



## Liposomal photofrin enhances therapeutic efficacy of photodynamic therapy against the human gastric cancer

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-31 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 五十嵐, 章 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10271/1657">http://hdl.handle.net/10271/1657</a>

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博論第 380号	学位授与年月日	平成16年 1月23日
氏 名	五十嵐 章		
論文題目	Liposomal photofrin enhances therapeutic efficacy of photodynamic therapy against the human gastric cancer (リポソーム化フォトフリンはヒト胃癌に対する PDT の治療効果を 増強する)		

博士 (医学) 五十嵐 章

## 論文題目

Liposomal photofrin enhances therapeutic efficacy of photodynamic therapy against the human gastric cancer

(リポソーム化フォトフリンはヒト胃癌に対する PDT の治療効果を増強する)

## 論文の内容の要旨

### 〔はじめに〕

PDT (Photodynamic therapy) は、消化器、呼吸器悪性腫瘍などの広範囲の悪性腫瘍に対する低侵襲治療として期待されている。PDTの利点は悪性腫瘍に特異的に集積した光感受性物質に対しレーザー照射をおこなうことにより選択的に腫瘍細胞を殲滅できることにある。しかし、皮膚に一定量の光感受性物質が集積するため、光量制限下での入院が必要となることが治療上の問題点である。リポソームは、biodegradable な人工脂質膜であり、種々の物質、薬剤などの担体として悪性腫瘍治療など多くの医療分野で使用されている。今回我々は光感受性物質であるフォトフリン(PF)をリポソームに封入し、リポソーム化フォトフリン(LPF)を作製し、腫瘍に対する光感受性物質の選択的集積性の改善によるPDTの抗腫瘍効果の増強について検討した。

### 〔方法〕

ヒト胃癌 MT-2をヌードマウスの右側背部に移植後、PF投与群(C群)、LPF投与群(L群)に群別し、PF量として10mg/kg を尾静脈より投与。1) 腫瘍集積性:C、L群において投与後4、8、24時間後の腫瘍組織、肝、腎、皮膚、血清のフォトフリン濃度を分光蛍光光度計にて測定(C、L群共に各時点において4匹、計24匹)。2) 治療効果:C、L群において投与後8時間、24時間後にExcimer Dye Laser (EDL) による照射(40J/cm<sup>2</sup>)をおこない(C、L群共に各時点において4匹、計16匹)、照射後1、3、5、7日目に推定腫瘍重量(0.4×長径×短径<sup>2</sup>)及び腫瘍内血流を測定。3) 組織学的検討: 照射後9日目に犠死せしめ腫瘍退縮率(NIH image)と、TUNEL法によるapoptosis index(AI)を算出し比較検討した。

### 〔結果〕

1) PFの腫瘍内濃度は投与後8時間でL群に有意に高値であった( $p < 0.05$ )。L群において有意な肝集積性を認めたが他の臓器では有意な集積性の相違は認めなかった。2) 投与8時間後の照射では3、5、7日にL群で推定腫瘍重量の有意な低下と腫瘍組織血流量の有意な低下が認められた。3) 投与後8時間照射でL群において腫瘍退縮率の有意な増加( $39.6 \pm 17.1$  vs  $69.6 \pm 8.9$ ,  $p < 0.05$ )と腫瘍細胞のAI( $2.1 \pm 0.4$  vs  $6.9 \pm 0.6$ ,  $p < 0.05$ )の有意な増加が認められた。

### 〔考察〕

PDTは近年新たな光感受性物質とレーザーシステムの開発によって悪性腫瘍に対する治療の進展が期待されている。今回我々の結果により drug delivery system を組み合わせた PDT治

療として、光感受性物質をリポソーム化することによって抗腫瘍効果を増強させることが示された。1997年 Jiang らは脳の Gliosarcoma と Glioma に対し LPFが脳の正常組織よりも腫瘍組織に特異的に集積したことを報告した。しかしリポソームの構成成分や大きさ、腫瘍集積性の定量的評価、ヒト腫瘍に対する腫瘍効果や副作用についての十分な検討はなされていない。PDTにおいては光感受性物質の腫瘍集積性を増強させると共に正常組織、特に皮膚への集積を抑えることが最も重要である。われわれは胃癌に対するLPFの抗腫瘍効果と臓器内集積性を分析した。本研究で、L群はC群に比較して腫瘍の血流量の減少とAIの増加が有意であったことは、LPFを用いたPDTの治療効果はPFより一層増強されることを示唆している。このことは NIH image を用いて確認した。 *in vivo*, *in vitro* の実験で腫瘍細胞に取り込まれた光感受性物質がレーザー照射によりミトコンドリアが障害され、早期にアポトーシスが誘導されることが報告されている。また、PDTによる腫瘍血管傷害が明らかにされており、我々の検討でも腫瘍組織内血流量の低下およびAIの増加について既報告と一致した結果が得られた。PDTによる副作用に関して、我々の研究においてDMPC、DMPG、コレステロールからなるリポソームを用いて、リポソーム化することにより皮膚のPF濃度を有意に減少させることが明らかとなった。肝臓における reticuloendothelial system (RES) によってリポソームが捕捉されるが、本研究では肝臓のPFレベルが上昇したものの、肝の組織学的障害は認めなかった。

#### [まとめ]

光感受性物質のリポソーム化は腫瘍集積性を高め、これを用いたEDLによるPDTの治療効果を高める。

### 論文審査の結果の要旨

PDT (Photodynamic therapy) は、消化器、呼吸器、子宮などの悪性腫瘍に対する低侵襲治療として行われている。PDTの利点は、悪性腫瘍に特異的に集積した光感受性物質に対しレーザー照射を行うことにより、選択的に腫瘍細胞を殲滅できることにある。リポソームは、biodegradable な人工脂質膜であり、種々の物質、薬剤などの担体として悪性腫瘍治療など多くの医療分野で使用されている。申請者らは、光感受性物質であるフォトフリン(PF)をリポソームに封入し、リポソーム化フォトフリン(LPFP)を作製した。そして、LPFP の使用により、腫瘍への光感受性物質の選択的集積性が上昇し、PDTの抗腫瘍効果の増強が得られるか検討した。

#### [方法]

ヒト胃癌(MT-2)組織をヌードマウスの右側背部に移植後、PF投与群(C群)、LPFP投与群(L群)に群別し、PF量として10mg/kg を尾静脈より投与し、次の項目について測定した。1) 腫瘍集積性をみるために、C、L群において投与後4、8、24時間目の腫瘍、肝、腎、皮膚、血清のPF濃度を分光蛍光光度計で測定(C、L群共に各時点において4匹、計24匹)した。2) 治療効果をみるために、C、L群において投与後8、24時間目にExcimer Dye Laser (EDL)による照射(40J/cm<sup>2</sup>)をおこない(C、L群共に各時点において4匹、計16匹)、照射後1、3、5、7日目に推定腫瘍重量(0.4×長径×短径<sup>2</sup>)と、直径0.25mmのプロブのレーザードップラーを用いて腫瘍内血流を測定した。3) 組織学的変化をみるために、照射後9日目に犠死せしめ、HE標本でNIH imageを用いて腫瘍退

縮率を測定した。また、TUNEL法による apoptosis index (AI)を算出し比較検討した。

そして、申請者らは次の結果を得た。

1)PFの腫瘍内濃度は、投与後8時間目にL群で有意に高値であった( $p<0.05$ )。また、L群において有意な肝集積を認めたが、他の臓器では差は認めなかった。2)投与後8時間目の照射では、3、5、7日目にL群で推定腫瘍重量と腫瘍組織血流量の有意な低下が認められた。3)投与後8時間目の照射では、C群に比較してL群において腫瘍退縮率( $39.6\pm 17.1$  vs  $69.6\pm 8.9$ ,  $p<0.05$ )と、腫瘍細胞のAI( $2.1\pm 0.4$  vs  $6.9\pm 0.6$ ,  $p<0.05$ )で有意な増加が認められた。

以上の結果から注目すべきことは、光感受性物質をリポソーム化することによって抗腫瘍効果を増強させることを示した点である。PDTにおいては光感受性物質の腫瘍集積性を増強させると共に正常組織への集積を抑えることが重要である。PFをリポソーム化すると腫瘍集積性を増強させ、アポトーシスの誘導が上昇されるとともに、腫瘍組織内血流量の低下がおり、抗腫瘍効果が増強される。しかも、肝臓のPFレベルが上昇したものの、肝の組織学的障害は認めなかった。この研究はPDTの効果を高め、治療法の確立と適応の拡大を可能にし、またdrug delivery system を開発することでPDTの発展を示唆する有益な研究であると考えられた。

審査委員会は本論文について、次のような試問を行った。

- 1) liposome 化されたPFの内包率の計算の仕方について
- 2) 103nmのフィルターにかける根拠は
- 3) liposome 化すると排泄は遅くなるか
- 4) liposome 化すると抗腫瘍効果の機構がどのように変化するか
- 5) liposome 化すると遮光期間は短くなるか
- 6) 腫瘍集積性が高まったのはなぜか
- 7) endocytosis か phagocytosis が癌組織で確認されているか
- 8) 腫瘍の血管障害とPDT治療における酸素の必要性との矛盾は
- 9) 実験腫瘍の大きさが10mmでは大きすぎないか
- 10) MT-2胃癌の組織を選択した根拠は
- 11) 腫瘍の分化度が影響するか
- 12) apoptosis 関連遺伝子の発現はあったか
- 13) PDTのレーザー照射の方法は
- 14) 今後の発展について
  - ア. センチネルリンパ節の評価に応用できないか
  - イ. polyethyleneglycol の使用について
  - ウ. 肝集積をおさえるには

これらの質問に対し申請者の解答は適切であり、問題点も十分理解しており、博士(医学)の学位論文にふさわしいと審査員全員一致で評価した。

論文審査担当者 主査 峯 田 周 幸

副査 橋 本 賢 二 副査 花 井 洋 行