

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 27 日現在

機関番号：32645

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26462191

研究課題名(和文) 悪性脳腫瘍に対する光線力学的治療の効果増強に関する研究

研究課題名(英文) Enhancement of the effect of photodynamic therapy for malignant brain tumors

研究代表者

秋元 治朗 (Akimoto, Jiro)

東京医科大学・医学部・教授

研究者番号：10212440

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：原発性悪性脳腫瘍に対する、光感受性物質talaporfin sodium(TS)と半導体レーザーを用いた光線力学的療法(photodynamic therapy: PDT)の更なる治療効果増強を探索すべく、いくつかの実験系を展開した。結果として、抗がん剤(temozolomide)を前投与すること、TS濃度とレーザー光のエネルギー密度を調整することでPDT効果を高められることを発見した。更に、悪性髄膜腫細胞株にも悪性グリオーマ細胞株同様のPDT効果が得られることも発見した。今後、さらに詳細な解析を行い、既存のPDT方法の改良に向けて研究を進めることとした。

研究成果の概要(英文)：We developed some experiments system in order to search for the enhancement of the effect of photodynamic therapy for malignant brain tumors using talaporfin sodium and semiconductor laser. In result, we found that PDT effect was enhanced by preloading an anticancer agent (temozolomide), and regulating the administrating dose of TS or the energy density of the laser beam. Furthermore, we found that PDT effect were demonstrated in malignant meningioma cell lines like as the malignant glioma cell lines. We would like to perform more detailed experiments and validation of these results of PDT for malignant brain tumors for improvement of the results of the existing PDT method in future.

研究分野：臨床医学

キーワード：光線力学的療法 悪性脳腫瘍 光感受性物質 半導体レーザー 治療効果増強

1. 研究開始当初の背景

研究代表者は腫瘍親和性の高い光感受性物質 Talaporfin sodium(以下 TS)と半導体レーザーを用いた、原発性悪性脳腫瘍の術中光線力学的治療(Photodynamic therapy: PDT)を開発し、前臨床研究、臨床研究及び医師主導治験の実践により、本新規治療法の有効性・安全性を立証した。これらの業績の下、平成25年9月20日に原発性悪性脳腫瘍を対象としたPDTの保険適応承認を得た。PDTの国家レベルでの承認は世界初であり、難治性癌に対する新規治療として国民の大きな期待を受けている。

2. 研究の目的

本研究において、本治療法の更なる有効性向上を目指し、GLP (Good laboratory practice)に準拠した前臨床研究を行い、現在承認されているPDTのプロトコルを改変することの可能性につき詳細に分析する。

3. 研究の方法

1)抗癌剤治療との併用によるPDT効果の増強の可能性を探索

近年、他臓器癌に対するPDTの報告では、抗癌剤や放射線治療とPDTの組み合わせによる相加相乗効果を評価したものが多く、研究代表者らが開発したPDTは術中に施行する治療であることから、術前後に行われるこれら補助療法と自由に組み合わせることが可能である。実際に研究代表者が行った臨床研究や医師主導治験においては、術後に放射線治療とTemozolomide(以下TMZ)の内服治療という補助療法を組み合わせている。今回の研究では、まず標準治療であるTMZの投与のタイミングを検討する。即ち、PDTを施行する前にTMZを暴露した群と、PDTを施行した後にTMZを暴露した群での細胞生存率の比較を行う。

2)悪性神経膠腫培養株を用い、PDT施行諸条件による細胞死率の変化を検討

3種類の確立されたヒト神経膠腫瘍培養株(T98G、U251、A172)を用いる。A:TSを種々の時間で細胞に曝露する。先行研究(Tsutsumi M 2013, Miki Y 2013)では4時間とした。今回は8時間、12時間、16時間、20時間、24時間などを曝露時間とする。B:先行研究では半導体レーザーの照射パワー密度は33mW/cm²とした。今回は66mW/cm²、99mW/cm²、150mW/cm²、300mW/cm²などの照射条件とする。C:先行研究ではレーザーの照射エネルギーは10J/cm²に統一して行った。照射パワー密度を固定して、照射時間を適宜設定することにより、多種の照射エネルギー密度での腫瘍細胞の胴体を評価、解析する。

3)悪性髄膜腫細胞株に対するPDT効果の検証

2種類の確立された悪性髄膜腫細胞株(ラットRCB1753、ヒトRCB0680)を理研セルバンクより購入し、ヒト悪性神経膠腫細胞株に対するPDT実験の先行研究(Tsutsumi M 2013, Miki Y 2013)と同等の実験系を行い、悪性髄膜腫に対するPDT施行の可能性を探索する。

4. 研究成果

1)悪性神経膠腫に対して標準的に用いられる抗癌剤であるTMZとPDTの併用による相加相乗効果の有無につき検討した。結果として、PDT施行後にTMZを投与した群に比較し、PDTの前にTMZを投与した群の方が、よりPDT効果の増強が得られることを発見した。その機序としては、TMZの先行曝露により、腫瘍細胞内のTS濃度が上昇し、PDTによる一重項酸素の発生が高まることが一因と考察し、論文報告した。(Photodiag Photodyn Ther 11(4):556-64, 2014)

2)確立されたヒト悪性神経膠腫細胞の3種類の細胞株を用いたin vitro studyを行なった。先行研究(Tsutsumi M 2013, Miki Y 2013)ではTSの濃度の差による細胞死率の変化を報告していたが、今回は薬剤投与量を一定とし、照射するレーザー光のエネルギー密

度を変化させることによる細胞死形態、細胞死率の差を検討した。結果として 5J/cm² の照射と 10J/cm² 以上の間には細胞死率に有意差は無かった。TS 投与量とエネルギー密度の諸条件下に flow cytometer と細胞死関連の各種 assay を行なった結果、TS 曝露量 30 μg/ml、レーザーエネルギー密度 5J/cm² が最も有効な PDT 条件であることを発見した。具体的には本条件下の PDT 施行が apoptosis と necrosis 分画の比で最も良好な条件であることを示し、論文報告した。(J Toxicol Sci 39(6), 2014 及び Lasers Med Sci 30(6), 2015)

3) 確立されたラット、及びヒト悪性髄膜腫細胞株を用いて、先行研究(Tsutsumi M 2013, Miki Y 2013)と同様の条件下の PDT を施行したところ、悪性神経膠腫細胞株同様、TS-dose dependent、Laser-energy dependent な細胞死が誘導された。2種の細胞間に PDT 感受性の明らかな差は認めず、その感度は悪性神経膠腫細胞株で最も PDT 感受性が低い T98G 株の感度とほぼ同等であった。

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6件)

- 1) Akimoto J: Photodynamic therapy for malignant brain tumors. Neurol Med Chir (Tokyo) 56(4), 151-7, 2016 (査読あり)
- 2) Miki Y, Akimoto J, Moritake K, et al: Photodynamic therapy using talaporfin sodium induces concentration-dependent programmed necroptosis in human glioblastoma T98G cells. Lasers Med Sci 30: 1739-45, 2015 (査読あり、5人中2番目)
- 3) 秋元治朗: 膠芽腫に対する光線力学的療法と化学療法 42(6), 678082, 2015 (査読あり)

あり)

- 4) 秋元治朗: 原発性悪性脳腫瘍に対する光線力学的療法(PDT) Pharma Medica 33, No 2, 111-14, 2015 (査読あり)
- 5) Miki Y, Akimoto J, Hiranuma M, et al: Effect of talaporfin sodium-mediated photodynamic therapy on cell death modalities in human glioblastoma T98G cells. J Toxicological Sci 39(6): 821-7, 2014 (査読あり、4人中2番目)
- 6) Miki Y, Akimoto J, Omata H, et al: Concomitant treatment with temozolomide enhances apoptotic cell death in glioma cells induced by photodynamic therapy with talaporfin sodium. Photodiag Photodyn Ther 11(4): 556-64, 2014 (査読あり、8人中2番目)

[学会発表](計34件)

- 1: Akimoto J: Photodynamic therapy. 7th Japan-India Neurosurgical Conference, 18 June, 2016, Osaka, Japan
- 2: 秋元治朗: 温故創新・本邦初の複合型医師主導治験を終えて 第17回脳教カンファレンス、7月18日、2015、富山
- 3: 秋元治朗: 原発性悪性脳腫瘍に対する Photodynamic therapy(PDT) 第25回日本光線力学学会、7月10日、2015、東京
- 4: 秋元治朗: 悪性脳腫瘍に対する光線力学的療法の開発と実践 第90回日本獣医麻酔外科学会、6月21日、2015、埼玉
- 5: 秋元治朗: 悪性脳腫瘍に対する光線力学療法 第26回脳神経外科臨床講座、11月15日、2014、東京
- 6: 秋元治朗、村垣善浩、伊関洋、他: 光線力学的治療 第73回日本脳神経外科学会総会、10月9日、2014、東京
- 7: Akimoto J, Maruyama T, Muragaki Y, et al: Phase II clinical study on intraoperative photodynamic therapy in

patients with malignant brain tumors. The 5th Asian Joint PDT symposium, 29 June, 2014, Hamamatsu, Japan

8: 秋元治朗：オールジャパンで臨んだ悪性脳腫瘍に対する光線力学的治療の保険適応拡大 第68回日本口腔科学会学術集会、5月8日、2014、東京

9: 秋元治朗：悪性脳腫瘍に対する光線力学的治療～All Japan で臨んだ悪性脳腫瘍に対する光線力学的治療(PDT)の保険適応拡大 第14回CNTT、4月18日、2014、福岡

10: 秋元治朗：悪性脳腫瘍に対する光線力学的治療～All Japan から Global standard へ～ 第49回大分脳腫瘍懇話会、4月5日、2014、大分

他 24 件

〔図書〕(計3件)

1: 秋元治朗、文光堂、光線力学的治療、脳神経外科診療プラクティス、グリオーマ治療の Decision Making、2016、pp206-12

2: 秋元治朗、Medical View 社、レザフィリンと Photodynamic therapy(PDT) NS Now 脳・脊髄腫瘍摘出のための引き出し、2015、pp96-103

3: 秋元治朗、先端医療技術研究所、光線力学的診断・治療、臨床医のための最新脳神経外科、2014、pp98-100

6 . 研究組織

(1)研究代表者

秋元 治朗 (AKIMOTO Jiro)
東京医科大学・医学部・教授
研究者番号：10212440

(2)研究分担者

丸山 隆志 (MARUYAMA Takashi)
東京女子医科大学・医学部・講師
研究者番号：40301543