

放射治療有利於臨床免疫療法：從化學與分子機制探討放射治療如何調控腫瘤微環境的免疫細胞

程俊嘉

長庚大學放射醫學研究中心

Email: cccheng1201@mail.cgu.edu.tw

摘要：放射治療透過造成癌細胞 DNA 的傷害達到癌症治療的目的，尤其放射治療對於 TP53 野生型腫瘤具有療效敏感性，臨床上觀察到放射治療可於部份癌症中活化免疫細胞，此現象被稱為免疫「遠端效應」，此現象亦支持臨床上放射治療合併免疫治療進而增加癌病人存活率的結果。然而，那些腫瘤具有放射治療的「遠端效應」目前未知。本文回顧並討論了放射治療驅動免疫活化的潛在機制，包括促使巨噬細胞及 T 細胞的活化，其中放射治療造成 cGAMP 及干擾素的產生，尤其對於放射療法具敏感性的 TP53 野生型癌細胞中，或可誘發巨噬細胞 M1 抗癌極化，並後續聚集 T 細胞於腫瘤微環境中，有效將「冷」腫瘤變成「熱」腫瘤，而有利於臨床癌症免疫療法。

■ 前言

放射治療是一種常見的癌症治療方法，在臨床實踐中利用高能量輻射來抑制癌細胞的增殖和存活，目前約有 50% 的初診癌症患者會接受放射治療，放射治療通常與手術或化療相結合，用以緩解癌症患者的腫瘤(Bradley et al., 2015)。根據癌症的類型和位置，放射治療可以從外部或內部進行，主要機制為透過直接或間接效應破壞癌細胞中的 DNA 來發揮作用，使癌細胞難以細胞分裂和生長。過去研究顯示放射治療可在部分癌症中活化免疫細胞，此現象被稱為免疫「遠端效應」，然而，那些腫瘤具有放射治療的「遠端效應」目前未知。

因為免疫活性攸關臨床另一新興癌症療法：免疫療法，此技術獲得 2018 年諾貝爾生理與醫學獎，由美國 James Allison 博士及日本 Tasuku Honjo 博士共同獲得，此技術針對免疫檢查哨蛋白分子(immune checkpoints)開發抗體藥物，例如針對 programmed cell death protein 1 (PD-1)、programmed cell death 1 ligand 1 (PD-L1)、及 cytotoxic T lymphocyte-associated protein 4 (CTLA4)，可於部分癌症病人上持續活化免疫並增進抗癌效果。然而臨床上只有 10-30% 的癌症病人對這類藥物有顯著療效反應，故找尋能合併及提升免疫療法的其他抗癌技術或藥物就變得很重要。因為放射治療的免疫「遠端效應」，故放射治療被認為具調控免疫力的方法之一，而且在 2018 年的文獻發現放射治療確實有效提升肺癌病人 CTLA4 免疫抗癌療效(Formenti et al., 2018)，因此確定放射治療於某些癌症適用於合併臨床免疫療法。本文回顧並討論了放

射治療驅動免疫活化的潛在機制，特別是化學分子部分的介紹，並依據過去研究推斷那些腫瘤接受放射治療後會產生「遠端效應」，了解詳細機制後，於臨床端便容易驗證哪些類型的腫瘤將有利於放射治療合併免疫療法。

■ 放射治療損傷 DNA 及誘發的修復機轉

放射治療可以從外部或內部進行，體外放射治療包括：(1)3D 適形放射治療(3D conformal radiation therapy)，主要使用 CT 掃描和電腦軟體來創建腫瘤的 3D 模型，並以此模型引導放射束瞄準癌症部位；(2)調強放射治療 (Intensity-modulated radiation therapy, IMRT)，是一種使用多種劑量強度不同的放射束對腫瘤施加較高的放射劑量；(3)影像導引放射治療 (Image-guided radiotherapy, IGRT)，在每次治療前都會先以 CT 掃描，並以此影像輔助用以對準治療部位，從而實現更精確的放射治療；(4)粒子治療，例如採用質子的放射療法，質子放射線具有布拉格尖峰 (Bragg peak)，可以於腫瘤深處傳遞高能輻射劑量，並減少對表層健康組織的輻射劑量，為目前有效治療癌症方法之一；(5)立體定位放射治療 (SBRT)，例如伽瑪刀手術，使用高劑量的聚焦放射線來摧毀腫瘤。而體內放射治療包括：(1)將固體放射源植入腫瘤內部或旁邊，此輻射源會向小區域釋放輻射以殺死癌細胞；(2)將液態放射性物質送入血液，全身性尋找並摧毀癌細胞，例如放射免疫療法。而介紹那麼多放射技術，其主要目的皆為有效地破壞腫瘤細胞的 DNA，以抑制腫瘤細胞生長及複製。

目前已經很清楚知道放射線可以抑制腫瘤細胞生長，主要是破壞腫瘤細胞核內 DNA 的完整性，其過程可分成直接及間接效應，直接效應便是放射線直接攻擊細胞雙股 DNA，這部分因放射線種類不同而有所差異；臨床常用的高能 X 光較易穿透人體組織，比較無法直接攻擊 DNA，故 X 光所造成的 DNA 損傷主要由間接效應的自由基所造成的，例如放射線使水分子產生的 OH 自由基。而粒子治療，例如質子治療帶有正電，因粒徑較大，故可同時直接及間接造成 DNA 損傷。而 DNA 損傷包括幾類，其中 DNA 斷裂(double strand breaks, DSB)是導致腫瘤生長抑制的主要損傷，過去研究指出相較於低 linear energy transfer (LET)的 X 射線照射，高 LET 的質子治療會產生較多 DSB (Hagiwara et al., 2019)，故理論上質子治療應當所得到的抗癌療效較好。然而在實際臨床應用上，質子治療大約只比 X 光照射多 10%的 relative biological effectiveness (RBE)，推測主要是腫瘤細胞中 DNA 損傷會誘發一系列 DNA 損傷反應 (DNA Damage Response, DDR)，用以幫助腫瘤細胞從放射線損傷中恢復(Groelly et al., 2023)。整個過程包括 DNA 損傷感知、早期訊息傳導途徑、細胞週期停滯、以及最終的 DNA 修復。在 DDR 中，DNA 損傷感測器是由 Mre11、Rad50 和 Nbs1 形成的 MRN 複合物負責將 DSB 修復與細胞週期檢查點功能連結起來(Huang and Zhou, 2020)。MRN 複合物是第一個接觸 DNA 損傷位點的蛋白質，可辨識損傷訊號並觸發細胞訊號傳導途徑，透過活化 Ataxia-

telangiectasia mutated (ATM) 到 DNA 損傷位置以活化 DDR 路徑，而此機轉推測為 DDR 可能造成腫瘤放射抗性的原因之一，主要是根據過去文獻指出 DDR 抑制劑可增強對放射治療的敏感性(Deland et al., 2021; Qiu et al., 2022)，尤其是在放射治療的情況下，ATM 基因缺失可提高了 TP53 突變型腫瘤鼠的存活率，但對 TP53 野生型腫瘤鼠的存活率則沒有影響(Deland et al., 2021)，這樣的結果顯示 TP53 基因突變型腫瘤中 ATM 為造成放射治療抗性的原因之一。

一般而言，放射治療可抑制腫瘤進展，特別是有報告指出野生型 TP53 與放射治療敏感性有關(Kong et al., 2021)。TP53 基因是一個腫瘤抑制基因，在調節細胞週期、細胞凋亡、和細胞壓力(包括輻射)的 DNA 修復中扮演著核心作用。在其野生型中，TP53 對於啟動受損細胞的凋亡至關重要。然而，p53 突變在各種癌症中經常被觀察到(Chen et al., 2022; Wang et al., 2023)，而 p53 的表達和突變狀態會影響腫瘤對放射治療的反應。文獻顯示，約有 55.52% 的非小細胞肺癌患者、72.69% 的大腸癌患者和 27.32% 的肝膽癌患者出現 p53 基因突變(Chen et al., 2022)，因此，在上述腫瘤類型中，腫瘤確實存在 30-70% 野生型 p53。輻射造成的 DNA 損傷活化野生型 p53，可以抑制後續腫瘤惡化(Gudkov and Komarova, 2003)，特別是 p53 下游調控的 p21 (CDKN1A) 和 PUMA (BBC3)，其分別導致細胞週期停滯和細胞凋亡(Huang et al., 2019; Thangavelu et al., 2024; Wang et al., 2021)。這樣的實驗結果也顯示如果臨床上可區分 TP53 基因型，則可用以設計個人化放射治療策略。

■ 放射治療促進免疫系統的化學分子機轉，或有利於臨床免疫療法

在接受放射治療的患者中觀察到「遠端效應」，這意味著當用放射治療治療原發性腫瘤時，不同的腫瘤也會受到抑制(Craig et al., 2021; Rodriguez-Ruiz et al., 2018)。遠端效應所造成的抗癌效果很大程度源自於免疫系統的激活，特別是 T 淋巴細胞的活化，目前所了解的機轉是放射治療增強腫瘤細胞中第一型干擾素和趨化因子的表達和分泌(McLaughlin et al., 2020)，該理論也支持了臨床試驗觀察結果，即放射治療與免疫治療相結合可提高肺癌患者的整體存活率(Foster et al., 2019)。推測其主要因素為放射治療造成的 DNA 損傷片段與 cGAS 分子結合後，後續導致 ATP 與 GTP 分子形成 2'3'-cGAMP 分子，此分子在腫瘤細胞內可誘發癌細胞內質網 STING 的活化與後續增加第一型干擾素的表現及釋放(圖 1)；而且 cGAMP 不只作用於腫瘤細胞本身，此分子亦會被腫瘤細胞 SLC19A1 蛋白釋放於腫瘤微環境中，促使巨噬細胞的活化及產生細胞激素，合併干擾素的作用，或可誘發巨噬細胞 M1 抗癌極化(圖 1)、並釋放更多干擾素及細胞激素，其中 CXCL9 及 CXCL10 可聚集 T 細胞於腫瘤微環境中，增加 T 細胞的浸潤，有效將「冷」腫瘤變成「熱」腫瘤，而有利於免疫療法。

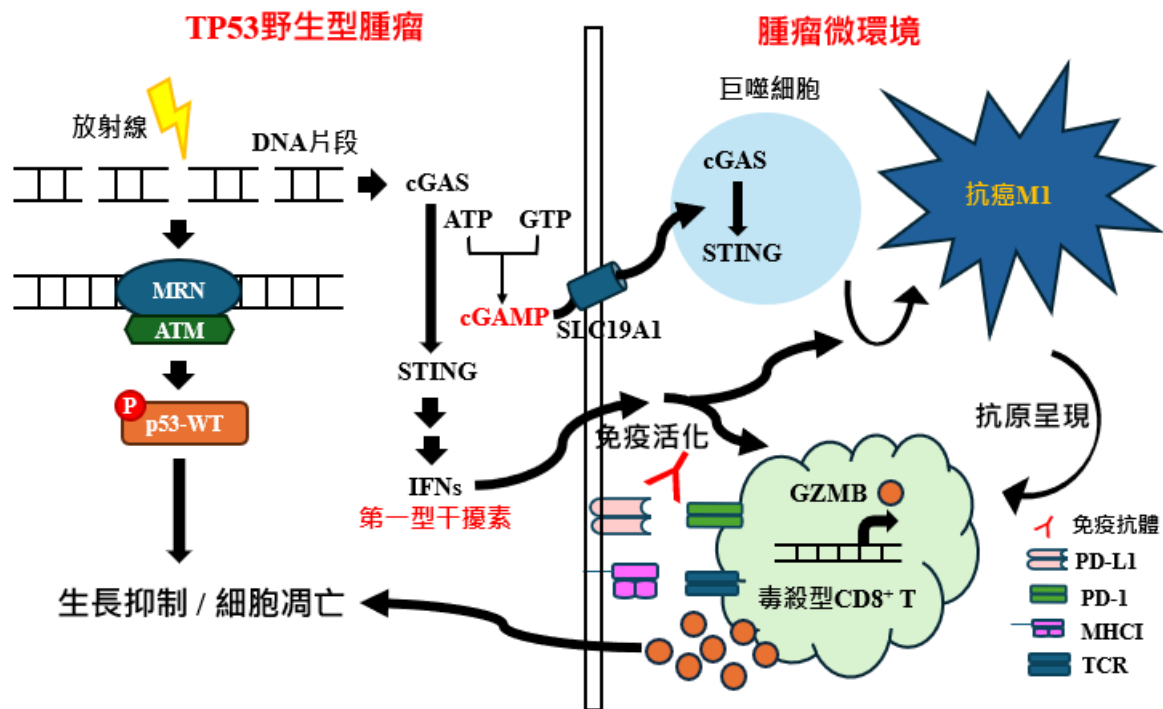


圖 1 放射治療活化腫瘤微環境中免疫系統的分子機轉。在腫瘤細胞中，放射治療對於 TP53 野生型腫瘤具有療效敏感性，主要是 p53 蛋白受到 DNA 損傷機制所磷酸化，故可啟動後續腫瘤細胞生長抑制及細胞凋亡。而 DNA 損傷片段與 cGAS 結合會導致 ATP 與 GTP 形成 2'3'-cGAMP 分子，此分子可誘發癌細胞內質網 STING 的活化與後續增加第一型干擾素的表現。在腫瘤微環境中，被腫瘤細胞 SLC19A1 蛋白釋放的 cGAMP 會促使巨噬細胞的活化及產生細胞激素，合併干擾素的作用可誘發巨噬細胞 M1 抗癌極化。後續巨噬細胞 M1 可將抗原呈現給 naïve CD8+ T 細胞，並最終變成 effector CD8+ T 細胞(毒殺型)釋放酵素酶 GZMB 進入腫瘤細胞內造成生長抑制及細胞凋亡，故放射治療在臨床上合併抗 PD-(L)1 抗體的免疫療法可增加部分癌病人的存活率。MRN: 包括 Mre11、Rad50、和 Nbs1 蛋白；ATM: Ataxia-telangiectasia mutated；GZMB: granzyme B 酵素酶。

免疫療法目前已應用於臨床，對部分癌症例如肺癌患者取得了良好的治療效果(Kerr and Chisholm, 2019)，CD8+ T 細胞是主要抑制癌細胞的免疫細胞之一，免疫療法是透過抗體阻斷 CD8+ T 細胞上的 PD-1 和 CTLA4 免疫檢查點來活化 CD8+ T 細胞(Kalbasi and Ribas, 2020)，然而，CD8+ T 細胞仍需透過 TCR-MHC I 與抗原交互作用來辨識腫瘤細胞，才可有效分泌顆粒酶和穿孔素，引發腫瘤細胞凋亡和死亡(Cullen et al., 2010)(圖 1)。這部分的抗原呈現或可經由放射治療來加以提供，主要是因為巨噬細胞也是抗原呈現細胞(antigen-presenting cells)的一種，故巨噬細胞 M1 在吞噬腫瘤細胞後，可將腫瘤細胞上的特別抗原呈現給 naïve CD8+ T 細胞(圖一)，例如突變蛋白或大量表現蛋白，後續將變成具有抗癌能力的 effector CD8+ T 及 memory CD8+ T。而且放射治療所造成的第一型干擾素除了在腫瘤微環境中誘導免疫療法特

定標記 PD-L1 之外，還會誘導腫瘤細胞中的 MHC I 表達及抗原呈現(Shirayoshi et al., 1988; Zhou, 2009)。所以從理論上講，放射治療也會增強了 CD8+ T 對腫瘤細胞的識別和活化。故臨床試驗顯示干擾素及 PD-L1 的表現與癌症患者接受免疫療法的存活率呈正相關(Giannopoulos et al., 2003; Windbichler et al., 2000)。

■ 結語

放射治療包括光子治療及質子治療長期以來一直被用作癌症的標準或輔助治療方式，研究顯示放射治療不僅能直接抑制癌細胞，還能間接活化免疫細胞，因此，放射治療具有被稱為「遠端效應」的免疫抗癌活性，遠端未經放射治療的腫瘤可間接受到抑制，此種現象或可合併免疫療法提高某些癌症患者的總體存活率。然而，那些腫瘤具有放射治療的「遠端效應」目前未知，在本文章中，我們簡介並推測腫瘤基因突變多樣性(例如 TP53 野生型)有可能影響放射治療療效及後續的「遠端效應」。闡述放射治療活化腫瘤微環境免疫細胞活性的機轉，因 CD8+ T 細胞是抗腫瘤免疫的關鍵參與者，本篇作者依據過去的研究綜述討論了目前放射治療對 CD8+ T 細胞協同作用機制，推測主要因素為放射治療造成的 DNA 損傷與 cGAS 分子結合後，導致 ATP 與 GTP 分子形成 2'3'-cGAMP 分子，誘發癌細胞內質網 STING 的活化與後續增加第一型干擾素的表現及釋放；而且 cGAMP 不只作用於腫瘤細胞本身，亦會被腫瘤細胞釋放於腫瘤微環境中，促使巨噬細胞的活化、M1 抗癌極化、並釋放更多干擾素及細胞激素。放射治療造成這些腫瘤微環境中的分子改變，後續可增加 CD8+ T 細胞的浸潤、活化、及辨識，從而殺死腫瘤細胞，因此放射治療有助於臨床抗 PD-(L)1 或 CTLA4 免疫治療療效。

■ 參考資料

- Bradley, J. D., Paulus, R., Komaki, R., Masters, G., Blumenschein, G., Schild, S., Bogart, J., Hu, C., Forster, K., Magliocco, A., Kavadi, V., Garces, Y.I., Narayan, S., Iyengar, P., Robinson, C., Wynn, R.B., Koprowski, C., Meng, J., Beitler, J., Gaur, R., Curran, W., Jr., & Choy, H. (2015). Standard-dose versus high-dose conformal radiotherapy with concurrent and consolidation carboplatin plus paclitaxel with or without cetuximab for patients with stage IIIA or IIIB non-small-cell lung cancer (RTOG 0617): a randomised, two-by-two factorial phase 3 study. *The Lancet Oncology*, 16, 187-199. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(14\)71207-0](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(14)71207-0)
- Chen, X., Zhang, T., Su, W., Dou, Z., Zhao, D., Jin, X., Lei, H., Wang, J., Xie, X., Cheng, B., Li, Q., Zhang, H., & Di, C. (2022). Mutant p53 in cancer: from molecular mechanism to therapeutic modulation. *Cell Death & Disease*, 13, 974. <https://doi.org/10.1038/s41419-022-05408-1>
- Craig, D. J., Nanavaty, N. S., Devanaboyina, M., Stanbery, L., Hamouda, D., Edelman, G., Dworkin, L., & Nemunaitis, J. J. (2021). The abscopal effect of radiation therapy. *Future Oncology*, 17, 1683-1694. <https://doi.org/10.2217/fon-2020-0994>
- Cullen, S. P., Brunet, M., & Martin, S. J. (2010). Granzymes in cancer and immunity. *Cell Death &*

- Differtiation*, 17, 616-623. <https://doi.org/10.1038/cdd.2009.206>
- Deland, K., Starr, B. F., Mercer, J. S., Byemerwa, J., Crabtree, D. M., Williams, N. T., Luo, L., Ma, Y., Chen, M., Becher, O. J., & Kirsch, D. G. (2021). Tumor genotype dictates radiosensitization after Atm deletion in primary brainstem glioma models. *Journal of Clinical Investigation*, 131. <https://doi.org/10.1172/JCI142158>
- Formenti, S. C., Rudqvist, N. P., Golden, E., Cooper, B., Wennerberg, E., Lhuillier, C., Vanpouille-Box, C., Friedman, K., Ferrari de Andrade, L., Wucherpennig, K. W., Heguy, A., Imai, N., Gnjjatic, S., Emerson, R. O., Zhou, X. K., Zhang, T., Chachoua, A., & Demaria, S. (2018). Radiotherapy induces responses of lung cancer to CTLA-4 blockade. *Nature Medicine*, 24, 1845-1851. <https://doi.org/10.1038/s41591-018-0232-2>
- Foster, C. C., Sher, D. J., Rusthoven, C. G., Verma, V., Spiotto, M. T., Weichselbaum, R. R., & Koshy, M. (2019). Overall survival according to immunotherapy and radiation treatment for metastatic non-small-cell lung cancer: a National Cancer Database analysis. *Radiation Oncology*, 14, 18. <https://doi.org/10.1186/s13014-019-1222-3>
- Giannopoulos, A., Constantinides, C., Fokaeas, E., Stravodimos, C., Giannopoulou, M., Kyroudi, A., & Gounaris, A. (2003). The immunomodulating effect of interferon-gamma intravesical instillations in preventing bladder cancer recurrence. *Clinical Cancer Research*, 9, 5550-5558.
- Groelly, F. J., Fawkes, M., Dagg, R. A., Blackford, A. N., & Tarsounas, M. (2023). Targeting DNA damage response pathways in cancer. *Nature Review Cancer*, 23, 78-94. <https://doi.org/10.1038/s41568-022-00535-5>
- Gudkov, A. V., & Komarova, E. A. (2003). The role of p53 in determining sensitivity to radiotherapy. *Nature Review Cancer*, 3, 117-129. <https://doi.org/10.1038/nrc992>
- Hagiwara, Y., Oike, T., Niimi, A., Yamauchi, M., Sato, H., Limsirichaikul, S., Held, K. D., Nakano, T., & Shibata, A. (2019). Clustered DNA double-strand break formation and the repair pathway following heavy-ion irradiation. *Journal of Radiation Research*, 60, 69-79. <https://doi.org/10.1093/jrr/rry096>
- Huang, R. X., & Zhou, P. K. (2020). DNA damage response signaling pathways and targets for radiotherapy sensitization in cancer. *Signal Transduction and Target Therapy*, 5, 60. <https://doi.org/10.1038/s41392-020-0150-x>
- Huang, Y., Liu, N., Liu, J., Liu, Y., Zhang, C., Long, S., Luo, G., Zhang, L., & Zhang, Y. (2019). Mutant p53 drives cancer chemotherapy resistance due to loss of function on activating transcription of PUMA. *Cell Cycle*, 18, 3442-3455. <https://doi.org/10.1080/15384101.2019.1688951>
- Kalbasi, A., & Ribas, A. (2020). Tumour-intrinsic resistance to immune checkpoint blockade. *Nature Review Immunology*, 20, 25-39. <https://doi.org/10.1038/s41577-019-0218-4>
- Kerr, W. G., & Chisholm, J.D. (2019). The Next Generation of Immunotherapy for Cancer: Small Molecules Could Make Big Waves. *Journal of Immunology*, 202, 11-19. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1800991>

- Kong, X., Yu, D., Wang, Z., & Li, S. (2021). Relationship between p53 status and the bioeffect of ionizing radiation. *Oncology Letter*, 22, 661. <https://doi.org/10.3892/ol.2021.12922>
- McLaughlin, M., Patin, E. C., Pedersen, M., Wilkins, A., Dillon, M.T., Melcher, A. A., & Harrington, K.J. (2020). Inflammatory microenvironment remodelling by tumour cells after radiotherapy. *Nature Review Cancer*, 20, 203-217. <https://doi.org/10.1038/s41568-020-0246-1>
- Qiu, Y., Hu, X., Zeng, X., & Wang, H. (2022). Triple kill: DDR inhibitors, radiotherapy and immunotherapy leave cancer cells with no escape. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica (Shanghai)*, 54, 1569-1576. <https://doi.org/10.3724/abbs.2022153>
- Rodriguez-Ruiz, M. E., Vanpouille-Box, C., Melero, I., Formenti, S. C., & Demaria, S. (2018). Immunological Mechanisms Responsible for Radiation-Induced Abscopal Effect. *Trends Immunology*, 39, 644-655. <https://doi.org/10.1016/j.it.2018.06.001>
- Shirayoshi, Y., Burke, P. A., Appella, E., & Ozato, K. (1988). Interferon-induced transcription of a major histocompatibility class I gene accompanies binding of inducible nuclear factors to the interferon consensus sequence. *The Proceedings of the National Academy of Sciences*, 85, 5884-5888. <https://doi.org/10.1073/pnas.85.16.5884>
- Thangavelu, L., Altamimi, A. S. A., Ghaboura, N., Babu, M. A., Roopashree, R., Sharma, P., Pal, P., Choudhary, C., Prasad, G. V. S., Sinha, A., Balaraman, A. K., & Rawat, S. (2024). Targeting the p53-p21 axis in liver cancer: Linking cellular senescence to tumor suppression and progression. *Pathology Research and Practice*, 263, 155652. <https://doi.org/10.1016/j.prp.2024.155652>
- Wang, J., Liu, W., Zhang, L., & Zhang, J. (2023). Targeting mutant p53 stabilization for cancer therapy. *Frontiers in Pharmacology*, 14, 1215995. <https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1215995>
- Wang, J., Thomas, H. R., Li, Z., Yeo, N. C. F., Scott, H. E., Dang, N., Hossain, M. I., Andrabi, S. A., & Parant, J. M. (2021). Puma, noxa, p53, and p63 differentially mediate stress pathway induced apoptosis. *Cell Death & Disease*, 12, 659. <https://doi.org/10.1038/s41419-021-03902-6>
- Windbichler, G. H., Hausmaninger, H., Stummvoll, W., Graf, A. H., Kainz, C., Lahodny, J., Denison, U., Muller-Holzner, E., & Marth, C. (2000). Interferon-gamma in the first-line therapy of ovarian cancer: a randomized phase III trial. *Breast Journal of Cancer*, 82, 1138-1144. <https://doi.org/10.1054/bjoc.1999.1053>
- Zhou, F. (2009). Molecular mechanisms of IFN-gamma to up-regulate MHC class I antigen processing and presentation. *International Reviews of Immunology*, 28, 239-260. <https://doi.org/10.1080/08830180902978120>