

修士学位論文要約（令和4年3月）

## リンパ節転移/遠隔転移モデルマウスを用いた 全身放射線照射とリンパ行性薬剤送達法の併用療法

空 翔太

指導教員：小玉 哲也

### Combination therapy with total body irradiation and lymphatic drug delivery system for lymph node metastasis/distant metastasis model mouse

Shouta SORA

Supervisor: Tetsuya KODAMA

Lymphatic drug delivery system (LDDS) can treat sentinel lymph node (SLNs) and secondary metastatic LNs by injecting drugs into the SLNs at the early stage of metastasis. Previous studies demonstrated that the LDDS had higher therapeutic effect than the homogenous systemic chemotherapy. Further technical development is required to maintain the long-term antitumor effect after LDDS. Total body irradiation (TBI) has been reported that it alters systemic immune responses and tumor microenvironment and increases antitumor effects under appropriate irradiation conditions. Therefore, we hypothesize that antitumor effects induced by TBI improve the therapeutic effect of LDDS. In this study, we investigated the effects of TBI for metastatic lymph node (MLN) and distant metastasis and evaluated the therapeutic effect of combination therapy with TBI and LDDS. Tumor cells inoculated into the subiliac lymph node (SiLN) to induce metastases to the proper axially lymph node (PALN) and lungs. The tumor growth in the PALN was delayed in the all groups carried out the TBI. Moreover, TBI, radiation dose of 1.0 Gy, inhibited the lung metastasis. The combination therapy with TBI and LDDS (Cisplatin; CDDP + high osmotic pressure solution) significantly delayed the tumor growth in the PALN and inhibited the lung metastasis. Our results demonstrated that TBI can inhibit the tumor growth of both the metastatic LN and distant metastasis and can improved the therapeutic effect of LDDS.

#### 1. はじめに

リンパ行性薬剤送達法 (lymphatic drug delivery system: LDDS) は、センチネルリンパ節 (SLN) に薬剤を注入し、転移初期段階の SLN およびその下流の LN を治療することが可能な新規技術である<sup>1)</sup>。先行研究では血行性の全身化学療法と比較して、LDDS は転移 LN に対して有効な治療法であることが示された<sup>2,3)</sup>。LDDS 実施後の長期的な抗腫瘍効果を維持し、根治的治療法として確立するためには、さらなる技術開発が求められる。全身放射線照射 (total body irradiation: TBI) は免疫応答や腫瘍微小環境を変化させ、適切な照射条件下で抗腫瘍効果を向上させることから<sup>4,5)</sup>TBIとLDDSの併用療法は、治療効果をより向上させる可能性がある。本研究は、転移モデルマウスを用いて、TBI、および TBI と LDDS の併用療法の治療効果について検討した。

#### 2. マウスのリンパネットワークの解析

リンパ節腫脹マウス MXH10/Mo-*lpr/lpr* は代表的な 3 つの表在性リンパ節、腸骨下リンパ節 (SiLN)、固有腋窩リンパ節 (PALN)、および副腋窩リンパ節

(AALN) を有する。これらはリンパ管で吻合しており、リンパ液の流れは AALN → PALN, SiLN → PALN である<sup>6)</sup>。本実験では蛍光色素 (ICG) を SiLN, 尾静脈, AALN にそれぞれ投与し、摘出した PALN と肺への ICG 蛍光強度を測定して ICG 送達量評価した。PALN では ICG 蛍光強度は AALN group, SiLN group, 尾静脈投与群 (i. v. group) の順に高く、AALN group は i. v. group と比べて有意に高かった。また肺では各群の ICG 蛍光強度に統計的有意差はみられなかった。

本実験結果から SiLN ではなく AALN に薬剤を投与することで PALN への薬剤送達量が向上することが予測された。

#### 3. 全身放射線照射による転移リンパ節および肺における腫瘍増殖の変化

SiLN に腫瘍細胞 (FM3A-Luc) を接種し、PALN と肺に転移を誘導した。腫瘍細胞を接種してから 4 日後 (Day 4) にマウスに対して TBI をおこなった。本実験では 0.2Gy を低線量 (Single L-TBI)、1.0 Gy を中線量 (Single M-TBI) とした。腫瘍細胞を接種

してから28日後 (Day 28) にPALNと肺を摘出して生物発光強度を測定した。図2はPALNと肺の定量化した生物発光強度を示す。PALN, 肺における *ex vivo* 生物発光強度は, Single L-TBI 群と Single M-TBI 群では Non-irradiated 群と比較して有意に低かった。肺では特に Single M-TBI 群の生物発光強度が低く, バックグラウンドレベルであった。すなわち, TBI は, PALN および肺における腫瘍増殖を抑制し, 特に1.0 Gy を超える線量の TBI は肺転移を抑制することが明らかとなった。

**4. 全身放射線照射とLDDSを組み合わせた併用療法の有用性に関する検討**

SiLN に腫瘍細胞(FM3A-Luc) を接種し, PALN と肺に転移を誘導した。LDDS 群では腫瘍細胞を接種してから14日後 (Day 14) に高浸透圧溶媒で希釈した高浸透圧抗がん剤 CDDP を AALN に投与した。併用療法群では, Day 4 に1.0Gy のTBIをおこない, Day 14 に高浸透圧薬剤を AALN に投与した (Single M-TBI + LDDS 群)。

図3に治療法の異なる群のPALNの定量化した生物発光強度の経時変化を示す。Day 28では Non-irradiated 群と比較して, LDDS 群, Single M-TBI 群, および Single M-TBI + LDDS 群では生物発光強度が有意に低く, Single M-TBI + LDDS 群が最も低い値を示し, 腫瘍増殖を抑制した。これはTBIによってLDDSの転移リンパ節における治療効果が向上することを示唆している。

**5. まとめ**

TBIは転移モデルマウスにおける転移リンパ節と肺の腫瘍増殖を抑制した。また, TBIとLDDSの併用療法では, TBI単独およびLDDS単独と比較して, 転移リンパ節における治療効果が向上することが明らかとなった。近年, 転移初期リンパ節を起点とした遠隔転移の存在が報告されており, 本研究は, TBIとLDDSの併用療法により, 転移リンパ節のみならず遠隔転移をも治療および予防できる可能性を示したものであり, 腫瘍医工学および臨床医学の発展に寄与するものである。

**文献**

- 1) Fujii H, Horie S, Sukhbaatar A, Mishra R, Sakamoto M, Mori S, *et al.* Treatment of false-negative metastatic lymph nodes by a lymphatic drug delivery system with 5-fluorouracil. *Cancer Med* 2019;8:2241-51.
- 2) Tada A, Horie S, Mori S, Kodama T. Therapeutic effect of cisplatin given with a lymphatic drug delivery system on false-negative metastatic lymph

nodes. *Cancer Sci* 2017;108:2115-21.

- 3) Fukumura R, Sukhbaatar A, Mishra R, Sakamoto M, Mori S, Kodama T. Study of the physicochemical properties of drugs suitable for administration using a lymphatic drug delivery system. *Cancer Sci* 2021;112:1735-45.
- 4) Janiak MK, Wincenciak M, Cheda A, Nowosielska EM, Calabrese EJ. Cancer immunotherapy: how low-level ionizing radiation can play a key role. *Cancer Immunol Immun* 2017;66:819-32.
- 5) Shao L, Mori S, Yagishita Y, Okuno T, Hatakeyama Y, Sato T, *et al.* Lymphatic mapping of mice with systemic lymphoproliferative disorder: usefulness as an inter-lymph node metastasis model of cancer. *J Immunol Methods* 2013;389:69-7

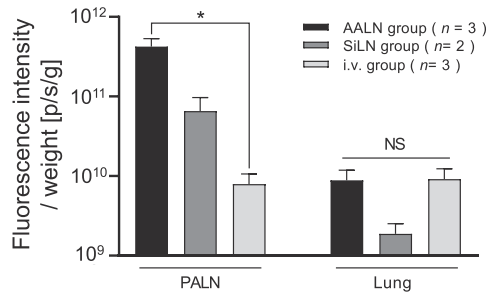


図1 PALN と肺における ICG 蛍光強度

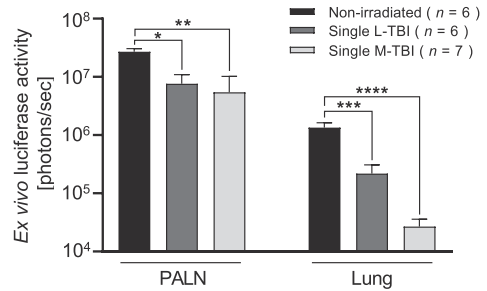


図2 PALN と肺における *ex vivo* 生物発光強度

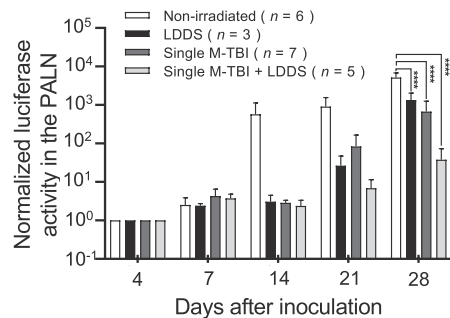


図3 PALN における生物発光強度の経時変化