

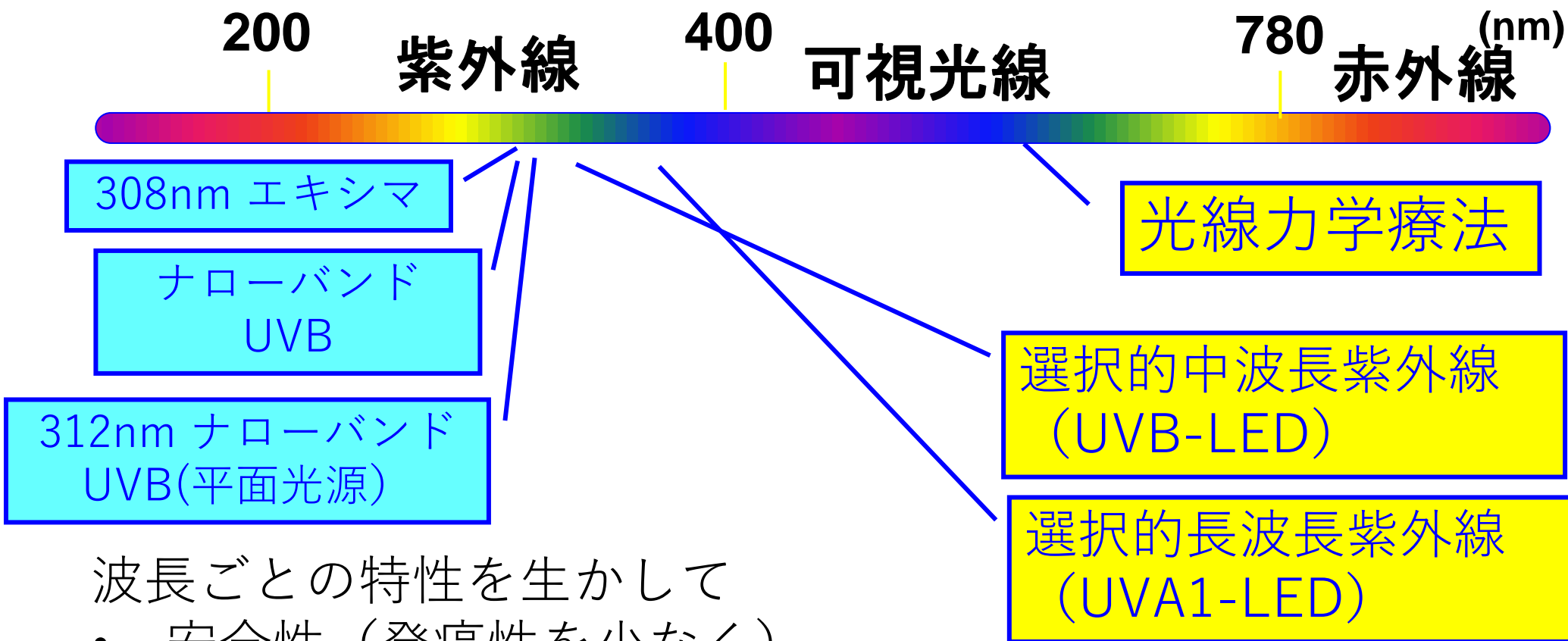
制御性T細胞を誘導するための 紫外線照射について

名古屋市立大学 大学院医学研究科
加齢・環境皮膚科学分野

教授 森田 明理

2023年10月24日

波長特性を応用した紫外線療法・PDT

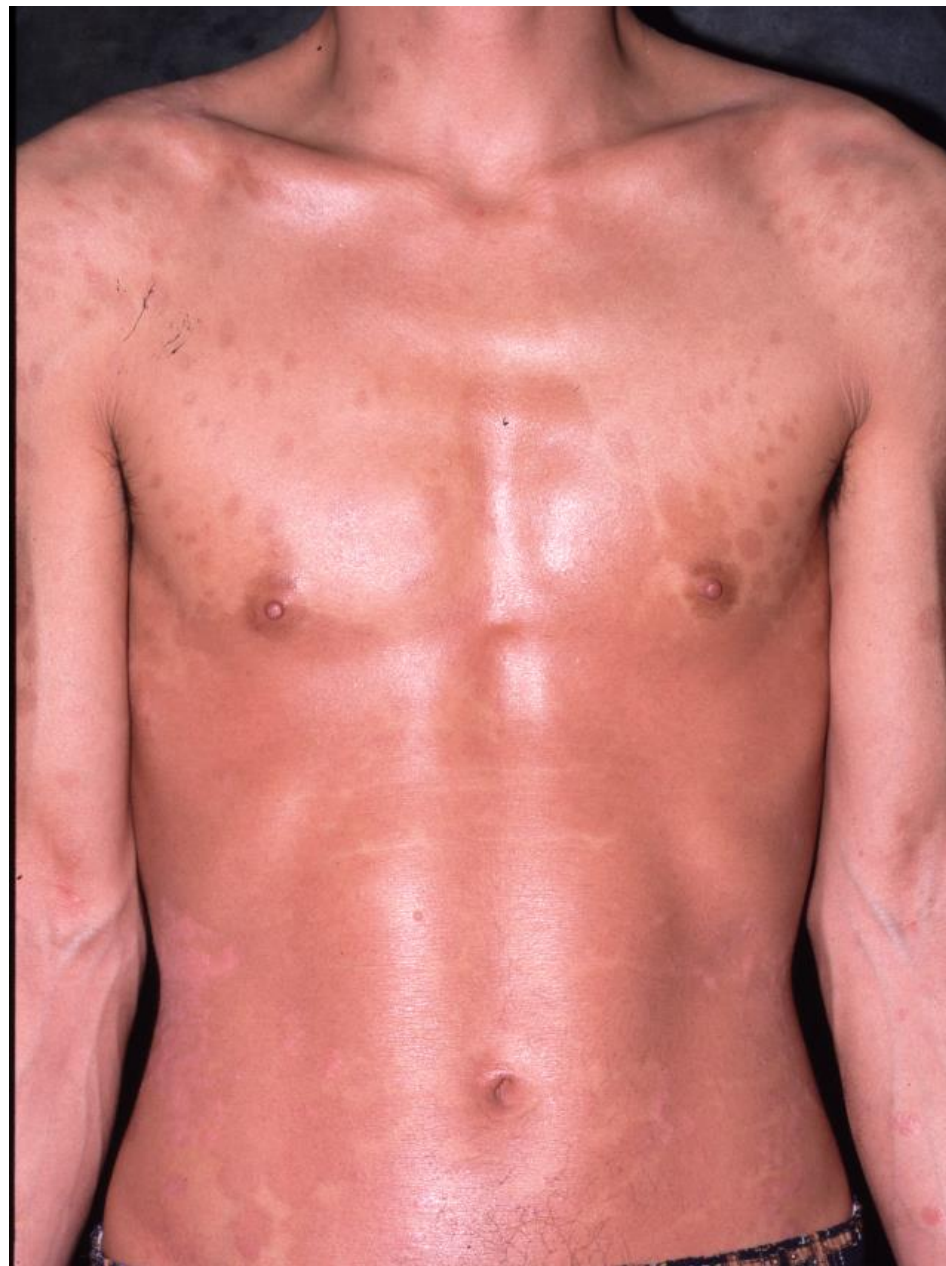


波長ごとの特性を生かして

- 安全性（発癌性を少なく）
- 有効性（有効波長を利用）

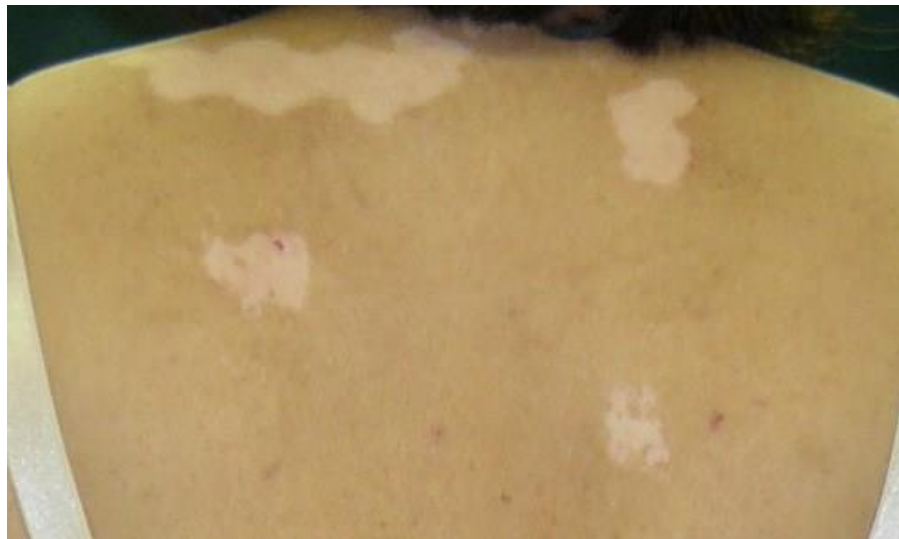


35歳男性、罹患期間 12年



9回照射、3週間後

ナローバンドUVBの尋常性白斑治療例



照射前



照射前



50回照射



50回照射

これまでの皮膚疾患に対する治療機器開発

～ナローバンドUVB・エキシマライト(9つの機器開発に成功)～名市大発!

2002年

2005年

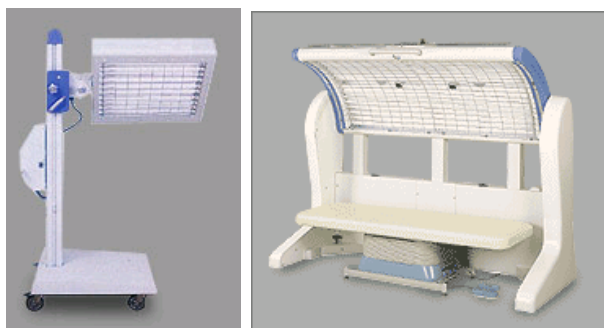
2008年

2011年

2016年

2021年

半身/全身照射型
ナローバンドUVB治療器



デルマレイ®

エキシマライト
UVB治療器



TheraBeam® UV308

平面発光
UVB治療器



TARNAB

小型軽量化
エキシマライト



TheraBeam® UV308 mini

UVA1
LED化に
成功



2018年

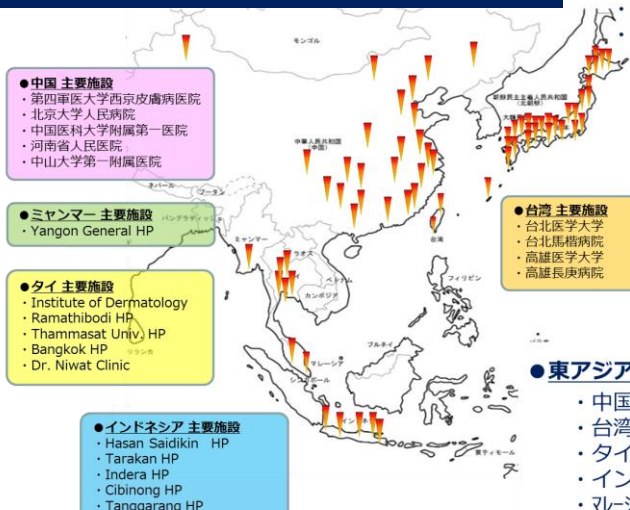
大面積・スリム化
エキシマライト



TheraBeam® UV308 Slim

セラビームUV308の採用施設

- 日本全国: **550**施設
- ・国公立施設 :100
- ・一般クリニック :450



改良を加え
バージョンアップ

現在、日本をはじめアジア
7カ国で使用されている

フォトフェレーシス

フォトフェレーシスとは

■ 血液体外循環と紫外線を用いた治療法。

■ 対象疾患

- ✓ 皮膚 T 細胞性リンパ腫
- ✓ 尋常性天疱瘡
- ✓ リウマチ性関節炎 etc.

■ 従来の工程

1. 血液より白血球分画を分離
2. 白血球分画に光感作物質として8MOP添加
3. 紫外線 (UVA) を照射
4. 患者の循環血液に戻す

研究課題

■ 血球分離および光増感剤を用いないフォトフェレーシスを確立する。

■ 方策

- ✓ 全血を紫外線透過特性を持つ石英管に導入
- ✓ 石英細管の内径を最適化



<仮説>

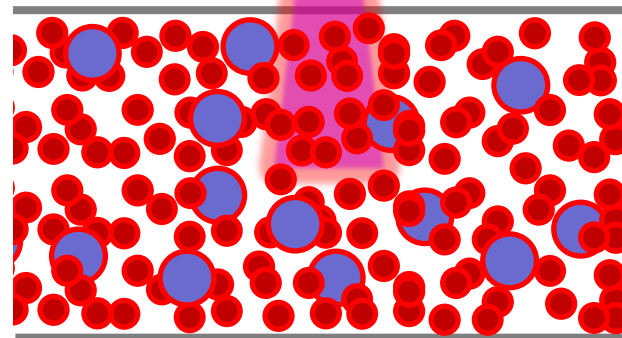
遠心分離なしに標的となるリンパ球へUVが届き、アポトーシスの誘導が可能となる。

流れの最適化

石英細管の内径を最適化することで、遠心分離なしに標的となるリンパ球へUVが届き、アポトーシスの誘導が可能となる

■ 管径が太い場合

下部までUVが届かない



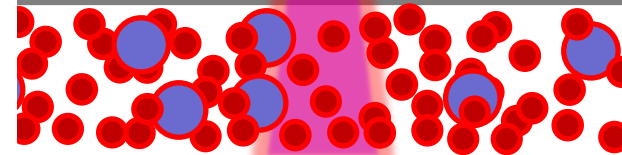
石英細管
リンパ球 ~15um

赤血球 ~8um



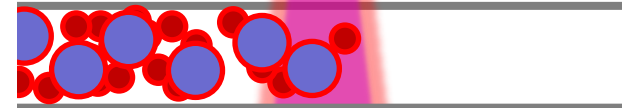
■ 管径を細くすると

管内全体へUVが届く



■ さらに細くすると

血球が分離する



■ 管径を細くしすぎると

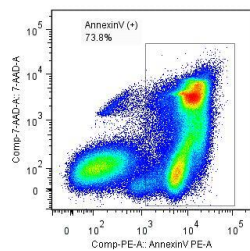
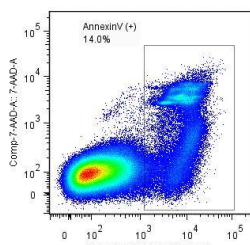
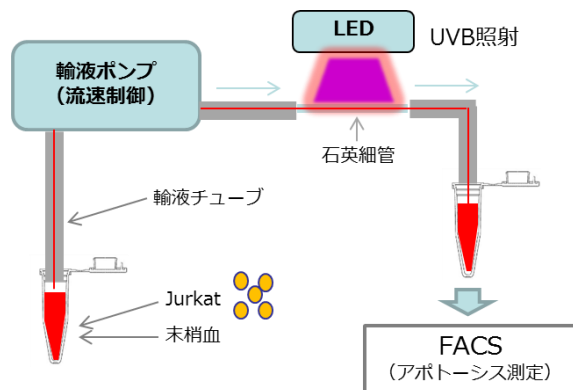
血栓発生し詰まる



照射効率 η_{UV} には管径以外にも様々なパラメータが関連する (ex. v : 速度、 a : 加速度、 μ : 粘度、 $\Delta\rho$: 濃度分布、 l : 管長、...). これらを最適化し、より効果的な治療システムを確立する。

これまでの研究成果

- ✓ 流路および細管を用い、光照射によるアポトーシス誘導 (治療効果) を確認
- ✓ 最適な細管径範囲を決定



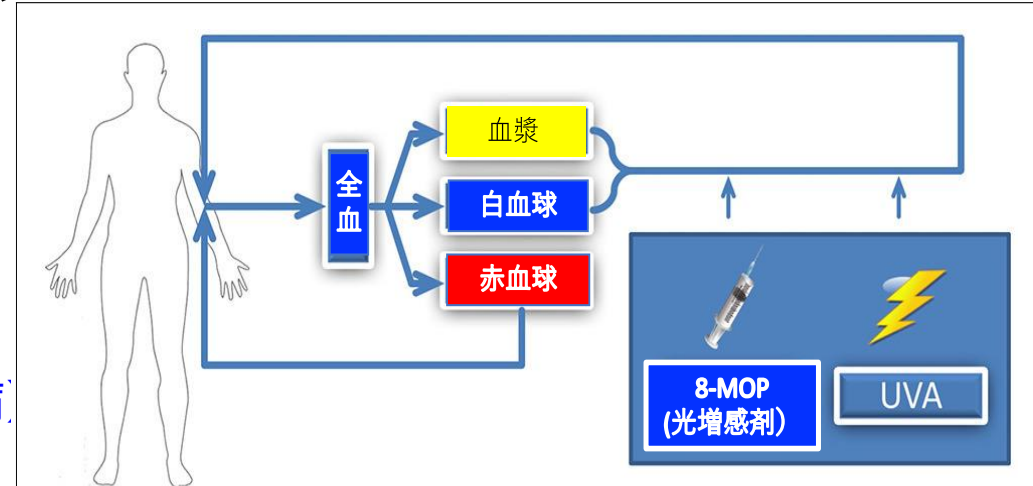
特許出願

2018年4月出願済み (未公開)
フォトフェレーシスのための紫外光照射方法、フォトフェレーシス用マイクロデバイス、および、フォトフェレーシス用紫外光照射装置

■ 血液体外循環と紫外線を用いた治療法

■ 対象（有効）疾患

- ・ 自己免疫疾患
(尋常性天疱瘡、1型糖尿病など)
- ・ 炎症性疾患
(アトピー性皮膚炎、クローン病など)
- ・ 臓器移植 (心移植・肺移植)
- ・ GvHD (graft-versus-host disease : 移植片対宿主病)
- ・ 皮膚T細胞性リンパ腫



■ 普及状況

<米国> 1988年に皮膚T細胞リンパ腫の第一選択治療としてFDA認可
100施設以上のフォトフェレーシスセンターが設立

<日本> 使用実績なし・未承認

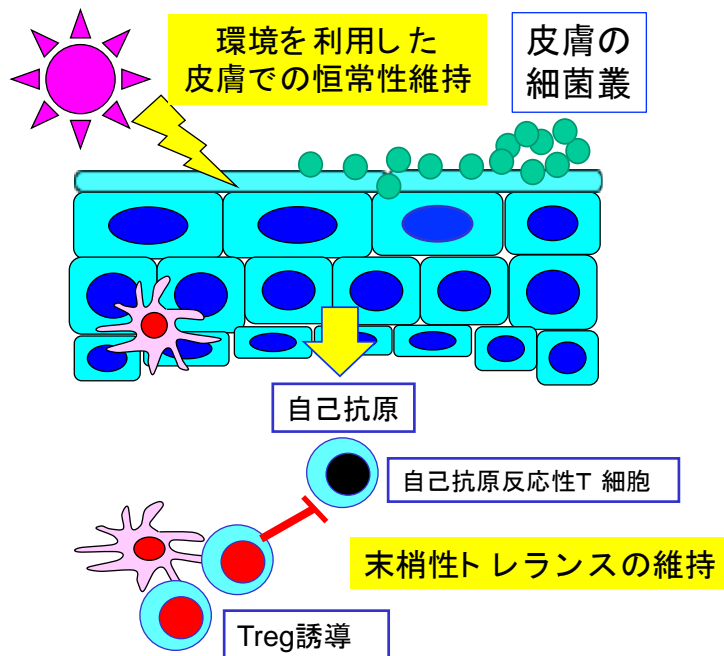
■ 従来の工程

- 1) 血液より白血球分画を分離
白血球分画に光感作物質として8-methoxypsoralen (8-MOP) 添加
- 2) 紫外線 (UVA) を照射
- 3) 患者の循環血液に戻す

■ 作用機序

制御性T細胞 (Treg) 誘導がメインであると推定がされているがダイレクトエビデンスではない

- 制御性T細胞 (Treg) の役割
免疫応答を抑制する機能を持ち、自己免疫疾患・炎症性・アレルギー疾患などを引き起こす過剰な免疫応答を抑制
(免疫系の恒常性の維持)
- Tregの発見と臨床応用
 - ✓ 坂口志文博士 (大阪大学免疫学フロンティア研究センター) が、自己免疫疾患を抑制するT細胞群が、CD4⁺CD25⁺であること発見 (Foxp3がマスター遺伝子)
 - ✓ 現時点では、体外でTregを誘導することは容易ではなく、その臨床応用の実現が待ち望まれている



皮膚の免疫恒常性を利用した治療

光線療法の基本的な奏功機序の解明

難治性皮膚疾患 (アトピー性皮膚炎) の紫外線治療の奏功機序が、病因となる細胞のアポトーシスであることを発見 (*J Exp Med* 1998)

波長ごとの特性

311nm, 308nm, UVA1など波長特性を応用した多数の紫外線機器の開発・実用化

ヒト制御性T細胞の誘導

乾癬患者の末梢血中で、活性化したTregの誘導・機能不全に陥っていたTreg機能回復の発見 (*Plos one*, 2013, *J Dermatol Sci* 2017)

マウス制御性T細胞の誘導

UVBによりTreg関連遺伝子に脱メチル化し、Tregが機能を持つことを証明し、真皮の樹状細胞とクラスターを作り、皮膚でTregが誘導されることを証明
(*J Immunol* 2014、2018)。

乾癬、多発性硬化症は、北に行くほど (紫外線が少ない) 多くなる

2. 目的

従来のフォトフェーシスの問題点

◆ 血球分離

システムの複雑化

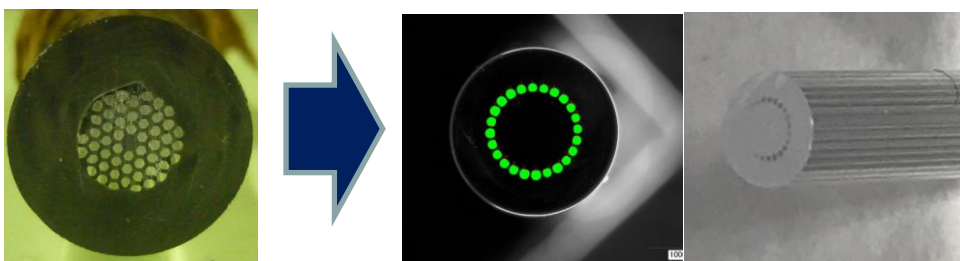
◆ 光増感剤

照射後も遮光管理必要



キーパーツ：フォトニック結晶ファイバー(PCF)

- ✓ 臨床応用に向け処理流量の増大が必要
- ✓ 穴の配置の最適化
- ✓ スーパーコンティニウム光源技術を転用



血球分離・光増感剤を用いない新たなフォトフェーシスの基盤技術を確立する。

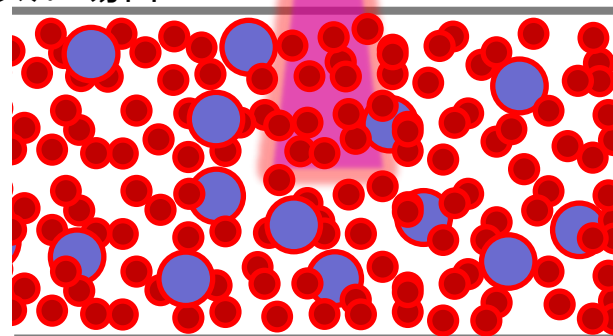
特願2018-078869、PCT/JP2019/015477

解決手段

- ✓ 全血を紫外線透過特性を持つ石英細管（フォトニック結晶ファイバー：PCF）に導入
- ✓ フロー状態で、UVB(290~320nm)もしくはさらに短波長であるUVC(200-290nm)を照射

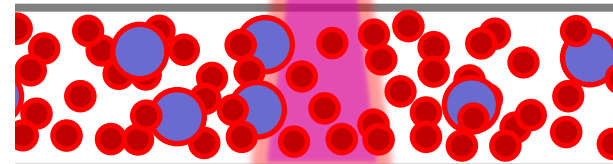
■ 管径が太い場合

光が届かない



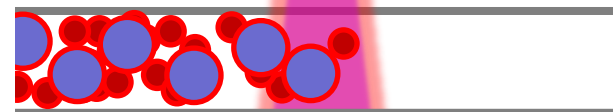
■ 管径を細くすると

光到達



■ さらに細くすると

分離する



■ 管径を細くしすぎると

詰まる



照射効率 η の最大化に向け、管径、穴形状始め各種パラメータを最適化する (ex. v : 速度、 a : 加速度、 μ : 粘度、 Δp : 濃度分布、 l : 管長 etc.)

3. 研究戦略およびマイルストーン

紫外線によるTregの体外制御方法確立

研究目標

➤ 革新的な光技術を用いた難治性疾患の治療

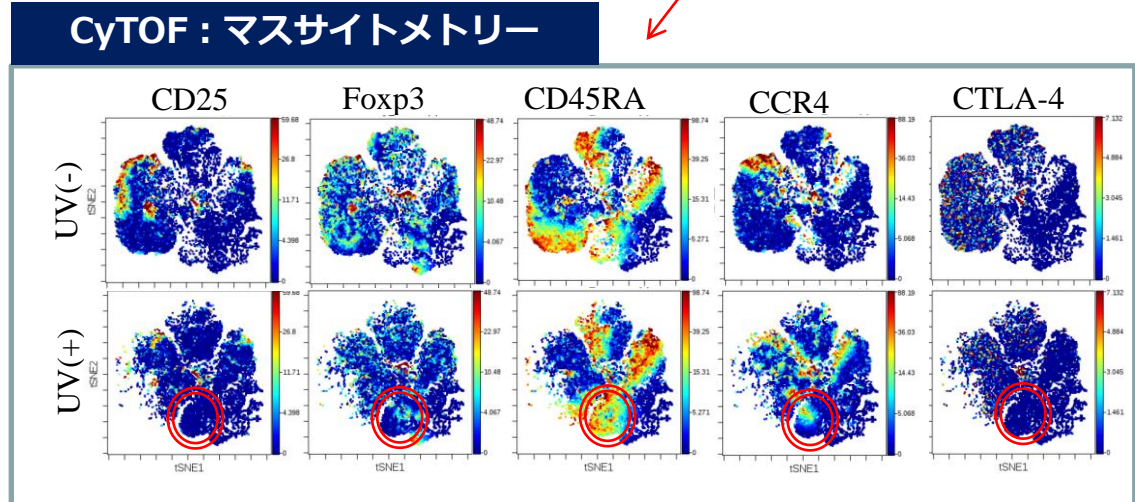
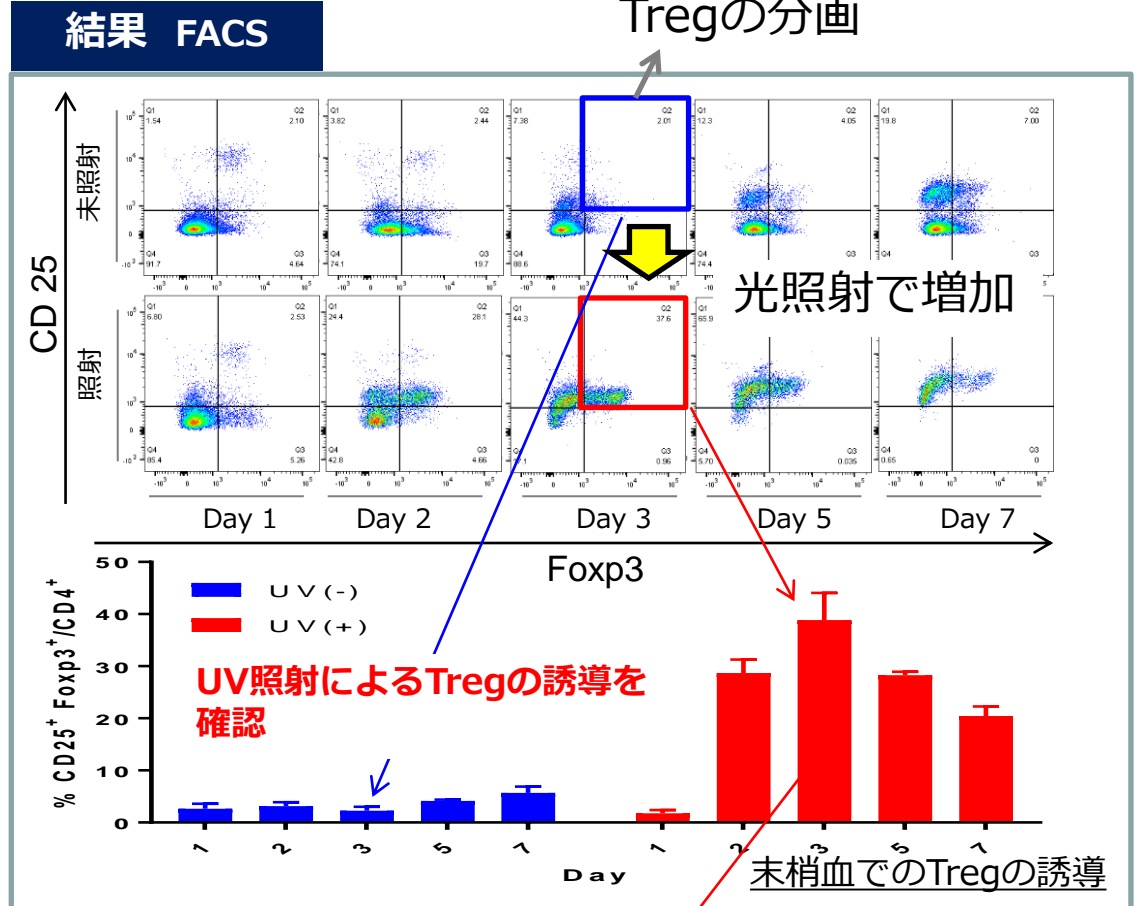
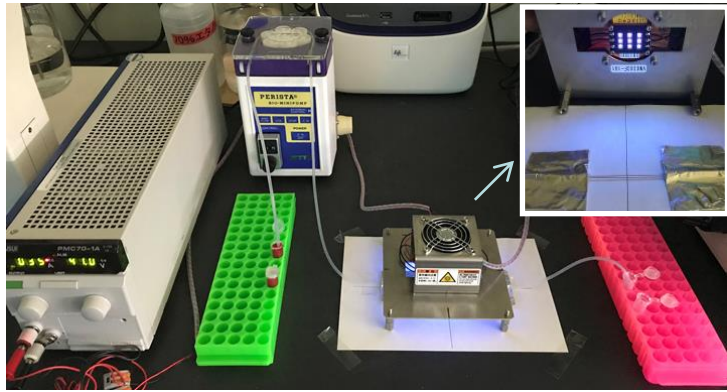
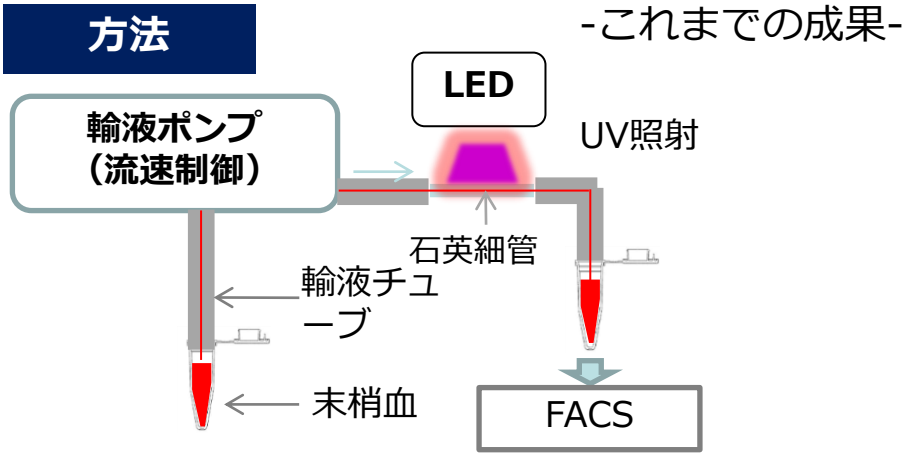
-アンメットニーズの解消、健康寿命の延伸、社会保障費の抑制-

達成目標

- ✓ 新たなフォトフェレーシス基盤技術の確立
- ✓ 動物実験によるメカニズムの解析・波長特性の解析
- ✓ 臨床使用可能な体外循環照射装置の開発

中間目標

- 血球分離、光増感剤を用いないフォトフェレーシス基盤技術の確立
- 紫外線照射におけるTreg誘導に関するメカニズムの解析
- 炎症性疾患および神経変性疾患に対する治療効果の確認



さらに以下の手法を用い、誘導されるTregのサブセット解析を行う。

- ✓ NGSによるトランスクリプトーム解析
- ✓ CyTOFによるリンパ球多色染色
- ✓ Single cell RNA seq (sgRNAseq)解析
- ✓ エピゲノム解析

■ Tregの機能の応用

-アレルギー・免疫疾患・移植、さらに認知症-

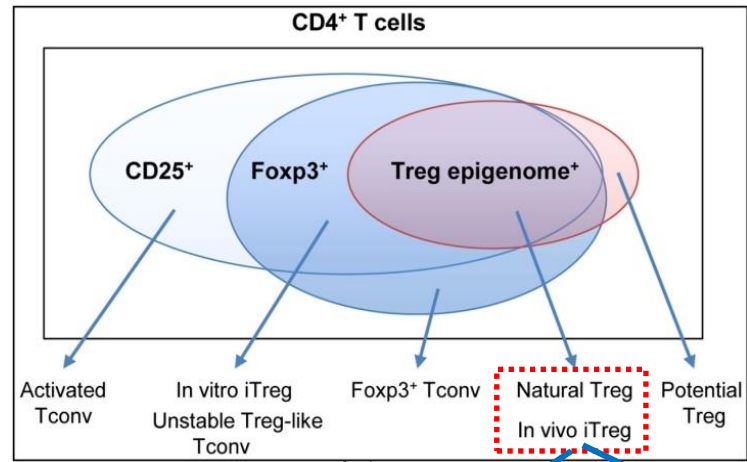
<Traditional function>

免疫抑制：アレルギー・免疫疾患・移植への応用

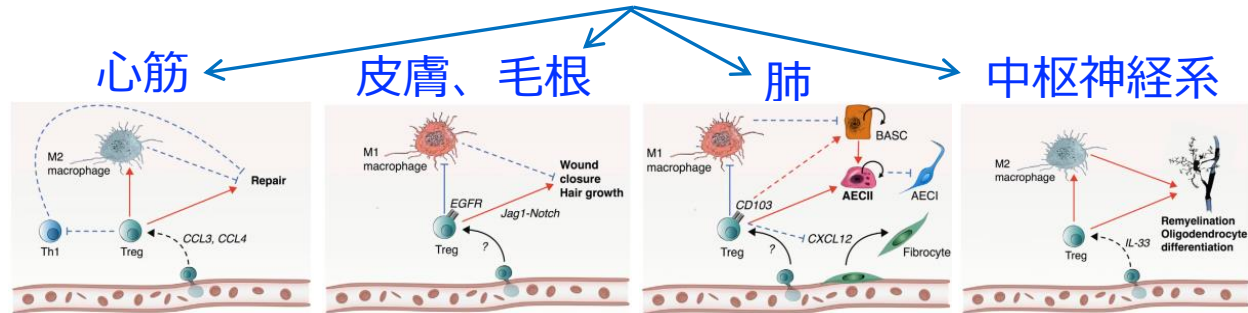
<Non-traditional function>

組織修復と再生に関わる組織Treg

- ・ 脳Treg・・・アンフィラグリンによる神経幹細胞への働き
- ・ 筋肉のTreg・・・神経末端を増やす、
- ・ 毛根組織のTreg・・・発毛サイクルを促進
- ・ 心筋Tregなど



【Tregの主な役割】 (新) 修復と再生 (従来) 免疫抑制



C57BL6 7週齢 ♀マウス
光源：モノクロメーター
波長の種類：240, 260, 280, 300nm

Day 0

背部に紫外線照射
(1cm²×2ヶ所)



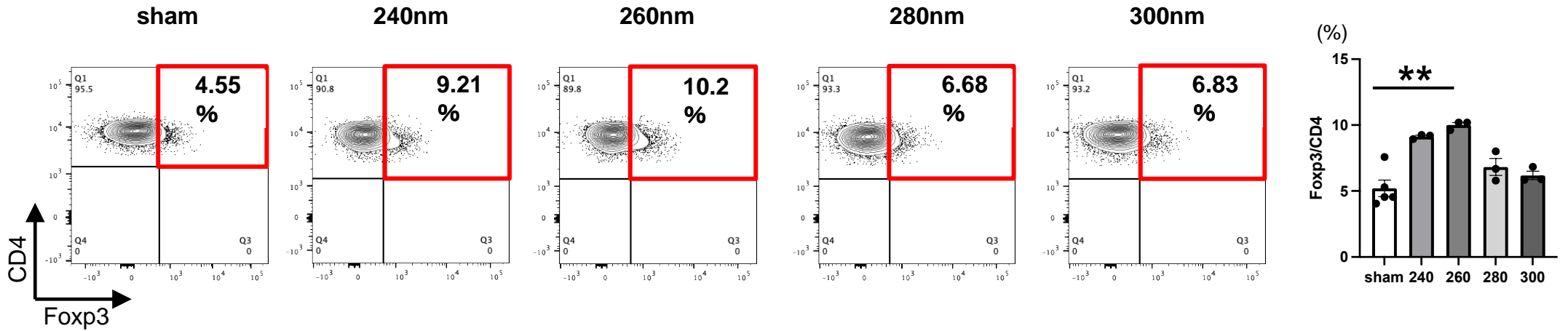
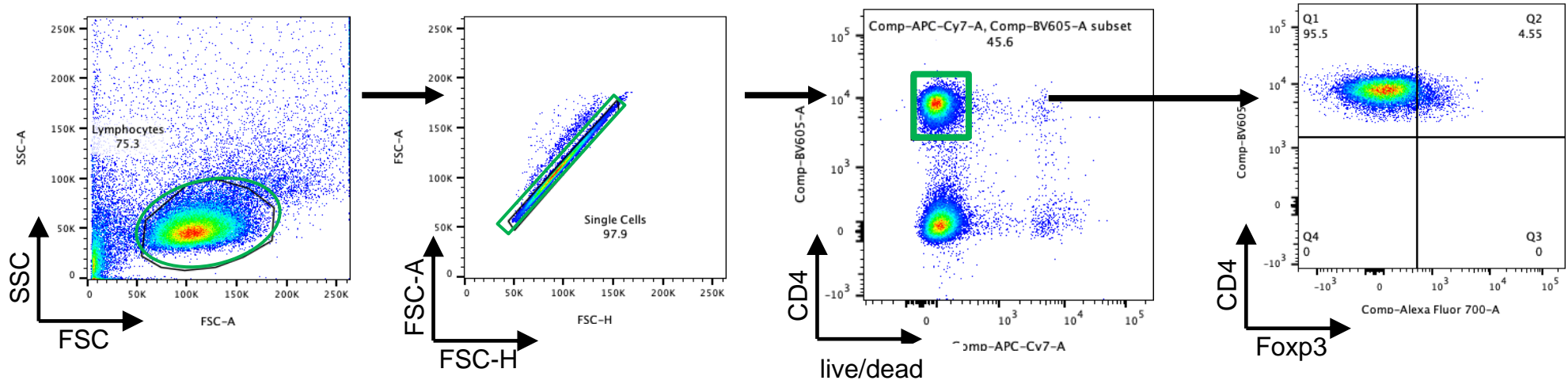
Day 3, 7

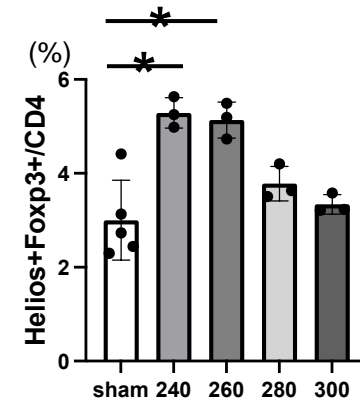
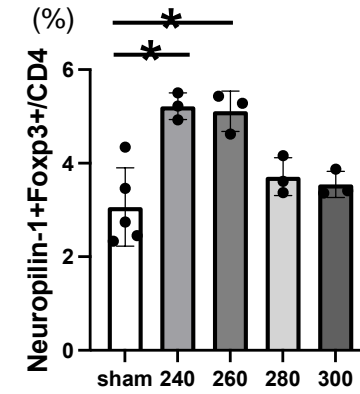
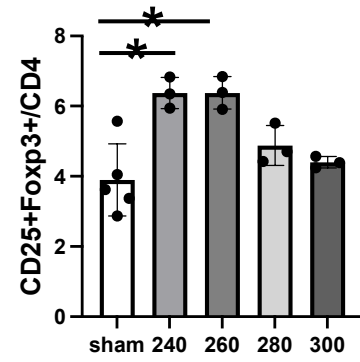
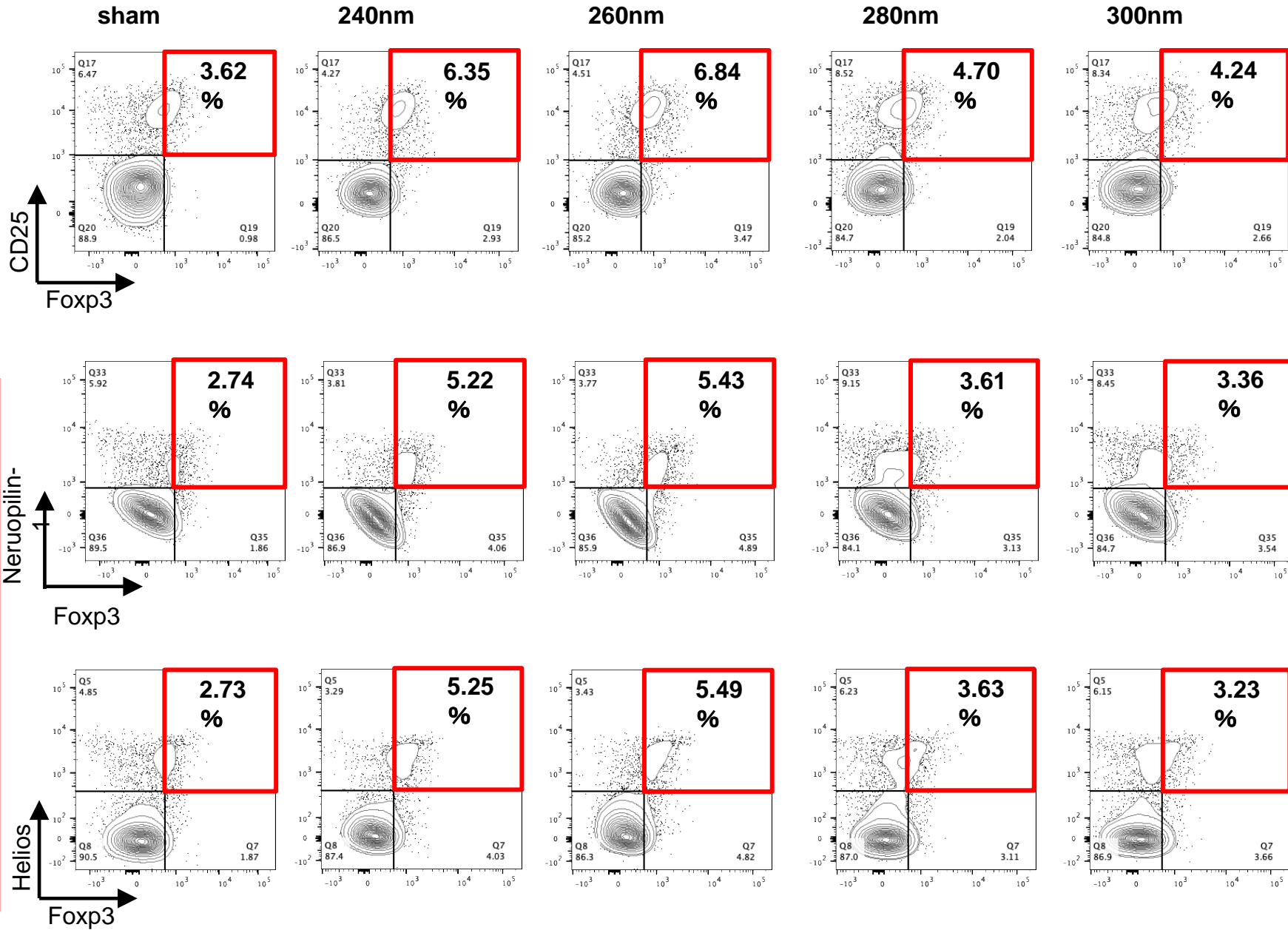
観察と解析



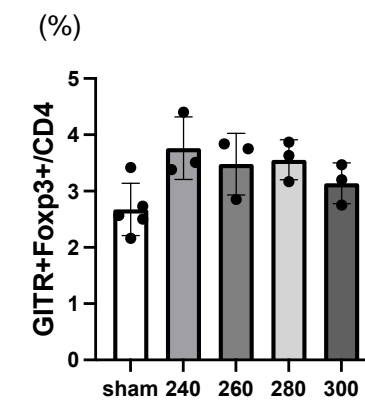
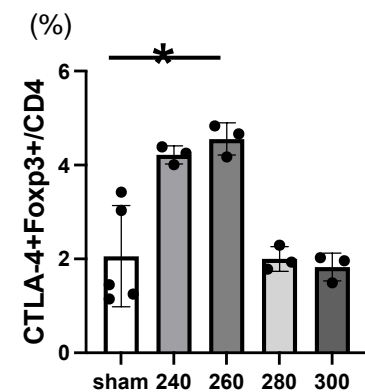
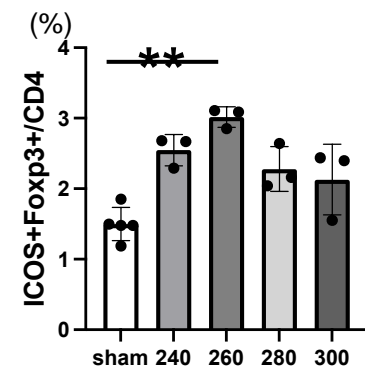
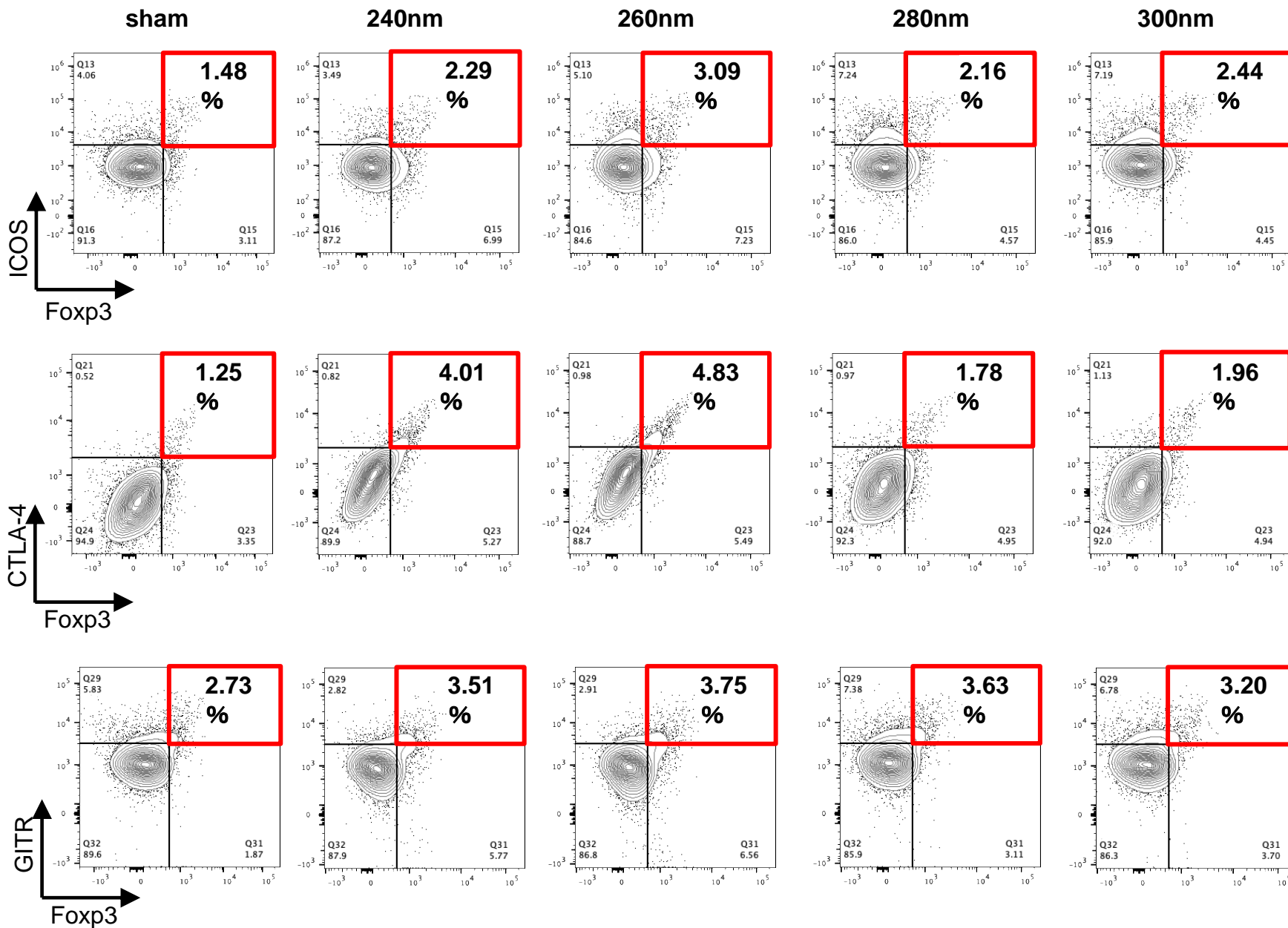
- ①各波長のMED測定(→その後の照射量の決定)
- ②照射した皮膚の共焦点顕微鏡による観察(Day 3,7)
- ③リンパ節(鼠径と腋窩)のFACS解析(Day 7)

リンパ節のTreg誘導 (照射7日後)





functional marker



照射後7日目のリンパ節では、UVBと比較してUVC照射したマウスにおいてCD4⁺CD25⁺Foxp3⁺細胞が増加していた。nTregマーカーや機能性Tregマーカーも増加していた。

UVCは皮膚・リンパ節でTregを増加させる波長であることが示された。また、UVCにより誘導されたTregはfunctionalなTregを含んでいる可能性がある。

UVC～UVBに着目して特定の波長ごとにTregが誘導されるか解析を行った。

→UVC照射によりTregが誘導されることを初めて明らかにした。

本技術に関する知的財産権

- 発明の名称：制御性T細胞を誘導するための紫外線照射装置及び制御性T細胞の製造方法
- 出願番号：特願2023-025822
- 出願人：公立大学法人名古屋市立大学
- 発明者：森田明理、金山佳史

お問い合わせ先

名古屋市立大学
産学官共創イノベーションセンター

TEL 052-853-8309

FAX 052-841-0261

e-mail ncu-innovation@sec.nagoya-cu.ac.jp