

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 29 日現在

機関番号：23903

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2016

課題番号：26861283

研究課題名(和文)膀胱がんに対する磁性ナノ粒子を用いた温熱治療の開発とその治癒メカニズムの解明

研究課題名(英文) Development of thermotherapy using magnetic nanoparticles for bladder cancer and elucidation of its healing mechanism

研究代表者

小林 大地 (KOBAYASHI, Daichi)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・研究員

研究者番号：80570704

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,700,000円

研究成果の概要(和文)：私たちは、磁性ナノ粒子を用いたがん病巣のみを特異的に加温できる新しい治療法を開発し(MCL Thermotherapy)、様々ながんに対する治療効果を報告してきた。今回、膀胱がんに対してMCL Thermotherapyの有効性を検討した。MCLは細胞親和性が高く膀胱細胞への有意な吸着が証明された。また直接の腫瘍縮小効果のみならず、免疫誘導サイトカインを介した、腫瘍免疫の増強を認めた。MCL thermotherapyは免疫治療の感受性の高い膀胱がんに対して有効な治療法であることが証明された。

研究成果の概要(英文)：We have developed a new treatment method (MCL Thermotherapy) that can specifically warm cancer lesions using magnetic nanoparticles and reported the therapeutic effect on various cancers. We examined the effectiveness of MCL Thermotherapy against bladder cancer this time. MCL has high cell affinity and proved to be significant adsorption to bladder cells. Moreover, not only direct tumor shrinkage effect but also enhancement of tumor immunity via immunity induction cytokine was observed. MCL thermotherapy proved to be an effective treatment for highly sensitive bladder cancer of immunotherapy.

研究分野：泌尿器科腫瘍

キーワード：MCL 膀胱がん 温熱治療

1. 研究開始当初の背景

従来のがん温熱治療は電極でがん病巣を挟み交流電流により加温する誘電加温法である。しかし、この加温法では正常組織まで加温してしまうため、十分に加温することは不可能であり、治療効果は期待できない。そこで私たちは、特異的にがん病巣のみを加温できる新しい治療法として、正電荷リポソーム包埋型磁性ナノ粒子 (Magnetic Cationic Liposome:MCL) を発熱体とする磁場誘導組織内加温法を新たに開発した。マグネタイト微粒子(Fe_3O_4)を、正電荷を持つリン脂質にて被覆し、組織親和性を強化させた MCL を腫瘍組織に注入し、MCL だけが発熱する周波数で交番磁場を照射することで腫瘍組織のみを特異的に加温できるため、非常に高い治療効果が得られる。私たちは、この方法を MCL 温熱療法と名付けた。この治療法は従来の誘電加温法の欠点を克服する治療法であり、注目されている。

2. 研究の目的

浸潤膀胱がんの標準的治療は、根治的膀胱摘除術 + 骨盤リンパ節郭清術 + 尿路変更術である。しかしながら術後ストーマ設置を余儀なくされ、患者の QOL を著しく低下させている。そのため新たな膀胱温存治療の開発が、社会的にも求められている。

今回私たちは、これまでの研究成果を踏まえて、膀胱がんが免疫治療に対して感受性が高いことから、局所制御に優れている MCL 温熱療法とがん転移巣の制御に優れているがん免疫治療を融合させ、全身治療に応用することはできないかと考えた。**MCL 温熱療法とがん免疫治療**を併用することにより、浸潤性膀胱がんに対する新たな膀胱温存根治治療

の開発とその治癒メカニズムを解明することを目的とする。

3. 研究の方法

MCL の膀胱がん細胞への吸着と取り込みの検討

- (1) ヒト膀胱がん細胞株に対して MCL が吸着するときの濃度など至適条件の検討。
- (2) 高温度暴露によるヒト膀胱がん細胞株における免疫誘導サイトカインの検討。

動物モデルを用いた MCL 温熱療法による免疫応答の検討

- (3) マウス膀胱内に MCL を注入、MCL が吸着するときの濃度など至適条件の検討。
- (4) MCL 温熱療法の治療効果の検討。
- (5) MCL 温熱療法の免疫誘導サイトカイン (TGF- β , IL-6, IFN- γ , IL-12) の検討。
- (6) MCL 温熱療法による Th1, Th2, Th17, Treg への分化誘導の検討。

MCL 温熱療法とがん免疫療法の併用治療の治療効果の検討

- (7) MCL 温熱療法 + がん免疫療法 (抗 IL-6 抗体・抗 TGF- β 抗体) 併用治療の浸潤性膀胱がんに対する治療効果の検討。

4. 研究成果

当研究室にて保管しているヒト膀胱がん由来の 4 つの細胞株 (RT4, RT112, 5637, T24) における MCL の吸着を走査型電子顕微鏡にて確認した。

左右の背部に膀胱がんを皮下移植し、モデルマウスを作成、片側のみを MCL Thermotherapy にて治療した。MCL の濃度は 33mg/ml、用量は 100 μ l/回、5 μ l/min の速度とし、照射時間は 30min/回、2 日おきに施行した。治療側の腫瘍は縮小し、治療効果を得た。さらに未治療の腫瘍も縮小傾向

を示し、免疫賦活により退縮したものと考えられた。それぞれの免疫誘導サイトカインの発現量を western blotting/ELISA 法にて計測した。IFN- γ 、IL-2 の発現増強を確認し CTL への分化誘導の亢進が予想された。さらに、抗 TGF- β 抗体および抗 IL-6 抗体を用いて、Th17 および Treg の発現が低下していることを確認するした。

膀胱がん動物モデルにおける治療効果の検討：作成した浸潤性膀胱がんマウスを(1)無治療群(2)MCL 膀胱注入群(3)MCL 膀胱注入+交番磁場照射群(4)MCL 膀胱注入+交番磁場照射群+がん免疫治療群(抗 TGF- β 抗体,抗 IL-6 抗体)に分類した。MCL 膀胱注入+交番磁場照射群および MCL 膀胱注入+交番磁場照射群+がん免疫治療群において腫瘍縮小効果を認めている。現在、その治療効果を腫瘍体積の変化および病理組織学的検査により解析している。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計4件)

1. Okamura Takehiko, Akita Hidetoshi, Yamada Kenji, Kobayashi Daichi, Hirose Yasuhiko, Kobayashi Takahiro, Tanaka Yutaro, Naiki Taku, Yasui Takahiro: Therapeutic results in elderly patients with prostate cancer: chronological comparison in a single community hospital. The Japanese Association of Rural Medicine, 11(2): 59-62, 2016, 査読あり (doi:10.2185/jrm.2916)
2. Kawai Noriyasu, Kobayashi Takeshi, Kobayashi Daichi, Tsutsumiuchi Kaname, Iida Keitaro, Etani Toshiki, Naiki Taku, Ando Ryosuke, Mizuno Kentaro, Okada Atsushi, Tozawa Keiichi, Yasui

Takahiro: Safety of regional 8-MHz radiofrequency capacitive hyperthermia combined with magnetic cationic liposomes in patients with castration-resistant prostate cancer: a phase clinical study. Journal of International Translational Medicine, 4(4):258-267, 2016, 査読あり (doi:10.11910/2227-6394.2016.04.04.07)

3. 河合 憲康、内木 拓、安井 孝周：特集 これだけは伝えたい！腎癌手術のコツ 根治的腎摘除術：経腹膜的到達法。臨床泌尿器科、70(5)：306-311、2016、査読なし (http://www.igaku-shoin.co.jp/journal/Detail.do?journal=36760)
4. 河合 憲康、守時 良演、安井 孝周：連載 泌尿器科領域におけるトラブルシューティング 膿腎症の治療として腎摘除術を選択したときの備え。泌尿器外科、29(11):1655-1658、2016、査読なし (http://igakutosho.co.jp/magazine/urinary/2016/zh2911.html)

[学会発表](計6件)

1. 小林 大地、永井 隆、田中 勇太郎、小林 隆宏、秋田 英俊、岡村 武彦：当院における腹腔鏡下腎摘除術の検討～ラーニングカーブを中心に～。第30回日本泌尿器科内視鏡学会総会、2016.11.17-19、イベントラボ・グランフロント大阪(大阪府大阪市)
2. 小林 大地、永井 隆、田中 勇太郎、小林 隆宏、秋田 英俊、岡村 武彦：体外循環を用いた巨大腎細胞癌右房内腫瘍塞栓合併症切除術の経験。第18回西三河泌尿器研究会、2016.10.6、ホテルグランドティアラ安城(愛知県安城市)

3. 河合 憲康、小林 大地、小林 猛、堤内 要、永井 隆、飯田 啓太郎、恵谷俊紀、内木 拓、安藤 亮介、戸澤 啓一、安井 孝周：去勢抵抗性前立腺がんを対象としたマグネタイト微粒子と誘電加熱装置を用いた新規温熱治療の第1相臨床試験。日本ハイパーサーミア学会第33回大会、2016.9.2-3、つくば国際会議場（茨城県つくば市）
4. 小林 大地、田中 勇太郎、廣瀬 泰彦、小林 隆宏、秋田 英俊、岡村 武彦、安井 孝周：単孔式腹腔鏡下副腎摘除術の有用性の検討。第104回日本泌尿器科学会総会、2016.4.23-25、仙台国際センター 他（宮城県仙台市）
5. 河合 憲康、小林 大地、小林 猛、堤内 要、内木 拓、恵谷 俊紀、飯田 啓太郎、安藤 亮介、戸澤 啓一、郡 健二郎、安井 孝周：治療抵抗性前立腺癌に対するマグネタイト微粒子と誘電加熱装置を用いた新規温熱治療の開発。第104回日本泌尿科学会総会、2016.4.23-25、仙台国際センター 他（宮城県仙台市）
6. 小林 大地、田中 勇太郎、廣瀬 泰彦、小林 隆宏、秋田 英俊、岡村 武彦：右心房内静脈腫瘍塞栓を伴った進行性腎細胞癌に対する人工心肺下手術の1例。第271回日本泌尿器科学会東海地方会、2016.3.19、KDX 桜通ビル（愛知県名古屋市）

6. 研究組織

(1)研究代表者

小林 大地（KOBAYASHI, Daichi）
名古屋市立大学・大学院医学研究科・研究員
研究者番号：80570704