

## 自己評価報告書

平成23年3月31日現在

機関番号：37116

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2008 ～ 2011

課題番号：20791024

研究課題名 (和文) 悪性脳腫瘍における光感受性物質の放射線感受性増強効果の検討

研究課題名 (英文) Evaluation of a radiosensitizing effect of photosensitizer for malignant gliomas

研究代表者

山本 淳考 (YAMAMOTO JUNKOH)

産業医科大学 医学部 准教授

研究者番号：80461565

研究分野：悪性脳腫瘍

科研費の分科・細目：光線力学療法

キーワード：photodynamic therapy (PDT), photodynamic diagnosis(PDD), 放射線治療、glioma,

## 1. 研究計画の概要

われわれが、悪性脳腫瘍に対する治療法として着目し、研究を行ってきた光線力学療法とは、光に反応する光感受性物質と、光照射を用いて殺細胞効果を生み出す治療法であり、すでに、肺がん、頭頸部がん、子宮がんなどさまざまな悪性腫瘍に対して臨床の現場で有効な成績が数多く報告されている。光感受性物質は、一方で、放射線感受性を増強させる効果を有することが報告されているが、脳腫瘍に関する報告は極めて少ない。本研究では、すでに臨床応用されている光感受性物質の一つである5-アミノレブリン酸 (以下5-ALA) について着目した。これ自身は、光感受性物質ではないが、腫瘍細胞内に取り込まれることでプロトポルフィリンIX (以下PpIX) が生成され、このPpIXが光感受性物質としての性質を有する。今回5-ALAを用いて、悪性グリオーマ細胞株における放射線感受性増強効果を検討する。

## 2. 研究の進捗状況

ラットグリオーマ細胞株 (9L, C6) を使用し、5-ALA (10 mM) 含んだ培養液にて培養後 (前処理)、放射線照射施行。コントロールとして5-ALAを含まない培養液にて同様に照射を施行。24時間後に、生細胞の評価について、MTTアッセイ法にて評価を行った。放射線線量が増加するにつれて、いずれの群も生細胞の減少を認めるが、5-ALAの前処理をすることで統計学的有意に強い殺細胞効果を示した。したがって、5-ALAと放射線照射を組み合わせることで殺細胞効果が誘導されることがわかった。照射線源として、

X線およびガンマ線にて評価を行ったが、いずれも同様な殺細胞効果が得られ、線源において明らかな差は認めなかった。

放射線照射後に細胞内器官の機能が低下し、細胞内ミトコンドリアの機能を重視したMTTアッセイ法では、過大評価する可能性もある。したがって、コロニーアッセイ法による再検討の必要性があること、また5-ALAの直接の細胞への障害を避けるために低濃度 (1 mM) での評価の必要性が生じた。したがって、まず、低濃度の5-ALAの前処理における、細胞内プロトポルフィリンIX (以下PpIX) の生成を証明する実験を施行した。低濃度5-ALA (1 mM) にてグリオーマ細胞株を処理し、共焦点レーザー顕微鏡にて観察を行った。従来の報告と同様に、細胞質を中心にPpIXの蛍光が観察され、低濃度5-ALA処理においてもターゲットとなりうるPpIXが生成されていることが証明された。

さらに、現在、低濃度5-ALAにて悪性グリオーマ細胞株を処理し、放射線 (ガンマ線) 照射を施行したのちにコロニーアッセイ法にて検討中である。中間評価であるが、MTTアッセイ法と同様に、5-ALA処理を行うことで、放射線感受性が増強される可能性が示唆されている。

## 3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している。  
前述のごとく、生細胞効果の評価法および5-ALAの使用濃度の再検討の必要性があり、それらを重点的に再検討中であり、予定よりも若干遅れたが、おおむね順調である。

## 4. 今後の研究の推進方針

現在、低濃度 5-ALA を用いて、コロニーアッセイ法にて殺細胞評価を継続して行う。また、放射線照射方法の検討（連続照射、分割照射など）も行い、最終的にはラット皮下腫瘍モデルを用いて検証する予定。

#### 5. 代表的な研究成果

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕（計 2 件）

- 1) 山本淳考 悪性脳腫瘍に対する光線力学診断と光線力学療法～基礎から最近の動向まで～ 脳神経外科速報 第 21 巻 3 号 280-287 2011（査読有）
- 2) Hirano T, Kohno E, Wu Y, Yamamoto J. The effect of irradiation at 670 nm in 5-ALA-mediated PDT 日本レーザー医学会誌 第 29 巻 2 号 169-176 2008（査読有）

〔学会発表〕（計 5 件）

- 1) 山本淳考、齋藤 健、高橋麻由、橋本昌典、西澤 茂 5-aminolevulinic acid (ALA)の悪性グリオーマに対する放射線治療への応用（シンポジウム）第 3 1 回 日本レーザー医学会総会 2010.11.13-14（名古屋）
- 2) 山本淳考、高橋麻由、橋本昌典、齋藤健、北川雄大、植田邦裕、宮岡 亮、西澤 茂 当院における multimodalityを駆使した悪性脳腫瘍に対する治療戦略-5-アミノレブリン酸による術中蛍光診断の有用性- 第 6 回北九州脳神経外科フォーラム 2010.10.15（北九州）
- 3) Hirano T, Kohno E, Hirakawa K, Yamamoto J, Okazaki S: Singlet oxygen detection inPDT The 2<sup>nd</sup> Asia Japan-Korea-China Joint Symposium of Photodynamic Therapy, 2010.6.12 (Fukui, Japan)
- 4) 山本淳考、齋藤 健、高橋麻由、西澤茂 5-aminolevulinic acid (ALA)による悪性グリオーマに対する放射線感受性増強効果～細胞浸潤抑制効果の検討～第 6 回日本脳神経外科光線力学研究会 2010.6.12（福井）
- 5) 山本淳考、齋藤 健、高橋麻由、青山雄一、副島慶輝、秋葉大輔、西澤 茂 5-aminolevulinic acid (ALA)による悪

性グリオーマに対する放射線感受性増強効果 第 5 回日本脳神経外科光線力学研究会 2009.4.18（山口）

〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0 件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

○取得状況（計 0 件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕