

令和 5 年 6 月 26 日現在

機関番号：22701

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K09396

研究課題名（和文）交流磁場による新規神経膠芽腫治療の確立

研究課題名（英文）Establishment of a novel therapy for glioblastoma with Alternative Magnetic Fields

研究代表者

山本 哲哉（YAMAMOTO, Tetsuya）

横浜市立大学・医学研究科・教授

研究者番号：30375505

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：放射線治療や化学療法抵抗性の強い悪性神経膠芽腫に対して、交流磁場を用いた新たな治療法の開発を進め、実臨床に向けた機器の詳細な規格の作成段階まで研究を進めることができた。再発の原因となり、治療抵抗性が高い非常にわずかながん幹細胞に対し効果の可能性のある幹細胞化への阻害作用やVIVOでの抗ワールブルグ効果と思われるメタボローム解析での代謝変化を確認できた。交流磁場という刺激の不安定性や機器の発熱に対する対策など臨床応用への課題が残っている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、放射線治療や化学療法抵抗性の強い神経膠芽腫に対して、物理学的刺激を用いた治療法が臨床応用されてきている。その代表が温熱治療や交流電場を用いたNOVOTTFがある。いずれも発熱による火傷や、全剃毛や長時間の装置の装着を必要とするなどデメリットもある治療である。我々の開発している治療器具は30分から1時間程度の照射を1週間に数回繰り返すことで治療効果を得られる低侵襲な装置となる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：We successfully proceeded with developing a new treatment for malignant glioblastoma, which is highly resistant to radiotherapy and chemotherapy, using Alternative magnetic fields, and to advance our research to the stage of creating detailed specifications for the equipment for clinical use. We confirmed an inhibitory effect on stem cell transformation, which may be effective against a very small number of cancer stem cells that cause recurrence and are highly resistant to therapy, and metabolic changes in metabolome analysis, which may be an anti-Warburg effect in VIVO. There are still issues to be solved for clinical application, such as instability of the Alternative magnetic field stimulation and countermeasures against heat generation from the device.

研究分野：脳腫瘍

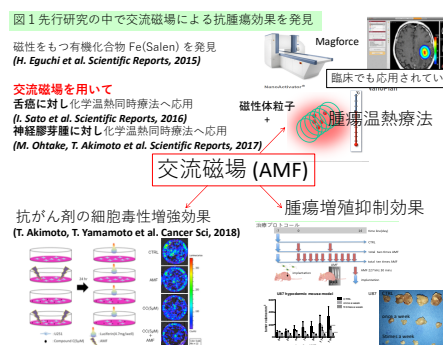
キーワード：悪性神経膠芽腫 交流磁場 物理的刺激

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様式 C-19、F-19-1、Z-19（共通）

1. 研究開始当初の背景

- (1) 神経膠芽腫に対する交流電場を用いた治療装置 Novo-TTF-100A が 2018 年、国内で保険収載された。NovoTTF は脳腫瘍に向けて非常に弱い中間周波の交流電場を持続的に発生させることで、脳腫瘍細胞の分裂を阻害し、腫瘍の増殖を防ぐものである。2016 年 7 月米国では全米総合がん情報 ネットワーク (NCCN) ガイドラインで初発膠芽腫の標準的治療の選択肢として推奨された (カテゴリー 2A)。すでに本邦でも 2017 年 3 月から初発膠芽腫の治療には保険診療が認可されている。しかしながら、Novo-TTF は電極パッドを頭に密着させる必要があるため、全剃毛が必要である。また、18 時間/日以上持続的な使用が必要で心理的圧迫も強く、強迫性障害のような副作用もみられているなど、さまざまな課題が残っている
- (2) 交流磁場を治療に応用した技術のひとつに反復経頭蓋磁気刺激があり、これは外部からの磁場により脳皮質に渦電流を誘導し、ニューロンを刺激する新しいうつ病の治療法である。他にも鉄剤との併用による温熱療法で交流磁場を用いた Magforce といった治療法が海外で、神経膠芽腫に対する臨床試験として研究されている。このように物理刺激を用いた治療法は多方面で臨床応用されつつあり、分子標的治療や遺伝子免疫治療とは機序の異なる新しい治療として期待される。
- (3) 我々は、横浜市立大学循環制御医学と共同で医工連携による研究を行っており、偶然、神経膠芽腫に対し、交流磁場そのものが抗癌作用を持つことを見出した(図 1)。特定の条件の交流磁場を 1 回神経膠芽腫培養細胞(U87, LN229, T98)に当てることで数日間増殖が抑制されることを確認した。また、ヒト神経膠芽腫培養細胞(U87)、を免疫不全マウスの皮下に移植し、がんモデルマウスを作成し、交流磁場治療群と未治療群で腫瘍の大きさを検討した。その結果、交流磁場は有意差をもって腫瘍体積の抑制作用を示した。さらに、腫瘍を可視化するためにルシフェラーゼ遺伝子を導入したヒト神経膠芽腫細胞(U87)をそれぞれマウスの頭部に移植し、神経膠芽腫モデルマウスを作成した。交流磁場未治療群と印加群にわけ、治療群は週に 5 回の印加を行い、観察したところ、未治療群に比べ、治療群の腫瘍の増大が著明に抑制された。また、生存率の有意な延長を認めた。



- (4) 交流磁場が抗腫瘍効果のメカニズム解析に関しては、ウエスタンブロットなどの機能解析により、AMP-activated protein kinase (AMPK) のリン酸化が変化することを発見した。AMPK は細胞内のエネルギー状態を監視し、その状態に応じて糖・脂質代謝などを調節するキナーゼで代謝を調節する重要な分子である。交流磁場により AMPK が変化するという事は、交流磁場が細胞内の代謝に影響を与えることを

示唆している。この物理的刺激を用いて細胞内代謝を変えるという原理は、全く新しいがん治療へのアプローチとなる。また、AMPKの活性変化は低酸素領域やそれに伴い誘発される癌幹細胞により効果的である可能性が考えられる。

2. 研究の目的

- (1) 神経膠芽腫幹細胞に対する交流磁場の効果を明らかにする。
- (2) 我々の先行研究でマイクロアレイによる網羅的解析の結果、交流磁場印加によりがん細胞の解糖系が低下しており、細胞代謝に影響を及ぼしていることが示唆された。物理的刺激を用いて細胞内代謝を変える機序が解明できれば、全く新しいがん治療法としての基盤を築くことができる。

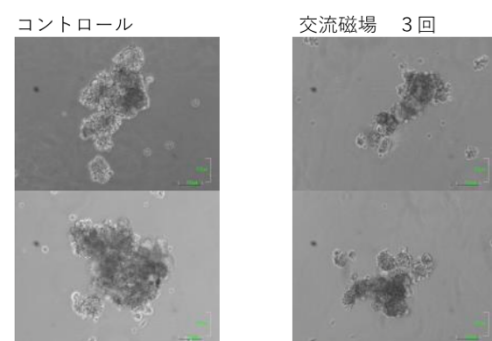
3. 研究の方法

神経膠芽腫の幹細胞株に対し、交流磁場の *in vitro* 抗腫瘍効果を検討する。増殖能評価や、スフェノイド形成の割合やサイズで評価した。交流磁場に対して、腫瘍幹細胞のシグナル変化を検討し、増殖シグナルや、AMPKの変化をウエスタンブロット法(WB)を用いて評価した。さらに VIVO モデルで交流磁場を印加し、腫瘍細胞の増大変化を確認し、腫瘍をメタボローム解析し、代謝変化を確認した。

4. 研究成果

- (1) がん幹細胞に必要な代謝変化を司る AMPK に対して、交流磁場は細胞レベルで変化を与えていることを WB で確認した。細胞株から幹細胞化させる時に AMPK のリン酸化の高発現を認めていたが、交流磁場はそのリン酸化を抑制していた。実際細胞数やスフェノイド形成で見ても明らかに抑制効果を認めていた(図2)。これらの結果から交流磁場は幹細胞化やがん細胞の増殖に代謝的な変化を起こして抗腫瘍効果をもつ可能性が示唆された。なぜ代謝に関する影響を起こすのかそのメカニズムの解明までには至らなかった。
- (2) 神経膠芽腫の細胞を皮下に植え付けたマウスモデルに交流磁場の印加を5回繰り返した後に、メタボローム解析をおこなった結果を検討すると、ビルビン酸と乳酸の低下を認めた。この結果は腫瘍の解糖系の抑制が示唆される。がん細胞の代謝の特徴の一つにワールブルグ効果があり嫌気性解糖系を主にエネルギー産生に使用するのが特徴である。解糖系の抑制は抗ワールブルグ効果を起こして腫瘍の増殖抑制を起こす可能性があり、交流磁場は腫瘍細胞に対して代謝変化を起こすことで抗腫瘍効果をもつ全く新しいコンセプトの治療法である可能性が示唆された。

図2



スフェノイド化による幹細胞化で2週間培養の細胞の形態

(3) 引き続きの研究、前述した NovoTTF-100A (オプチューン)の問題を我々の治療器は改善する可能性を秘めている。この治療法の問題点は、頭皮を全剃毛したうえで、1日最低 18 時間以上の持続的な電極装着が必要で、心理的圧迫が強く、生存期間の数か月の延長は、家庭内外での長時間の装置装着により良好な quality survival の延長とは言い難い点である。一方、我々の交流磁場医療機器で 30~60 分/日の使用で十分効果があることが確認できている。また、この効果は 1 回で数日持続する。磁場は骨や組織で減衰することはないために、治療部位に十分に到達させることが容易である。加えて、我々の機器はコイルに患部を密着させなくても磁場が印加されるため 非接触型の治療機器であり、装置を特定の患者が独占する必要がない。病院に装置があり、適宜短時間の通院治療が想定できる。正常細胞には交流磁場は殺細胞効果をほぼ認めないことが確認できており、罹患部位だけに抗腫瘍効果が発揮される。交流磁場によって代謝への影響する原理を用いた治療法の研究は全く新しいものの、メカニズムに関しては解明がまだ不十分であり長期的な体への影響がまだ不明である。さらに、交流磁場の性質上、熱の問題や、機器の規格の詳細を定めている段階であり、今後さらなる検証と副作用など有害事象に関する検証が今後の課題である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
研究分担者	末永 潤 (Suenaga Jun) (30610365)	横浜市立大学・医学部・講師 (22701)	
研究分担者	秋本 大輔 (Akimoto Taisuke) (90846718)	横浜市立大学・附属市民総合医療センター・助教 (22701)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関