

## 光免疫療法の基礎と展開

小川 美香子

### 1 はじめに

がんの光治療法として、近赤外光免疫治療法 (near infrared photoimmuno therapy, NIR-PIT) が 2020 年 11 月に本邦において切除不能な局所進行又は局所再発の頭頸部癌を対象に、条件付き承認を受け薬価収載された。現在、国際共同第 III 相試験が継続中である。NIR-PIT では光に反応し細胞傷害性を示す薬剤を静脈投与後、腫瘍に 690 nm の光を照射することで治療を行う。現在本邦では 100 を超える施設でこの治療を受けることができる。

本稿では、近赤外光線免疫治療法 (NIR-PIT) の基礎的な原理について解説するとともに、臨床応用の現状について紹介する。

### 2 光の生体利用

#### 2.1 光と分子の相互作用

光は電磁波であり、波長に応じてさまざまなエネルギーを持つ。分子は特定のエネルギー (波長) を持つ光を吸収することで、励起状態へと遷移し、その後、さまざまな化学的・物理的変化を引き起こす。一般的には、励起された分子は一重項となり、項間交差により励起三重項状態へと遷移する。励起一重項状態から基底状態へと遷移する際に電磁波 (光) を放出する場合、その光は蛍光と呼ばれる。励起三重項状態から基底状態へ緩和する際の電磁波はりん光と呼ばれる。この蛍光 (あるいはりん光) を利用したイメージング法が、培養細胞あるいはマウス等を用いた基礎実験に汎用されており、生命科学研究に欠かせない技術となっている。

また、一般に、励起一重項状態に比較し励起三重項状態の寿命は長く、分子に化学的変化が起こる際には、励起三重項を経由することが多い。光照射によって分子内の結合が切断され、活性化分子が放出されるケージド化合物においては、結合を切断するのに必要なエネルギーが高いほど有利であるため、通常は波長の短い光が用いられる。ケージド化合物も、現代の生命科学研究において欠かせない物質である。

また、励起三重項状態の分子は、三重項状態の酸素分子 (基底状態の酸素分子) と相互作用しやすく、これにより一重項酸素を発生する。光治療では、細胞殺傷効果

を発揮する手段として、従来より一重項酸素が利用されてきた。後述のとおり、NIR-PIT においても一重項酸素が発生する。しかし、筆者らは、後述のように、これ以外の細胞傷害メカニズムが重要な役割を果たしていると考えている。

#### 2.2 光の生体透過性

可視光領域の波長の光は生体分子とも容易に相互作用し、吸収される。したがって我々の体は可視光を透過せず、生体は可視である。超短波長の硬 X 線領域の電磁波であれば、有機分子とは相互作用が小さいためレントゲンや X 線 CT によるイメージングが可能となる。また、波長が長い近赤外領域の波長の光も生体構成分子の電子遷移エネルギーと大きく合致しないため、ある程度生体を透過する。NIR-PIT で利用される 690 nm の光は赤色光と近赤外光の境界領域の光であり、ヒト生体においてもある程度の透過性を持つ。後述するように、深部組織の治療においては、光ファイバーを挿入することで標的部位への光照射が可能となる。

### 3 近赤外光免疫療法について

#### 3.1 近赤外光免疫療法 (NIR-PIT) とは

光治療法として長い歴史を持つ光線力学療法 (photodynamic therapy, PDT) では、ポルフィリン骨格を有する薬剤が一般に用いられている。これらの薬剤は光照射により励起され、項間交差を経て励起三重項状態に遷移する。その後、三重項酸素との相互作用によって一重項酸素を発生させるか、あるいは電子移動反応により活性酸素種 (ラジカル) を生成する。この一重項酸素や活性酸素種が、細胞殺傷の原因となる。

NIR-PIT では、抗体と光感受性分子からなる複合体が薬剤として用いられる (図 1)<sup>1)</sup>。現在、光感受性分子として、ケイ素フタロシアニン誘導体である IR700 が使用されている。抗体-IR700 複合体を静脈内投与し、標的とするがん細胞膜抗原に結合させた後、690 nm の光を照射することで治療効果を発揮する。後述するように、IR700 が光励起後に三重項状態へ移行し、そこから IR700 の構造変化を伴う光化学反応が進行することで殺細胞効果を示す。

これまでに、マウスでの基礎実験により HER2、

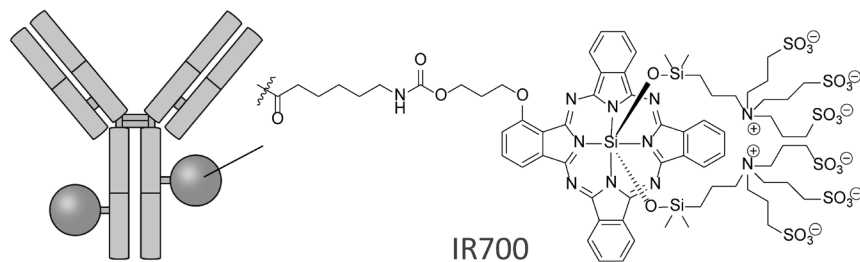


図1 光免疫治療（NIR-PIT）で使用する光感受性薬剤  
がん細胞膜抗原に対する抗体と光反応性色素 IR700 を結合したものを静脈  
投与し、1 日後に専用のレーザーシステムで腫瘍に 690 nm の光を照射する。

PSMA, CD44, CD47 などに対する抗体での検討が行われており、いずれも高い治療効果を示している<sup>2)~5)</sup>。すなわち、抗原-抗体の組み合わせに対する制限はない。一方、抗原の発現量が十分でない場合には、治療効果は表れない。

### 3・2 NIR-PIT の細胞傷害メカニズム

#### 3・2・1 NIR-PIT による細胞傷害の特徴

静脈投与された抗体-IR700 複合体は、腫瘍組織のがん細胞膜抗原に結合する。抗体の種類により違いはあるものの、一般に、時間経過とともに細胞膜に結合した抗体は細胞内に取り込まれる。一般的な抗体薬剤複合体（antibody drug conjugate, ADC）では、内在化により抗体と薬剤のリンカーが切断され薬剤が放出されることで効果を示す。

一方、NIR-PIT では、抗体-IR700 複合体が細胞内に内在化されなくても、細胞膜上に結合している状態であれば、光照射により細胞傷害性を示す<sup>1)</sup>。また、4℃でも細胞死が起こることから、アポトーシス等の酵素反応カスケードを介した細胞死ではないことも示されている。さらに、3・1 に述べたように PDT では一重項酸素等の活性酸素が光照射により発生することで細胞傷害性を示すが、NIR-PIT では一重項酸素を消去しても細胞が傷害される。なお、培養細胞での観察では、光照射直後から細胞の膨張が認められる。

NIR-PIT では、光照射されたところだけでしか効果を示さず、万一 IR700 と抗体の結合が非特異的に切断さ

れたとしても毒性は生じない。すなわち、抗体による腫瘍へのターゲティングと局所的な光照射による標的への高い特異性が期待できる。

#### 3・2・2 NIR-PIT の細胞膜傷害メカニズム

以上のことから、NIR-PIT は、細胞膜を起点とした細胞傷害性を有し、生化学的反応を介さず、物理的あるいは化学的な力により細胞死を誘導する治療法であること、また、活性酸素とは異なる新たな細胞傷害メカニズムに基づく治療法であることが分かる。

IR700 は中心原子の Si から上下に水溶性の軸配位子が伸びた構造を持つ。水溶性が高いため抗体に結合しても抗体の体内動態に大きく影響せず、抗原を発現する腫瘍へ効率的に集積する。我々は、この IR700 の軸配位子が光照射によって切断されることを見いだした<sup>6)</sup>（図2）。IR700 は配位子が切断されると平面性の高い  $\pi$  電子が豊富で脂溶性の高いフトロシアニン環が露出する。すると、 $\pi$  電子相互作用と疎水性相互作用により分子が会合する。これにより、不溶性の凝集体が形成される。この不溶性の凝集体は IR700 が抗体に結合した状態でも形成されることが原子間力顕微鏡で確認されている。すなわち、抗体-IR700 複合体が細胞膜に結合した状態で、細胞膜抗原タンパクを巻き込んだ凝集体が形成されることで、細胞膜に物理的傷害を生じる。すると、この傷害部位から浸透圧差、イオン勾配により水やイオンが流入して細胞が膨張し、やがて細胞が破裂する。実際に顕微鏡下で光照射後に細胞が膨らみ破裂する様子が観察され

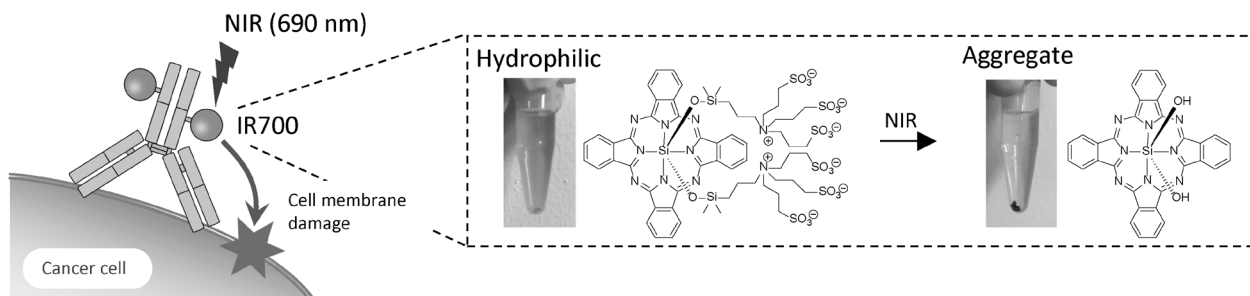


図2 光免疫治療（NIR-PIT）の細胞膜傷害メカニズム  
光に反応し、細胞膜表面で薬剤が凝集体を形成することで膜障害を引き起こす。

ている<sup>7)</sup>。

また、IR700は蛍光を発するため、蛍光イメージングにより薬剤の分布を画像化することもできる。この蛍光は、軸配位子が切断され凝集すると消光する。したがって、細胞傷害につながる凝集体が形成されたかどうかは、蛍光の消光をモニタリングすることで判断することができる<sup>8)</sup>。

### 3・2・3 IR700の軸配位子切断メカニズム

筆者らは計算化学を利用することで、軸配位子切断メカニズムの解明に成功した<sup>9)</sup>。すなわち、光照射により励起三重項状態となったIR700は、酸素と反応することで基底状態へ遷移するが、低酸素環境では電子を受け取ることでラジカルアニオン体となる。ラジカルアニオン体は水分子のプロトンを引き抜くことで軸配位子のSi-O結合が伸長し、結合が切断される(図3)。実際、軸配位子が光切断される際に、フタロシアニンのラジカルアニオンが生成することを吸収スペクトルの変化およびESR測定により観察している<sup>10)</sup>。このようなラジカルアニオン体を介する機構であるため、光子のエネルギーが小さい波長の長い光でも結合を切断することができる。また、プロトン化が律速段階となることが計算化学で判明したため、プロトン化を起こしやすくする軸配位子のデザインにより、より反応性の高い化合物の開発にも成功している<sup>11)</sup>。

酸素と反応するか、ラジカルアニオンとなり軸が切断されるか、どちらのステップに進むかが重要である。今後、電子の受け取りやすさを調整するなどの分子設計が、より効果的な薬剤の開発において鍵となると考えられる。

### 3・2・4 内在化した薬剤による細胞傷害

3・2・2で述べたとおり、NIR-PITでは、光照射によって細胞膜に結合した抗体-IR700複合体による細胞膜傷害がおこる。しかしながら、抗体-IR700複合体もADC同様に時間経過とともに内在化される。臨床における光照射は、薬剤の点滴静注から1日後に行われる。この時点では、抗体-IR700複合体はなお循環血液中に一定量残存しており、がん細胞膜上には複合体が結合している状態にあるが、その一部はすでに細胞内へ内在化している可能性もある。内在化されリソソームに移行した複合体は、凝集体形成による膜障害は誘発しない。しかしながら、PDTで用いられる薬剤と同様に、光励起後に励起三重項状態へ遷移することで一重項酸素を発生するため、内在化した複合体においては、一重項酸素による細胞傷害性を示す可能性がある(図4)。

そこで、培養細胞を用いて、細胞膜のみに薬剤が存在する状態、細胞内にのみ存在する状態を作成し細胞傷害性を検討した<sup>12)</sup>。この結果、複合体が細胞内にのみ存在する状態であっても細胞生存率が低下したことから、内

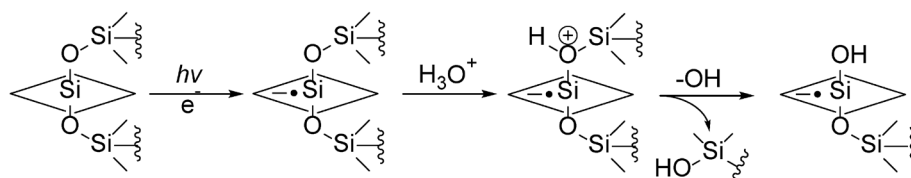


図3 軸配位子切断機構

光励起後に電子を受け取ることでラジカルアニオン体となり、その後プロトン化されることでSi-O結合が伸長し切断される(両側とも切断される)

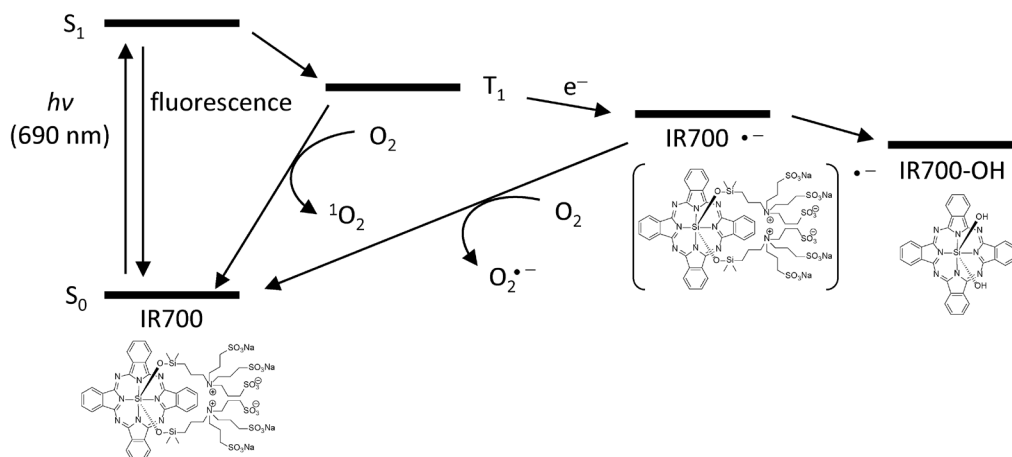


図4 光反応ダイアグラム

三重項状態で電子を受け取ることで軸配位子が切断されるが、酸素と反応すれば活性酸素を生じる。

在化した薬剤も細胞傷害性に寄与することが示された。なお、この細胞死は一重項酸素を消去することで完全に抑制され、一重項酸素を介した傷害であることが明らかとなっている。しかし、その細胞傷害の程度は、細胞膜傷害を介したものより小さく、内在化した薬剤で細胞死を引き起こすには、より多くの光照射と薬剤量が必要であることが示された。すなわち、NIR-PITにおいては、細胞膜に結合した抗体-IR700 複合体が凝集体を形成することによる細胞障害が主要な作用機序であると考えている。

なお、抗体-IR700 複合体の凝集体形成による標的特有的な膜傷害とは異なり、一重項酸素はがん細胞に傷害を与えるだけでなく、がん細胞周囲の正常細胞に対して炎症を惹起するなど非特異的な傷害を引き起こす。実際、治療早期に炎症性浮腫が起こることがマウス実験でも認められている<sup>13)</sup>。ただし、筆者らは、アスコルビン酸を投与することによって、治療効果に影響を及ぼすことなく浮腫が抑えられることを報告している<sup>14)</sup>。アスコルビン酸は、活性酸素種を還元し不活化するとともに、電子供与によるラジカルアニオンの形成を促すことで、凝集体形成による治療効果に貢献すると考えられる。

### 3・3 NIR-PIT によるがん免疫の活性化

ここまで述べてきたように、NIR-PIT は特異的な膜タンパク抗原を標的とし、細胞膜傷害を起点とする細胞死を誘発する。このような細胞死では、殺傷された細胞から HMGB1 や ATP などのダメージ関連分子パターン (damage associated molecular patterns, DAMPs) が放出される。DAMPs は樹状細胞を活性化し成熟させる。成熟した樹状細胞は抗原タンパクを取り込み、分解されたペプチドを MHC 分子と結合した形で膜表面に提示する。抗原提示した樹状細胞はナイーブ T 細胞に抗原の情報を伝達し、T 細胞は細胞障害性 T 細胞、メモリー T 細胞へと分化する。すなわち、この細胞障害性 T 細胞はどのような抗原を持つ細胞を攻撃すべきか認識しているため、光が照射されなかったこと等により残存する、死んだ細胞と同じ膜抗原を持つがん細胞を攻撃することができる。このような細胞死は一般に免疫原性細胞死 (immunogenic cell death, ICD) と呼ばれ、NIR-PIT でも ICD が起こることを確認している<sup>7)</sup>。細胞傷害性 T 細胞によるがん細胞への攻撃を有効にする免疫チェックポイント阻害薬との併用により、光を照射した腫瘍のみならず、光が当たらなかった遠隔部位の腫瘍も縮小することが報告されている<sup>15)</sup>。

### 3・4 NIR-PIT の臨床について

#### 3・4・1 認可されている治療法

2015 年に米国で切除不能な局所再発の頭頸部扁平上皮癌患者を対象とした第 I / II a 相試験が、2018 年には

国内第 I 相試験が実施された。本邦においては 2019 年、先駆け審査指定制度の対象製品に指定された。その後、条件付き早期承認を受け、2020 年 11 月に世界に先駆けて薬価収載された。現在、国際共同第 III 相試験が継続中である。

2024 年 6 月現在、認可されている薬剤は、抗ヒト上皮細胞増殖因子受容体 (Epidermal growth factor receptor, EGFR) 抗体であるセツキシマブに IR700 を結合させた、セツキシマブ サロタロカンナトリウム (商品名: アキラルックス<sup>®</sup> 点滴静注 250 mg) である。また、光照射装置として BioBlade<sup>®</sup> レーザシステムが製造販売承認されている。なお、製造販売を行っている楽天メディカル社のホームページに記載のとおり、「本剤を用いた治療法についての講習を受け、当該治療法に関する十分な知識・経験のある医師のみによって用いられるよう、必要な措置を講じること」が定められている。また、BioBlade<sup>®</sup> レーザシステムの承認条件として、「切除不能な局所進行又は局所再発の頭頸部癌の診断及び治療に関する十分な知識・経験のある医師が、適応を遵守し、講習の受講等により、本品を用いた治療法に関する手技及び同療法に伴う合併症等に関する十分な知識を得た上で、本品が用いられるよう、関連学会と連携の上で必要な措置を講ずること」が定められている [https://hcp.rakuten-med.jp/certification/certification2/]。また、この他、施設要件、医師・歯科医師要件も定められている。詳細は上記ウェブページを参照されたい。現在、本邦では 100 施設以上で本治療が受けられる。また、3・2・2 で述べた IR700 の蛍光の消光を指標にした治療効果評価の試みも進められている。

なお、有害事象として、照射部位における浮腫、疼痛が報告されている。これらは、一重項酸素による炎症反応に起因するものと考えられる。現在、ステロイドや抗炎症剤投与による対策がとられているが、最適な照射法 (量) や 3・2・4 で述べたアスコルビン酸等の薬剤の投与についても、今後、検討する余地があるかもしれない。

#### 3・4・2 臨床における光照射法

現在、臨床では、抗体-IR700 複合体 640 mg/m<sup>2</sup> (体表面積) を点滴静注し、静注終了 20~28 時間後に近赤外レーザー光を病巣部位に照射している。光照射法としては、表在性病変を照射するためのフロントアルディフューザーと、深在性病変のためのシリンドリカルディフューザーが開発されている。後者は、病変にカテーテルを挿入し、その中に光ファイバーを通して深部を照射する。大きな血管を避け腫瘍全体を照射するために X 線透視画像をガイドに挿入するなど、各施設で様々な工夫がされている。

## 4 おわりに

NIR-PITは、本邦において世界に先駆けて承認された新しいがん治療法である。現在は、EGFRを標的とする薬剤が頭頸部がんを対象に承認されているが、EGFRを発現する他の腫瘍にも適用可能であることから、さまざまながん種を対象とした臨床試験が進行している。また、抗体を変更することで、より多様ながん種への応用が可能となる。本治療法のさらなる適用拡大を期待したい。

### 文 献

- 1) M. Mitsunaga, M. Ogawa, N. Kosaka, L. T. Rosenblum, P. L. Choyke, H. Kobayashi : *Nat. Med.*, **17**, 1685 (2011). <https://doi.org/10.1038/NM.2554>.
- 2) K. Ito, M. Mitsunaga, T. Nishimura, M. Saruta, T. Iwamoto, H. Kobayashi, H. Tajiri : *Bioconj. Chem.*, **28**, 1458 (2017). <https://doi.org/10.1021/acs.bioconjchem.7b00144>.
- 3) K. Nakajima, F. Miyazaki, K. Terada, H. Takakura, M. Suzuki, M. Ogawa : *Int. J. Pharm.*, **609**, 121135 (2021). <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2021.121135>.
- 4) J. Jin, B. Krishnamachary, Y. Mironchik, H. Kobayashi, Z. M. Bhujwalla : *Sci. Rep.*, **6**, 27871 (2016). <https://doi.org/10.1038/srep27871>.
- 5) B. Kiss, N. S. van den Berg, R. Ertsey, K. McKenna, K. E. Mach, C. A. Zhang, J.-P. Volkmer, I. L. Weissman, E. L. Rosenthal, J. C. Liao : *Cancer. Clin. Cancer Res.*, **25**, 3561 (2019). <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-18-3267>.
- 6) K. Sato, K. Ando, S. Okuyama, S. Moriguchi, T. Ogura, S. Totoki, H. Hanaoka, T. Nagaya, R. Kokawa, H. Takakura, M. Nishimura, Y. Hasegawa, P. L. Choyke, M. Ogawa, H. Kobayashi : *ACS Cent. Sci.*, **4**, 1559 (2018). <https://doi.org/10.1021/ACSCENTSCI.8B00565>.
- 7) M. Ogawa, Y. Tomita, Y. Nakamura, M. J. Lee, S. Lee, S. Tomita, T. Nagaya, K. Sato, T. Yamauchi, H. Iwai, A. Kumar, T. Haystead, H. Shroff, P. L. Choyke, J. B. Trepel, H. Kobayashi : *Oncotarget*, **8**, 10425 (2017). <https://doi.org/10.18632/ONCOTARGET.14425>.
- 8) S. Okuyama, D. Fujimura, F. Inagaki, R. Okada, Y. Maruoka, H. Wakiyama, T. Kato, A. Furusawa, P. L. Choyke, H. Kobayashi : *Cancer diagnosis Progn.*, **1**, 29 (2021). <https://doi.org/10.21873/cdp.10005>.
- 9) M. Kobayashi, M. Harada, H. Takakura, K. Ando, Y. Goto, T. Tsuneda, M. Ogawa, T. Taketsugu : *Chempluschem*, **85**, 1959 (2020). <https://doi.org/10.1002/CPLU.202000338>.
- 10) O. Inanami, W. Hiraoka, Y. Goto, H. Takakura, M. Ogawa : *ChemPhotoChem*, **6**, (2022). <https://doi.org/10.1002/cptc.202100172>.
- 11) H. Takakura, S. Matsuhira, M. Kobayashi, Y. Goto, M. Harada, T. Taketsugu, M. Ogawa : *J. Photochem. Photobiol. A Chem.*, **426**, 113749 (2022). <https://doi.org/10.1016/J.JPHOTOCHEM.2021.113749>.
- 12) K. Nakajima, M. Ogawa : *Photodiagnosis Photodyn. Ther.*, **31**, 101926 (2020). <https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2020.101926>.
- 13) K. Nakajima, A. Sugikawa, H. Yasui, K. Higashikawa, C. Suzuki, T. Natsume, M. Suzuki, H. Takakura, M. Tomita, S. Takahashi, K. Hirata, Y. Magata, Y. Kuge, M. Ogawa : *Mol. imaging Biol.*, **25**, 648 (2023). <https://doi.org/10.1007/s11307-023-01822-9>.
- 14) T. Kato, R. Okada, Y. Goto, A. Furusawa, F. Inagaki, H. Wakiyama, H. Furumoto, D. Daar, B. Turkbey, P. L. Choyke, H. Takakura, O. Inanami, M. Ogawa, H. Kobayashi : *ACS Pharmacol. Transl. Sci.*, **4**, 1689 (2021). <https://doi.org/10.1021/acspstsci.1c00184>.
- 15) T. Nagaya, J. Friedman, Y. Maruoka, F. Ogata, S. Okuyama, P. E. Clavijo, P. L. Choyke, C. Allen, H. Kobayashi : *Cancer Immunol. Res.*, **7**, 401 (2019). <https://doi.org/10.1158/2326-6066.CIR-18-0546>.



小川 美香子 (OGAWA Mikako)

北海道大学大学院薬学研究院生体分析化学研究室 (〒060-0812 北海道札幌市北区北12条西6丁目)。京都大学大学院薬学研究所。博士(薬学)・薬剤師・第一種放射線取扱主任者。《現在の研究テーマ》生体分子イメージングと分子標的治療。

E-mail : mogawa@pharm.hokudai.ac.jp