

令和 4 年 4 月 5 日現在

機関番号：13901

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K22086

研究課題名(和文)磁性ナノテクノロジーによるガン治療法Heat Immunotherapyの創出

研究課題名(英文)Cancer heat immunotherapy using magnetic nanoparticles

研究代表者

井藤 彰(Ito, Akira)

名古屋大学・工学研究科・教授

研究者番号：60345915

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 5,000,000円

研究成果の概要(和文)：免疫チェックポイント阻害薬では細胞傷害性T細胞が破壊できる癌細胞の数は限られており、固形腫瘍を治療することは難しい。我々は磁性ナノ粒子が交流磁場で発熱する性質を利用して、熱で癌を破壊する温熱療法の開発を行ってきた。磁性ナノ粒子を用いた温熱療法は、1) 免疫系に認識される腫瘍抗原を体内で大量に産生/放出できること、2) 腫瘍組織は温熱療法で破壊して、転移ガンは免疫で排除できることから、免疫チェックポイント阻害薬の弱点を強力に補完した理想的なガン治療が可能になる。本研究では、磁性ナノテクノロジーで免疫チェックポイント阻害薬の効果を強力に増幅する新規Heat Immunotherapyを開発した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

癌の死亡数は人口の高齢化を主な要因として増加し続けており、強力な治療法が望まれる。近年、「免疫チェックポイント阻害薬」と総称される新薬が登場し、夢の癌治療薬として注目されているが、免疫療法では固形癌を退縮させることは難しいのが現状である。我々が開発した磁性ナノ粒子を用いた癌温熱療法を、免疫チェックポイント阻害剤の投与と組み合わせることでマウスの系で高い治療効果が得られた。さらに、この組み合わせ療法の効果を増強すべく、抗炎症作用が知られるグリチルリチンの投与および免疫抑制細胞を阻害するCpGの投与の組み合わせにより、劇的に治療効果が高まることを見出したことは、学術的・社会的意義が大きい。

研究成果の概要(英文)：Immune checkpoint inhibitors induce cytotoxic T lymphocytes but they can kill a limited number of cancer cells, which is difficult to treat solid tumors. We have been developing hyperthermia that destroys cancer by heat by utilizing the property that magnetic nanoparticles generate heat under an alternating magnetic field. Hyperthermia using magnetic nanoparticles 1) can produce / release a large amount of tumor antigen recognized by the immune system in the body, 2) tumor tissue can be destroyed by hyperthermia, and metastatic cancer can be eliminated by immunity, which enables ideal cancer treatment that strongly complements the weak points of immune checkpoint inhibitors. In this study, we have developed a novel Heat Immunotherapy that strongly amplifies the effects of immune checkpoint inhibitors by using magnetic nanotechnology.

研究分野：生体医用工学

キーワード：温熱療法 免疫療法 磁性ナノ粒子 免疫チェックポイント阻害剤 グリチルリチン CpG

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

免疫チェックポイント阻害薬により T 細胞はブレーキが外れることでガン細胞を攻撃することができる。しかし、夢のガン治療薬ともよばれる免疫チェックポイント阻害薬には、1) 体内には免疫系に認識されるガン細胞の抗原 (腫瘍抗原) 量が乏しいこと、2) 細胞傷害性 T 細胞が破壊できるガン細胞の数は限られており 腫瘍塊を治療することは難しい、といった問題点がある。我々は、磁性ナノ粒子が交流磁場で発熱する性質を利用して、熱でガンを破壊する温熱療法の開発を行ってきた。興味深いことに、磁性ナノ粒子を用いて温熱療法を施すと、HSP70 タンパク質を介した抗腫瘍免疫が誘導されることを見いだした。

### 2. 研究の目的

磁性ナノ粒子を用いた温熱療法は、1) 免疫系に認識される腫瘍抗原を体内で大量に産生/放出すること、2) 腫瘍組織は温熱療法で破壊して、残存のガン細胞や転移ガンは免疫で排除できることから、免疫チェックポイント阻害薬の弱点を強力に補完した理想的なガン治療が可能になると考えられる。本研究では、磁性ナノテクノロジーで免疫チェックポイント阻害薬の効果を強力に増幅する新規 Heat Immunotherapy を創出することを目的とした。

### 3. 研究の方法

3年間の研究期間において、悪性度の高い皮膚癌 (マウス B16 メラノーマ) の担癌マウスを治療実験に使用し、1) 機能性磁性ナノ粒子の腫瘍への投与、2) 交流磁場照射による腫瘍の加温による温熱療法、3) 免疫チェックポイント阻害薬 (抗 PD-1 抗体および CTLA-4 抗体) の投与および 4) これらの治療効果を増強する薬剤として、細胞が死ぬときに放出される HMGB1 タンパク質をブロックすることで抗炎症性作用が知られるグリチルリチンの投与および腫瘍内の免疫抑制細胞である骨髄由来免疫抑制細胞 (MDSC) をトル様受容体 (TLR) 9 を介して阻害する CpG オリゴデオキシヌクレオチド (CpG ODN) の投与の組み合わせを検討し、温熱で腫瘍を破壊して抗原を大量生産し、増幅された免疫チェックポイント阻害薬の免疫によって転移ガンにまで効果がある理想的なガン治療法の開発を行った。

### 4. 研究成果

無治療コントロールを含む複数の治療群 (すべての群について n=5) を作製し、治療開始を Day0 とする Day20 までの腫瘍体積を計測した (Fig.1)。

まず、無治療群、43 の温熱治療のみ行った群、46 の温熱治療のみ行った群の腫瘍体積推移の比較から、治療温度が高い方が腫瘍の増大が抑えられることが確認された。また、43、46 とともに、温熱治療のみを行った群では治療開始から 10 日間程度腫瘍増大が抑えられるものの、その後腫瘍体積が増加し始めた。この結果は、温熱治療によって与えられた熱ダメージによる腫瘍抑制効果が 10 日程度で減衰することを示唆している。

次いで温熱治療によるがん細胞のネクローシスで放出される細胞外 HMGB1 による炎症を介した免疫抑制や腫瘍組織の修復を阻害するため、温熱治療に HMGB1 阻害剤であるグリチルリチンの投与を追加し、治療効果を検討したところ、温熱治療とグリチルリチンの併用によって腫瘍増大の抑制効果が高まる傾向が認められた。これに対して、無治療コントロール群とグリチルリチンの投与のみを行った群の比較では治療効果に差が表れなかった。これは HMGB1 の細胞外放出はがん細胞のネクローシスによって起こる現象であり、温熱治療を行っていないマウスにおいては HMGB1 の放出が起こらなかったためだと考えられる。以上から、グリチルリチンは単体では腫瘍抑制効果を持たないが、温熱治療と併用することで相乗効果を発揮することが明らかになった。

さらに、T 細胞の活性を高く保つことでより高い治療効果を実現するため、温熱治療とグリチルリチンの投与に免疫チェックポイント阻害剤の投与を追加した治療群を作製した。しかし温熱治療の有無や治療温度によらず、免疫チェックポイント阻害剤の投与による治療効果の向上は見られなかった。この結果は、T 細胞が腫瘍組織を攻撃できない要因が免疫チェックポイントによる免疫抑制以外に存在することを示唆している。

免疫チェックポイント阻害剤の併用による治療結果を踏まえ、腫瘍微小環境を構成する MDSC が T 細胞機能を抑制しているのではないかと仮説を立てた。この仮説を検証するため、MDSC の免疫抑制機能低下とマクロファージ等への分化促進を誘導する CpG を用いた治療実験を実施した。その結果、43 と 46 のどちらの治療温度においても温熱+グリチルリチン+免疫チェックポイント阻害剤群に比べて腫瘍増大の抑制効果が向上し、Day20 まで生存するマウスの割合が増加した。46 の温熱治療とグリチルリチン、免疫チェックポイント阻害剤および CpG 投与を組み合わせた群は Day 20 ですべてのマウスの腫瘍が退縮し、治療開始から 20 日後も生存率が 100% となった。また、同群では Day 10 以降に強く腫瘍増大が抑制されている。以上の結果と、熱ダメージのみによる腫瘍増大抑制効果が表れるのは Day 10 前後までであったことを踏まえると、CpG の投与によって抗腫瘍免疫の効果が強化され、腫瘍増大が強

力に抑制されたことが推測される。

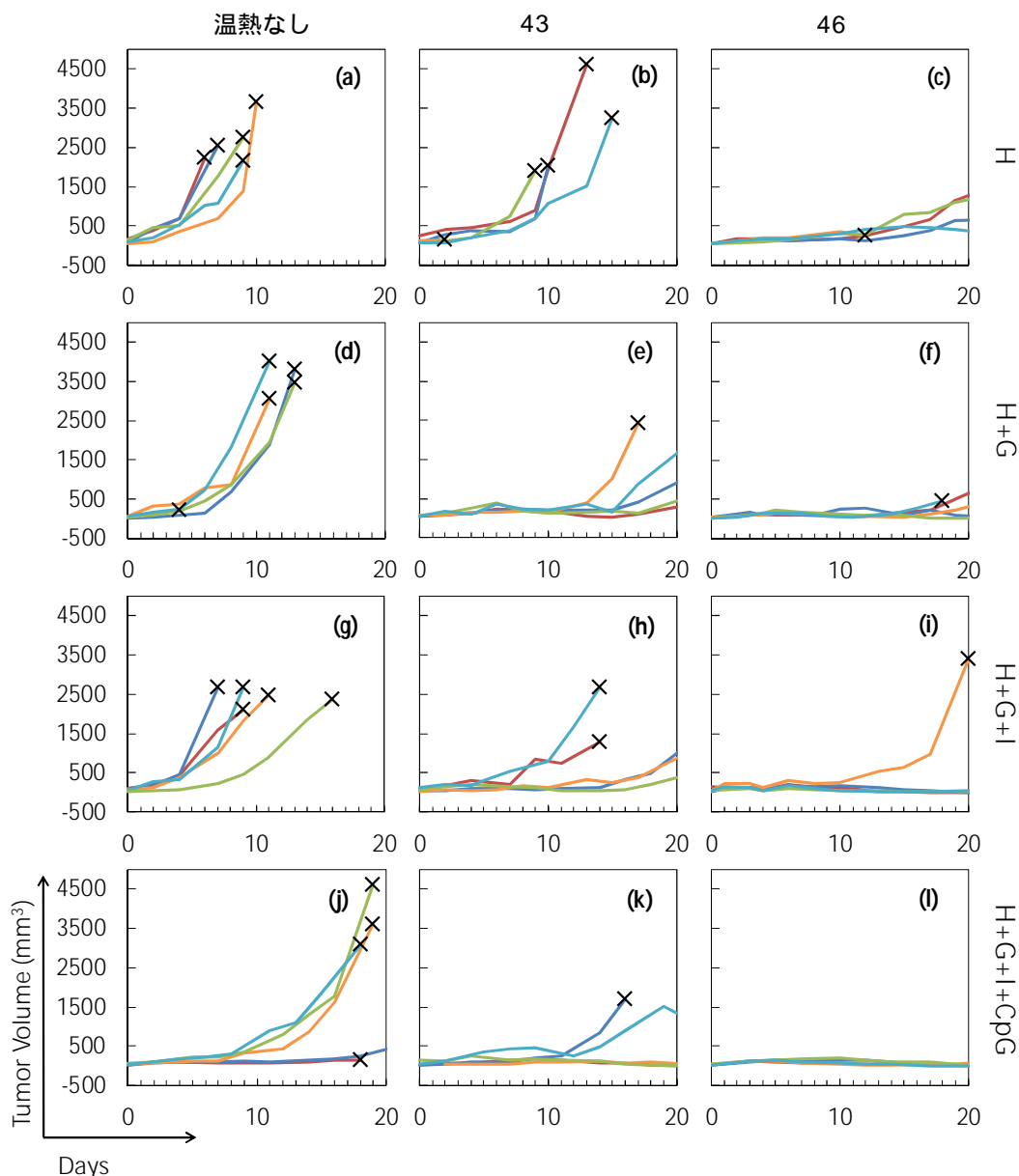


図1 治療開始から20日間の腫瘍体積推移。線はそれぞれのマウスの腫瘍体積を、×はマウスの死亡を表す。H: 温熱治療、G: グリチルリチン投与、I: 免疫チェックポイント阻害剤投与、CpG: CpG ODN 投与

腫瘍体積変化の観察を行ったマウスの Day 50 までの生存率を治療温度ごとにまとめ、同じ治療温度の 2 群間で有意差検定を行ったところ、温熱+グリチルリチン+免疫チェックポイント阻害剤+CpG 投与によって、治療開始からの 50 日間生存率が有意に向上することが分かった。以上の結果から、CpG 投与による MDSC 抑制が抗腫瘍免疫を強化し、担癌マウスの生存期間を延長可能にすることが明らかになった。

本研究において、グリチルリチン投与による温熱療法後の腫瘍再増大の抑制と、CpG 投与による MDSC 抑制に起因する抗腫瘍免疫強化が明らかとなり、悪性度が高く免疫に認識されにくい B16F10 メラノーマ腫瘍に対しても、温熱療法+グリチルリチン投与+免疫チェックポイント阻害剤投与+CpG 投与が高い治療効果をもたらすことが明らかになった。この併用療法では、(1) 温熱療法による熱ダメージでがん細胞が死亡するとともにがんの抗原放出が起こり、T 細胞への抗原提示が行われる、(2) CpG の投与によって MDSC の免疫抑制機能が低下、(3) 免疫チェックポイント阻害によって T 細胞活性の抑制を防ぎ T 細胞による殺腫瘍を誘導し、それと同時に (4) HMGB1 阻害による炎症抑制で腫瘍の再増殖を防ぐというメカニズムで高い治療効果が得られたと考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 4件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 井藤 彰、金子 真大
2. 発表標題 磁性ナノ粒子を用いたハイパーサーミア - 基礎研究の新展開
3. 学会等名 日本ハイパーサーミア学会第37回大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 井藤 彰
2. 発表標題 機能性磁性ナノ粒子を用いたハイパーサーミア
3. 学会等名 東海ハイパーサーミア研究会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 井藤 彰
2. 発表標題 機能性磁性ナノ粒子の開発と医療分野への応用
3. 学会等名 日本生物工学会中部支部例会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Akira Ito
2. 発表標題 Medical Application of Functional Magnetic Nanoparticles
3. 学会等名 International Conference on Materials and Systems for Sustainability 2019（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鈴木悠太郎、金子真大、西川安美、井藤彰
2. 発表標題 磁性ナノ粒子を用いたがん温熱療法における免疫チェックポイント阻害剤の効果
3. 学会等名 化学工学会第52回秋季大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Akira Ito
2. 発表標題 Hyperthermia using functional magnetic nanoparticles
3. 学会等名 第45回日本磁気学会学術講演会（招待講演）
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

研究室HPの研究紹介 <a href="https://www.material.nagoya-u.ac.jp/ItoLab/research.html">https://www.material.nagoya-u.ac.jp/ItoLab/research.html</a> 名古屋大学化学システム工学専攻井藤研HP <a href="https://www.material.nagoya-u.ac.jp/ItoLab/research.html">https://www.material.nagoya-u.ac.jp/ItoLab/research.html</a>
--

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

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
---------	---------