

# Selective accumulation and strong photodynamic effects of a new photosensitizer, ATX-S10 · Na(II), in experimental malignant glioma

|       |  |
|-------|--|
| メタデータ | 言語: en<br>出版者: 浜松医科大学<br>公開日: 2013-08-27<br>キーワード (Ja):<br>キーワード (En):<br>作成者: 山本, 淳考<br>メールアドレス:<br>所属: |
| URL   | <a href="http://hdl.handle.net/10271/290">http://hdl.handle.net/10271/290</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 | 医博第 460号  | 学位授与年月日 | 平成18年 3月15日 |
| 氏名    | 山本 淳 考  |         |             |
| 論文題目  | Selective accumulation and strong photodynamic effects of a new photosensitizer, ATX-S10・Na(II), in experimental malignant glioma<br>(実験的悪性神経膠腫における、新規光感受性薬剤 ATX-S10・Na(II)の選択的集積性と強い光線力学的効果) |         |             |

博士(医学) 山本 淳 考

## 論文題目

Selective accumulation and strong photodynamic effects of a new photosensitizer, ATX-S10 · Na(II), in experimental malignant glioma

(実験的悪性神経膠腫における、新規光感受性薬剤ATX-S10 · Na(II)の選択的集積性と強い光線力学的効果)

## 論文の内容の要旨

[はじめに]

悪性脳腫瘍、中でも膠芽腫は、悪性度が極めて高く平均生存期間は約1年である。現在、さまざまな医療技術が進む中で、膠芽腫に対する治療成績は、ここ三十年間ほとんど改善されていない。光線力学療法(photodynamic therapy: PDT)は、胃がん、肺がんなどさまざまな悪性腫瘍でその有効性が確認されている。PDTは、光感受性薬剤とレーザー光を使用して、腫瘍を選択的に破壊する。現在、一般的に使用されている光感受性薬剤、フォトフリンは、悪性脳腫瘍に対する腫瘍集積性が低く、術後、脳浮腫をきたすことが報告されている。また、皮膚などの正常組織からの排泄が極めて遅く、治療後約1ヶ月間は、日光による光線過敏症を防止するため暗室生活を強いられることになる。現在求められる光感受性薬剤は、高い腫瘍集積性と、速やかに正常組織から排泄される性質を持つことが必要である。今回、新しい光感受性薬剤ATX-S10 · Na(II)の、悪性脳腫瘍に対する腫瘍集積性とPDTの治療効果について、培養細胞ならびにラット腫瘍モデルを用いて検討した。

[材料ならびに方法]

今回の実験では、ダイオードレーザー光(波長670nm)を、ATX-S10 · Na(II)と併用した。はじめに、いくつかの悪性神経膠腫細胞株を使用し、培養系におけるPDTによる殺細胞効果を評価した。次に、9L悪性神経膠腫細胞株を移植したラット皮下腫瘍モデルを用いて、皮下腫瘍に対するPDTの治療効果を評価した。さらに、ラット脳腫瘍モデルを使用して、静脈投与後のATX-S10 · Na(II)の脳腫瘍、正常脳、腫瘍境界部、皮下腫瘍、皮膚、および血清における、薬物動態を評価した。最後に、ラット脳腫瘍モデルを使用して、脳腫瘍に対するPDTを施行し、抗腫瘍効果についてMRIを使用し評価した。また、病理学的検討も行った。

[結果]

培養細胞におけるATX-S10 · Na(II)のPDTによる殺細胞効果は薬剤濃度ならびに照射線量に依存していた。50%阻害濃度は、3.5~20 $\mu$ g/mlであった。同様に、ラット皮下腫瘍におけるPDT効果も、薬剤投与量ならびに照射線量に依存していた。PDTによって最大幅10.3mmの壊死巣が確認された。ATX-S10 · Na(II)の薬物動態について、濃度ならびに排泄時間は、組織によって全く異なっていた。血清では、投与後、すぐに上昇したが、約8時間後にはほぼ排泄されていた。脳腫瘍は、投与後2時間で最高値を呈し、その後比較的高濃度を維持していたが、正常脳では、投与後1時間で最高値を呈したものの、4時間以降は、ほとんど検出されなかった。薬剤の正常脳に対する脳腫瘍への集積比は131倍(投与後8時間)と極めて高いことがわかった。また、この条件で、ラット脳腫瘍を蛍光観察することにより、コントラストの高い蛍光像を得ることが可能であった。また、正常皮膚では、若干薬剤の集積を認めたが、12時間後

には、ほぼ排泄されていた。ラット脳腫瘍モデルにおけるPDTでは、薬剤投与から照射開始までの時間、および照射線量を変えて検討した。照射線量が高い場合や、投与時間から照射開始までの時間が早いと、腫瘍のみならず周囲の正常脳組織への障害(脳浮腫)を認めた。細胞死の形態は、光源周囲では、凝固壊死が主であり、境界部ではアポトーシスが主であった。ラット脳腫瘍モデルにおいて、PDT治療前および治療後1週間でMRIを施行し、腫瘍の体積を比較すると、ATX-S10・Na(II)を使用したPDTでは腫瘍増殖抑制効果を認めた。

#### 〔考察〕

PDTの効果を高める上で腫瘍集積性は極めて重要である。現在使用されているフォトフリンの正常脳に対する腫瘍集積比は、13~20.3倍と報告されているが、ATX-S10・Na(II)の場合は、131倍(投与後8時間)と極めて高いことがわかる。また今回検討したように、ラット脳腫瘍モデルでは、ATX-S10・Na(II)の蛍光によって明確に腫瘍を確認できた。この性質は、脳腫瘍手術におけるマーカーとしても有用である。

PDTの治療効果は、薬剤投与から照射までの時間および照射線量などさまざまな条件が影響している。副作用による脳浮腫は臨床的に致命的となりうる。ATX-S10・Na(II)の今までの報告では、薬剤投与後3時間で有用性が確認されているが、脳腫瘍の場合は、薬剤投与後早期では血中濃度が高く、脳浮腫を引き起こすことが確認され、むしろ腫瘍集積比が最も高い投与後8時間が最適時間と考えられた。

#### 〔結論〕

この実験でATX-S10・Na(II)は、脳腫瘍に対し極めて高い腫瘍集積性と、正常皮膚組織から速やかに排泄される性質を持つことがわかった。これらの性質は、PDT効果を高めるのみならず、術後の長期暗室生活をする必要がなくなり患者の負担も軽減することが予想され、臨床的に極めて有用であることが示唆される。

## 論文審査の結果の要旨

#### 〔はじめに〕

悪性脳腫瘍のなかでも膠芽腫は悪性度が極めて高く、平均生存期間は約12か月であり、ここ30年間ほとんど治療法は改善されていない。光線力学療法(photodynamic therapy:PDT)は、光感受性薬剤とレーザー光の併用により、腫瘍を選択的に破壊する治療法であるが、その適応は胃、食道、肺癌などの早期癌であり進行癌や固形癌への応用が期待されている。一方、現在使用されている光感受性薬剤フォトフリンは、悪性脳腫瘍に対する腫瘍集積性が低くあまり臨床効果が期待できず、術後の脳浮腫も報告されている。また、皮膚などの体表正常組織からの排泄が遅く、治療後約4週間、光線過敏症を防止するため遮光室生活を強いられる。そこで現在求められているのは光感受性薬剤としては、高い腫瘍集積性と、速やかな正常組織からの排泄性を持ち、固形癌にも有効なPDTの開発である。今回、新しい光感受性薬剤ATX-S10・Na(II)の、悪性脳腫瘍に対する腫瘍集積性とPDTの治療効果について、培養細胞ならびにラット移植腫瘍モデルを用いて検討した。

#### 〔材料ならびに方法〕

今回の実験では、光源として半導体レーザー(波長670nm)を、薬剤はATX-S10・Na(II)を用いた。はじ

めに、いくつかの悪性神経膠腫細胞株を使用し、*in vitro*におけるPDTの殺細胞効果を評価した。次に、9L悪性神経膠腫細胞株をラット皮下に移植し腫瘍モデルを作成、皮下腫瘍に対するPDTの治療効果を評価した。さらに、ラット脳腫瘍モデルを作成し、静脈投与後のATX-S10・Na(II)の脳腫瘍、正常脳、腫瘍境界部、皮下腫瘍、皮膚、および血清におけるprotoporphyrin IX濃度を調べた。さらに、ラット脳腫瘍に対しPDTを行い、抗腫瘍効果についてMRI(直前と1週間後)で評価し、病理組織学的検討も併せて行った。

#### 〔結果〕

*in vitro*の培養細胞に対するATX-S10・Na(II)PDTによる殺細胞効果は薬剤濃度および照射線量に依存しており、50%阻害濃度は、3.5~20 $\mu$ g/mlであった。同様に、ラット皮下移植腫瘍に対するPDT効果も、薬剤投与量および照射線量に依存していた。ATX-S10・Na(II)の薬物動態について、濃度ならびに排泄時間は、組織によって全く異なっていた。血清では、投与後すぐに上昇したが、約8時間後にはほぼ排泄されていた。脳腫瘍では、投与後2時間で最高値を示し、その後比較的高濃度を維持していたが、正常脳では、投与後1時間で最高値を示し、4時間以降はほとんど検出されなかった。この条件で、ラット脳腫瘍を蛍光観察すると、コントラストの高い蛍光像を得ることが可能であった。また、正常皮膚では、若干薬剤の集積を認めたが、12時間後には、ほぼ排泄されていた。ラット脳腫瘍モデルにおけるPDTでは、薬剤投与から照射開始までの時間、および照射線量を変えて検討した。照射線量が高い場合や、投与時間から照射開始までの時間が早いと、腫瘍のみならず周囲の正常脳組織への障害(脳浮腫)を認めた。細胞死の形態は、光源に近い腫瘍中心部では、凝固壊死が主であり、腫瘍境界部ではアポトーシスが主であった。ラット脳腫瘍モデルにおいて、PDT治療前および治療後1週間でMRIを施行し、腫瘍の体積を比較すると、ATX-S10・Na(II)PDTでは腫瘍増殖抑制効果が認められた。

#### 〔考察〕

PDTの有用性を高める上で腫瘍集積性は極めて重要で、現在使用されているフォトフリンの正常脳に対する腫瘍集積比は、13~20.4倍と報告されているがATX-S10・Na(II)の場合は、130倍(投与後8時間)と極めて高いことがわかった。また、ラット脳腫瘍モデルでは、ATX-S10・Na(II)の蛍光によって明確に腫瘍を確認できるため、脳腫瘍手術における残存腫瘍のマーカーとしても有用であることが分かった。

PDTの効果は、照射エネルギー、薬剤投与から照射までの時間、照射線量、薬剤量と濃度、個体差など様々な条件が影響している。ATX-S10・Na(II)の今までの報告では、薬剤投与後3時間で有効性が確認されているが、脳腫瘍の場合は、薬剤投与後早期では血中濃度が高く、脳浮腫を引き起こすことが確認された。副作用による脳浮腫は臨床的に致命的となりうるので、むしろ腫瘍集積比が最も高い投与後8時間が最適照射時間と考えられた。

#### 〔結論〕

ATX・S10・Na(II)は、脳腫瘍に対し極めて高い腫瘍集積性と、正常皮膚組織から速やかに排泄される性質を持つことがわかった。これらの性質は、PDT効果を高めるのみならず、術後の長期遮光室生活の必要がなくなり患者の負担も軽減することが可能となり、臨床的に極めて有用な悪性脳腫瘍の治療法であることが示唆される。

審査委員会ではATX-S10・Na(II)投与後8時間にPDTを行うことにより、抗腫瘍効果が高く、副作用の

脳浮腫を回避できる事を見出した点を高く評価した。

審査の過程において、審査委員会は次のような質問を行った。

- 1) 膠芽腫全摘の治療成績が悪いのは取り切れてないのではないか
- 2) 安全域(surgical margin)はどれくらいあるのか
- 3) 画像診断と実際の手術の切除範囲の違いについて
- 4) 脳腫瘍の gradeⅢ、Ⅳの成績が向上しないのはなぜか
- 5) 5-ALAの投与時間とその根拠について
- 6) 5-ALAの血中濃度と組織内濃度の差異について
- 7) 出血によりphotodynamic diagnosisは困難にはならないのか
- 8) 術後のベッドタイムのPDTと手術の違いについて
- 9) PDT後1週間まで経過を見ているが、その後はどうなるのか
- 10) 脳浮腫が起こるのは正常脳組織への直接作用か、脳腫瘍細胞が壊死した事による二次的な変化なのか
- 11) 網内系の関与は認められたか
- 12) 時間経過に伴い、壊死細胞はカウントできなくなるのではないか

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 橋本賢二  
副査 梅村和夫 副査 花井洋行