

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 20 日現在

機関番号：32645

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2016

課題番号：25861979

研究課題名(和文) 口腔癌に対する光線力学的治療の新しい応用法に関する研究

研究課題名(英文) A new application of photodynamic therapy for oral cancer

研究代表者

宮本 重樹 (Shigeki, Miyamoto)

東京医科大学・医学部・兼任助教

研究者番号：80420975

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：光線力学的治療(photodynamic therapy: PDT)の適応を早期口腔癌ばかりでなく、局所進行口腔癌にも拡大することを視野に、試作の組織穿刺型プローブを用いた組織内PDT(interstitial PDT: iPDT)の治療効果について検討することを目的とした。海外で使用されている全周照射型のプローブを従来の「PDレーザー」に接続し、iPDTを行うシステムを確立した。ヌードマウス移植ヒト口腔癌における本システムの抗腫瘍効果の検討し、非照射群と比較してiPDT治療群の相対腫瘍体積において統計学的有意差を認める結果を得た。本システムにより抗腫瘍効果が得られる可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Photodynamic therapy is currently used to treat early stage oral cancer. Expanding its application to locally advanced oral cancer may benefit patients. This study investigated the therapeutic effect of intra-tissue photodynamic therapy (interstitial PDT: iPDT) using a prototype tissue puncture probe. A system was established that connected all-around irradiation type probes used for a conventional "PD laser" and that performed iPDT. The antitumor effect of this system was investigated in nude mice that received transplants of human oral tumors. The relative tumor volume differed significantly in the iPDT-treated and non-irradiated groups. These findings suggested that this system might provide antitumor effects.

研究分野：外科系歯学

キーワード：局所進行口腔癌 組織穿刺型プローブ 組織内PDT

1. 研究開始当初の背景

光線力学的治療 (photodynamic therapy: PDT) は、腫瘍選択的光感受性薬剤の集積した部位へのレーザー光の照射により生ずる光線力学的反応により、殺細胞効果を引き起こし、癌細胞を選択的に殺滅する治療法である。PDT の最大の利点は多臓器への副作用が少なく、癌細胞のみを選択的に治療できることであり、欧米では頭頸部癌治療戦略の一つの柱として位置づけられている。国内において口腔癌をはじめとした表在型早期頭頸部癌に対する PDT が侵襲の少ない治療法として臨床応用されており、良好な成果が報告されている^{1,2)}。しかしながら、局所進行頭頸部癌に対する PDT の有用性を示した報告は乏しい。一方、海外では複数の臨床研究により組織内 PDT (interstitial PDT: iPDT) が、頭頸部癌をはじめ前立腺癌、膵臓癌、脳腫瘍における局所進行癌に対する有望な治療戦略であることが示されている³⁾。従来の外照射 PDT は光の組織深達度から 10mm 以下の表在型早期癌に対して用いられることが多く、厚さが 10mm を超える腫瘍や深部組織の腫瘍に対しては iPDT が必要とされている。頭頸部領域において標準的治療に反応しなかった局所進行頭頸部癌に対する mTHPC (Foscan® ,Biolitec Pharmaceuticals Ltd., Dublin, Ireland) を用いた iPDT における有望な治療効果が報告されている⁴⁻⁷⁾。

2. 研究の目的

局所進行頭頸部癌に PDT を応用するための基礎的研究として、われわれは試作の新型穿刺プローブを用いた iPDT を施行した。本研究はヌードマウス移植ヒト口腔癌に対するレーザー光の治療効果について検討することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 「試作の新型プローブの作製」

新型プローブ作製にあたり、われわれは海外で iPDT に使用されている Biolitec 社製のプローブ (Cylindrical diffuser CD 405-50C, Ceralas Bare Fiber 600µm, Ceram Optec, Bonn, Germany) を利用し、パナソニックヘルスケア社製「PD レーザ」に接続できるように接続用プローブを改良し、18G 留置針と組み合わせることで実験用の新しい腫瘍組織内挿入プローブを作製した。

(2) 「試作の新型プローブの特性評価」

60×35×20mm の牛肉片(赤身)にプローブ先端から肉片の端から 5mm、深さ 10mm の位置に挿入し、レーザー照射を

行った。穿刺型プローブは「PD レーザ」本体と変換アダプタ用プローブを介して接続した。□設定出力は 100mW とし、そのレーザー光分布を側面から観察評価した。これにより、肉片内に拡がるレーザー光の形状や範囲を観察することにより治療効果の予測を行った。

(3) 「ヌードマウス移植ヒト口腔癌に対する iPDT における抗腫瘍効果」

実験動物

in vitro にて培養した SAS (ヒト口腔癌細胞株) をヌードマウス (BALB/cAJcl-nu/nu, ♂, 7 週齢) 20 匹の右背部皮下に 5×10^6 cells/0.1mL/body で移植し、異種異所性移植 (Xenograft) モデルを作成した。群構成は n=7×2 群 (非照射群、iPDT 群) とし、進行頭頸部癌を想定し、腫瘍径が 15mm 程度を治療開始の目安として、腫瘍体積をもとに細胞移植後 12 日に群分けを行った。

PDT 施行方法

光線力学的療法用剤「注射用レザフィリン®100mg」(タラポルフィンナトリウム) をマウス尾静脈内に 5mg/kg の容量で投与した。投与 2 時間後に全身麻酔下 (メドトミジン、ミダゾラム、プトルファンールの 3 種混合麻酔による) で新型プローブを用いて iPDT を施行した。プローブの組織内挿入に先ず、18G 留置針を腫瘍へ穿刺した。外筒のみ残存させた状態でレーザーに接続したプローブを組織内に挿入した。「PD レーザ」は励起波長 664nm、照射パワー 100mw、照射エネルギー 100J/cm² の条件で照射した。

評価

各個体の PDT 施行日から治療 7 日後マウス体重と腫瘍体積を測定した。治療 7 日後の時点でマウスを安楽死させ、腫瘍を摘出し、相対腫瘍体積 (%) を算出した。

統計学的解析

非照射群、iPDT 群の代表値は平均値 ± 標準偏差で表示する。これらは Microsoft® Excel® 2010 (日本マイクロソフト株式会社) を用いて算出した。処理項目は体重、腫瘍体積、腫瘍重量とした。照射、非照射群間の平均値の差の検定は等分散性を F 検定により確認 (有意水準: 5%) し、有意であれば Aspin-Welch の t 検定を行う。有意でなければ Student の t 検定を行う。有意水準は 5% (両側) とし、p<0.05, p<0.01 および p<0.001 に分けて表示した。使用ソフトウェアは SAS9.1.3 (SAS Institute Japan 株式会社) を用いた EXSUS Version 7.7.1 (株式会社 CAC エクシケア) を使用した。

4. 研究成果

iPDT 用新型穿刺プローブの特性評価で

は光分布の形状は先端からほぼ球状に広がって認められた。

PDT 施行日のマウス体重は非照射群では $24.8 \pm 0.7\text{g}$; $n=7$ 、iPDT 群では $24.3\text{g} \pm 0.8\text{g}$; $n=7$ であった。各群の PDT 施行日の体重を 100%として治療 7 日後の体重変化率を算出した結果、非照射群では $109.8 \pm 3.6\%$ で iPDT 群では $109.7 \pm 2.5\%$ であった。PDT 施行による iPDT 群の体重変化に影響は認められなかった。また、2 群間で有意差は認められなかった (Fig 1)。

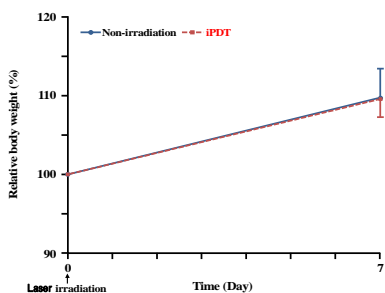


Figure 1 Effect of LASERPHYRIN®100mg FOR INJECTION and laser irradiation on relative body weight in SAS-bearing nude mice

PDT 施行日の腫瘍体積は非照射群で $520.1 \pm 145.9\text{mm}^3$ であり、iPDT 群では $558.2 \pm 136.1\text{mm}^3$ であった。治療 7 日後の腫瘍体積は非照射群で $1462.4 \pm 295.4\text{mm}^3$ と約 2.8 倍に達し、急速な腫瘍の増大が認められた。一方、iPDT 群では治療 7 日後の腫瘍体積は非照射群と比較して $1333.4 \pm 286.1\text{mm}^3$ 低値を示したが、2 群間で腫瘍体積に有意差は認められなかった (Fig 2)。

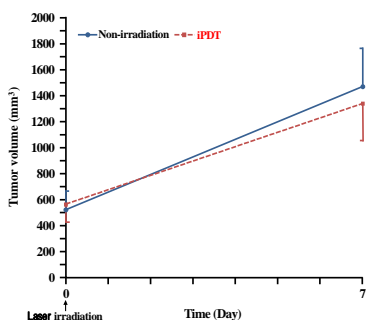


Figure 2 Effect of LASERPHYRIN®100mg FOR INJECTION and laser irradiation on tumor volume in SAS-bearing nude mice

$$\text{Tumor volume (mm}^3\text{)} = 1/2 \times \text{long diameter} \times (\text{short diameter})^2$$

しかしながら、PDT 施行日の腫瘍体積を 100%とした場合の治療 7 日後の照射群、iPDT 群の 2 群間における相対腫瘍体積では統計学的有意差が認められた ($P < 0.05$) (Fig 3)。

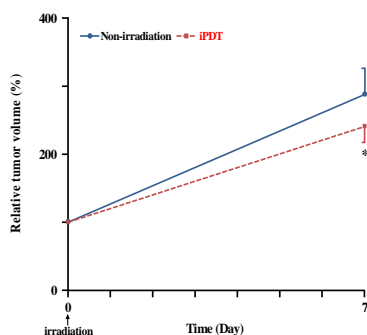


Figure 3 Effect of LASERPHYRIN®100mg FOR INJECTION and laser irradiation on relative tumor volume in SAS-bearing nude mice

* $p < 0.05$ vs the non-irradiation group (Student's t-test)

本実験結果より 10mm を超える口腔癌に対する穿刺型プローブを用いた iPDT に対する抗腫瘍効果を得られる可能性がある事が示唆された。

<引用文献>

- 金子忠良, 千葉博茂: 口腔癌に対する光線力学的治療の適応拡大. 日本レーザー医学会誌, 27: 1: 51-55, 2006.
- 吉田知之: 耳鼻咽喉科・頭頸部外科領域に対する光線力学的治療. 耳鼻臨床 102: 11: 889-899, 2009.
- Shafirstein, G., Bellnier, D., et al. Interstitial Photodynamic Therapy-A Focused Review. *Cancers*. 2017, 912; doi:10.3390/cancers9020012.
- Lou, P.J., Jager, H.R., et al. Interstitial photodynamic therapy as salvage treatment for recurrent head and neck cancer. *Br. J. Cancer*. 2004, 91, 441-446.
- Jager, H.R., Taylor, M.N., et al. MR imaging-guided interstitial photodynamic laser therapy for advanced head and neck tumors. *AJNR Am. J. Neuroradiol.* 2005, 26, 1193-1200.
- Jerjes, W., Upile, T., et al. Photodynamic therapy: The minimally invasive surgical intervention for advanced and/ or recurrent tongue base carcinoma. *Laser Surg. Med.* 2011, 43, 282-292.
- Karakullukck, B., Nyst, H.J., et al. mTHPC mediated interstitial photodynamic therapy of recurrent nonmetastatic base of tongue cancers: Development of new method. *Head Neck*. 2012, 34, 1597-1606.

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)

[学会発表](計 1 件)

宮本重樹・金子忠良・池田哲也・榎 成憲・
近津大地・齋藤 康一郎 新型プローブを用
いた interstitial photodynamic therapy にお
ける抗腫瘍効果の基礎的検討、第 37 回 日
本レーザー医学会総会、平成 28 年 10 月 21-22
日、旭川

6. 研究組織

(1) 研究代表者

宮本 重樹 (MIYAMOTO, Shigeki)
東京医科大学・医学部・兼任助教
研究者番号：80420975

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

(4) 研究協力者

榎 成憲 (ENOKI, Shigenori)
株式会社 L S I メディエンス