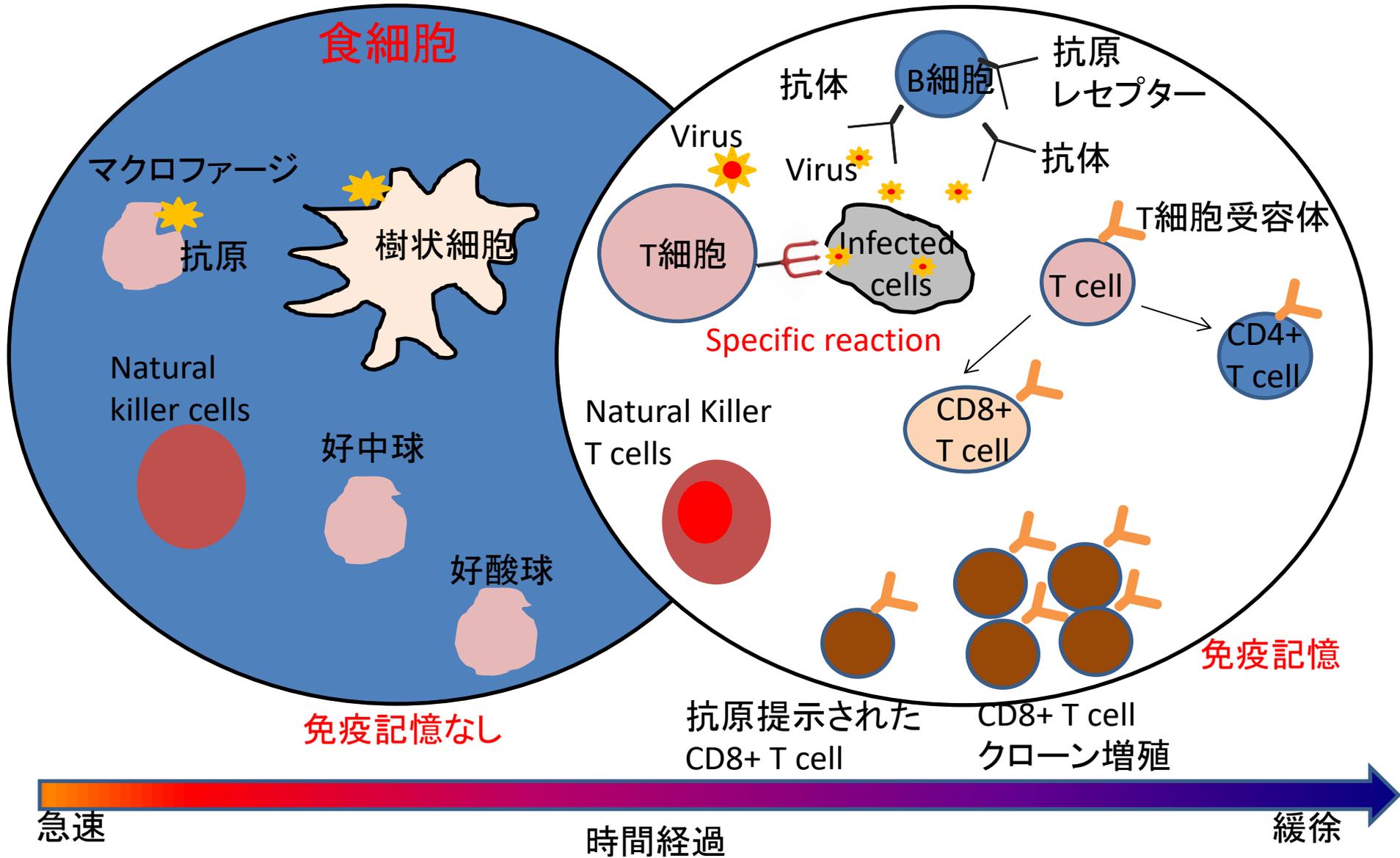
(2) 放射線と免疫

(3) 放射線と免疫チェックポイント阻害剤の併用
—X線と炭素線の違い—

自然免疫と獲得免疫

自然免疫(早期反応)

獲得免疫(後発反応)



Immunity cycle

CTLA-4
抗体

PD-1
抗体

T細胞の移動

T細胞の浸潤

T細胞による腫瘍認識

T細胞による腫瘍殺傷
エフェクター相
(殺細胞)

PD-L1抗体

プライミング相
(供給)

- Priming and activation
- CD28/B7.1
 - CD137/CD137L
 - OX40/OX40L
 - CD27/CD70
 - HVEM
 - GITR
 - IL-2
 - IL-12
- CTLA4/B7.1
- PD-L1/PD-1
- PD-L1/B7.1
- prostaglandins

- 4 Trafficking of T cells to tumors
- CX3CL1
 - CXCL9
 - CXCL10
 - CCL5

- 5 Infiltration of T cells into tumors
- LFA1/ICAM1
 - Selectins
 - VEGF
 - Endothelin B receptor

- 6 Recognition of cancer cells by T cells
- T cell receptor
 - Reduced pMHC on cancer cells

- 7 Killing of cancer cells
- IFN- γ
 - T cell granule content
 - PD-L1/PD-1
 - PD-L1/B7.1
 - LAG-3
 - Arginase
 - MICA/MICB
 - B7-H4
 - TIM-3/phospholipids
 - IDO
 - TGF- β
 - BTLA
 - VISTA

- 1 Release of cancer cell antigens
- Immunogenic cell death
 - Tolerogenic cell death

- 2 Cancer antigen presentation
- TNF- α
 - IL-1
 - IFN- α
 - CD40L/CD40
 - CDN
 - ATP
 - HMGB1
 - TLR
 - IL-10
 - IL-4
 - IL-13

抗原提示

■ Stimulatory factors
■ Inhibitors

腫瘍細胞からの抗原放出

免疫編集

Elimination



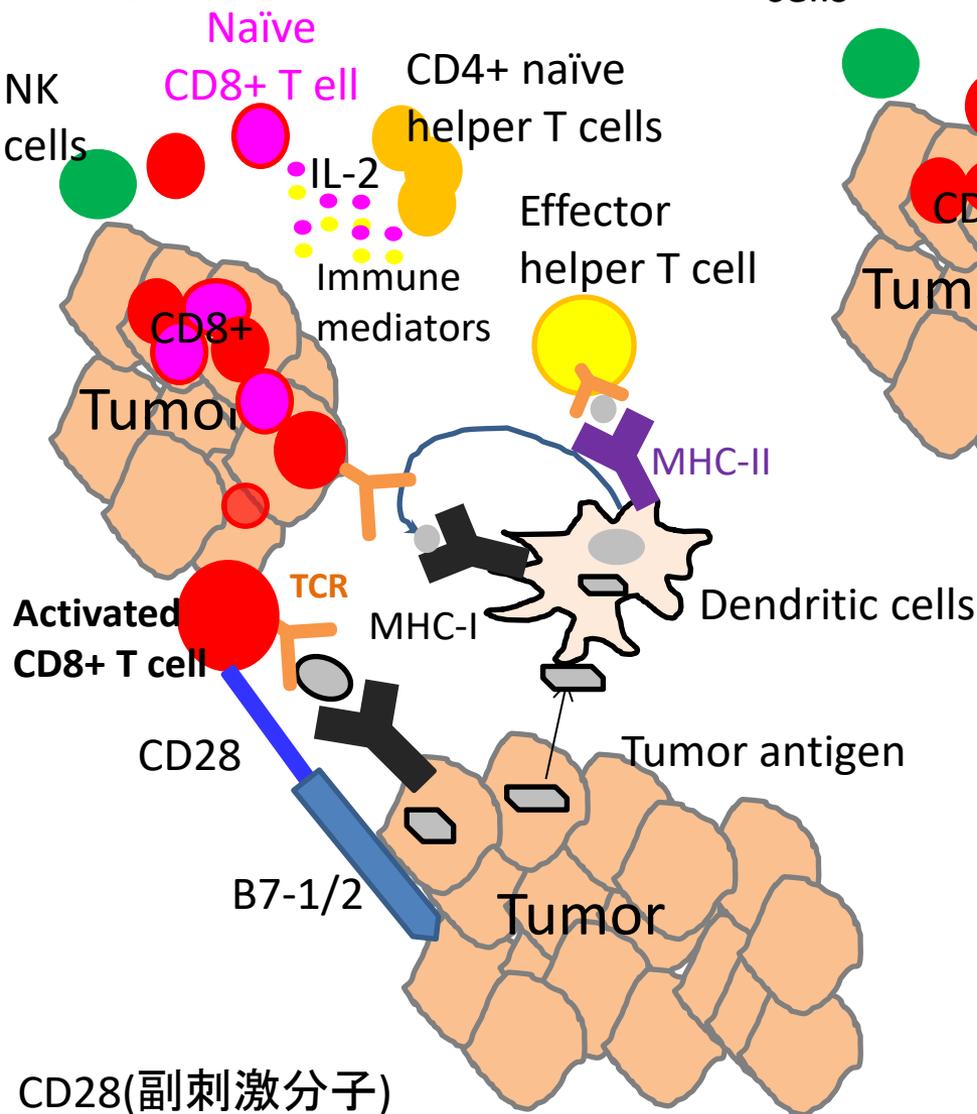
Equilibrium



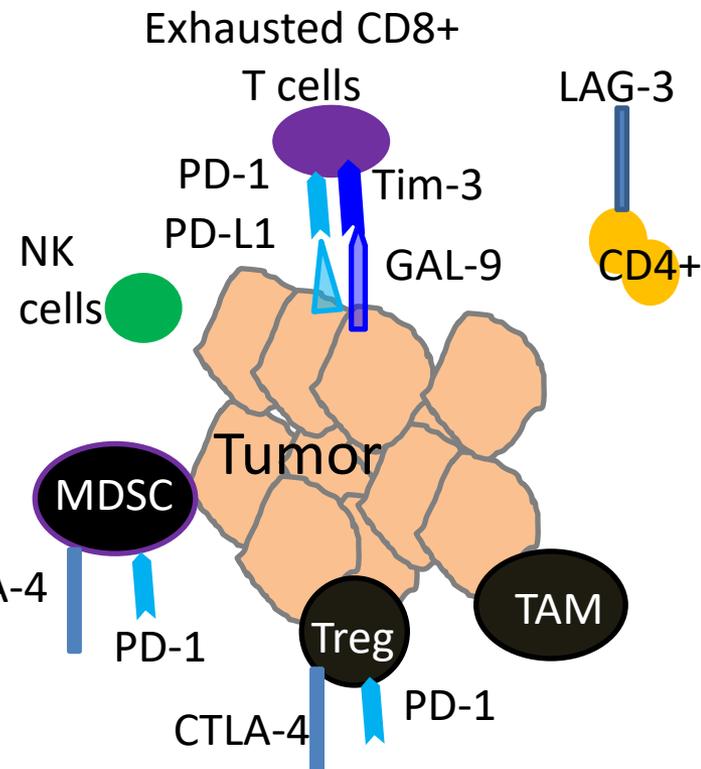
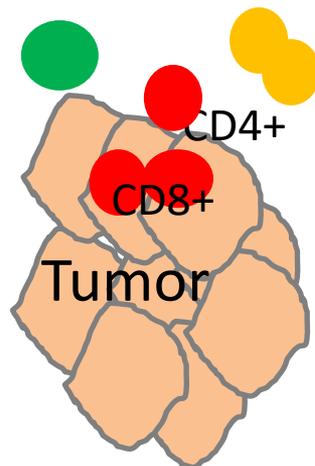
Escape

抗原認識

T cell priming



NK cells



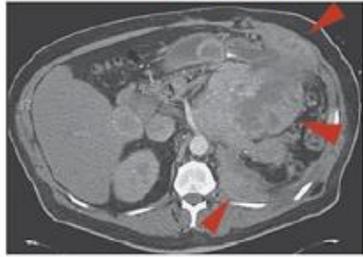
免疫チェックポイント分子の発現

- Treg (Regulatory T cells)
- MDSC (Myeloid derived suppressor cells)
- TAM (Tumor associated macrophage)

PD-1抗体療法

The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2018

B Patient with Renal-Cell Cancer
Before Treatment



6 Months



C Patient with Melanoma



© Nobel Media AB. Photo: A. Mahmoud
James P. Allison

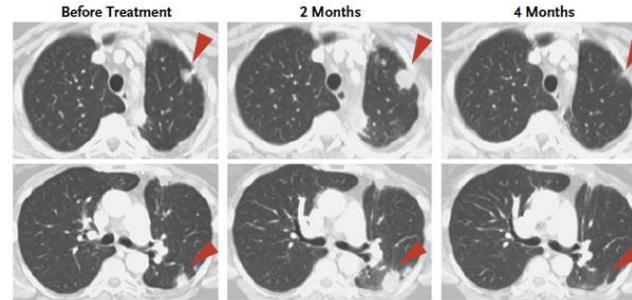


© Nobel Media AB. Photo: A. Mahmoud
Tasuku Honjo

<https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/2018/summary/>

より引用

D Patient with Non-Small-Cell Lung Cancer



Renal cell cancer

Melanoma

Non-small-cell lung Ca.

Pancreas Ca.

Response rate 9/33 (27%)

26/94 (28%)

14/76 (18%)

1/41 (2%)

効果のある症例は限定的

Topalian SL, et al N Engl J Med, 2012
 Royal et al. Immunother, 2010
 Brahme et al. N Engl J Med, 2012
 Winograd et al. Cancer Immunol Res, 2015

Contents

(1) 免疫系の概要

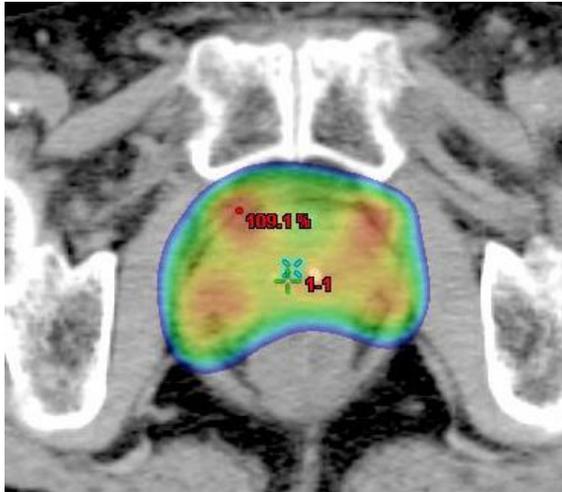
(2) 放射線と免疫

(3) 放射線と免疫チェックポイント阻害剤の併用
—X線と炭素線の違い—

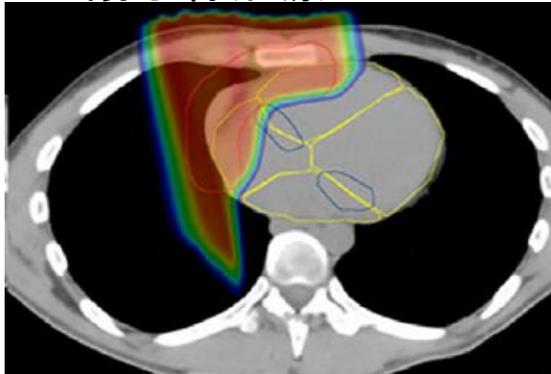
放射線治療の役割

強力な局所療法

IMRT

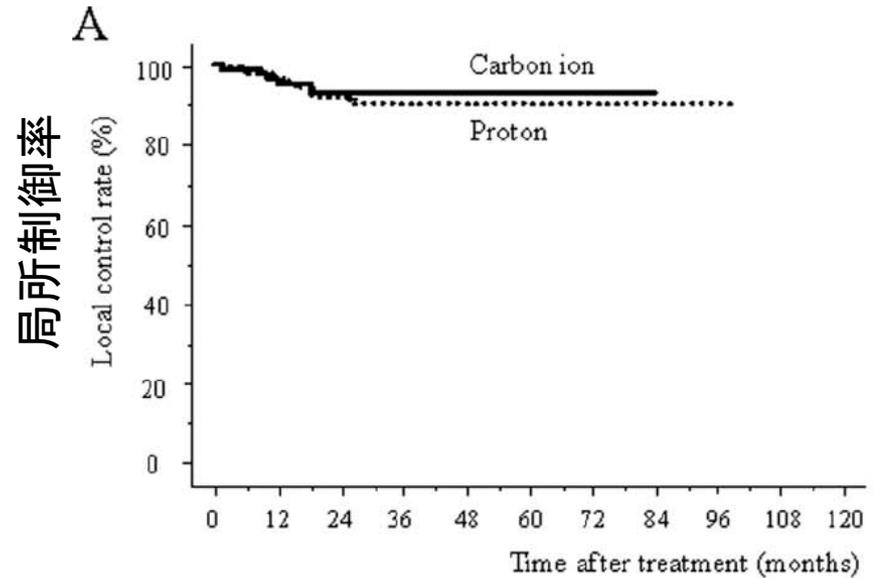


陽子線治療

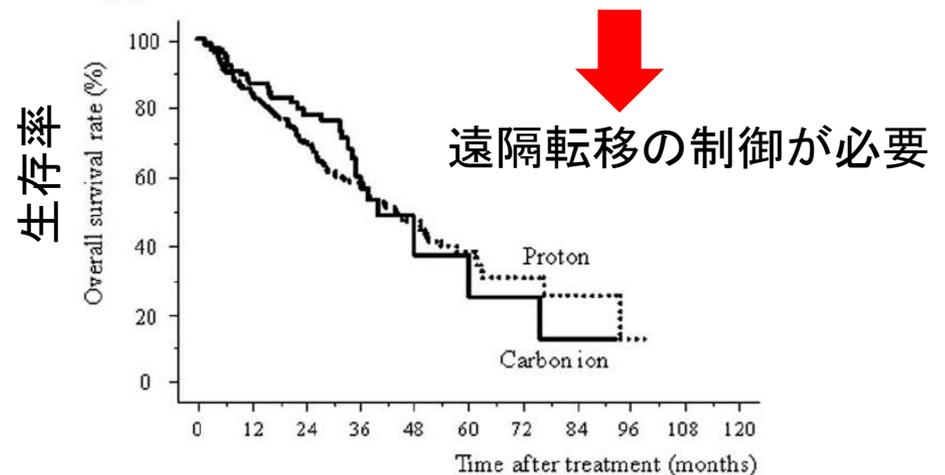


Hoppe et al. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 84 (2), 2012

肝細胞癌に対する炭素線と陽子線の比較



A 局所は制御できても遠隔転移が起きる



Komatsu et al. Cancer 2011

放射線は免疫抑制か？それとも免疫賦活か？

High Radiosensitivity

Bone Marrow, Spleen
Thymus, Lymphatic nodes
Lymphocytes

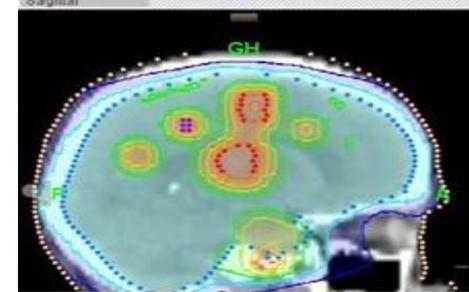
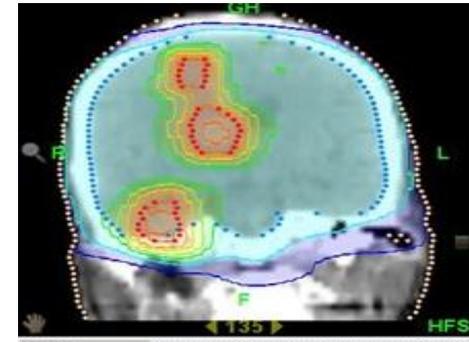
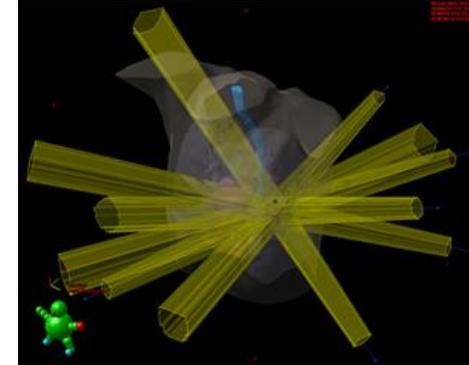
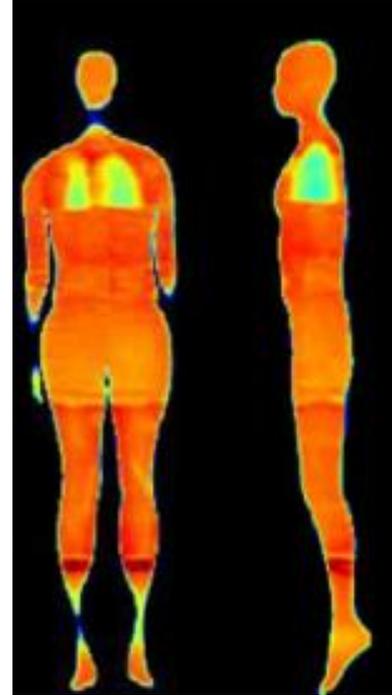
Skin
Liver, heart, lungs

Muscle
Bones
Nervous system

Low Radiosensitivity

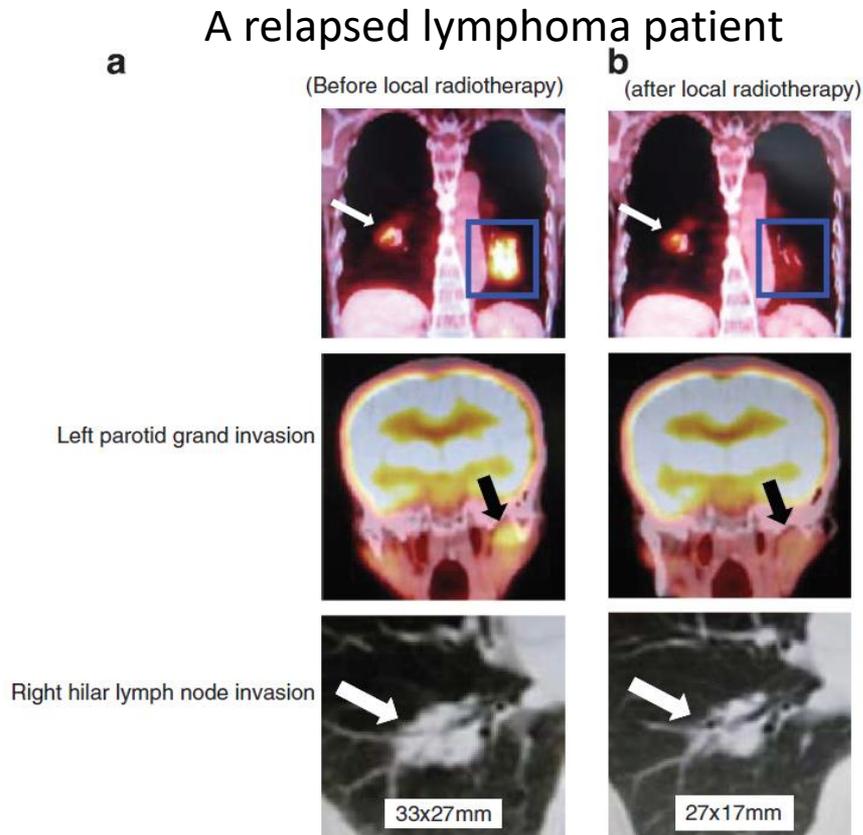
Total body irradiation

Focused irradiation



放射線による免疫賦活効果

照射野外の腫瘍にも腫瘍縮効果が稀に見られる (Abscopal effect)

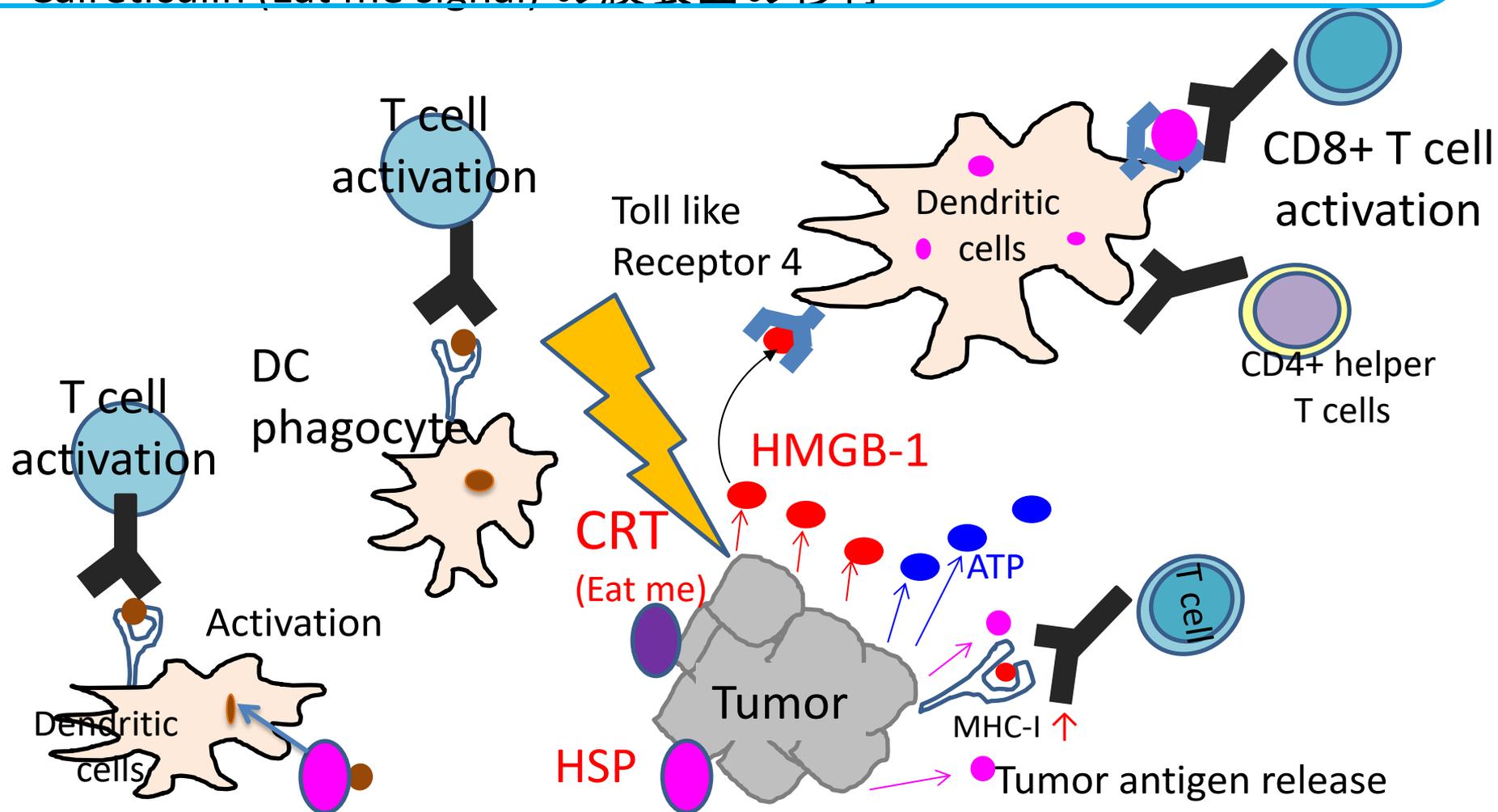


This case was generously provided by Dr. Yoshiyuki Suzuki (Department of Radiation Oncology, Gunma University Graduate School of Medicine, Japan)

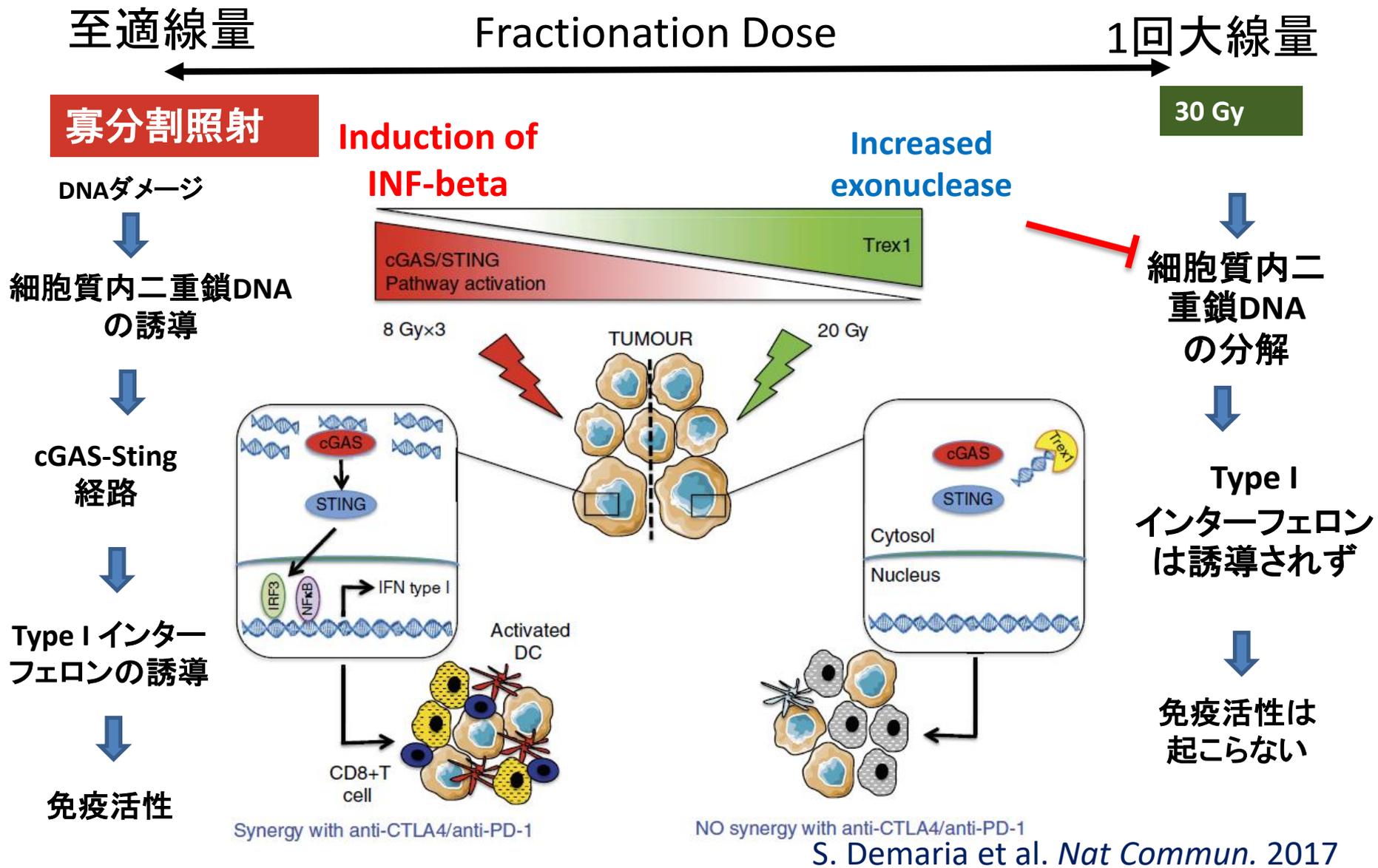
報告のある放射線による免疫賦活メカニズム(1)

死にかけの細胞の危険信号 (Danger signal) によるT細胞の活性化

- 免疫介在因子の放出 (HMGB1, ATP etc)
- Heat shock proteinの膜表面の誘導
- Calreticulin (Eat me signal) の膜表面の移行



報告のある放射線による免疫賦活メカニズム(1)



放射線の線量と免疫チェックポイント阻害剤の併用は線量や順番が重要な可能性

Contents

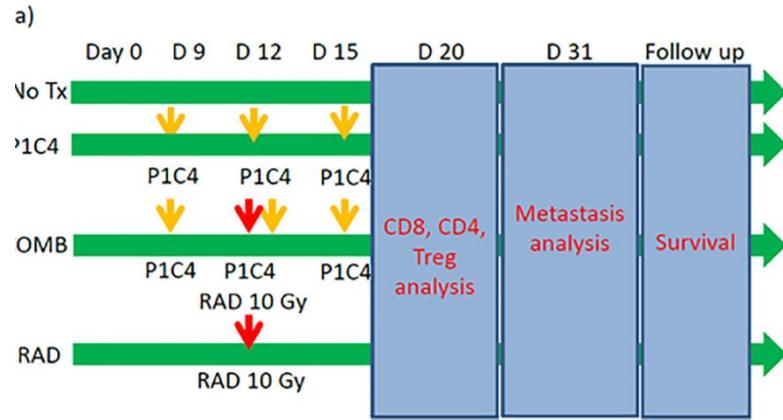
(1) 免疫系の概要

(2) 放射線と免疫

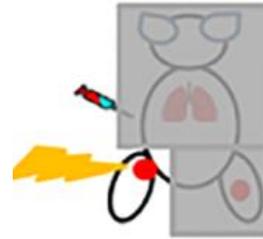
(3) 放射線と免疫チェックポイント阻害剤の併用
—X線と炭素線の違い—

骨肉腫に対するX線(10 Gy) + PD-L1 mAb + CTLA-4 mAb の併用効果

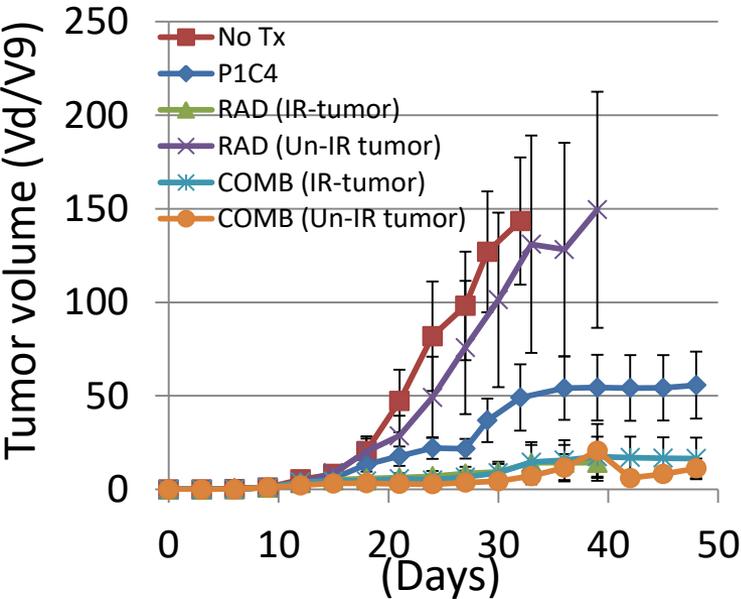
P1C4: PD-L1 + CTLA-4 mAb



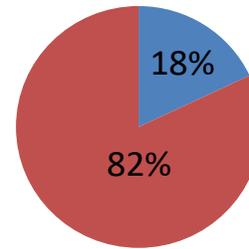
> 4 mm lead shield



- 腫瘍を両脚に移植し、片方のみを10 Gy照射
- 同時併用で抗PD-L1抗体と抗CTLA-4抗体を投与 (P1C4)

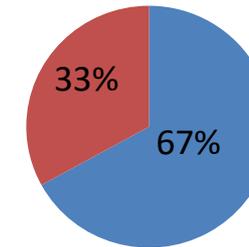


P1C4

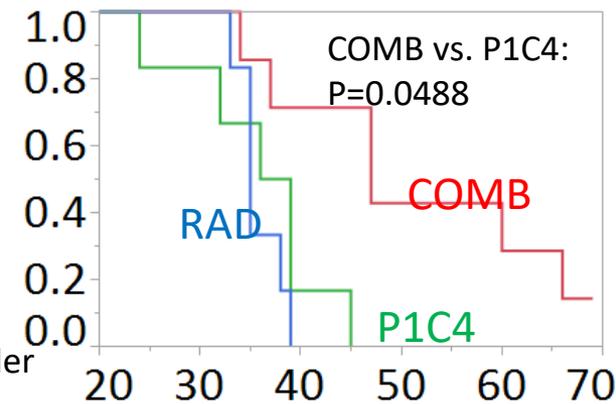
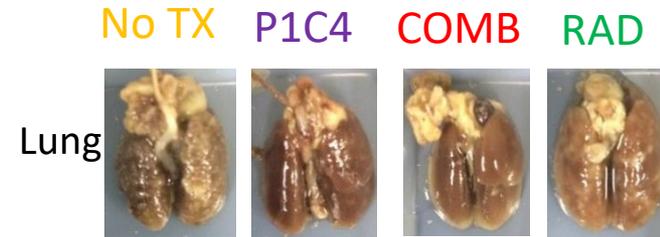


P=0.0361

COMB



■ Responder ■ Non-responder



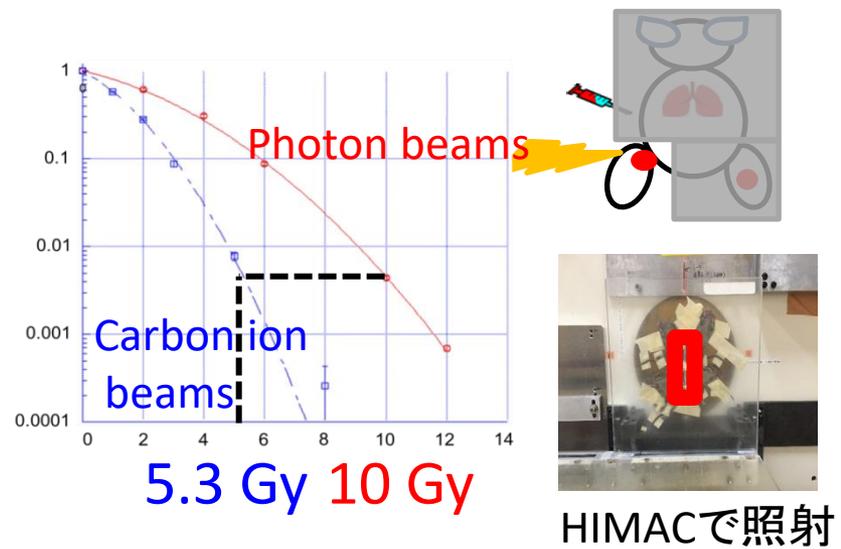
P1C4でのResponderは18%。放射線を加えると67%に増加。著明な局所効果と遠隔効果が得られた。

骨肉腫に対する炭素線(5.3 Gy) + PD-L1 mAb + CTLA-4 mAb の併用効果

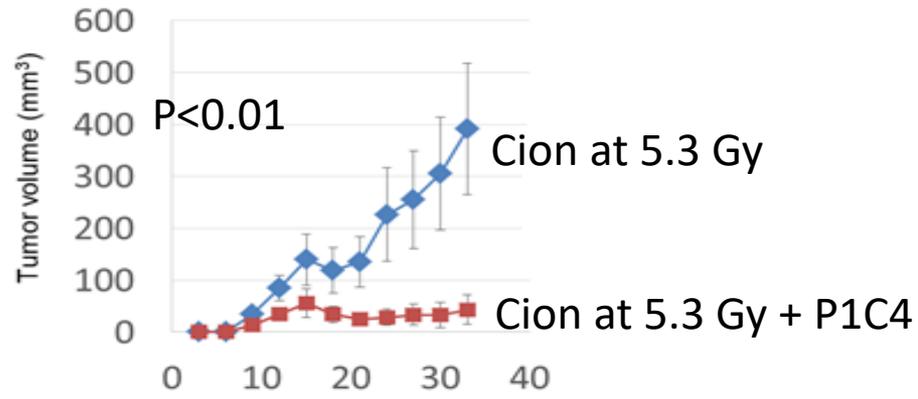
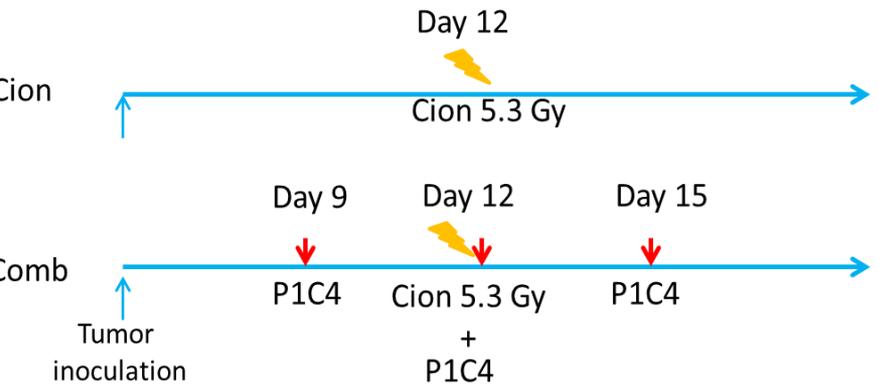
290MeV 炭素線 (SOBP中心でLET 約50keV/um)

腫瘍を両脚に移植し、片方のみを5.3 Gy照射 (In vitroのコロニーアッセイに基づいて線量を決定)

同時併用で抗PD-L1抗体と抗CTLA-4抗体を投与 (P1C4)

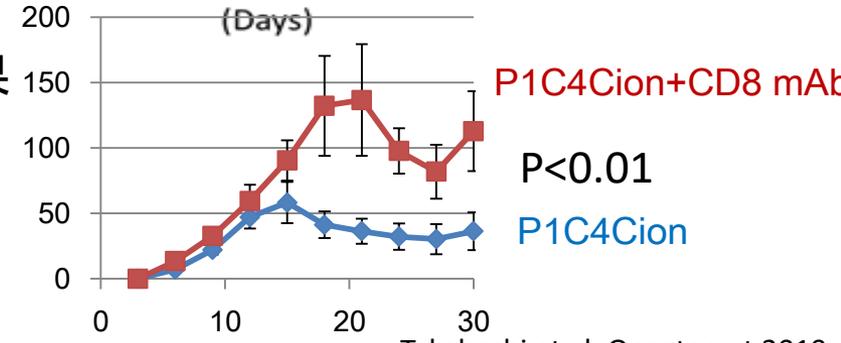


局所効果

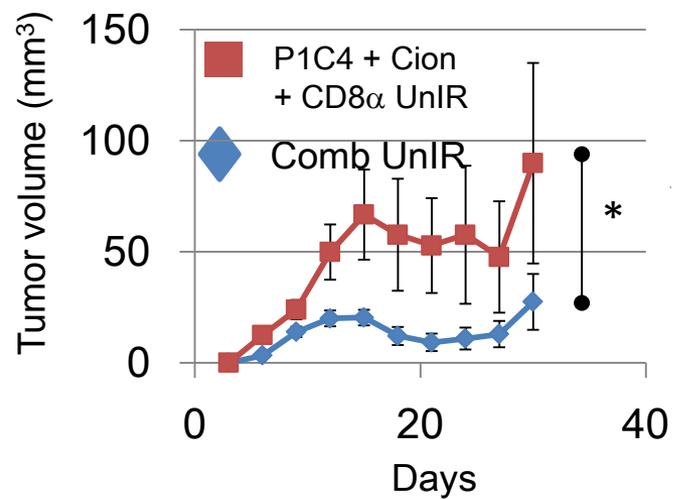
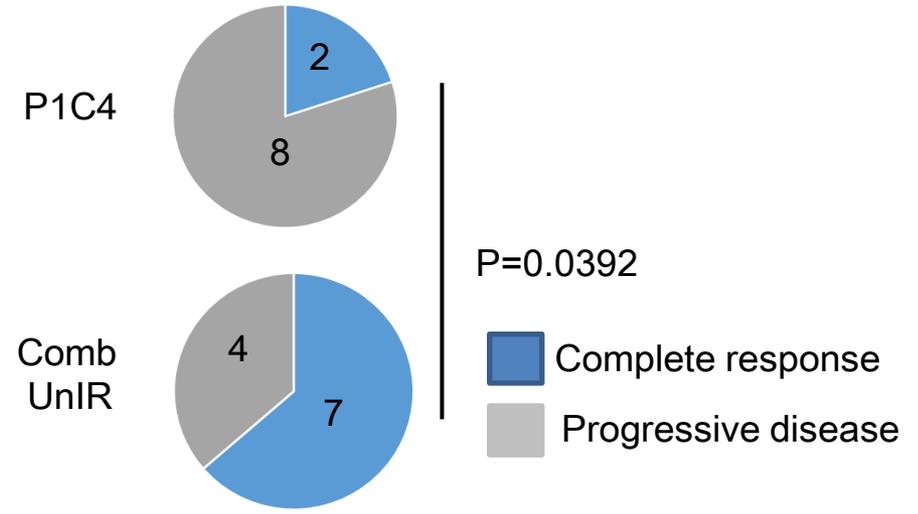
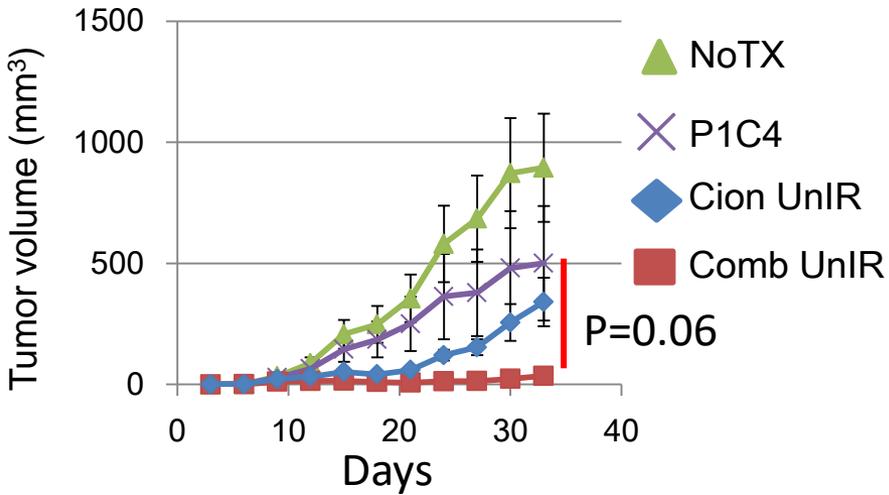


免疫チェックポイント阻害との併用で局所増感効果

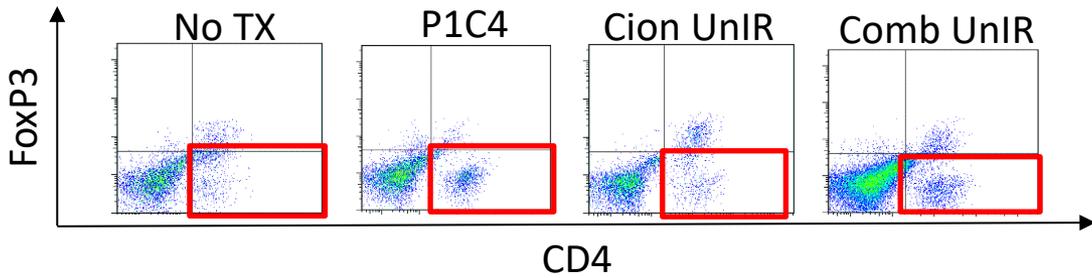
CD8抗体で免疫を弱めることで増感効果が減弱 → 増感効果に免疫が関与している可能性



非照射腫瘍への効果 (Abscopal効果)



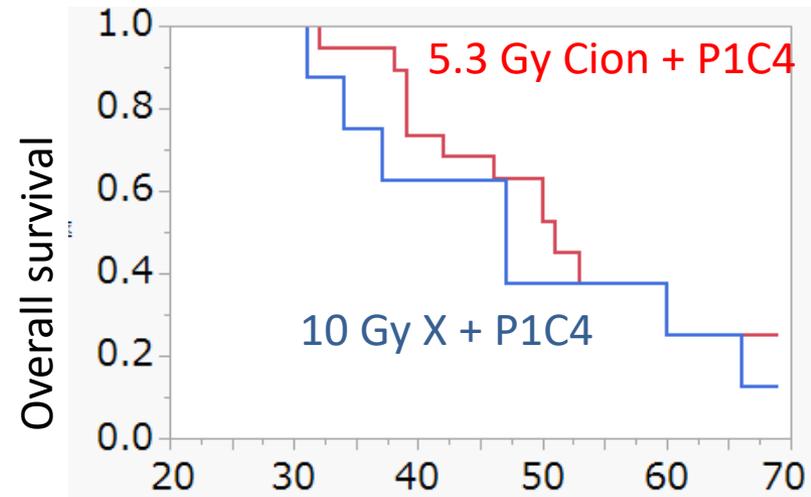
- 免疫チェックポイント阻害との併用でAbscopal効果増強
 - CD8抗体で免疫を弱めることで増感効果が減弱
非照射側にヘルパーT細胞が誘導
- 遠隔効果に免疫が関与している可能性



まとめ (1)

- X線 (10 Gy)と2種類の免疫チェックポイント(抗PD-L1抗体、抗CTLA-4抗体)を使用することで優れた局所効果と遠隔効果
- X線5.3 Gyと等価となる炭素線5.3 Gyと2種類の免疫チェックポイント(抗PD-L1抗体、抗CTLA-4抗体)を使用することで優れた局所効果と遠隔効果

しかし、なんとなく炭素線とP1C4の併用の方がよさそう



問題点

- 2種類の免疫チェックポイント阻害剤 (PD-L1 + 抗CTLA-4抗体; P1C4) を使用すると有害事象が有意に増加する。

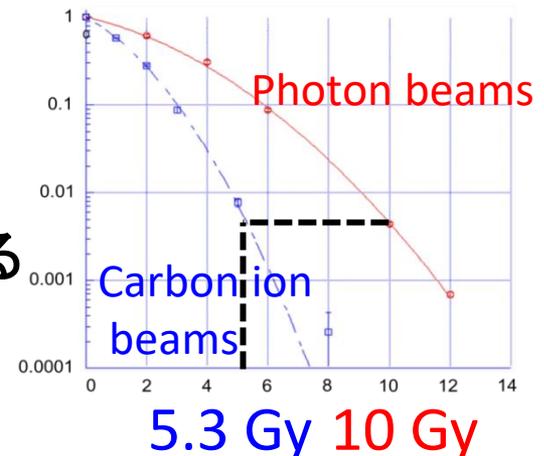
Mohamed O et al. Oncoimmunology 2018

- これらの薬剤は非常に高価なため、医療経済にも影響を及ぼす

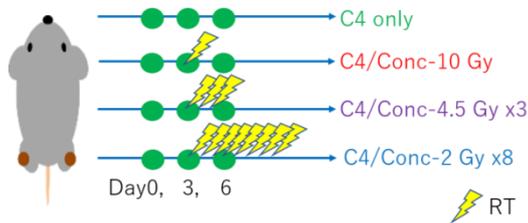
目的

免疫チェックポイント阻害剤を1種類に減らして、効果を最大限に引き出す放射線併用法を探索する。

X線と炭素線のコロニーアッセイで等価な生存率を与える線量同士で比較

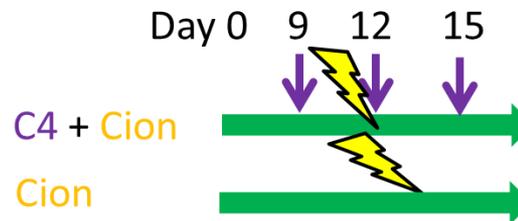


10 Gy X-rayとC4の同時併用

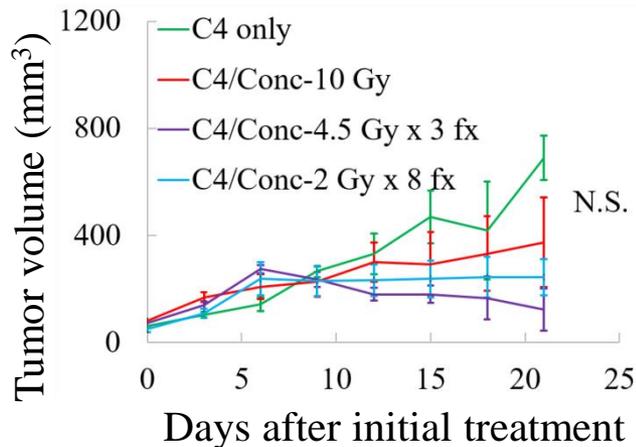


W Takaneke, Y Takahashi et al. Cancers, 2020

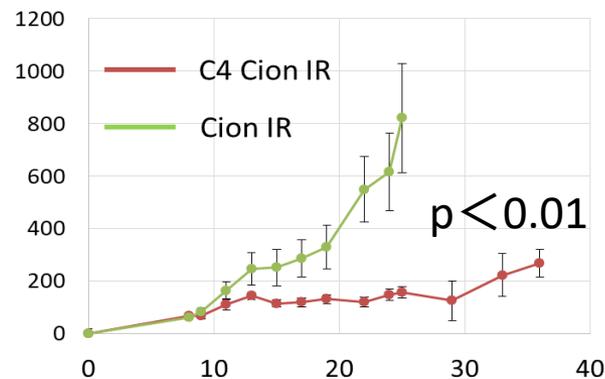
5.3 Gy 炭素線とC4の同時併用



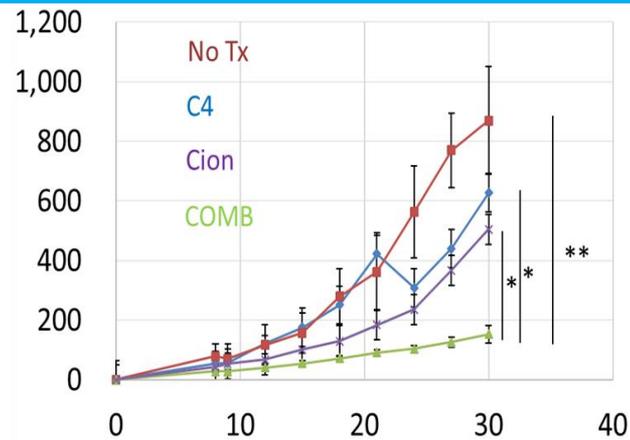
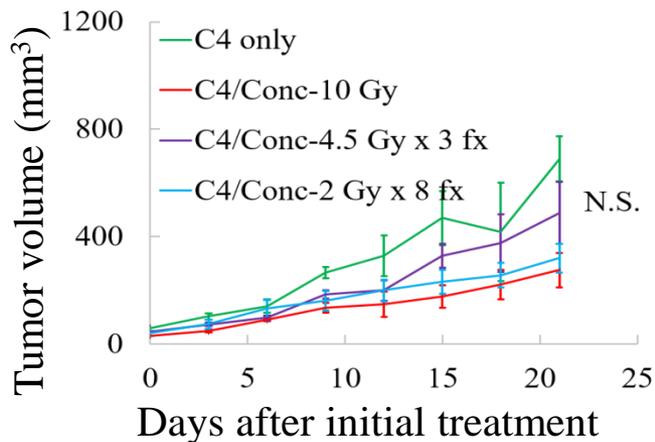
照射腫瘍



CTLA-4 mAb experiment



非照射腫瘍



C4と炭素線の併用でのみ照射側の増感もアブスコパル効果も得られた

放射線による免疫活性経路

DNA Damage

Too big dose in single fraction

Hypofractionation

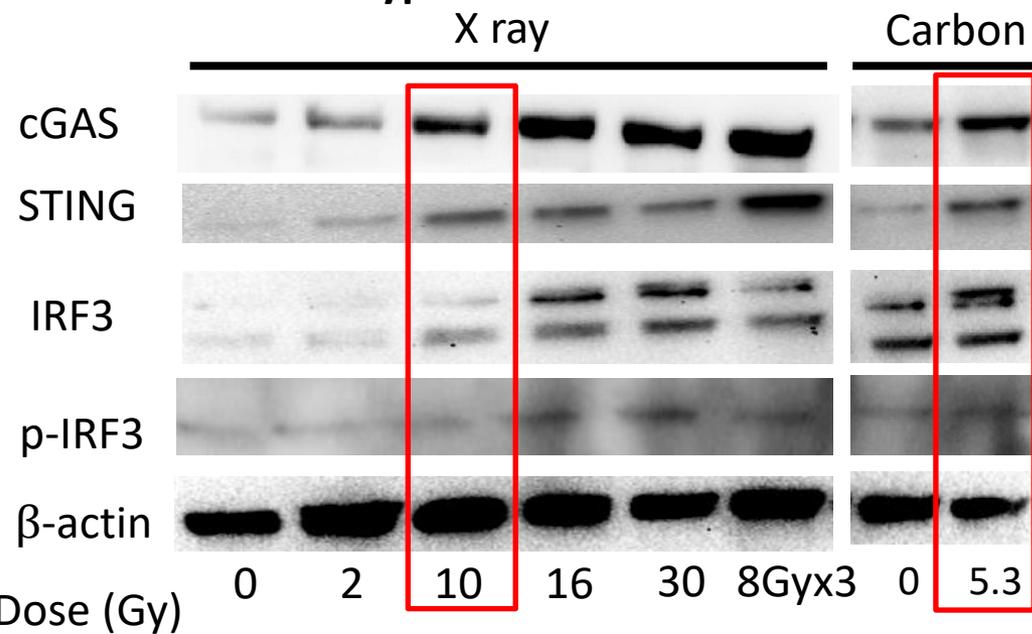
Increased cytosolic dsDNA

DNA exonuclease Trex1

Activation of cGAS/STING/IRF3 pathway

Transcription of type I interferon gene

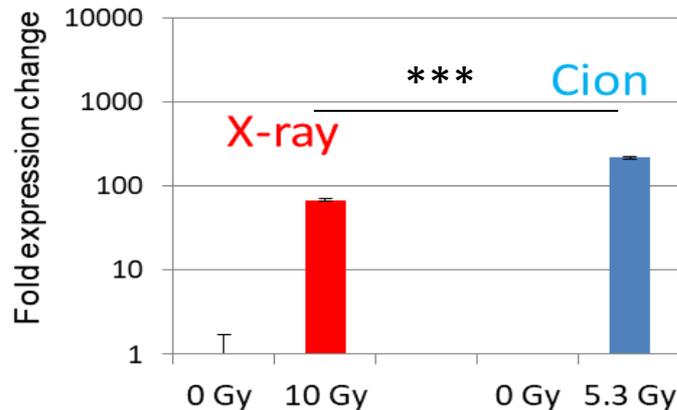
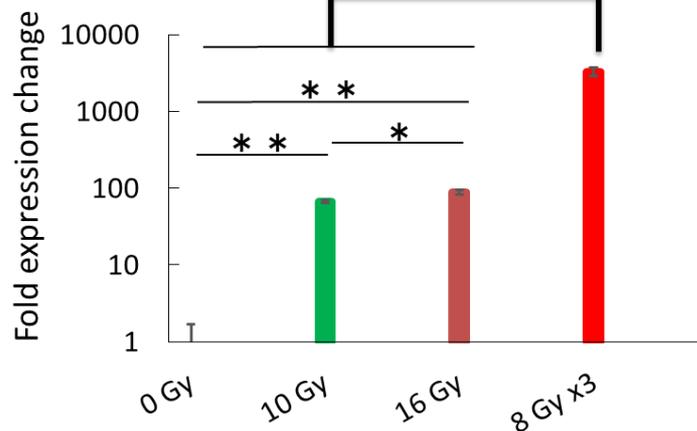
Release of Type I interferon



W Takaneka, Y Takahashi et al. Cancers, 2020

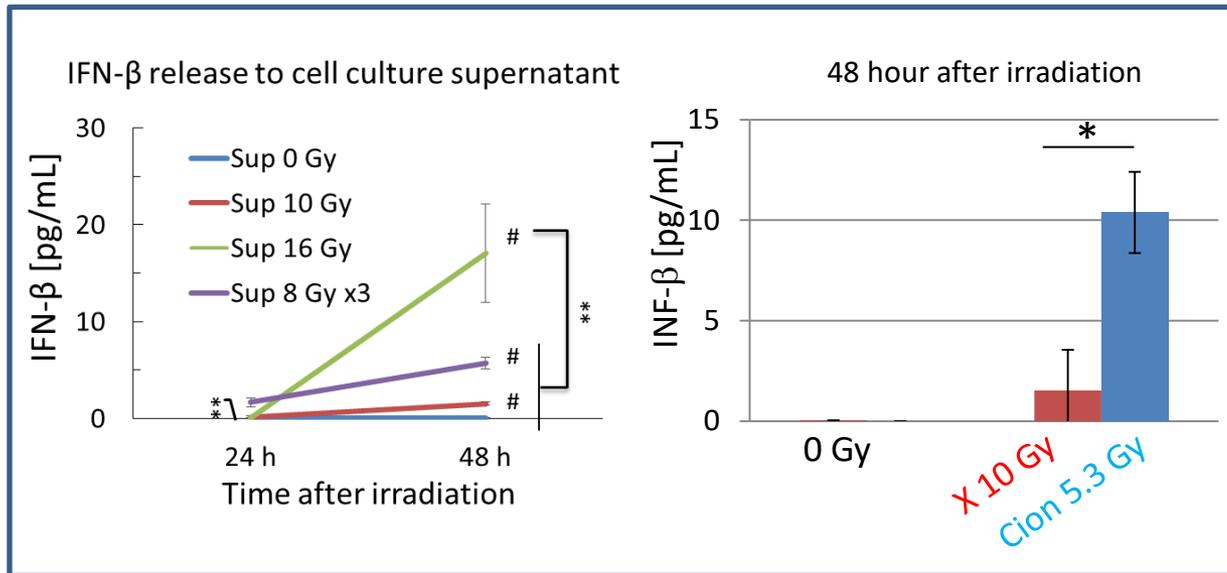
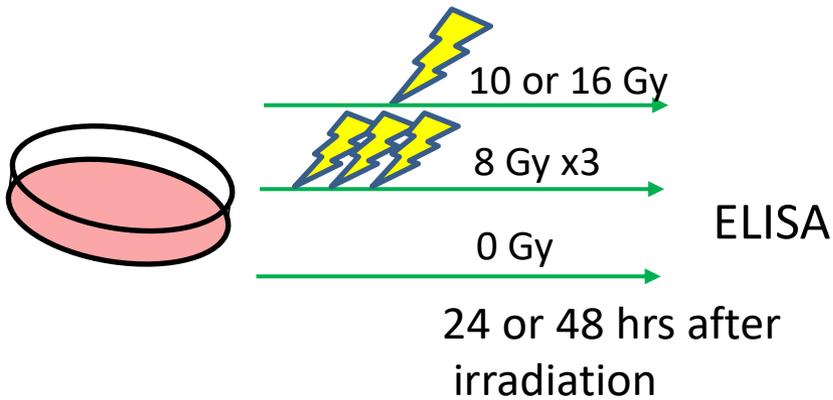
Gene Expression of IFN- β by qPCR

X-ray



X線10 Gyよりも炭素線5.3 Gyで免疫活性が強い可能性

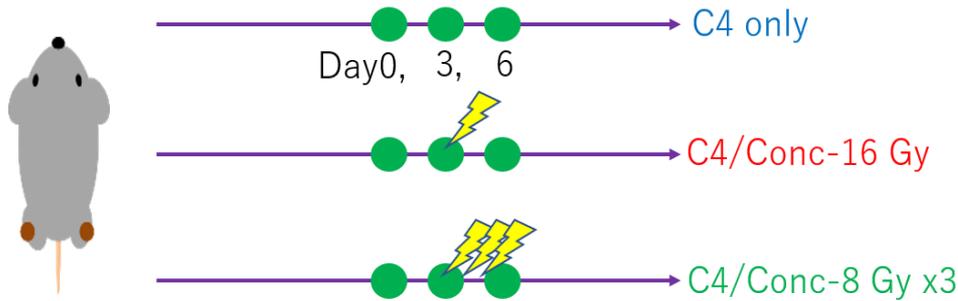
インターフェロンβの細胞からの放出



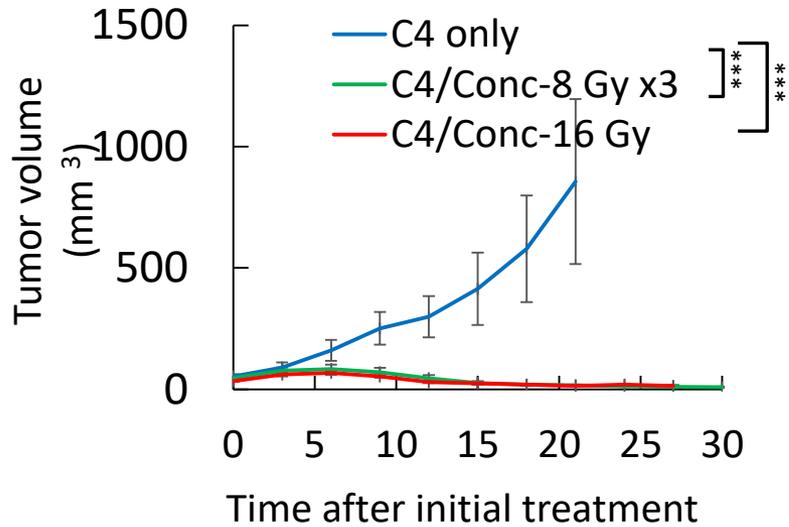
X線10 Gyよりも炭素線5.3 Gyの方が有意にIFN-βを誘導する。

免疫反応は同じ生物学線量を投与するとX線より炭素線の方が強い可能性

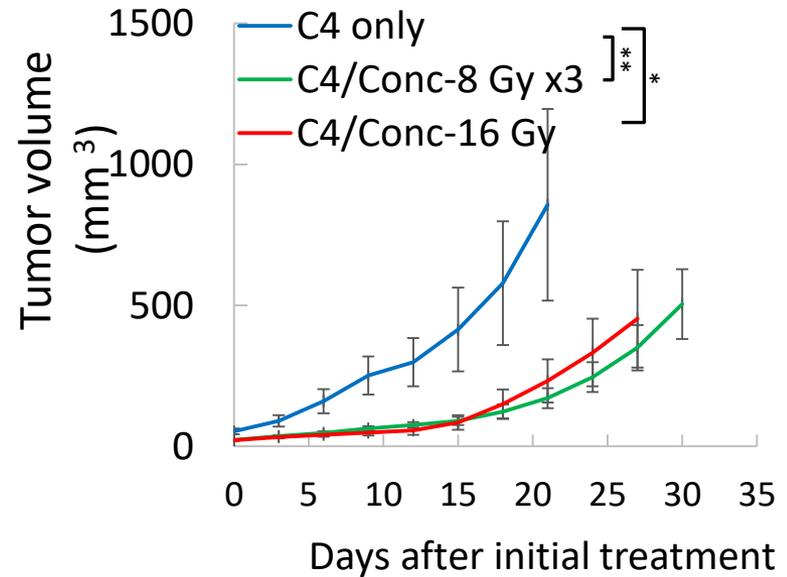
X線の線量増加



Irradiated tumors



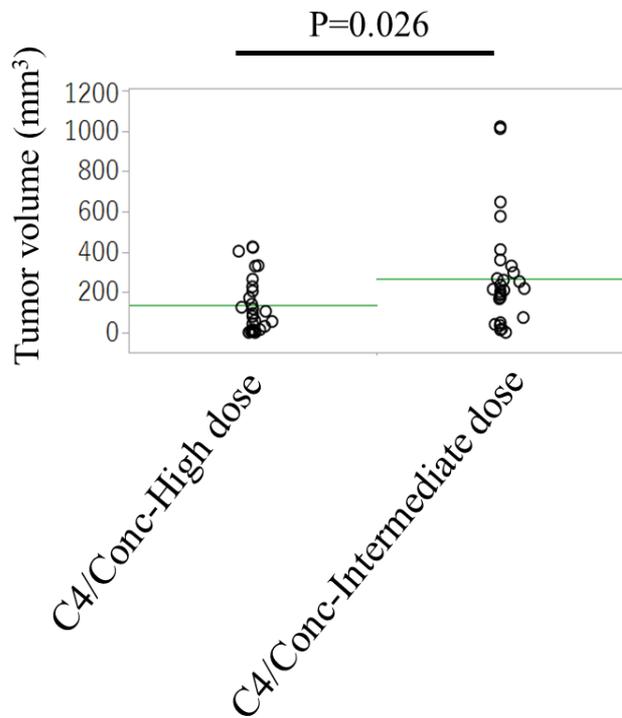
Unirradiated tumors



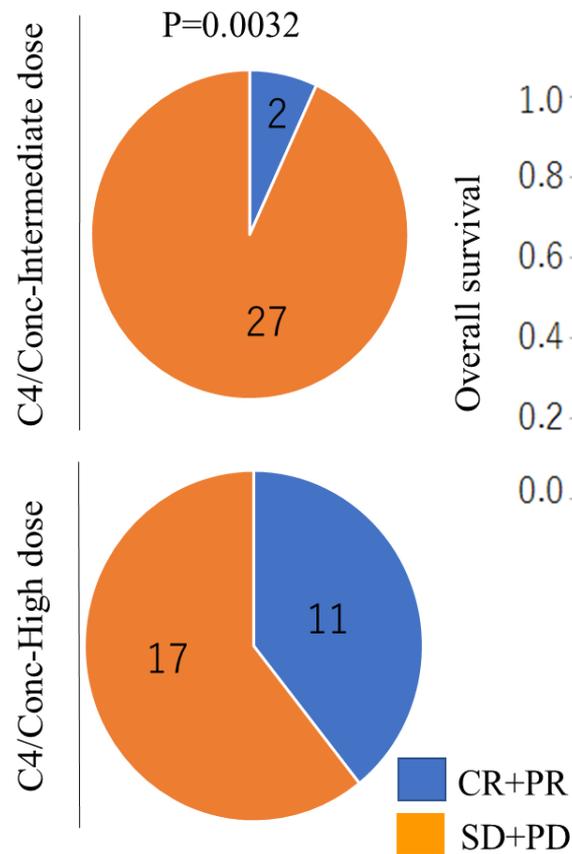
X線を16 Gyまたはその寡分割照射(8Gy x 3fx)まで増加すると局所効果、遠隔効果ともに増強

照射野外腫瘍

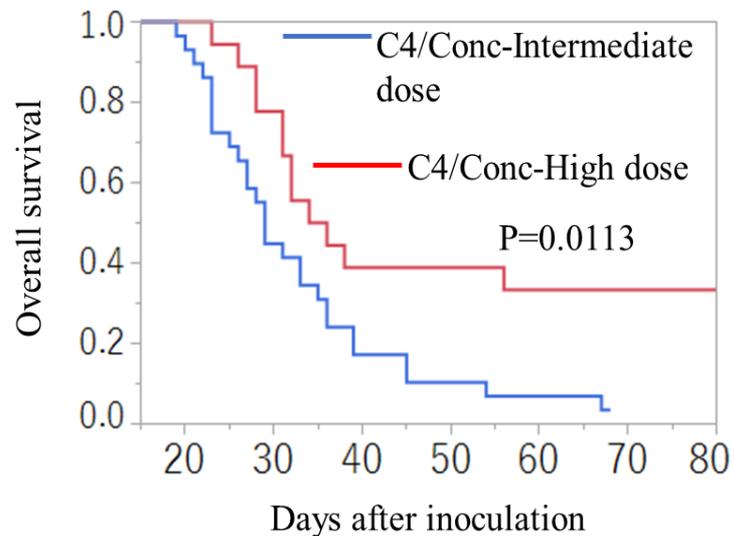
(a)



(b)



(c)

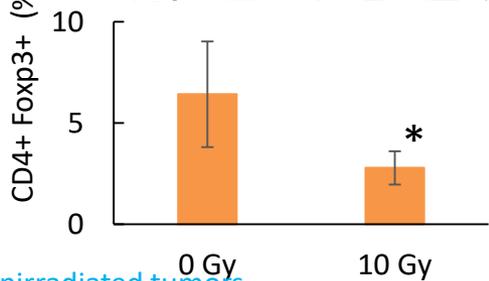


X線でも局所根絶腫瘍で、遠隔効果も増強

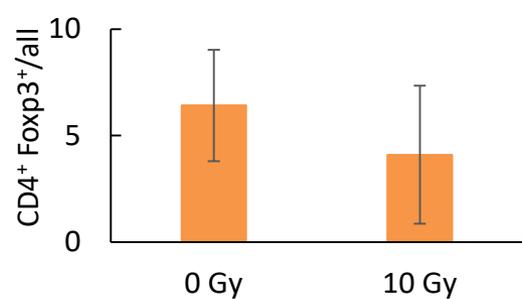
腫瘍内環境もX線と炭素線で異なる

Irradiated tumors

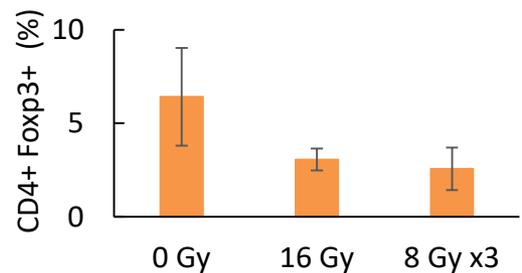
制御性T細胞(腫瘍免疫を抑制する細胞)



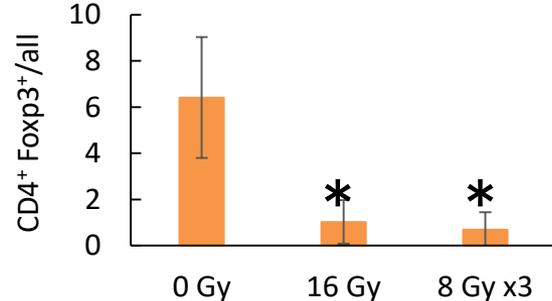
Unirradiated tumors



Irradiated tumors

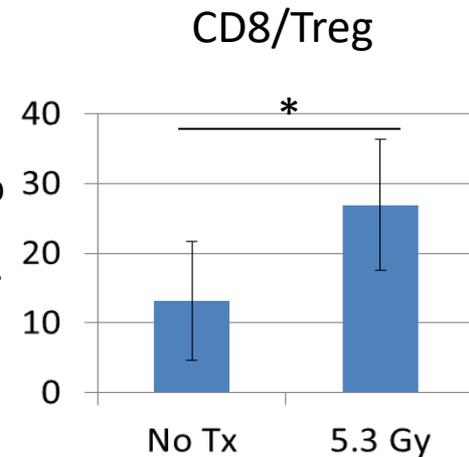
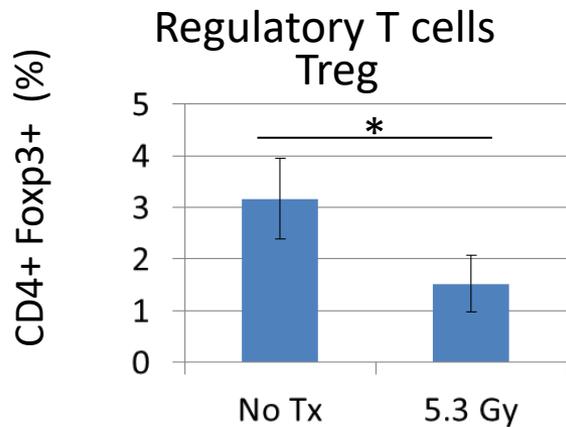


Unirradiated tumors

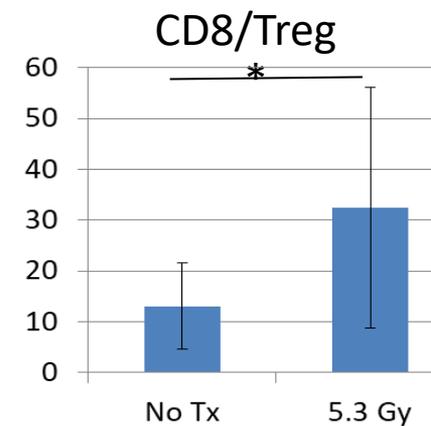
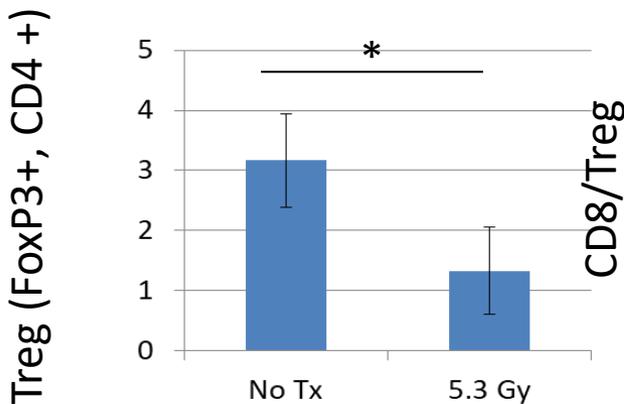


Carbon ion

Irradiated tumors



Unirradiated tumors



免疫細胞の動態もX線と炭素線で異なる

X-ray

まとめ

	Carbon	Photon		
In vitro免疫反応	5.3 Gy	≡	16 Gy or 8 Gy x 3 fx	
免疫療法薬剤	C4		C4	
Dose	5.3 Gy	10 Gy	16 Gy	8 Gy x3
遠隔効果	40%で奏功	無奏功	40%で奏功	
Survival	延長	延長なし	延長	延長

腫瘍根絶レベルの局所照射と免疫療法の併用が有効な可能性

まとめ(2)

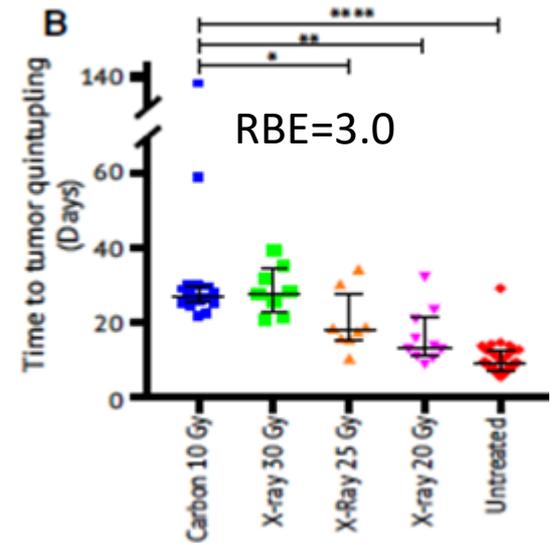
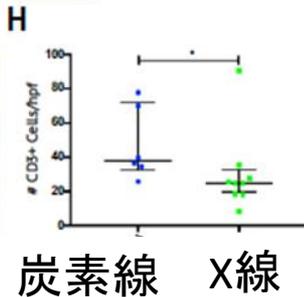
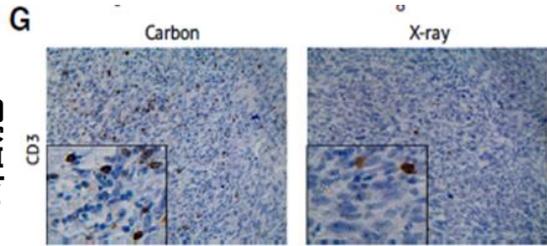
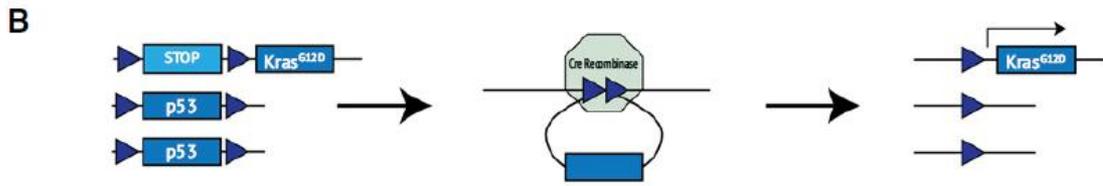
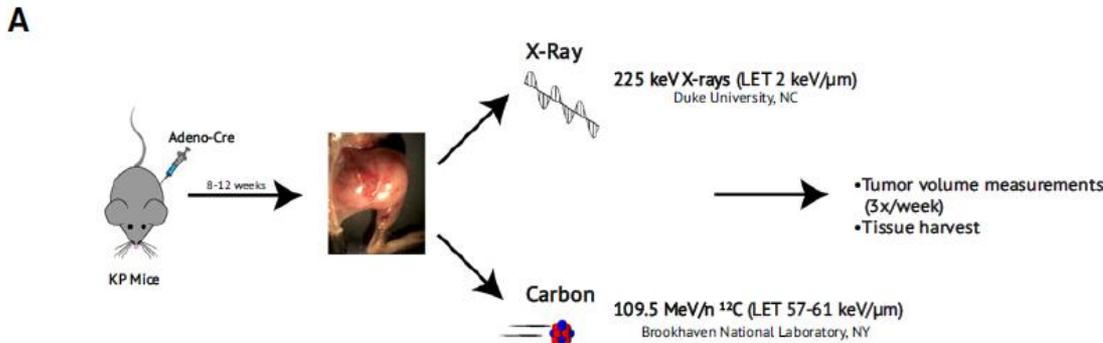
炭素線はコロニーアッセイで得られるX線等価線量よりも強固な免疫反応を引き起こす可能性がある。

免疫チェックポイント阻害剤との併用でより高い効果を得られる可能性

RBEと免疫の関与

- 重粒子線とX線の生物学的効果比 (RBE)は血管損傷や免疫などの複雑な要因が絡む。→ In vivo の評価が重要

発がんマウスモデル



培養細胞では多くの場合約2.0

この系では3.0