

令和 4 年 6 月 24 日現在

機関番号：13802

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K09286

研究課題名(和文) 子宮頸部上皮内病変に対する日帰り光線力学療法(PDT)の基礎的・臨床的研究

研究課題名(英文) Basic and clinical study of one day-photodynamic therapy (PDT) for cervical intraepithelial neoplasia

研究代表者

村上 浩雄 (Murakami, Hirotake)

浜松医科大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：10432212

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：日帰り光線力学的療法を目指して臨床的及び基礎的な検討を行った。臨床的研究としてはレザフィリンPDTを用いた臨床試験を継続して行った。9例のCIN症例に対しレザフィリンPDTを施行し、追跡できた8例で治癒を確認できた。基礎的研究ではマウスを用いて通常量より少量のレザフィリンを投与しPDTの効果を検討し、ウリナスタチン、ベタメサゾン吉草酸エステル、インドメタシンの抗腫瘍効果の増強を確認した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今回臨床的検討で確認できたレザフィリンPDTの治療効果は優れていたため、早産を伴わないCIN治療として臨床へ応用できる可能性が示唆された。基礎的検討で得られた、ウリナスタチン、ベタメサゾン吉草酸エステル、インドメタシンの増強効果は投与タイミングで効果が変化するため、今後臨床試験を行うことでより副作用の少ない治療が期待できると考える。

研究成果の概要(英文)：A clinical and basic study was conducted aiming at one-day photodynamic therapy. As a clinical study, clinical trials using Talaporfin sodium- PDT were continued. Talaporfin sodium- PDT was performed on 9 CIN cases, and cure was confirmed in 8 cases that could be followed up. In the basic study, the effect of PDT was examined by administering a smaller amount of Talaporfin sodium than usual in mice, and the enhancement of the antitumor effect of ulinastatin, betamesazone valerate, and indomethacin was confirmed.

研究分野：婦人科腫瘍

キーワード：子宮頸部上皮内腫瘍 光線力学的療法 タラポルフィンナトリウム 婦人科腫瘍

### 1. 研究開始当初の背景

子宮頸癌は近年若年化が進み、20歳から39歳の女性で罹患率が高い癌であることは知られていた。子宮頸癌の前病変とされる子宮頸部上皮内病変(CIN)も同様に増加していた。子宮頸癌及びCINに施行される診断法として円錐切除がある。CINである場合、円錐切除により病変が完全切除される割合は95~97%とされ診断法に加え治療法としても役割を持っている。

一方、光線力学的療法(PDT)は、円錐切除と同様にCINに対する治療で用いられてきた。本邦では1980年に早田、加藤らが内視鏡下で早期肺癌に対してPDTを行い治療成績の報告をした。その後、フォトフリン®とレーザーを用いた早期子宮頸癌のPDTは食道癌、胃癌、早期肺癌とともに1995年より保険の適応となり、CIN及び早期子宮頸がん治療率は95~97%と円錐切除の完全摘出率と同等であると報告されている。

2018年時本邦では、フォトフリン®の副作用(主に日光過敏症)と、細胞診および組織診でのみの診断で治療するため摘出標本による病理診断ができない理由からCINに対しPDTよりも円錐切除が推奨され、現在に至るまで治療法として選択されることが圧倒的に多い。しかし、円錐切除は不妊症・早産・難産の危険率が増加するという問題がある。日本産科婦人科学会周産期委員会の報告によると平成28年度の円錐切除後症例における早産率は約25%と非常に高かった(一般は6~7%)。そのため周産期合併症を伴わない、円錐切除術と同等な治療の選択肢が期待されていた。光線過敏症を軽減したPDTが開発されれば将来的に早産率軽減、新生児死亡率減少に寄与し、周産期医療の改善につながると考えられた。

光線過敏症を軽減できる光増感剤として、本邦ではクロリン系の第2世代光増感剤であるレザフィリン®が肺癌や食道癌で臨床応用されてきた。レザフィリン®によるPDTは2003年早期肺癌に対し保険適応となり、治療率は1cm未満の腫瘍では94%、1cm以上の腫瘍では91%であった。また、光線過敏症状は約2週間で改善すると報告されている。その後2013年に悪性脳腫瘍への適応追加、2015年にCRT後の再発食道癌及び遺残病変に対して適応追加がされ良好な成績が報告されている。しかし、最も社会的に貢献するであろう疾患と考えられるCINに対するレザフィリン®を用いたPDTについては未だ検討されていなかった。

### 2. 研究の目的

光線過敏症が少なく治療効果のあるレザフィリン®PDTを研究することで、日帰りPDTを可能にする。これらが実現できれば患者のQOLの向上、早産率を悪化させないCIN治療法が可能になると考えられる。我々は動物実験においてNSAIDsと有機酸を用いることにより日帰りPDTが可能となる条件を見出している。本研究により円錐切除術に代わる女性のQOLを重視した少子化に貢献する新たなCINに対する治療法が見いだされる。

### 3. 研究の方法

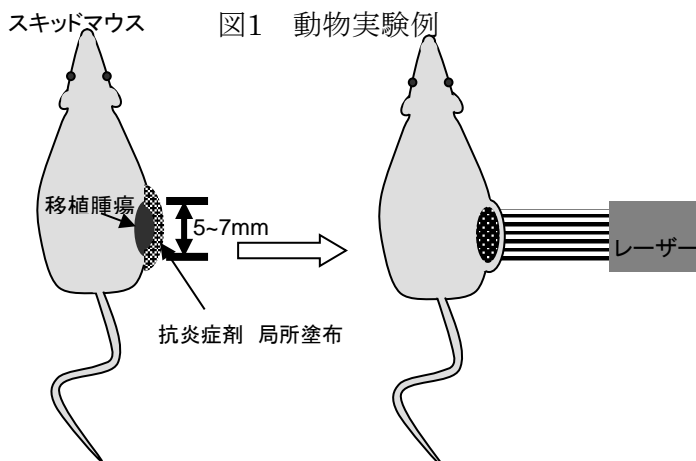
#### (1) 基礎的研究

以前より、フォトフリン®PDTの投与量減量を目的とした予備的研究を行っている。NSAIDsや有機酸である酢酸などの補助薬剤を用いることにより抗腫瘍効果の増強することは予備的な動物実験で確認できている。また、レザフィリン®PDTの減量を目的とした動物実験を開始し一部の薬剤で同様の結果を得ている。本研究では更に多くの補助薬剤(NSAIDs、ウリナスタチン、酢酸など)を用いてレザフィリン®PDTの治療効果をより増強することを目的とし、その薬剤の最適な投与量及び投与法を検討する。また、補助薬剤の最適な投与量と投与法を決定した後に更にレザフィリン®の投与量を減量できるか検討し、補助薬剤下の最低レザフィリン®投与量を決定する。

① スキッドマウスにHeLa細胞(子宮頸部腺癌細胞:  $1 \times 10^6$  個)を皮下移植し腫瘍径が5~7mmになった担癌マウスを対象とする。マウスは遮光したケージで飼育し、光線が当たらないように細心の注意をする。

光増感剤であるレザフィリン®は1.2mg/kg静脈投与をコントロールとする。レザフィリン®投与後に4時間経過した時点で664nmの光線照射のためPDレーザー(Meiji Seikaファルマ製)を用いて100J/cm<sup>2</sup>の光線をマウス背側の腫瘍に照射する。

② 補助薬剤の抗炎症剤としてインドメタシン、ベタメサゾン及びウリナスタチンを用いる。抗炎症剤は静脈投与、局所塗布を行う(図1)。効果を認める補助薬剤・投与法を決定したうえでレザフィリン®の投与量を減量してPDTによる抗腫瘍効果を確認する。コントロール及び減量した対象(レザフィリン®0.5mg/kg)の治療効果を検討する。(n=5)



- ③ 酢酸(3.0%)を局所塗布しレザフィリン®を減量しつつ PDT の抗腫瘍効果を確認する。上記②と同様にレザフィリン®投与量を減量し、抗腫瘍効果から最小量を確認する。(n=5) 腫瘍を移植し治療を行わない無治療群、PDT のみを行い抗炎症剤を併用しない群(コントロール)、補助薬剤投与のみで PDT を施行しない群と抗炎症剤・酢酸併用 PDT 群を比較し抗腫瘍効果の検討をする(n=5)。レザフィリン®濃度を減量し、それぞれの群で PDT 後 30 日間の腫瘍径を測定することで長期的な抗腫瘍効果を評価する。腫瘍径測定は、動物実験センターの暗くした(30Lux 程度：臨床治療でフォトフリン®投与後に行なう暗室の最初期の暗さ)室内で測定し、直ちに遮光されたケージに收容するものとする。

#### (2) 臨床的研究

レザフィリン®を用いたヒトの CIN に対する臨床研究は 2016 年より着手していた。有効性を検討するための臨床試験で、本学の倫理委員会の承認を得ている。この試験では CIN に対する full dose である 40mg/m<sup>2</sup> のレザフィリン®PDT による有効性の検討で、この有効性の検討では 10 例まで臨床試験を継続し行う予定であった。2017 年時点では、容量決定及び有効性の確認のため、レザフィリン®の投与量を漸減しながら十分な効果を得られる最適な投与量を決定するための臨床試験を更に追加して行う予定であった。

#### 4. 研究成果

##### (1) 基礎的研究の成果

動物実験では SCID マウスの皮下へ HeLa 細胞を移植し 5~7mm になった腫瘍を対象として行った。レザフィリン 0.5 mg/kg を尾静脈より静注し、4 時間後にレーザー光照射を 100J/cm<sup>2</sup> を照射した。

- ① インドメタシingleル塗布を光照射 1 時間前、照射直後、照射 1 日後、照射 4 日後に行い、その後治療効果を確認するために腫瘍径を測定した。光照射後 30 日の時点で体積比(治療開始前を 1 として計算)はレザフィリン単独投与による PDT では 25.2 倍に増大していたが、インドメタシingleル塗布群で最も効果の高かった照射直後の群では 4.5 倍に抑制された。治癒までの効果は認められなかったものの、レザフィリン PDT において光照射直後にインドメタシingleルを塗布することが効果を増強する可能性が示唆された。
- ② ミラクリッドクリーム塗布を光照射 1 時間前、照射直後、照射 1 日後、照射 4 日後に行い、その後治療効果を確認するために腫瘍径を測定した。光照射後 30 日の時点で体積比(治療開始前を 1 として計算)はレザフィリン単独投与による PDT では約 25 倍に増大していたが、ミラクリッドクリーム塗布群で最も効果の高かった照射 1 時間前の群では 7 倍に抑制された。治癒までの効果は認められなかったものの、レザフィリン PDT において光照射 1 時間前にミラクリッドクリームを塗布することで治療効果増強を期待できると考えられた。
- ③ ベタメサゾン吉草酸エステル 0.1 mg/kg 塗布を光照射 1 時間前、照射直後、照射 1 日後、照射 4 日後に行い、その後治療効果を確認するために腫瘍径を測定した。光照射後 30 日の時点で体積比(治療開始前を 1 として計算)はレザフィリン単独投与による PDT 群では約 40 倍に増大していたが、ベタメサゾン吉草酸エステル塗布群では投与タイミングに関わらず 8~11 倍に抑制された。腫瘍組織の炎症抑制も関与が否定できないが、レザフィリン PDT において治療前後にベタメサゾン吉草酸エステルを塗布することで治療効果増強を期待できると考えられた。
- ④ ウリナスタチンクリーム(以下 UC)は照射 1 時間前で最も抗腫瘍効果を増強、ベタメサゾン吉草酸エステル(以下 Bet)は照射直後、インドメタシingleル(以下 Indo)塗布は照射直後が最も強い抗腫瘍効果を示したことからそれぞれの組み合わせを用いてコントロールと比較することを動物実験する方針とした。その結果、30 日後の腫瘍体積ではコントロール群が治療施行時体積の 25.2 倍であったのに対し、腫瘍増大比は UC・Indo 投与群 2.0 倍、UC・Bet 投与群 11.0 倍、Bet・Indo 投与群では 20.2 倍であった。これらからレザフィリン PDT において照射 1 時間前にウリナスタチンクリームを塗布し、照射直後にインドメタシingleル塗布を行うことで約 12.6 倍の治療効果が得られることが示唆された。
- ⑤ 酢酸塗布を行う群をコントロール群と比較したが、酢酸を加えた群すべてで腫瘍抑制を認めため比較が困難であった。

##### (2) 臨床的研究の成果

レザフィリン PDT の臨床試験を 2018 年度を含めて計 9 例まで施行した。対象は平均年齢 33.7 歳(28-39 歳)、全例挙児希望がある女性であった。40mg/m<sup>2</sup> のレザフィリン®を静脈投与し、投与後 4 時間経過してから 100J/m<sup>2</sup> の光照射を病変部に行った。9 例中追跡できなかった 1 例を除き、8 例は治療後 3 か月および 6 か月での組織診および細胞診では異常を認めず、治癒したと判断した。確認できる範囲では治癒率は 100% と高いため、円錐切除術の治療効果と同等である可能性が示唆された。ただし、症例数は少数のため、継続して治療効果を確認していく予定である。副作用である光線過敏症を投与後 14 日以降で 1 例のみに認めた。その 1 例は直射日光照射での発赤発現が投与後 28 日まで継続した。これらのことからフォトフリン PDT の遮光期間約 3 か月に比べレザフィリン PDT では最長 28 日と遮光期間の短縮が可能と考えられたが、円錐切除術の入院期間である 3 日までは短縮できないことも確認できた。

これらの結果をもとに PMDA へ薬事承認についての相談を行い、2019 年 12 月より医師主導治療の開始となった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 村上浩雄、松家まどか、安立匡志、柴田俊章、中山毅、伊東宏晃	4. 巻 69
2. 論文標題 子宮頸部上皮内腫瘍に対するレザフィリンを用いたPDTの医師主導治験	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 産婦人科の実際	6. 最初と最後の頁 973-978
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.18888/sp.0000001390	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 村上浩雄	4. 巻 40
2. 論文標題 子宮頸部上皮内腫瘍に対するタラボルフィンナトリウムを用いた光線力学的療法	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 日本レーザー医学会誌	6. 最初と最後の頁 381-385
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2530/jslsm.jslsm-40_0063	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 村上浩雄
2. 発表標題 子宮頸部上皮内腫瘍に対するレザフィリンを用いたPDTの医師主導治験
3. 学会等名 第41回日本レーザー医学会総会（LASER WEEK IN KOCHI）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 村上浩雄
2. 発表標題 子宮頸部上皮内腫瘍に対するレザフィリンPDTの臨床試験とその後の経過
3. 学会等名 第40回日本レーザー医学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 村上浩雄
2. 発表標題 子宮頸部上皮内腫瘍に対するレザフィリンを用いた光線力学療法 (Photodynamic therapy: PDT) の臨床試験
3. 学会等名 日本産科婦人科学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 村上浩雄
2. 発表標題 子宮頸部上皮内病変に対するレザフィリンPDTの臨床試験
3. 学会等名 日本レーザー医学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 村上浩雄
2. 発表標題 子宮頸部上皮内腫瘍に対するレザフィリンを用いた PDT の医師主導治験
3. 学会等名 第41回日本レーザー医学会総会 (LASER WEEK IN TOKYO )
4. 発表年 2021年

〔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
研究 分担 者	杉原 一廣  (Sugihara Kazuhiro)  (00265878)	藤田医科大学・保健学研究科・教授    (33916)	

6. 研究組織（つづき）

	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
研究分担者	金山 尚裕  (Kanayama Naohiro)  (70204550)	浜松医科大学・医学部・副学長     (13802)	

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