



Differentiation of tumor sensitivity to photo dynamic therapy and early evaluation of treatment effect by nuclear medicine technique

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2018-09-14 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 劉, 杰 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/00003407

博士(医学) 劉 杰

論文題目

Differentiation of tumor sensitivity to photo dynamic therapy and early evaluation of treatment effect by nuclear medicine technique

(核医学的技術による光線力学的療法に対する腫瘍の感受性の鑑別と治療効果の早期判定)

論文の内容の要旨

[はじめに]

光線力学的療法(Photo Dynamic Therapy, PDT)は、光感受性物質を投与し、腫瘍へレーザー光線を照射することによる腫瘍選択的で低侵襲な腫瘍治療法である。PDTによる腫瘍細胞の生化学的応答は短時間内に起こるが、治療早期のPDT効果をin vivoで評価する判定法はなく、現在のところ経時的な観察によって評価されている。そこで本研究では、PDT治療後早期の腫瘍細胞の反応について、核医学的手法による判定法の構築を目的として、現在核医学検査において腫瘍の診断や治療効果判定に使用されている ^{18}F -FDG (^{18}F -fluorodeoxyglucose) および $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -MIBI ($^{99\text{m}}\text{Tc}$ -methoxyisobutylisonitrile)を用いて腫瘍のPDT感受性の鑑別と共に評価可能かどうか、in vitro実験系において基礎的に検討を行うこととした。

[材料ならびに方法]

腫瘍細胞株: 5種類の腫瘍細胞株 (ヒト上皮様細胞癌由来細胞株A431、ヒト前立腺癌(脳転移)由来細胞株DU145、ヒト肺腺癌由来細胞株H1650、ヒト大腸癌由来細胞株LS180、ヒト卵巣漿液性嚢胞腺癌由来細胞株SHIN3)を用いた。培養腫瘍細胞にPhotofrin (PF; Wyeth Japan, Tokyo)を各種濃度 (50 μM , 10 μM , 5 μM , 1 μM) になるように添加して5% CO_2 、37 $^\circ\text{C}$ 条件下で24時間培養した。PF無添加の培地を対照として用いた。培養後、それぞれの腫瘍細胞をトリプシン-EDTAで処理し、冷却したPBSで3回洗浄した後、細胞濃度が 5×10^6 個/mlとなるよう調整した。

PDTレーザー照射および一重項酸素の測定: 1.5 mlの腫瘍細胞懸濁液に、630 nmのレーザー光 (30 Hz, 40 mW, 24 J/cm^2) を10分間照射した。これに伴い発生する一重項酸素 ($^1\text{O}_2$) 発生量を、近赤外光電子増倍管により1270 nmにて測定した。 $^1\text{O}_2$ 発生量は、細胞のタンパク重量 (mg) 当たりの10分間の総カウント数で評価した。また、照射直後の細胞懸濁液について① ^{18}F -FDG および $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -MIBIの取込率評価、②MTTアッセイ、③TBアッセイ、④ローリー法によるタンパク質定量を行った。

^{18}F -FDG および $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -MIBI取込率評価: PDTレーザー照射直後に、37 KBqの ^{18}F -FDG および37 KBqの $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -MIBIを各細胞懸濁液 (500 μl) に加え37 $^\circ\text{C}$ にて培養した。培養後、細胞と上清をそれぞれ遠心分離法により集め、各放射能をNaIウエル型ガンマカウンタで測定した。タンパク質濃度はローリー法により求めた。 ^{18}F -FDG および $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -MIBIの取込率は、初回添加量に対する細胞への放射能集積量の比率をタンパク質1 mg当りに標準化して求めた。

^{18}F -FDG および $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -MIBI取込低下率、MTT低下率、TB低下率を、対照群でのそれぞれの取込率あるいは測定値を100%として求めた。

PF細胞内濃度: 腫瘍細胞株を24時間10 μM PFを含む培地中で培養した。培養後、細胞は冷

却 PBS で洗浄し、UV 検出器を用いて 410 nm で PF の吸光度を測定した。PF 細胞内濃度は、既知濃度の PF 溶液から作成した検量線を用いて計算し、タンパク質 1 mg 当りに換算した。

[結果]

^{18}F -FDG 取込低下率と $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -MIBI 取込低下率は、添加 PF 濃度に依存して大きくなることが確認された。さらに、 ^{18}F -FDG 低下率は $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -MIBI 低下率より常に高い値を示した。同様に、MTT 低下率および TB 低下率も、PF 濃度に依存して高い値を示し、すべての PF 濃度において、MTT 低下率は TB 低下率より高い傾向にあった。

^{18}F -FDG 低下率は、MTT 低下率と指数関数的な相関を示し ($R^2=0.650$, $P<0.01$)、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -MIBI 低下率と MTT 低下率の関係は直線的な相関性を示した ($R^2=0.719$, $P<0.01$)。

1 μM PF 濃度条件下では、PDT レーザー照射をしない群における ^{18}F -FDG 取込率と PDT レーザー照射後の MTT 低下率の関係は直線的によく相関した ($R^2=0.800$, $P<0.05$)。一方、この場合の $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -MIBI 取込率および MTT 低下率には、相関性が認められなかった。PDT レーザー照射により発生した $^1\text{O}_2$ 量や腫瘍細胞への PF 取込量については、MTT 低下率との関連性は認められなかった。

[考察]

PDT 後早期における $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -MIBI 取込低下率の変化は、主として PDT 直後に惹起されるミトコンドリア機能変化に伴うミトコンドリア膜電位変化を示し、また、 ^{18}F -FDG 取込低下率の変化は主に細胞膜機能障害の結果と考えられる。本研究で検討したような PDT 後早期での ^{18}F -FDG の取込率変化は、PDT 効果を過大評価する可能性があるものの、MTT 低下率と $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -MIBI 取込低下率が直線的な相関関係を示したことより、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -MIBI の取込率変化が PDT 処理後早期において治療効果を反映することが示唆された。また、MTT 低下率が TB 低下率より高い結果を示したことから、本研究で用いた PF はミトコンドリアが PF-PDT 障害の主な標的となるものと考えられた。

一方、PDT 前の腫瘍細胞への ^{18}F -FDG 取込量が高いほど、PDT 効果が直線的に相関して高くなることから、PDT 前に ^{18}F -FDG-PET 検査を施行することで PDT 効果を予測できる可能性が示された。

[結論]

申請者は、PDT による早期治療効果判定が $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -MIBI 低下率によって評価できる可能性を示した。さらに、異なる腫瘍に対する PDT 効果が、PDT 前の ^{18}F -FDG-PET 検査によって予測できるものと考えられた。今後、 ^{18}F -FDG-PET および $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -MIBI-SPECT による PDT 効果の評価に向けた in vivo 研究への展開が期待される。