

## 綜 説

## 新規癌治療法である近赤外光線免疫療法 (NIR-PIT)

長 屋 匡 信<sup>1)2)</sup>

1) 信州大学医学部内科学第二教室

2) National Institutes of Health (NIH), National Cancer Institute (NCI),  
Molecular Imaging Program (MIP)

## Near Infrared Photoimmunotherapy (NIR-PIT) as a New Cancer Treatment

Tadanobu NAGAYA<sup>1)2)</sup>1) *Department of Gastroenterology, The Second Internal Medicine,  
Shinshu University School of Medicine*2) *National Institutes of Health (NIH), National Cancer Institute (NCI),  
Molecular Imaging Program (MIP)***Key words**: photoimmunotherapy, molecular imaging, near infrared, NIR-PIT

光線免疫療法, 分子イメージング, 近赤外光, NIR-PIT

## I はじめに

現在, 癌の治療方法としては, ①手術療法 (外科的切除や内視鏡的切除など), ②化学療法, ③放射線治療の3つが主体である。これら既存の癌治療は癌細胞のみではなく, 周囲の正常組織や臓器にも傷害を与えることになってしまう。例えば抗癌剤治療においては, 正常細胞と癌細胞の双方に傷害を与えるが, 正常細胞が癌細胞より早期に回復することに基づいた治療法である。また, 手術であれば癌の周囲にある正常組織を含めての切除が必要であるし, 放射線治療においても照射範囲内にある正常細胞にも傷害が及んでしまう。これらの正常細胞・組織への傷害は副作用として患者の体に大きな負担を強いるわけである。

従って, 正常細胞や組織を傷害することなく, 特異的に体内の癌細胞のみに傷害を与えることができるような極めて特異的な癌治療法があれば, 癌に対しては強力でありつつも, 副作用がない治療法となり得る。この理論に基づいた新しい癌治療法として近赤外光を用いた近赤外光線免疫療法 (Near Infrared Photoimmunotherapy; NIR-PIT) が2011年に *Nature Medicine* に発表された<sup>1)</sup>。

本稿ではこの新しい癌治療法である NIR-PIT の開発経緯, 基本理念や原理に加え, 実際の作用と効果, 他の癌治療, 特に既存の光線力学療法との違い, さまざまな臓器の癌への応用法, 本治療による抗腫瘍免疫増強効果などにつき論じる。

## II 分子イメージング

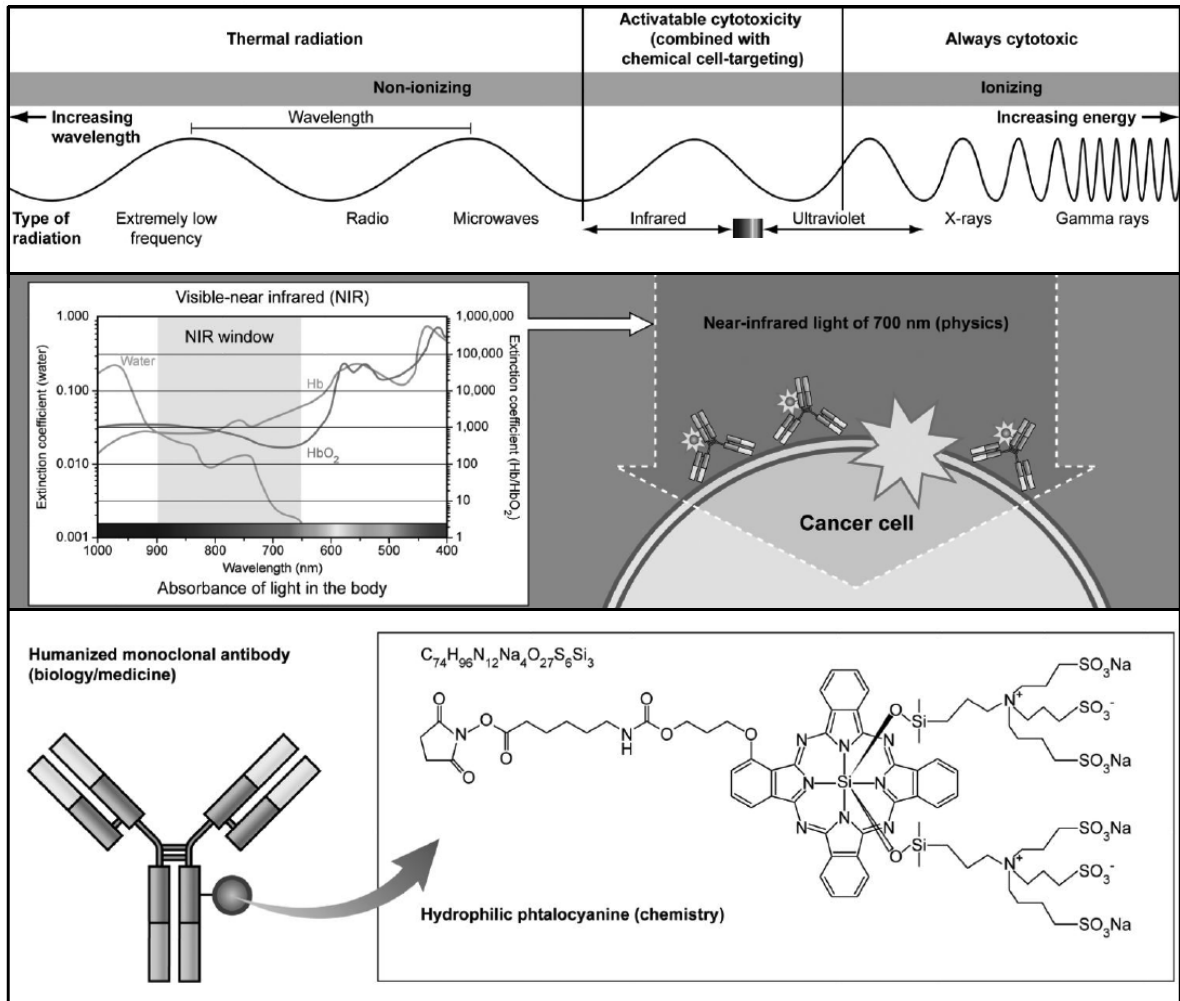
近年, 様々な分野で「分子イメージング (molecular imaging)」という言葉が用いられている。実際の診療の場においても分子イメージング法が応用されている<sup>2)~4)</sup>。例えば, Positron emission tomography (PET) 検査のような核医学イメージングや Magnetic Resonance Imaging (MRI) 検査, また, 気泡・液泡 (バブル) を用いた造影超音波検査は分子イメージング技術を応用した画像診断法である。また, 分子イメージング技術を応用した光イメージング法を応用した手術治療 (FGS; fluorescence-Guide Surgery) も盛んに研究されている<sup>5)6)</sup>。実際に臨床で行われている sentinel lymph node mapping は FGS の代表である<sup>7)~9)</sup>。

分子イメージング法の基本概念は, 「標的細胞のみを特異的に標識する」ことである。癌診療においては「癌細胞のみを光らせる」ことができ, この光エネルギーを生物学的細胞傷害性へと転用することができれば癌細胞のみを傷害することができるようになる。こ

別刷請求先: 長屋匡信 〒390-8621

松本市旭3-1-1 信州大学医学部内科学第二教室

E-mail: nagaya@shinshu-u.ac.jp



(文献 1 より引用改変)

図 1 近赤外光線免疫療法の方法と作用の図解

近赤外光は人体に無害な光であり（上段）、水やヘモグロビンに吸収されにくい性質を持つ（中段）。抗体-IR700結合体（下段）と近赤外光を用いることで正常細胞には影響を与えず、抗体-IR700結合体の結合した細胞のみを傷害する。

のような概念を元にアメリカ国立癌研究所（National Cancer Institute; NCI）の小林久隆主任率いる研究チームにより新しい癌治療法である NIR-PIT が開発された<sup>1)</sup>。

### Ⅲ 近赤外光線免疫療法の基本理論

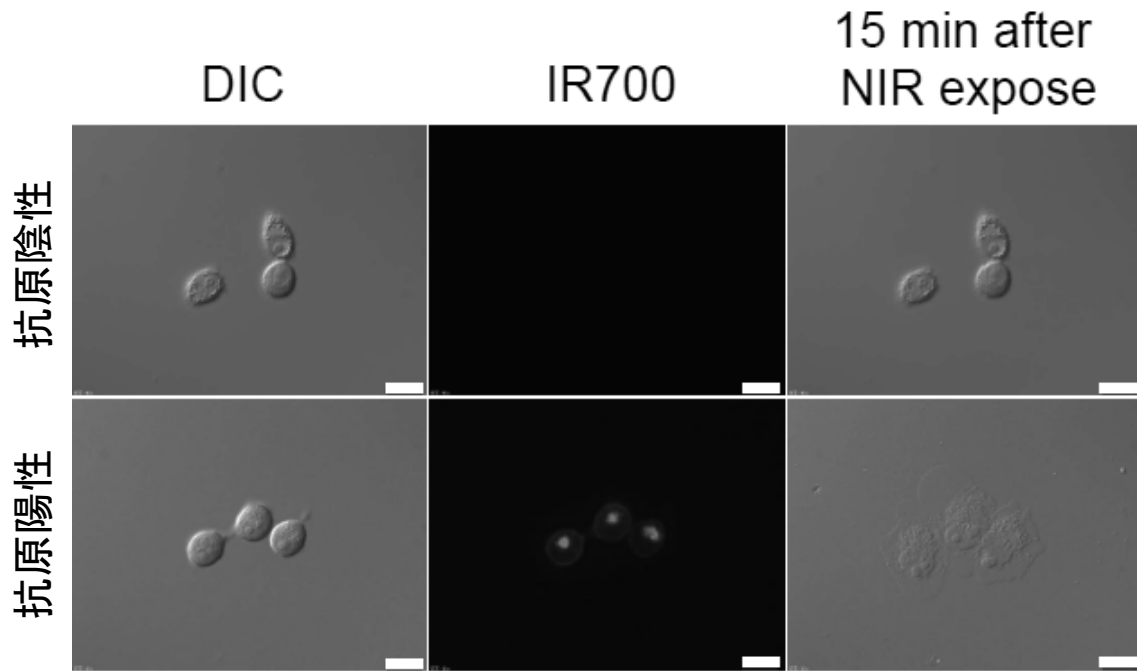
#### A 近赤外光線

物理・化学的な作用で細胞に傷害を与えるためには、標的細胞のある局所でのみ反応を起こす効率の良いエネルギーが必要である。既知の現象のなかでは光化学反応のみがこのような効果を起こし得る。光化学反応を効率良く起こすためには、エネルギーの高い短波長の光が必要であるが、これら短い波長の光には DNA の非特異的な損傷がある。そのため DNA 損傷のない

紫外線より長い波長を用いる必要がある。また、臨床応用を想定した場合に、体の深部に十分な光（光子）を到達させる必要もある。そのためには可視光の吸収効率が高く体内に多量に存在するヘモグロビンの吸収波長を避けた700～850 nm 程度の近赤外領域の波長の光が適している（図 1）。近赤外光はテレビやエアコンのリモコン、CD プレーヤー、ワイヤレスデジタル通信などに使用されていることからわかるように、人体に照射されても悪影響を与えることはほとんどない安全な光である。この人体に無害な光を用いて標的とした癌細胞のみを攻撃することができれば、正常細胞には傷害が及ばない。

#### B 光治療製剤結合抗体

光治療を実現させるためには、近赤外光と組み合わ



(文献16より引用改変)

図2 近赤外光線免疫療法による細胞死

Prostate-specific membrane antigen (PSMA) 抗原陰性の前立腺癌細胞に抗 PSMA 抗体-IR700 結合体を投与しても、癌細胞は蛍光を示さず、近赤外光線照射後も細胞に変化を認めない (上段)。一方、PSMA 抗原陽性の前立腺癌細胞においては IR700 の蛍光を認識でき、近赤外光照射15分後には細胞が破裂している。Differential interference contrast (DIC), White bar = 20  $\mu$ m。

せることで、選択的に癌細胞のみに傷害を与えることができる物質が必要となる。既存の生体内分子のなかで、細胞の膜表面分子に特異的かつ安定して結合することが可能な分子は抗体である。実際に、最も利用しやすい IgG クラスの抗体を用いた治療薬は数多く開発され、現在認可され臨床に使用されている抗体だけでも30種類以上あり、年々その数は増加している<sup>10)11)</sup>。そこで、抗体に結合させることによって癌細胞上に運ぶことができる程度に小さな有機合成分子で、さらに効率よく700 nm から850 nm の近赤外領域の光子を吸収してエネルギーを発生し、抗体の結合した細胞のみを傷害できる化学分子が必要となる。様々な組み合わせの研究により、最も効率よく細胞障害を引き起こせる分子として IRDye700DX (IR700) といわれる silicon-phthalocyanine の誘導体と700 nm の近赤外光線の組み合わせが発見された (図1)。抗体-IR700 結合体は、その後の様々な実験により培養細胞においても動物実験においても、特異的かつ効率的に標的癌細胞のみを傷害できることが証明された<sup>1)12)-26)</sup>。

#### IV 近赤外光線免疫療法の機序

NIR-PIT は既存の癌治療と比べると治療機序が大きく異なっている。細胞表面に結合した抗体-IR700 結合体に近赤外光 (700 nm) を照射すると、IR700 に起こる化学反応によって、細胞表面の脂質二重膜に急速に傷害が及び<sup>27)</sup>、細胞形態が変化した後に破裂し、細胞質の内容物が漏出して数分以内に免疫原性細胞死 (immunogenic cell death; ICD) が惹起される (図2)<sup>28)</sup>。近赤外光照射自体は細胞に無害であるため、抗体-IR700 結合体の結合した標的細胞にのみ傷害を与えることが可能である。実際に抗体-IR700 結合体が結合した細胞と結合していない細胞を共培養した後に同時に近赤外光を照射しても、抗体-IR700 結合体が結合した細胞にのみ免疫原性細胞死が認められ、隣接する抗体-IR700 結合体が結合していない細胞は全く傷害を受けない<sup>1)</sup>。NIR-PIT による細胞傷害は、細胞が全ての生理機能が停止する摂氏4度においても、摂氏37度で実験を行ったときと同様に認められる。これは、NIR-PIT による細胞膜の傷害が、何らかの生理現象によって引き起こされるものでも、熱によって

	Apoptotic cell death (アポトーシス)	Immunogenic cell death (免疫原性細胞死)
免疫賦活	Non-immunogenic	Immunogenic
細胞死	Biological death	Physical/chemical death
細胞死までの時間	>6 hrs to days	Seconds to minutes
細胞死を起こす 主な治療	Induced by (to non-selective cells) Drugs/chemotherapy Radiation Photodynamic therapy (to selective cells) Molecular target Antibodies Small molecules	Induced by (to non-selective cells) Heat Cryotherapy Focused Ultrasound (to selective cells) <u>NIR-PIT</u>

図3 アポトーシスと免疫原性細胞死の違い

アポトーシスは化学療法や放射線療法で惹起される細胞死で、6時間～数日かけて細胞が縮んで死んでいく。一方、NIR-PITで惹起される免疫原性細胞死は秒～分単位で細胞が傷害される。

引き起こされるものでもないことを示している。また、高濃度の活性酸素の中和剤を加えた状況下でも細胞傷害が認められる。これらの事実からも、NIR-PITの細胞膜傷害は近赤外光を吸収したIR700が光化学的な変化を起こす直接的な作用によるものと考えられる。最近、NIR-PITの細胞膜傷害が抗体-IR700結合体の光化学的な直接作用によるということが、原子間顕微鏡（Atomic Force Microscopy）を用いた実験において証明された<sup>27)</sup>。つまり、NIR-PITは既存の3大癌治療とは全く異なる光化学的な原理で標的とする癌細胞のみを超特異的に傷害できる新しい第4の癌治療法ということになる。

#### V 光線力学療法（PDT）vs 近赤外光線免疫療法（NIR-PIT）

既存の光線力学療法として photo dynamic therapy（PDT）があり、臨床応用されている。PDTは光吸収分子としてポルフィリン誘導体を用いるが、NIR-PITとは理論と作用機序に大きな違いがある。PDTで使用される小分子は脂溶性であるため、体内挙動によって多少癌細胞に特異性があるものの、正常細胞を含むすべての細胞に取り込まれる。その結果、光照射により薬剤を励起させると照射部位に存在するほぼ全ての細胞が傷害される。さらに、その細胞障害機序は細胞内での活性酸素の産生により誘導されるアポト

シスである。また、照射される光は近赤外光より波長が短い可視光線であり、組織にすぐに吸収されてしまうため組織内では数mm程度しか透過しない<sup>29)30)</sup>。

一方、NIR-PITの細胞障害は活性酸素の誘導を必要としない細胞死であり<sup>31)</sup>、使用される光吸収分子であるIR700は水溶性であるため、正常細胞に非特異的に取り込まれることはなく、抗体と組み合わせていない場合には細胞障害を起こさず、抗体-IR700結合体が結合した細胞にのみ細胞死を惹起する。また、後に言及するが、NIR-PITによる細胞死がPDTで惹起されるアポトーシスとは異なる免疫原性細胞死（ICD）であることも癌治療においては非常に重要なポイントである（図3）<sup>28)</sup>。また、使用される近赤外光は理論的には組織内に数cm程度透過するため<sup>32)</sup>、より深い部位に存在する腫瘍も標的可能<sup>33)</sup>であることなど、NIR-PITは既存の光線力学療法とは全く異なる機序の治療法である。

#### VI 近赤外光線免疫療法の適応と治験

NIR-PITは癌細胞に特異的に結合する抗体にIR700を接合し、静脈注射後に人体に無害な近赤外光を標的部位に照射するのみの簡単な治療のため、理論的には現在認可され、臨床で癌治療に使用されている抗体全てに応用可能である。特に癌細胞膜の抗原にのみ特異的に結合する分子標的剤を用いることで、全身

の様々な癌腫の80 %程度の癌に対する治療が可能と考える。実際、我々が行った動物実験においても、human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) を用いた乳癌<sup>21)</sup>、胃癌、epidermal growth factor receptor (EGFR) を用いた皮膚癌<sup>1)34)</sup>、肺癌<sup>22)24)25)</sup>、大腸癌<sup>35)</sup>、膀胱癌<sup>20)</sup>、prostate-specific membrane antigen (PSMA) を用いた前立腺癌<sup>16)</sup>、glypican-3 (GPC3) を用いた肝細胞癌<sup>12)</sup>など、様々な癌腫で治療効果が証明されている。また、抗 CD20抗体 (Ritximab) -IR700結合体を用いたB細胞リンパ腫の NIR-PIT においても治療効果が認められている (図4)<sup>18)</sup>。その他にも mesothelin を使用しての治療<sup>19)</sup>、癌幹細胞マーカーである CD44抗原を標的とした治療<sup>15)35)</sup>、免疫チェックポイントインヒビターである Programmed death-ligand 1 (PD-L1) を用いた治療<sup>17)</sup>など、癌種を限定せずに行える NIR-PIT も可能である。

NIR-PIT はまったく新しい概念の治療法であると同時に、方法論としては“周囲の細胞を傷害することなく、目的の細胞を生体の局所から取り除くことができる”はじめての治療法である。2015年3月よりアメリカ食品医薬品局 (FDA) によって薬剤承認された“Cetuximab-IR700 結合体; RM-1929”を用いて、EGFR を標的とした頭頸部および上部食道の扁平上皮癌に対する第 I 相臨床試験が開始された (<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02422979>)。2017年には第 II 相試験が終了し、2018年の米国臨床腫瘍学会にて良好な結果が報告されたことにより、早期承認制度に基づいた世界での第 III 相試験へとすすんでいる。本邦においても国立癌センター東病院を中心に RM-1929を用いた頭頸部癌に対する NIR-PIT の試験が行われている。治療自体は RM-1929を外来にて点滴投与し、24時間後に近赤外光線を直接照射する方法で、外来通院での治療が可能である。また、使用される抗体は癌細胞の標識目的でのみ使用されるため、通常の抗体治療で使用される用量よりも少なく、医療経済的にも極めて優れた治療法である。

さらに、前臨床実験では新しい NIR-PIT の適応や他の治療を組み合わせた癌治療戦略の開発がすすめられている (図5)。NIR-PIT 治療後の癌細胞において治療前と比べて抗腫瘍薬剤の到達率が増加する特性である、super enhanced permeability and retention (SUPR) 効果を利用した癌治療<sup>36)~38)</sup>や広範に散らばった癌細胞を短時間の近赤外光照射で消滅することができる特性を生かした、卵巣癌や胃癌の腹膜播種に

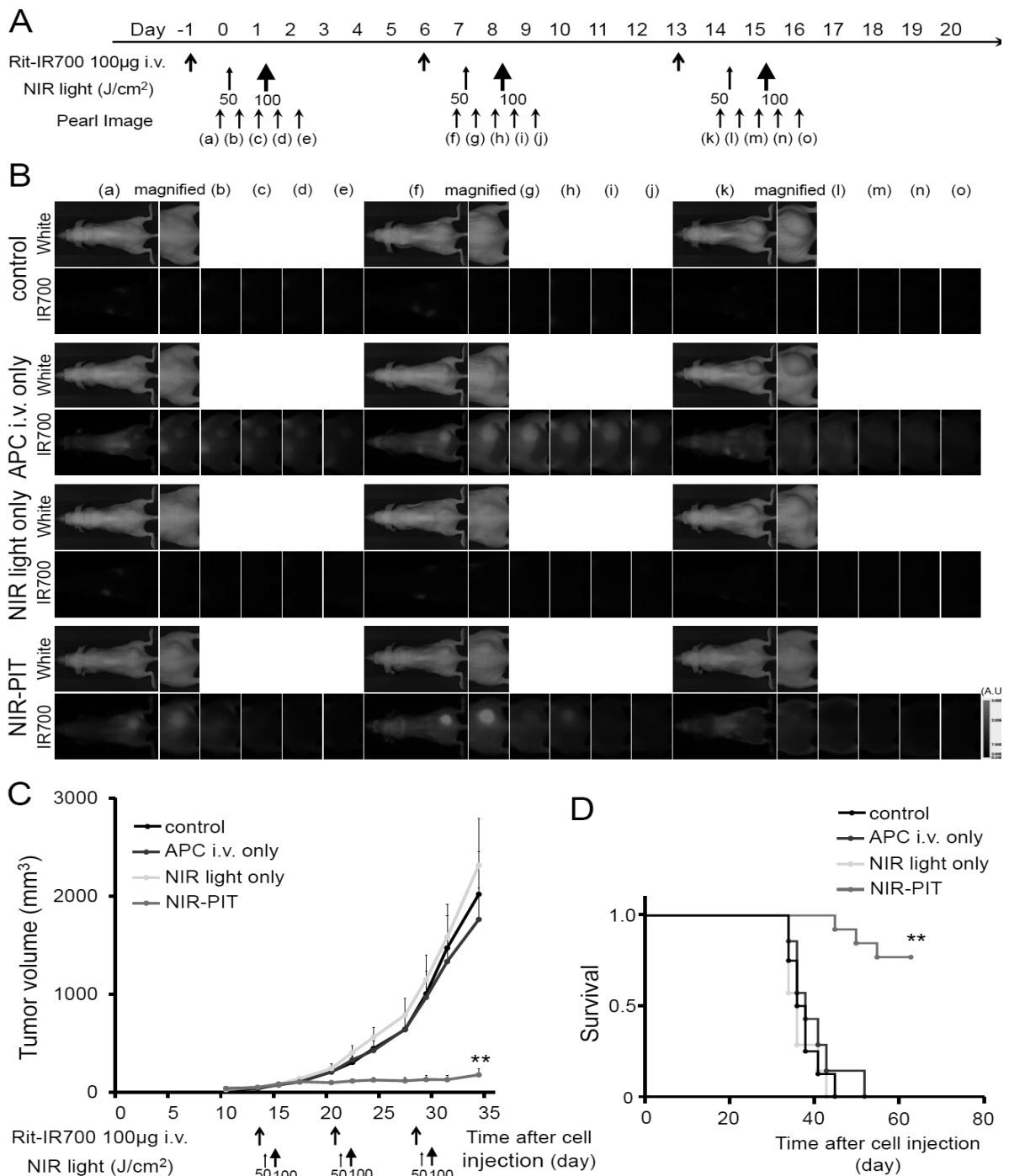
対する内視鏡や光拡散ファイバーを用いた治療<sup>39)40)</sup>、膀胱癌に対する近赤外光線免疫療法と外科手術を併用し膀胱癌の再発を抑制する実験<sup>41)</sup>などで良好な成績を得ている。また、近赤外光の組織透過性を利用し、骨髄腫瘍や頭蓋内腫瘍などへの NIR-PIT の応用についても検討されている<sup>33)</sup>。さらに癌に対する自己免疫の抑制に関与する制御性 T細胞を標的に抗 CD25抗体 -IR700結合体を用いた NIR-PIT により癌免疫を活性化する実験にも成功している<sup>42)</sup>。

## Ⅶ 近赤外光線免疫療法による腫瘍免疫増強

前章で示したように、NIR-PIT は標的細胞の細胞膜を傷害して細胞を破裂させることで、既存の放射線治療や化学療法、PDT などで引き起こされる細胞死であるアポトーシスとは異なる免疫原性細胞死が惹起される (図3)<sup>28)43)~45)</sup>。免疫原性細胞死は熱や超音波のように直接細胞に機械的な傷害を与えることで惹起され、アポトーシスとは異なり短時間で細胞が死滅する。この細胞死が「免疫原性」といわれる所以は、このような形で選択的に癌細胞のみを傷害した場合には細胞構成物 (蛋白、核酸など) が傷害されない形で細胞外に放出される。これらの細胞内容物により近傍に存在する免疫応答細胞である樹状細胞 (Dendritic cell; DC) が活性化され腫瘍抗原がリンパ球に提示される。次いでリンパ球が活性化され CD8陽性傷害性 Tリンパ球となり、自己免疫サイクルが活性化されることによりさらに癌細胞に傷害がおよぶ。アポトーシスにおいては癌細胞内容物の放出がないため、これらの免疫サイクルは活性化されない。さらに、放射線治療のように周囲の樹状細胞を含む免疫応答細胞も傷害してしまう治療では免疫サイクルはさらに効率よく働かないと考えられる。

NIR-PIT では、癌細胞より放出される adenosine triphosphate (ATP), calreticulin (CRT), high mobility group box 1 (HMGB1) といった細胞死のシグナルが樹状細胞の成熟を促進させる上、腫瘍近傍にあるリンパ球を効率よく活性化できることも報告されている (図6, 7)<sup>28)</sup>。その結果、NIR-PIT 単独療法においても癌細胞を直接傷害できるだけでなく、自己における腫瘍免疫も増強することが可能である。

実際の動物実験においては繰り返し NIR-PIT を行うことで癌のコントロールは可能であるにも関わらず、癌が完全に消失することは少ない。NIR-PIT による免疫原性細胞死により自己免疫が活性化されていても、



(文献18より引用)

図4 B細胞リンパ腫における近赤外光線免疫療法の効果

B細胞リンパ腫に対して抗CD20抗体(Rituximab)を用いたNIR-PITを行った。抗CD20-IR700結合体の投与翌日に50 J/cm<sup>2</sup>、翌々日に100 J/cm<sup>2</sup>の近赤外光を照射する方法を週1回行い、3週間治療した(A)。右腰部に腫瘍を移植したマウスを、コントロール群、抗CD20-IR700結合体のみを投与した群、近赤外光線のみを照射した群、抗CD20-IR700結合体投与後に近赤外光線を照射した群(NIR-PIT群)の4群で評価した。抗CD20-IR700結合体を投与したマウスでは腫瘍部分にIR700の蛍光を認識できる。近赤外光照射によりこの蛍光強度は低下する(B)。腫瘍サイズを計測するとNIR-PIT群は他の3群と比較して有意に腫瘍増大抑制効果を認め( $p < 0.01$ )(C)、生存期間も有意に延長した( $p < 0.01$ )(D)。

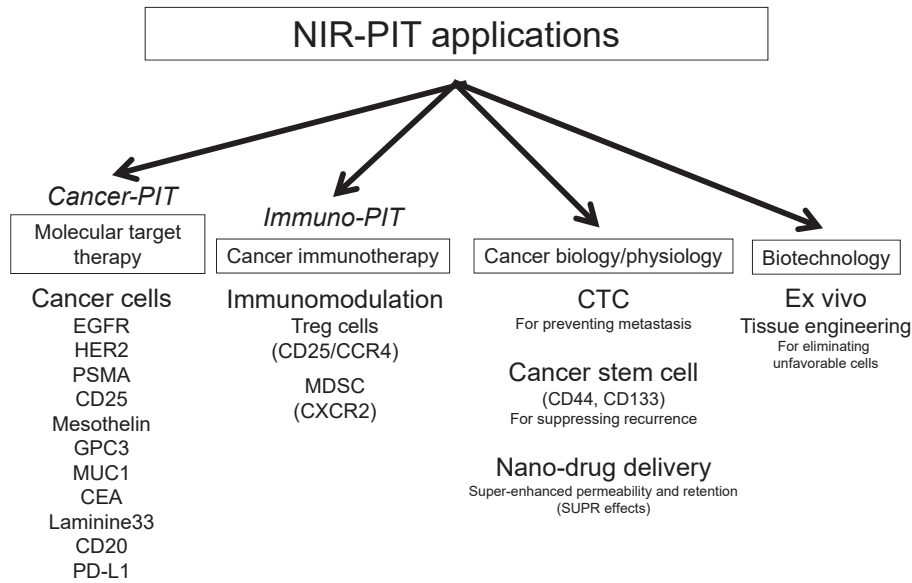
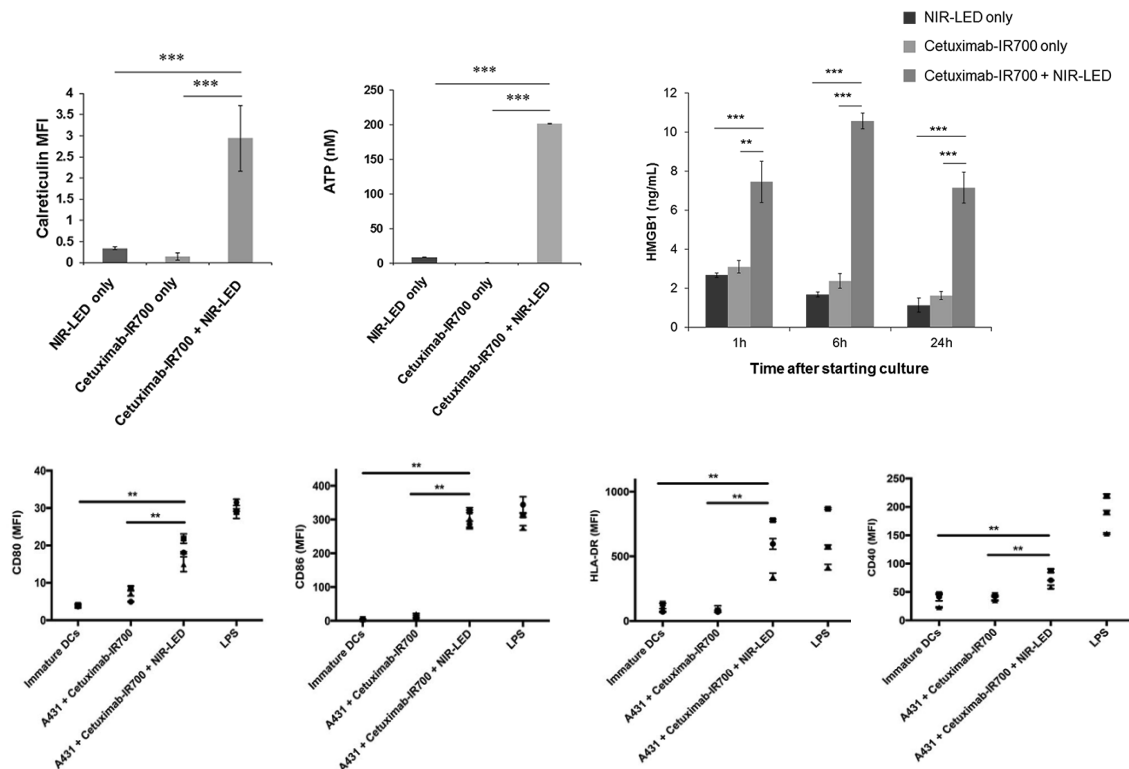


図5 近赤外光線免疫療法のさまざまな応用法

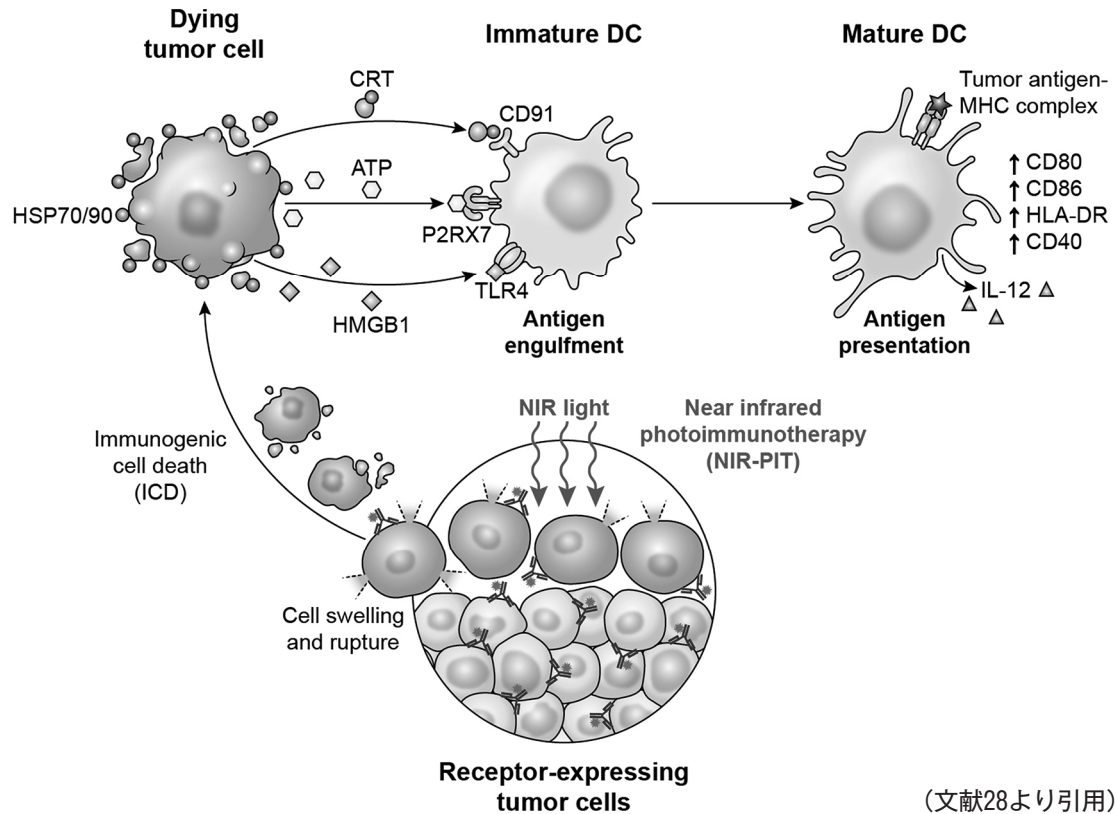
EGFRをはじめとした癌特異抗原に対する NIR-PIT 以外にも、制御性 T 細胞 (Treg) や骨髄由来免疫抑制細胞 (MDSC) を標的とした免疫賦活目的の NIR-PIT、末梢循環腫瘍細胞 (CTC) や癌幹細胞をターゲットした NIR-PIT, SUPR 効果を利用した抗腫瘍剤の輸送増加目的の NIR-PIT などが研究されている。



(文献28より引用改変)

図6 近赤外光線免疫療法による免疫原性細胞死

NIR-PIT による免疫原性細胞死を検討した。免疫原性細胞死で認められる calreticulin (CRT), adenosine triphosphate (ATP), high mobility group box 1 (HMGB1) などの分子は、近赤外光照射のみ、抗体 (Cetuximab) -IR700 結合体投与のみでは増加しない。一方、NIR-PIT においては有意に増加する。また、治療 1 時間後、6 時間後および 24 時間後のすべての状態で有意に HMGB1 が増加している (上段)。樹状細胞の活性化の際に細胞膜に発現される抗原である CD40, CD80, CD86, HLA-DR は NIR-PIT 後に有意に増加している。この増加は樹状細胞を lipopolysaccharide (LPS) にて刺激した際 (陽性コントロール) と同様に認められている (下段)。



(文献28より引用)

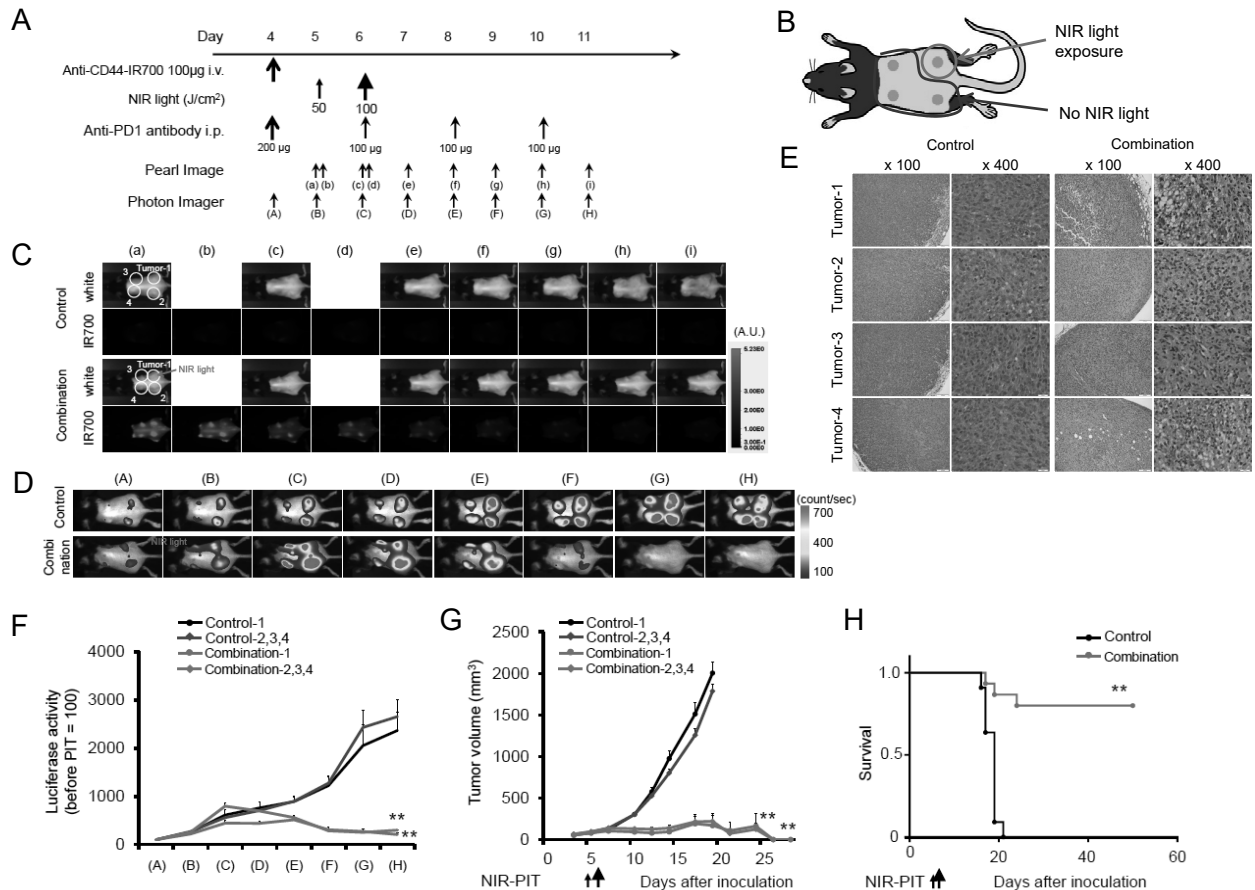
図7 近赤外光線免疫療法による免疫原性細胞死の図説

NIR-PITにより免疫原性細胞死が起こり、calreticulin (CRT), adenosine triphosphate (ATP), high mobility group box 1 (HMGB1)などの抗原が放出され、未成熟の樹状細胞 (Immature DC) がこれらの抗原を認識して成熟樹状細胞 (Mature DC) へと分化する。

癌による免疫寛容システムにより癌細胞自身が自己免疫より逃れているためである。前述した制御性T細胞もそうであるし、最近話題となっているPD-1/PD-L1やcytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4 (CTLA4)などの免疫チェックポイント機構が癌免疫において重要な自己免疫からの逃避機構として働いている。現在、免疫チェックポイントインヒビターは癌に対する新しい治療薬として広く臨床応用され効果をあげている。

理論的にはNIR-PITによる免疫原性細胞死による自己免疫活性化と同時に免疫チェックポイントインヒビターを投与すれば自己免疫機構が活性化されるはずである。そこで、著者らは大腸癌のマウスモデルを用い、癌幹細胞膜上のCD44を標的としたNIR-PITと抗PD-1抗体治療薬との併用療法を行った。NIR-PIT治療による局所の癌の消失に加え、およそ8割のマウスで光照射を行っていない部位の癌も完全に消失した(図8)。また、癌が完全に消失したマウスにおいては同じ癌の再発を認めなかった。腫瘍および腫瘍周囲の

免疫細胞を解析したところ、癌に対して働くCD8陽性の細胞障害性T細胞が、NIR-PIT治療をしていない遠隔にある腫瘍やその近傍にも認められ、腫瘍を傷害するためにT細胞より放出されるインターフェロン $\gamma$ も有意に増加していた(図9)<sup>35)</sup>。これはNIR-PIT後に活性化されたT細胞が残存する癌細胞や遠隔の癌細胞も効率よく傷害しているということになる。また、癌に対する特異的な自己抗体(memory T細胞)を産生することで再発も抑えることができる(図10)。もし、この方法が臨床に実現できるのであれば、病気が進行し、遠隔転移がある状態でも、局所の光照射が容易な癌病巣にのみNIR-PITを行い、同時に抗PD-1抗体を投与することで体内にある同じ性質をもった全ての癌に治療効果が期待できる上、治療が成功した場合には再発の危険が低下する。実際に米国で行われている臨床治験においては、治験参加者はあらゆる既存の標準治療後の残存もしくは再発例の頭頸部癌患者さんが登録され、結果的に約半数の症例で癌が消失するという治療効果が認められ、その結果が米国



(文献35より引用)

図8 遠隔転移モデルにおける近赤外光線免疫療法と免疫チェックポイントインヒビター併用療法の効果

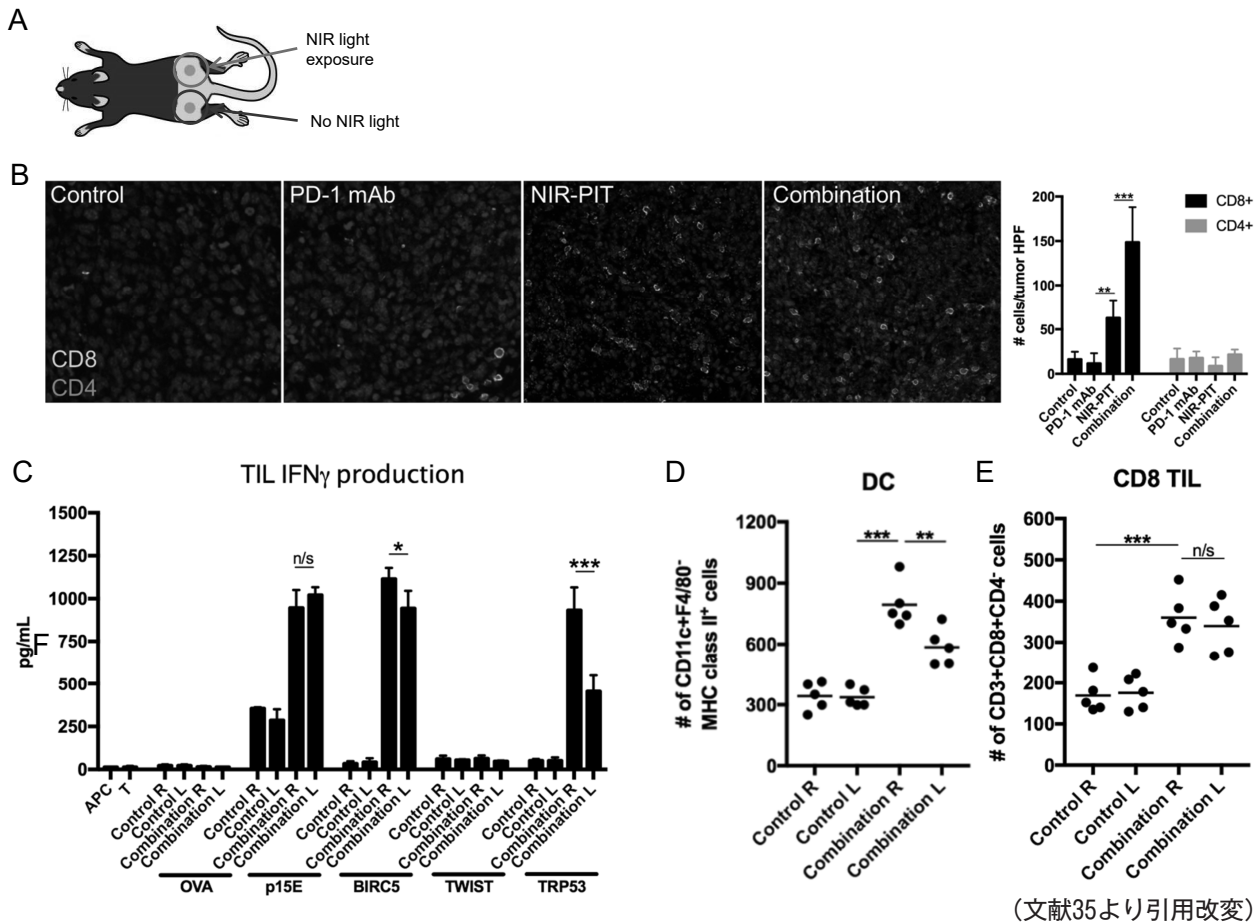
治療は抗 CD44-IR700 結合体投与翌日および翌々日に近赤外光線照射を行い、抗 PD-1 抗体を抗体投与と同時に開始し、隔日で 4 回投与している (A)。免疫を有するマウスの背部 4 か所に同じ腫瘍を移植し、近赤外光を右腰部の 1 か所のみ照射した (B)。蛍光イメージ画像では腫瘍に一致した IR700 の蛍光を認めている (C)。癌の活動性を示すルシフェラーゼ活性の推移において、コントロール群は 4 か所全ての癌で経過とともに増加しているのに対し、治療群では治療後 4-5 日で近赤外光を照射した腫瘍に加え、近赤外光を照射していない腫瘍も全て消失している (D)。組織学的にも治療したマウスの腫瘍は 4 か所全てで癌細胞壊死を認め、腫瘍部分には著明なリンパ球浸潤を認めている (E)。ルシフェラーゼ活性を定量化すると、治療群では近赤外光線を照射した腫瘍 1 つと照射を行っていない残りの 3 つの腫瘍で同様に活性が低下している (F)。腫瘍サイズにおいても治療群で有意に腫瘍は縮小し (G)、およそ 80 % のマウスで完全に癌が消失し長期生存が得られている (H)。

腫瘍学会で報告された。

## VIII おわりに

本稿においては、既存の 3 大癌治療法とはことなる新しい第 4 の癌治療法としての近赤外光線免疫療法 (NIR-PIT) につき、開発理論、治療法の機序、さらには臨床応用の可能性、治験の進捗状況、既存の光線

力学療法との違い、免疫賦活効果などにつき解説した。理論的には本治療のような超特異的な癌治療は癌に対しては強力でありながら、正常組織の傷害はなく、患者にとって理想的な治療法となり得る。現在世界各国で行われている治験をもとに、早い段階での臨床応用を期待したい。人間が癌を克服できる日も遠くないのではないだろうか。



(文献35より引用改変)

図9 近赤外光線免疫療法による免疫賦活

腫瘍部での免疫賦活状態を確認するために、免疫をもつマウスの腰部2カ所に腫瘍を移植し、右側の腫瘍にのみ NIR-PIT を行った (A)。腫瘍組織の蛍光染色による検討では、コントロール群、抗 PD-1 抗体のみ投与した群、NIR-PIT のみの群、NIR-PIT と抗 PD-1 抗体の併用群の4群を比較すると、併用療法群において有意に細胞障害性 CD8 陽性リンパ球が腫瘍内に増加している (B)。腫瘍内浸潤リンパ球 (TIL) より産生されるインターフェロン $\gamma$ も NIR-PIT を行った腫瘍と NIR-PIT を行っていない腫瘍との両方に同様に認められている (C)。フローサイトメトリーによる検討においても樹状細胞 (Dendritic cell; DC)、CD8 陽性の TIL が近赤外光を照射した腫瘍および照射していない腫瘍ともに増加している (D, E)。

## 文 献

- 1) Mitsunaga M, Ogawa M, Kosaka N, Rosenblum LT, Choyke PL, Kobayashi H: Cancer cell-selective in vivo near infrared photoimmunotherapy targeting specific membrane molecules. Nat Med 17: 1685-1691, 2011
- 2) Beaurain M, Salabert AS, Ribeiro MJ, et al: Innovative Molecular Imaging for Clinical Research, Therapeutic Stratification, and Nosography in Neuroscience. Front Med (Lausanne) 6: 268, 2019
- 3) Chen F, Madajewski B, Ma K, et al: Molecular phenotyping and image-guided surgical treatment of melanoma using spectrally distinct ultrasmall core-shell silica nanoparticles. Sci Adv 5: eaax5208, 2019
- 4) Digital M, Digital I, Liver C, Clinical P, Medical I, Molecular I: [Guidelines for application of computer-assisted indocyanine green molecular fluorescence imaging in diagnosis and surgical navigation of liver tumors (2019)]. Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao 39: 1127-1140, 2019

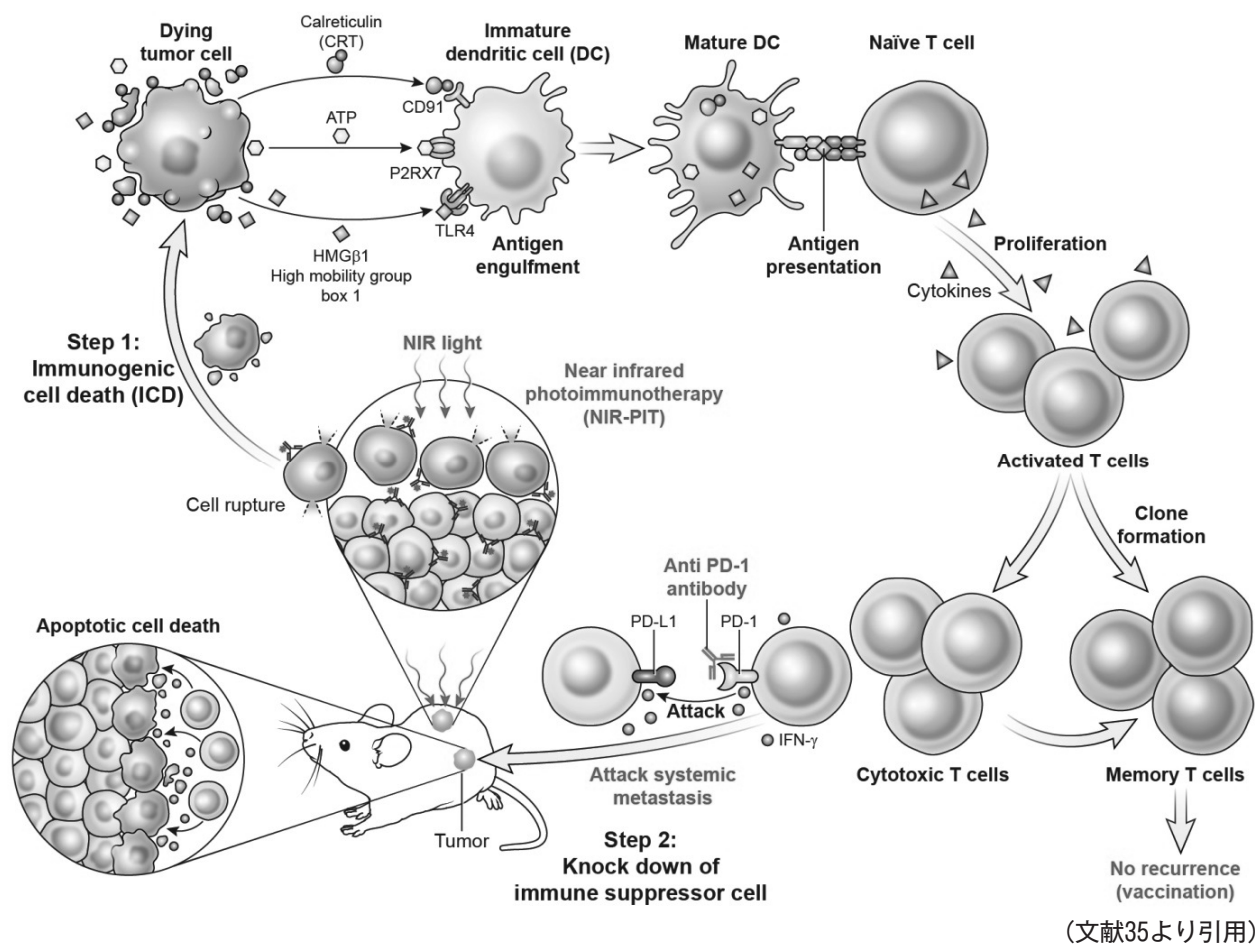


図10 近赤外光線免疫療法と免疫チェックポイントインヒビター併用療法の図説

Step 1として癌を標的としたNIR-PITにより免疫原性細胞死を引き起こす。細胞より放出されたさまざまな抗原を樹状細胞が認識し、樹状細胞の活性化が生じる。樹状細胞からのシグナルによりT細胞が活性化し、CD8陽性の細胞障害性T細胞やメモリーT細胞へと分化する。免疫チェックポイント機構によりT細胞からの攻撃を逃れている癌に対して、Step 2として免疫チェックポイントインヒビターを投与することで効率よく癌治療を行うことができる。

- 5) Mochida A, Ogata F, Nagaya T, Choyke PL, Kobayashi H: Activatable fluorescent probes in fluorescence-guided surgery: Practical considerations. *Bioorg Med Chem* 26: 925-930, 2018
- 6) Nagaya T, Nakamura YA, Choyke PL, Kobayashi H: Fluorescence-Guided Surgery. *Front Oncol* 7: 314, 2017
- 7) Krag DN, Weaver DL, Alex JC, Fairbank JT: Surgical resection and radiolocalization of the sentinel lymph node in breast cancer using a gamma probe. *Surg Oncol* 2: 335-339; discussion 340, 1993
- 8) Morton DL, Wen DR, Wong JH, et al: Technical details of intraoperative lymphatic mapping for early stage melanoma. *Arch Surg* 127: 392-399, 1992
- 9) Norman J Jr., Cruse W, Ruas E, et al: The expanding role of lymphoscintigraphy in the management of cutaneous melanoma. First Place Winner: Conrad Jobst award. *Am Surg* 55: 689-694, 1989
- 10) Buss NA, Henderson SJ, McFarlane M, Shenton JM, de Haan L: Monoclonal antibody therapeutics: history and future. *Curr Opin Pharmacol* 12: 615-622, 2012
- 11) Rosenblum LT, Choyke PL, Kobayashi H: Quantitative and specific molecular imaging of cancer with labeled engineered monoclonal antibody fragments. *Ther Deliv* 2: 345-358, 2011

- 12) Hanaoka H, Nagaya T, Sato K, et al: Glypican-3 targeted human heavy chain antibody as a drug carrier for hepatocellular carcinoma therapy. *Mol Pharm* 12: 2151-2157, 2015
- 13) Harada T, Nakamura Y, Sato K, et al: Near-infrared photoimmunotherapy with galactosyl serum albumin in a model of diffuse peritoneal disseminated ovarian cancer. *Oncotarget* 7: 79408-79416, 2016
- 14) Maruoka Y, Nagaya T, Sato K, et al: Near Infrared Photoimmunotherapy with Combined Exposure of External and Interstitial Light Sources. *Mol Pharm* 15: 3634-3641, 2018
- 15) Nagaya T, Nakamura Y, Okuyama S, et al: Syngeneic Mouse Models of Oral Cancer Are Effectively Targeted by Anti-CD44-Based NIR-PIT. *Mol Cancer Res* 15: 1667-1677, 2017
- 16) Nagaya T, Nakamura Y, Okuyama S, et al: Near-Infrared Photoimmunotherapy Targeting Prostate Cancer with Prostate-Specific Membrane Antigen (PSMA) Antibody. *Mol Cancer Res* 15: 1153-1162, 2017
- 17) Nagaya T, Nakamura Y, Sato K, et al: Near infrared photoimmunotherapy with avelumab, an anti-programmed death-ligand 1 (PD-L1) antibody. *Oncotarget* 8: 8807-8817, 2017
- 18) Nagaya T, Nakamura Y, Sato K, Harada T, Choyke PL, Kobayashi H: Near infrared photoimmunotherapy of B-cell lymphoma. *Mol Oncol* 10: 1404-1414, 2016
- 19) Nagaya T, Nakamura Y, Sato K, et al: Near infrared photoimmunotherapy with an anti-mesothelin antibody. *Oncotarget* 7: 23361-23369, 2016
- 20) Nagaya T, Okuyama S, Ogata F, et al: Near infrared photoimmunotherapy targeting bladder cancer with a canine anti-epidermal growth factor receptor (EGFR) antibody. *Oncotarget* 9: 19026-19038, 2018
- 21) Nagaya T, Sato K, Harada T, Nakamura Y, Choyke PL, Kobayashi H: Near Infrared Photoimmunotherapy Targeting EGFR Positive Triple Negative Breast Cancer: Optimizing the Conjugate-Light Regimen. *PLoS One* 10: e0136829, 2015
- 22) Nakamura Y, Ohler ZW, Householder D, et al: Near Infrared Photoimmunotherapy in a Transgenic Mouse Model of Spontaneous Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR)-expressing Lung Cancer. *Mol Cancer Ther* 16: 408-414, 2017
- 23) Ogata F, Nagaya T, Nakamura Y, et al: Near-infrared photoimmunotherapy: a comparison of light dosing schedules. *Oncotarget* 8: 35069-35075, 2017
- 24) Sato K, Nagaya T, Choyke PL, Kobayashi H: Near infrared photoimmunotherapy in the treatment of pleural disseminated NSCLC: preclinical experience. *Theranostics* 5: 698-709, 2015
- 25) Sato K, Nagaya T, Mitsunaga M, Choyke PL, Kobayashi H: Near infrared photoimmunotherapy for lung metastases. *Cancer Lett* 365: 112-121, 2015
- 26) Watanabe R, Hanaoka H, Sato K, et al: Photoimmunotherapy targeting prostate-specific membrane antigen: are antibody fragments as effective as antibodies? *J Nucl Med* 56: 140-144, 2015
- 27) Sato K, Ando K, Okuyama S, et al: Photoinduced Ligand Release from a Silicon Phthalocyanine Dye Conjugated with Monoclonal Antibodies: A Mechanism of Cancer Cell Cytotoxicity after Near-Infrared Photoimmunotherapy. *ACS Cent Sci* 4: 1559-1569, 2018
- 28) Ogawa M, Tomita Y, Nakamura Y, et al: Immunogenic cancer cell death selectively induced by near infrared photoimmunotherapy initiates host tumor immunity. *Oncotarget* 8: 10425-10436, 2017
- 29) Grant WE, Speight PM, Hopper C, Bown SG: Photodynamic therapy: an effective, but non-selective treatment for superficial cancers of the oral cavity. *Int J Cancer* 71: 937-942, 1997
- 30) Kobayashi W, Liu Q, Nakagawa H, et al: Photodynamic therapy with mono-L-aspartyl chlorin e6 can cause necrosis of squamous cell carcinoma of tongue: experimental study on an animal model of nude mouse. *Oral Oncol* 42: 46-50, 2006
- 31) Shirasu N, Yamada H, Shibaguchi H, Kuroki M, Kuroki M: Potent and specific antitumor effect of CEA-targeted photoimmunotherapy. *Int J Cancer* 135: 2697-2710, 2014

- 32) Henderson TA, Morries LD: Near-infrared photonic energy penetration: can infrared phototherapy effectively reach the human brain? *Neuropsychiatr Dis Treat* 11: 2191-2208, 2015
- 33) Nakamura YA, Okuyama S, Furusawa A, et al: Near-infrared photoimmunotherapy through bone. *Cancer Sci* 110: 3689-3694, 2019
- 34) Mitsunaga M, Nakajima T, Sano K, Choyke PL, Kobayashi H: Near-infrared theranostic photoimmunotherapy (PIT): repeated exposure of light enhances the effect of immunoconjugate. *Bioconjug Chem* 23: 604-609, 2012
- 35) Nagaya T, Friedman J, Maruoka Y, et al: Host Immunity Following Near-Infrared Photoimmunotherapy Is Enhanced with PD-1 Checkpoint Blockade to Eradicate Established Antigenic Tumors. *Cancer Immunol Res* 7: 401-413, 2019
- 36) Kobayashi H, Choyke PL: Super enhanced permeability and retention (SUPR) effects in tumors following near infrared photoimmunotherapy. *Nanoscale* 8: 12504-12509, 2016
- 37) Sano K, Nakajima T, Choyke PL, Kobayashi H: The effect of photoimmunotherapy followed by liposomal daunorubicin in a mixed tumor model: a demonstration of the super-enhanced permeability and retention effect after photoimmunotherapy. *Mol Cancer Ther* 13: 426-432, 2014
- 38) Tang Q, Nagaya T, Liu Y, et al: 3D mesoscopic fluorescence tomography for imaging micro-distribution of antibody-photon absorber conjugates during near infrared photoimmunotherapy in vivo. *J Control Release* 279: 171-180, 2018
- 39) Nagaya T, Okuyama S, Ogata F, Maruoka Y, Choyke PL, Kobayashi H: Endoscopic near infrared photoimmunotherapy using a fiber optic diffuser for peritoneal dissemination of gastric cancer. *Cancer Sci* 109: 1902-1908, 2018
- 40) Nagaya T, Okuyama S, Ogata F, Maruoka Y, Choyke PL, Kobayashi H: Near infrared photoimmunotherapy using a fiber optic diffuser for treating peritoneal gastric cancer dissemination. *Gastric Cancer* 22: 463-472, 2019
- 41) Maawy AA, Hiroshima Y, Zhang Y, et al: Photoimmunotherapy lowers recurrence after pancreatic cancer surgery in orthotopic nude mouse models. *J Surg Res* 197: 5-11, 2015
- 42) Sato K, Sato N, Xu B, et al: Spatially selective depletion of tumor-associated regulatory T cells with near-infrared photoimmunotherapy. *Sci Transl Med* 8: 352ra110, 2016
- 43) Kerr JF: Shrinkage necrosis: a distinct mode of cellular death. *J Pathol* 105: 13-20, 1971
- 44) Willingham MC: Cytochemical methods for the detection of apoptosis. *J Histochem Cytochem* 47: 1101-1110, 1999
- 45) Ziegler U, Groscurth P: Morphological features of cell death. *News Physiol Sci* 19: 124-128, 2004

(R 2. 1. 6 受稿)