

令和 2 年 6 月 8 日現在

機関番号：13601

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2018～2019

課題番号：18H06175・19K21283

研究課題名（和文）光線免疫療法の消化器腫瘍への応用にむけた基礎的検討

研究課題名（英文）NIR-PIT research targeting digestive tumor for clinical treatment.

研究代表者

長屋 匡信（Nagaya, Tadanobu）

信州大学・学術研究院医学系（医学部附属病院）・講師

研究者番号：00718033

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）：新規癌治療法である近赤外光線免疫療法（NIR-PIT）は管腔臓器の表面に生じる癌に対して内視鏡を用いることで効率よく治療が可能と考える。この内視鏡を用いたNIR-PITに必須となる蛍光内視鏡の開発を内視鏡開発研究チームと協議した。既存の小動物実験用の蛍光内視鏡の改良をおこない、内視鏡の鉗子孔を通してLight Diffuserを用いたNIR-PITの有効性の実験結果を解析した。さらに蛍光強度の減衰がreal timeに治療効果予測因子となりうることを証明した。また、実臨床における消化管腫瘍での特異抗原の発現状況についても検討したが、既存の特異抗原以外の新規抗原の同定には至らなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

癌の3大治療としては手術・内視鏡などによる切除、抗癌剤治療、放射線治療が挙げられる。近年医療の進歩により非常に多くの新規癌治療薬や治療法が開発されているが、副作用がほとんどなく癌細胞のみ標的として治療できる方法はまだない。近赤外光線免疫療法（NIR-PIT）は副作用が少ない新しい癌治療法として期待されている。現在、頭頸部癌に対して世界中で治験が進んでおり期待される治療効果を得ている。この治療を消化器癌（食道癌・胃癌・大腸癌・膵癌・胆管癌・胆嚢癌・肝癌など）に応用できれば現在の癌治療体系が刷新される。本研究により、消化器癌に対する内視鏡を用いたNIR-PITの可能性を見いだした。

研究成果の概要（英文）：Near infrared photoimmunotherapy is a newly cancer treatment and it could be readily translated into clinical use for virtually any cancers especially for digestive cancers. We developed in vivo fluorescence endoscopy and a fiber optic light diffuser suitable for NIR could be placed within or near tumors through clinical use endoscopy. We believe that NIR-PIT with NIR excitation light, which can be delivered via a fiber optic diffusers through endoscopes, is a promising method for a new treatment of gastrointestinal cancers. Then, decrease of IR700 fluorescence can be a potential immediate indicator of therapeutic effects of mAb-IR700-based NIR-PIT before tumors shrink that can be a real-time biomarker of therapeutic effects during endoscopic NIR-PIT. We also investigated new antigen expression in digestive cancers, however, we could not detect new antigen suitable for NIR-PIT.

研究分野：消化器腫瘍、光線免疫療法

キーワード：NIR-PIT 消化器腫瘍 内視鏡

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

日本人の死亡原因の第一位は男女ともに悪性新生物であり、死亡原因の約 30%を占めている。現在一般的に行われている癌治療は、「内視鏡や手術による切除療法」、「放射線治療」、「抗癌剤治療」の 3 つに分けられるが、どの治療法も必ず癌細胞のみではなく正常の臓器や細胞にも傷害を与えている。これらの正常細胞の傷害は副作用として患者に大きな負担を生じることになる。例えば、抗癌剤治療であれば、脱毛や吐き気を含む多数の副作用が問題であるし、放射線治療では照射範囲の皮膚・粘膜障害、骨髄抑制などが問題である。また切除においても正常組織を併せての切除が必要であり、臓器機能の低下に加え、手術創の痛みや創部癒痕を残すことになる。癌治療においては、既存の癌治療における問題点を克服した(副作用を限りなく少なくした=標的とする癌細胞以外に傷害の及ばない)新規癌治療法が必要と考える。2011 年に Nature Medicine に発表された近赤外光を用いた光線免疫療法 (NIR-PIT; near infrared photoimmunotherapy) は米国国立癌研究所の小林久隆先生が発明した方法であり、既存の癌治療とは全く異なる原理を利用した斬新な癌治療法である。癌細胞表面にある特異抗原をターゲットとすることができる分子標的剤に蛍光色素 (IR700 色素) を結合させ、静脈注射により目的の癌細胞膜のみを特異的に標的とし、その後近赤外光を当てるだけの治療法である。新規癌治療法としての NIR-PIT の長所は以下の 4 点である。

1. 正常細胞 (非標的細胞) に一切ダメージを与えない。
2. 使用する分子標的剤は癌を標識する目的でのみ使用するので、その投与量は少量であり、分子標的剤による副作用・経済的負担、そして医療費を著明に減らすことができる。
3. 免疫応答を惹起する細胞死である immunogenic/necrotic cell death を引き起すため、直接的な細胞死だけでなく癌細胞に対する免疫応答を増強し、相乗的な細胞死滅効果が期待される。
4. 標的腫瘍に対する薬剤浸透性を著明に上昇させる効果がある (SUPR; super enhanced permeability and retention)。

以上の利点から、NIR-PIT は従来の癌治療体系を刷新させる可能性のある、極めて有望な治療法である。現在米国において、手術、放射線、抗癌剤治療で根治不可能な頭頸部癌を対象に Phase3 の治験が進行中であり、日本を含む世界中で頭頸部癌に対する治験が開始されている。消化器癌に対しては胃癌をターゲットにしたマウス実験での治療効果を申請者が報告している。今後、NIR-PIT は様々な臓器の癌に適用して世界で広く使用され得る新規癌治療法と考えられ、消化管癌や消化器癌をターゲットにした NIR-PIT や内視鏡を用いた NIR-PIT についても期待されている。

2. 研究の目的

NIR-PIT は蛍光色素をつけた分子標的剤を静脈注射で投与したあとに近赤外光を当てる治療法のため、充実臓器より管腔臓器の表面に生じる癌 (食道癌、胃癌、大腸癌) に特に有効であると思われる。NIR-PIT では、最初に癌細胞に発現している特異抗原を蛍光色素が結合された分子標的剤でラベルする必要がある。つまり、標的腫瘍にどのような抗原がどの程度の頻度で発現しているのか、どの分子標的剤をどのような組み合わせで使用すると効率がいいのかといった情報を事前の生検組織標本を用いて調べることが重要である。標的腫瘍を効率よく分子標的剤でラベルすることができれば、光源を搭載した内視鏡を挿入・近赤外光線を照射もしくは内視鏡を通しての光照射が想定される。そのため、消化器腫瘍に対する NIR-PIT の臨床応用のためには、消化器腫瘍に対する NIR-PIT が有効であることの証明 (効率の良い分子標的剤の選択)、蛍光内視鏡により標的腫瘍を認識すること、また、効率よく近赤外光を標的腫瘍に照射でき、治療中に治療効果を判定できることが重要である。

そこで、本研究では

1. 様々な消化管癌や消化管リンパ腫に対する NIR-PIT の有用性の検証 (標的とする癌に発現している特異抗原を治療前に効率よく検索する方法の確立)
2. 消化器腫瘍に対する NIR-PIT に必要な蛍光内視鏡の開発・改良
3. 標的腫瘍に効率よく近赤外光を照射する方法および治療効果判定指標の確立を目的とする。これらの目的を達成することで、消化管領域の腫瘍に対する内視鏡を用いた NIR-PIT を臨床応用することを最終目的とした。

3. 研究の方法

1. NIR-PIT の有用性の検証として消化器腫瘍に発現している特異抗原を生検病理組織から効率よく同定できるかを実際の生検組織や手術での摘出標本を用いて調べる。当院で内視鏡的切除もしくは手術にて切除された食道癌・胃癌・大腸癌症例の蓄積 (データベース作り) に加え、切除病理標本に対して免疫染色を行い、既存の癌特異抗原発現以外に NIR-PIT で効率よくターゲット可能な特異抗原の発現状況や発現頻度につき検討する。
2. 消化管癌に対する NIR-PIT に必須となる臨床応用可能な新たな蛍光内視鏡の開発をオリンパス社、FUJIFILM 社と協議する。オリンパス社により開発された小動物用 (実験用) 蛍光内視鏡の改良により臨床応用可能な内視鏡の開発をすすめていく。
3. NIR-PIT 治療判定法の確立のために in vivo 実験により、腫瘍における IR700 の蛍光強度を近赤外光照射前と照射後で比較し、照射後の蛍光強度低下程度を比較し、実際の治療効果を予測可能かどうかにつき検討する。治療効果は腫瘍サイズの増大、生存曲線などにより評価する。

4. 研究成果

1. 食道癌・胃癌・大腸癌の実際の切除標本を用いて、免疫染色を行い検討した。残念ながら既存の癌特異抗原として認識されている epidermal growth factor receptor (EGFR) や human epidermal growth factor receptor type 2 (HER2) 以上に癌に特異的で現在 FDA にて認可され、NIR-PIT の臨床応用可能な分子標的剤で標識可能な抗原の同定には至らなかったが生検組織においても抗原の同定は可能であった。例えば、HER2 陽性胃癌であれば trastuzumab を用いて NIR-PIT 可能であるが、胃癌における HER2 陽性胃癌は全体の 20%程度と少なく、残りの 80%程度の癌に対してはあらたな抗原の同定が必要と考えられ、引き続き検討していきたい。

2. 蛍光内視鏡の開発については、小動物蛍光内視鏡は使用できるようになっているが、目的としている蛍光が近赤外光領域であり、背景の自家蛍光とのコントラストが低いという問題点があったため、フィルターの調整などにより蛍光認識能は上昇させることは可能となった。この小動物用内視鏡を臨床で応用できるように協議を重ねているが、目的とする蛍光をコントラストよく抽出することの難しさや通常の内視鏡の改良と異なり、臨床でのニーズの低さなどの問題点もあり、臨床応用可能な蛍光内視鏡開発に関しては今後さらに検討が必要があり、臨床用の蛍光内視鏡開発には至らなかった。小動物用の蛍光内視鏡を用いた NIR-PIT については以前行った実験データをまとめ、ヒト胃癌細胞を用いた腹膜播種マウスモデルに対する trastuzumab を用いた内視鏡的 NIR-PIT の治療効果につき検討した。腫瘍マウスをコントロール群、trastuzumab-IR700 静脈注射のみの群、近赤外光照射のみの群、NIR-PIT 単回治療群 or/and 複数回治療群にわけて検討し、NIR-PIT 群は他のコントロール群と比較して優位 ($p < 0.01$) に腫瘍増大の抑制効果、予後改善効果を認めることを証明した。

3. 消化器癌に対する臨床応用を行っていくうえで、内視鏡・腹腔鏡を用いた NIR-PIT 中にどの程度治療効果が得られているかを予測するバイオマーカーは必須である。そこで、IRDye700DX の蛍光強度の減弱程度が治療効果予測因子になり得るかにつき検討した。ヒト胃癌細胞を用いたマウスモデルに対し、trastuzumab を用いた NIR-PIT を行い、蛍光強度が治療前と比較して 25%以下まで低下しなかった群 (NIR-PIT-1) と低下した群 (NIR-PIT-2) で検討を行った。Day 43 の平均腫瘍サイズは NIR-PIT-1 群で 1013 mm³、NIR-PIT-2 群で 613 mm³ と治療後の蛍光強度低下群で有意に腫瘍増大抑制効果を認め ($p < 0.05$)、平均生存日数も NIR-PIT-1 群で 50 日に対して NIR-PIT-2 群で 70 日と有意な生存期間延長が得られた ($p < 0.01$)。また、胃癌腹膜播種マウスモデルに対して NIR-PIT を行い、蛍光内視鏡による治療中の IRDye700DX の蛍光強度低下と治療効果につき検討を行ったところ、蛍光強度低下が多い腫瘍においては病理組織上、癌細胞壊死部が多く認められていた。以上の結果より IRDye700DX の蛍光強度の減弱程度は NIR-PIT 治療中に治療効果を予測できる因子になり得ると思われた。

これらの結果を中心に、消化器腫瘍に対する NIR-PIT の有用性につきアメリカ消化器関連週間: DDW (2018 年 6 月ワシントン D.C.開催)、米国腫瘍学会 (2019 年 3 月アトランタ開催)、日本消化器内視鏡学会総会 (2019 年 6 月東京開催)、日本消化管学会総会 (2020 年 2 月姫路開催)にて報告した。日本消化管学会で報告した「消化管癌に対する近赤外光線免疫療法 (NIR-PIT) の応用をめざして」の演題は優秀論文として推薦頂き、消化管学会英文誌である「Digestion」に掲載予定である。また本年開催の日本消化器病学会総会でも報告予定であり、消化器領域における NIR-PIT の実現にむけて動いている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Tadanobu Nagaya
2. 発表標題 Host immunity following near infrared photoimmunotherapy is enhanced with PD-1 checkpoint blockade to eradicate established highly antigenic tumors
3. 学会等名 American Association for Cancer Reserch (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tadanobu Nagaya
2. 発表標題 Endoscopic near infrared photoimmunotherapy using a diffuser and real-time fluorescence imaging for monitoring the therapeutic effects
3. 学会等名 第97回日本消化器内視鏡学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 長屋匡信
2. 発表標題 消化管癌に対する近赤外光線免疫療法 (NIR-PIT) の応用をめざして
3. 学会等名 第16回日本消化管学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 長屋匡信
2. 発表標題 近赤外光線免疫療法 (NIR-PIT) における蛍光強度低下による治療効果の予測
3. 学会等名 第106回日本消化器病学会総会
4. 発表年 2020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
--	---------------------------	-----------------------	----