

令和 5 年 6 月 10 日現在

機関番号：24303

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2022

課題番号：19K18909

研究課題名(和文) 軟部悪性腫瘍に対する5-ALAを用いた超音波力学療法

研究課題名(英文) Sonodynamic therapy of soft tissue sarcoma with ultrasound using 5-Aminolevulinic acid (5-ALA)

研究代表者

河原崎 彩子(岡田彩子)(Kawarazaki, Ayako)

京都府立医科大学・医学(系)研究科(研究院)・講師

研究者番号：50550498

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文): 5-ALAは体内で細胞内にとりこまれポルフィリン が生合成される。癌細胞ではPpの過剰集積がみられ、光は活性酸素を発生させて障害を与え、光線力学治療(PDT)として注目される。さらに、5-ALAは超音波感受性物質としても用いられ、超音波力学療法(SDT)が応用され、PDTと同様な効果を持ち、かつ副作用が軽減される可能性がある。今回、軟部悪性腫瘍細胞のSW872 (liposarcoma cell)とHT1080 (fibrosarcoma cell)を用いて、5-ALAと超音波刺激による併用効果を検討した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

軟部悪性腫瘍は希少癌であり、多数の組織型から成る腫瘍であるため、治療の確立が難しいとされている。近年承認されている分子標的治療薬は組織型により効果は様々である。一方、今回の研究テーマである超音波力学療法による軟部悪性腫瘍に対する効果についての報告は見当たらず、今後治療となる可能性を検討することを目的とした。

研究成果の概要(英文): 5-Aminolevulinic acid (5-ALA) is metabolized into protoporphyrin IX (Pp IX).

Protoporphyrin excessively accumulate in proliferating cancer cells, could cause destruction of the cancer cells by irradiation of light exposure. The photodynamic therapy (PDT) is a fascinating therapy. Moreover, 5-ALA takes on a role of a sonosensitizer, could be irradiated by ultrasound. The sonodynamic therapy (SDT) has the possibility of the effect of the induction cell killing as well as PDT, or more safety than PDT. In this research, we used the SW872 cell and the HT1080 cell. We tested the effect by the combination of 5-ALA and ultrasound.

研究分野: 創傷、腫瘍

キーワード: 軟部悪性腫瘍 超音波力学療法 5-ALA

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

軟部悪性腫瘍はわが国で罹患率 10 万人に 3 人という希少癌であり、かつ 50 以上の組織型から成るため、治療の確立、治療評価そのものが非常に困難な疾患群である。現在唯一有効な治療法は手術治療のみであるが、再発率が高く、新たに有効性が検証された治療法の確立が望ましい。

近年 pazopanib (2012 年)、trabectedin (2015 年)といった新しい分子標的治療薬が手術不能なものを対象に承認されてきているが、その有効性評価はすべての組織型において十分に示されているわけではない。

一方で、がん細胞特異的に取り込まれやすい 5-ALA などの超音波感受性物質の投与後、がん局所に超音波照射を行う超音波力学療法(sonodynamic therapy, SDT)によるがん治療が注目されてきている。今回、軟部悪性腫瘍に対する 5-ALA を用いた超音波治療の有効性を検討することを目的とした。

2. 研究の目的

5-ALA は光感受性物質とされると同時に超音波感受性物質としても使用され、投与することでがん細胞内に代謝物であるプロトポルフィリン が蓄積するとされている。超音波照射はキャビテーション(気泡発生)を発生し、熱発生やフリーラジカル(H⁺, CH⁺)を発生させる効果があるとされている。両者の組み合わせにより、活性酸素の発生増強やがん組織の破壊が起こり、超音波力学療法(SDT)としてがん治療への応用が期待される。

本研究では軟部悪性腫瘍細胞を用いて、超音波力学療法の可能性を探索することを目的とした。

3. 研究の方法

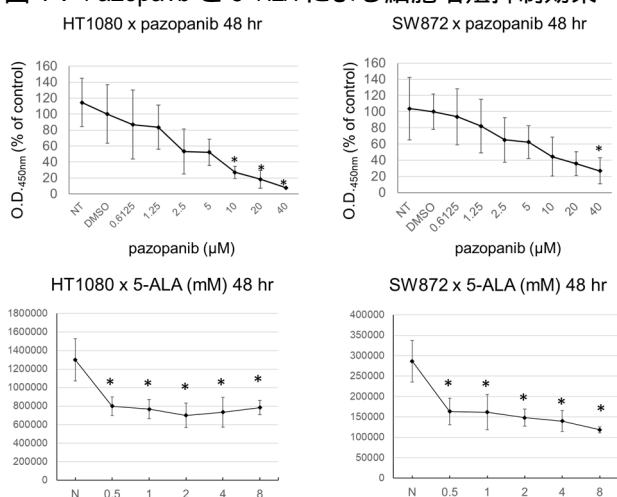
Cell line である、SW872 (liposarcoma cell), HT1080 (fibrosarcoma cell)を用いて、5-ALA を投与し、一定時間処理後に超音波刺激を加える。超音波刺激方法は超音波洗浄器 (Bransonic) を用い、最終的に超音波刺激装置に應用する。

測定方法として、細胞増殖抑制効果について EVE cell counter を用い、細胞周期解析 (FACS Caliber)、活性酸素の発生増強の関与について ROS 測定を行うこととした。

4. 研究成果

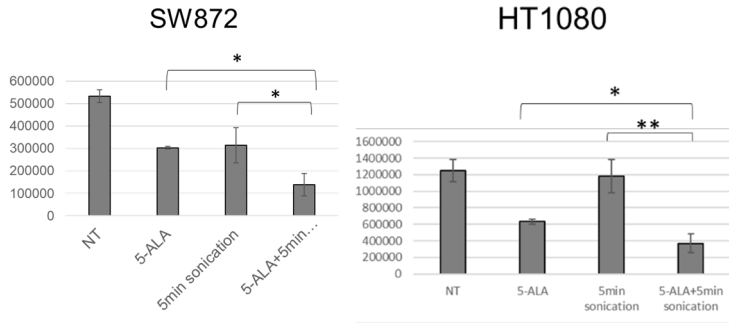
まず、現在治療に用いる pazopanib、5-ALA 処理による細胞増殖抑制効果を確認した。この結果をもとに、5-ALA は 2mM で安定する傾向であり、処理条件とした(図 1)。

図 1. Pazopaib と 5-ALA による細胞増殖抑制効果



次に、5-ALA 投与 4 時間後、超音波洗浄器にて刺激を加え、48 時間後の細胞増殖抑制効果を検討したところ、増殖抑制効果は相加的な効果であった(図 2)。

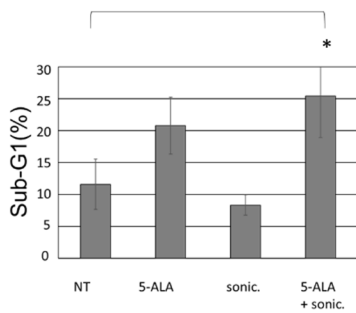
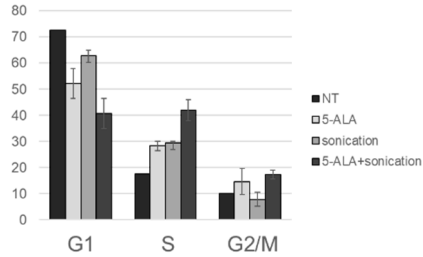
図 2



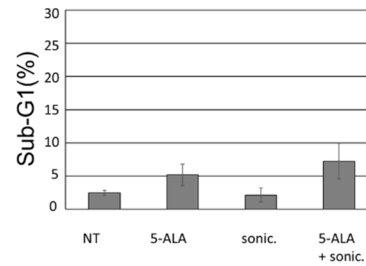
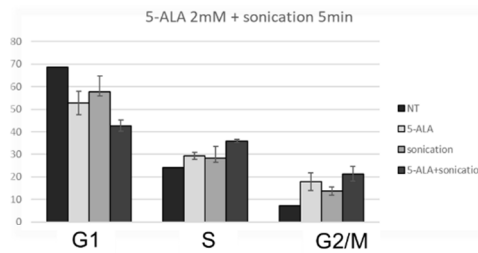
次に同条件にて細胞周期解析を行ったところ、sub G1の増加による効果が関与している可能性示唆された(図3)

図3。

SW872 x 2mM ALA, 5min sonication
48 hr



HT1080 x 2mM ALA, 5min sonication
48 hr

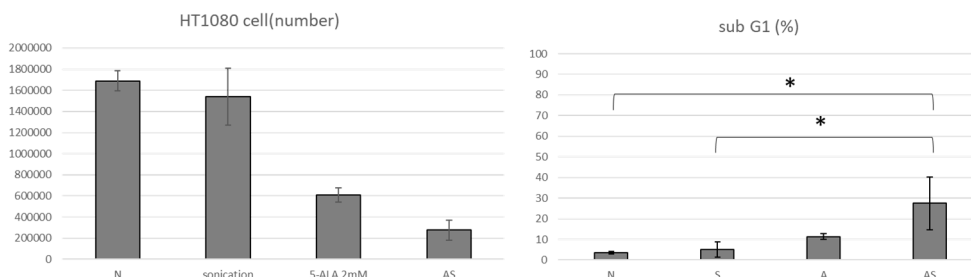


また、活性酸素の増強効果による抑制効果がみられる可能性を検討するため、NAC 投与による、増殖抑制のキャンセル効果を評価したところ、NAC 投与による抑制効果の一部解除がみられたが、増殖抑制は一部保持されていた。また、ROS 測定を行ったが、5-ALA と超音波刺激の両条件により増強されるという結果ではなく、他の抑制機序が関与している可能性が示唆された。

Vivo への応用のため、5-ALA 投与し 4 時間後に、細胞培養 dish に超音波刺激装置にて 1MHz の刺激を加えて、超音波洗浄器と同様な効果がみられるか検討を行った。

EVE による測定では同様に、5-ALA と超音波刺激の相加抑制効果がみられた。また、sub G1 の増強効果もみられた(図4)。

図4



上記のような、5-ALA 投与と超音波刺激の組み合わせは相加的な細胞増殖抑制効果がみられており、活性酸素増強以外の機序の関与も示唆する結果となった。

今回、5-ALA と超音波刺激の条件設定は protoporphyrin 生成の確認を行い、検討した。

protoporphyrin 生成条件検討をより詳細に行う必要がある。
また、vivo への応用を行うのに十分な条件であるか、再度評価する必要があると考えられた。
現在、可能な追加実験を検討している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------