

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 4 月 27 日現在

機関番号：17301

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21591777

研究課題名（和文） 光線力学療法を応用した胆管癌に対する新規治療法の開発

研究課題名（英文） Development of new treatment applying photodynamic therapy in bile duct carcinoma

研究代表者

七島 篤志（NANASHIMA ATSUSHI）

長崎大学・病院・講師

研究者番号：60380838

研究成果の概要（和文）：

胆管癌の新しい局所治療として光線力学的治療の有用性をマウスにおける腫瘍の皮下移植モデルを用いて明らかとし、さらに従来の光感受性薬剤と比較して新規の talaporfin Na の安全性と腫瘍に対するより高い有効性を実証した。

研究成果の概要（英文）：

We clarify usefulness of photodynamic therapy (PDT) for bile duct carcinoma transplanted at subcutaneous lesion in mouse model. Furthermore, higher effectiveness and safety of new photosensitizer, talaporfin Na, in comparison with porfimer Na were clarified.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2010 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2011 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・消化器外科学・胆道外科学

キーワード：光線力学的療法（PDT）

1. 研究開始当初の背景

胆道癌に対して PDT の有効性は臨床研究において実証されていたが、基礎研究分野では明らかでなかった。また新規光感受性物質 Taraporfin Na は肺癌のみでしか臨床応用されておらず、胆管癌での有効性が不明であった。

2. 研究の目的

動物モデルにおける胆管癌皮下移植モデルを用いて、PDT の有用性を壊死範囲、アポトーシス、増殖活性、新生血管因子を用いて明らかとし、さらに新規光感受性物質 Talaporfin Na の porfimer Na と比較した同

様の検討を行い、より高い有効性を研究仮説とした。また胆管癌の管腔モデルを作成し、その中からレーザー照射を行い、各種レーザー条件を検討して最適な照射条件を明らかにすることであった。

3. 研究の方法

a) 管腔内での適正な照射条件の設定：解剖学的に胆管が細長いという特殊性から、よりヒト胆管癌の条件に近づけるために、先行して再生医学におけるコラーゲン・ゲル包埋培養法を応用した胆道癌管腔モデルをマウス皮下に作成し、そのモデルにおけるレーザーの照射角度や照射エネ

ルギー量、照射機器選択を的確に設定する。

b) 新規光増感剤 Talaporfin Na の腫瘍細胞壊死・アポトーシスの検討：従来の光増感剤 Porfimer Na と比較した Talaporfin Na 投与 PDT による胆管癌細胞の増殖活性、壊死効果および新生血管障害に関する解析とその優位性の検証。

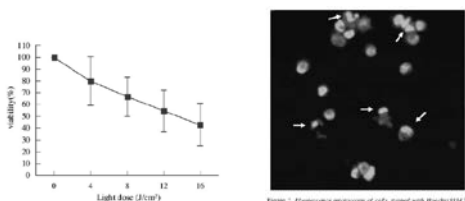
C) Talaporfin Na 投与 PDT と抗癌剤併用による治療増強効果の検討：新規光増感剤 PDT と各種抗癌剤の併用による腫瘍壊死効果の増強を明らかにする。中でも PDT の有する新生血管障害作用から、分子標的治療薬の血管新生阻害剤との相乗作用に重点をおき解析する。

4. 研究成果

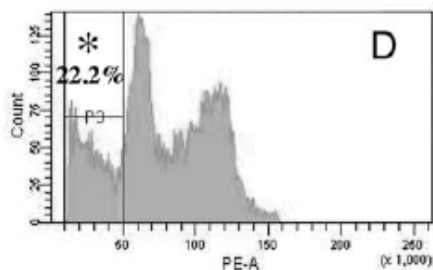
a) コラーゲン・ゲル包埋培養法を用いた胆管癌の管腔モデルの作成に成功せず、本研究を達成できなかった。

b) Porfimer Na による PDT を用いることで、*in vitro* 及び *in vivo* での高いアポトーシス誘導効果を MTT アッセイ、DNA 解析、FCM 解析で明らかにした。

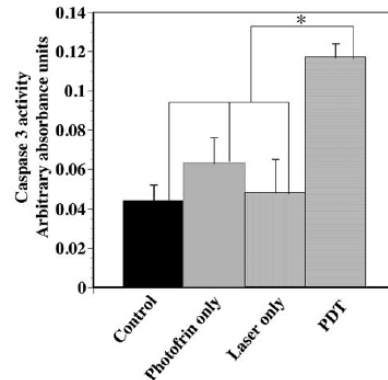
1) NOZ 胆管癌細胞を用いて PDT による MTT assay での cell viability を 24 時間観察。



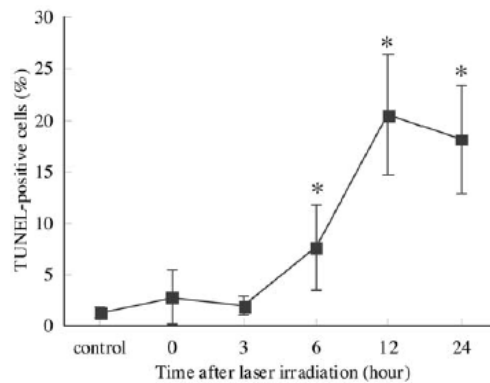
Porfimer Na では LD50 の条件から 10ug/ml、レーザー出力 12J/cm² を指摘条件と設定した。その時のアポトーシス誘導率は 22.2%であった。



アポトーシスの効果を見る指標として PDT 24 時間目の Caspase 3 活性値を測定したところ、PDT は対照群と比較して有意に高い活性値を示した。

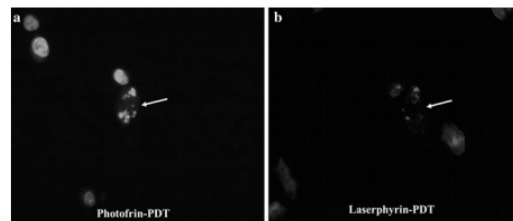


PDT 後経時的なアポトーシスの率を計測すると PDT 後 12 時間で最も高いアポトーシスを誘導されていた。



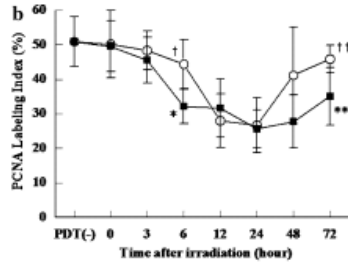
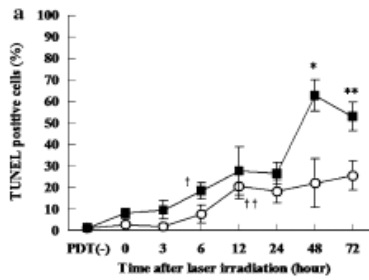
c) Talaporfin Na と Porfimer Na との比較実験で、腫瘍壊死効果、アポトーシス誘導率、PCNA での細胞増殖活性抑制、VEGF 発現による新生血管因子誘導率はいずれも Talaporfin Na で有意に高い結果が得られた。

Talaporfin Na による PDT でも高率なアポトーシス誘導が確認された。

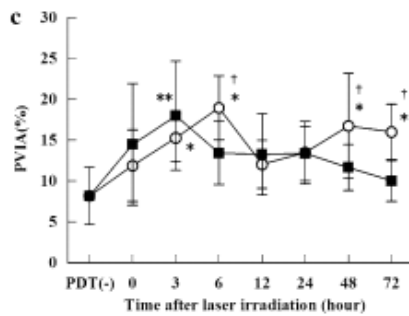


LD50 の条件から Talaporfin Na の濃度は 10ug/ml、12J/m² の半導体レーザー出力を指摘条件とした。

Talaporfin Na では腫瘍壊死範囲は 35% と porfimer Na の 32% と有意差はなかったが、Tunnel 染色でのアポトーシス誘導率では、PDT 開始 48-72 時間において Talaporfin Na が porfimer Na よりも有意に高率であった。また PCNA 活性は Talaporfin Na PDT で有意に低値であり、抑制効果を認めた。

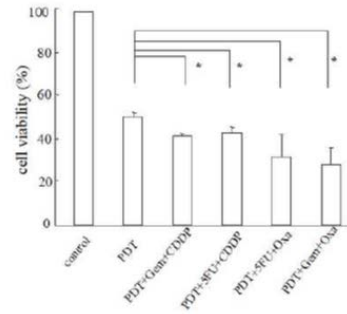
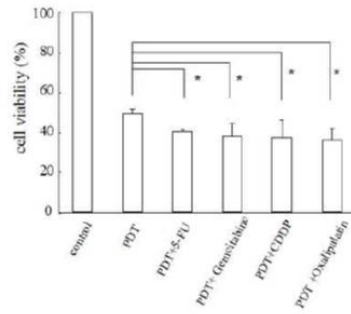


VEGF 活性値はいずれの群の PDT も有意に PDT 開始から 3-6 時間で上昇していたが、48-72 時間では porfimer Na 群では依然高い値でありながら、Talaporfin Na では有意に減少していた。新生血管障害からの回復が Talaporfin Na が早いものと考えられた。

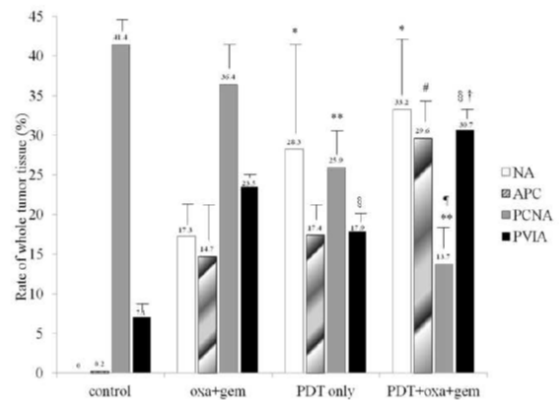
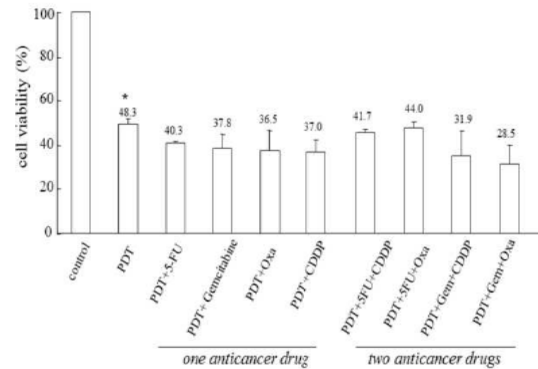


d) PDT における抗癌剤の相乗効果について検討し、抗癌剤単独よりも PDT と抗癌剤併用が腫瘍殺細胞効果が高く、その相乗効果が示された。また Talaporfin Na と Porfimer Na との比較実験で、腫瘍壊死効果、アポトーシス誘導率、いずれも Talaporfin Na で有意に高い結果が得られた。

1) Porfimer Na における in vitro の cell viability の効果を、PDT、抗癌剤、PDT+各種抗癌剤(5FU, CDDP, Gemcitabine, Oxaliplatin) で比較した。PDT 単独に比べ PDT+抗癌剤併用がいずれも cell viability は有意に低く、その中でも Oxaliplatin との併用が最も低値であった。さらに抗癌剤併用を2種類にするとより viability は低くなり、その中でも PDT+Gemcitabine+Oxaliplatinno 組み合わせが 25%と最も低値であった。



2) In vivo での同様の検討を行ったところ、PDT+抗癌剤併用が PDT や抗癌剤単独よりも viability の低下を有意に認めた。さらに抗癌剤単独の併用よりも 2 剤併用効果が viability が低く、Gemcitabine と Oxaliplatin の組み合わせが最も TUNEL 染色でのアポトーシス誘導率が 32%と高く、PCNA 増殖率も抑制できた。



e) PDT+抗癌剤の研究成果から将来の術前 neoadjuvant 治療への応用を考え、まず PDT の創傷治療効果を検討した。1cm の皮下の欠損モデルでは PDT による治療抑制効果は認められなかった。

5. 主な発表論文等

(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 10 件)

① Takashi Nonaka, Atsushi Nanashima, Mihoko Nonaka, Masataka Uehara, Hajime Isomoto, Izumi Asahina, Takeshi Nagayasu. Analysis of apoptotic effects induced by photodynamic therapy in a human biliary cancer cell line. Anticancer Res. 査読あり 30(6):2010; 2113-8.

② Takashi Nonaka, Atsushi Nanashima, Masataka Uehara, Hajime Isomoto, Yoshikazu Nonaka, Takeshi Nagayasu. Advantages of laserphyrin compared with photofrin in photodynamic therapy for bile duct carcinoma. J Hepatobiliary Pancreat Sci. 査読あり 18(4):2011 ;592-600.

③ Yoshikazu Nonaka, Atsushi Nanashima, Takashi Nonaka, Masataka Uehara, Hajime Isomoto, Takafumi Abo, Takeshi Nagayasu. Synergic Effect of Photodynamic Therapy using Talaporfin Sodium with Conventional Anticancer Chemotherapy for the Treatment of Bile Duct Carcinoma. J Sur Research 査読あり (revise中) .

④ Masataka Uehara, Mieko Nonaka, Atsushi Nanashima, Takashi Nonaka, Izumi Asahina. Predictive factor for photodynamic therapy effects on oral squamous cell carcinoma and oral epithelial dysplasia. Arch Oral Biol. 査読あり 56(11):2011; 1366-72.

⑤ 七島篤志、阿保貴章、森崎智仁、植原亮平、三嶋亮介、大仁田賢、磯本一。胆管癌に新規光感受性物質レザフィリンを用いた Photodynamic therapy 3 例の安全性に関する検討。胆道 査読あり 25 巻 2 号 2011、p220-227

⑥ 七島篤志、野中隆、磯本一、上原雅隆、大仁田賢、阿保貴章、森崎智仁、植原亮平、澤井照光、中尾一彦、永安武。Photodynamic Therapyによる胆管癌外科切除後治療。肝胆

膵 査読あり 62 巻 6 号 2011、p1121~1129.

⑦ 七島篤志、飛永修一、野中隆、上原雅隆、磯本一、大仁田賢、角田順久、阿保貴章、澤井照光、安武亨、永安武。外科的切除後断端陽性例に対する Photodynamic therapy を併用した補助治療。胆と膵 査読あり 30(12)、2009 , p1451-1456

⑧ 七島篤志、飛永修一、磯本一、上原雅隆、野中美保子、林秀行、角田順久、阿保貴章、国崎真己、日高重和、竹下浩明、澤井照光、永安武。 Photodynamic therapy を用いた非切除胆管癌治療の試み。肝胆膵 査読あり 59 巻、2009、p905-912

⑨ 七島篤志、野中隆、山口広之、飛永修一、澤井照光、上原雅隆、磯本一、永安武。胆管癌に対する photodynamic therapy の現況と将来。総説。日本レーザー医学会誌。査読あり 30 巻 2 号、2009、p141-145

⑩ 七島篤志、野中隆、上原雅隆、磯本一、飛永修一、角田順久、澤井照光、永安武。胆管癌の photodynamic therapy. コンセンサス癌治療 査読なし 8 巻 1 号、2009 , p48-51

[学会発表] (計 13 件)

① 野中隆、七島篤志、上原雅隆、池田美保子、磯本一、澤井照光、竹下浩明、日高重和、福岡秀敏、國崎真己、荒木政人、永安武。胆管癌の局所補助療法としての光線力学的療法の試みと今後の課題。第 109 回日本外科学会定期学術集会 2009-04-02, 03, 04 福岡

② 野中隆、七島篤志、上原雅隆、池田美保子、磯本一、永安武。ヒト由来胆道癌細胞に対するフォトフリンによる光線力学療法 (PDT) の殺細胞効果、アポトーシス誘導効果の検討 第 19 回日本光線力学学会総会 2009-07-04 横浜

③ 野中隆、七島篤志、上原雅隆、池田美保子、日高重和、竹下浩明、澤井照光、安武亨、永安武。ヒト由来胆道癌細胞に対する光線力学療法 (PDT) の殺細胞効果、アポトーシス誘導効果の検討。第 64 回日本消化器外科学会総会 2009-07-16, 17, 18 大阪

④ 野中隆、七島篤志、飛永修一、阿保貴章、上原雅隆、池田美保子、磯本一、永安武。胆道癌細胞に対する新規光感受性物質 (レザフィリン) による光線力学療法 (PDT) の有用性の検討。第 22 回日本肝胆膵外科学会・学術集会 2010-05-26, 27, 28 仙台

⑤ 野中隆、七島篤志、上原雅隆、池田美保

子, 磯本 一, 永安 武. 光感受性物質レザフィリンとフォトフリンを用いた胆道癌への光線力学療法と比較解析. 第 20 回日本光線力学学会学術講演会. 2010-06-11, 12, 13 福井

⑥七島篤志, 阿保貴章, 野中 隆, 野中良和, 大仁田 賢, 森崎智仁, 竹下浩明, 日高重和, 澤井照光, 三嶋亮介, 中尾一彦, 永安 武. 胆道癌における photodynamic therapy の展望 第 46 回日本胆道学会学術集会 2010-09-24, 25 広島

⑦野中良和, 野中 隆, 七島篤志, 阿保貴章, 上原雅隆, 池田美保子, 磯本 一, 澤井照光, 永安 武. 新規光感受性物質を用いた胆道癌への光線力学療法—従来のフォトフリンとの比較解析. 第 48 回日本癌治療学会学術集会 2010-10-28, 29, 30 京都

⑧七島篤志, 野中 隆, 磯本 一, 上原雅隆, 阿保貴章, 森崎智仁, 澤井照光, 永安 武. 胆道癌に対する PDT の現状と将来展望 日本レーザー医学会、シンポジウム 2010-11-13, 14 愛知

⑨野中良和, 七島篤志, 阿保貴章, 野中 隆, 澤井照光, 日高重和, 竹下浩明, 安武 亨, 永安 武. 胆道癌における光線力学療法—胆道癌マウスモデルを用いた抗癌剤併用効果の検討. 第 23 回日本肝胆膵外科学会・学術集会. 2011-06-08, 09, 10 東京

⑩野中良和, 七島篤志, 阿保貴章, 野中 隆, 日高重和, 竹下浩明, 澤井照光, 安武 亨, 永安 武. 胆道癌マウス皮下移植モデルを用いた Photodynamic therapy と抗癌剤の併用効果の検討. 第 21 回日本光線力学学会学術講演会 2011-07-02, 03 大阪

⑪野中良和, 七島篤志, 阿保貴章, 野中 隆, 日高重和, 竹下浩明, 澤井照光, 安武 亨, 永安 武. 胆管癌における光線力学的療法—抗癌剤併用による効果の増強について. 第 66 回日本消化器外科学会総会 2011-07-13, 14, 15 名古屋

⑫阿保貴章, 野中 隆, 七島篤志. 新規光増感剤を用いた photodynamic therapy の研究と胆道癌治療の臨床への展開. 第 47 回日本胆道学会学術集会 シンポジウム 2011-09-16, 17 宮崎

⑬Atsushi Nanashima, Takafumi Abo, Takashi Nonaka, Terumitsu Sawai, Takeshi Nagayasu. Advantages of laserphyrin compared with photoerin in photodynamic

therapy for bile duct carcinoma. 3rd Biennial Asia Pacific HPBA Congress. 2011-09-27, 28, 29, 30. Melbourne, Australia

〔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〕

ホームページ等

長崎大学腫瘍外科 ホームページ
http://www.med.nagasaki-u.ac.jp/surgery/1/first_staff1.htm

6. 研究組織

(1) 研究代表者

七島 篤志 (NANASHIMA ATSUSHI)
長崎大学・病院・講師
研究者番号: 60380838

(2) 研究分担者

永安 武 (NAGAYASU TAKESHI)
長崎大学医歯薬学総合研究科・教授
研究者番号: 80284686
上原 雅隆 (UEHARA MASATAKA)
長崎大学・病院・講師
研究者番号: 10253684
磯本 一 (ISOMOTO HAJIME)
長崎大学・病院・講師
研究者番号: 90322304

(3) 連携研究者

平野 達 (HIRANO TOORU)
浜松医科大学・光量子医学研究センター
研究者番号: 30313951

