

## 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 6 月 14 日現在

機関番号：32645

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21591826

研究課題名（和文） 悪性胸膜中皮腫に対する次世代型発光ダイオード診断治療装置の開発

研究課題名（英文） New interventional approach using LED plus lens for treatment of malignant mesothelioma.

研究代表者

臼田 実男（USUDA JITSUO）

東京医科大学・医学部・准教授

研究者番号：60338803

研究成果の概要（和文）：悪性胸膜中皮腫に対する新たな治療法として LED を光源とした光線力学的治療は期待でき、さらに LED の光をレンズで集光させ PDT のために出力を高めることが可能だった。また、PDT と抗がん剤 pemetrexed との併用効果が in vitro, in vivo で相加効果をもとめた。そのため、今後、悪性胸膜中皮腫に対して LED-PDT と pemetrexed という新たな治療法が大いに期待される。

研究成果の概要（英文）：

It was able to gather rays of light from LED using lens and photodynamic therapy using LED plus lens killed malignant mesothelioma cells. Moreover, combination treatment, consisting of pemetrexed followed by NPe6-PDT, should be further investigated as a new treatment modality for malignant pleural mesothelioma. In the future, this combination treatment, PDT using LED plus lens and pemetrexed, may contribute to a reduction in local recurrence and a prolonged survival period in patients with malignant pleural mesothelioma.

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	1,200,000	360,000	1,560,000
2011 年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医師薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・胸部外科

キーワード：光線力学治療、胸膜中皮腫、発光ダイオード

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 悪性胸膜中皮腫に対する標準治療は確立されておらず、極めて予後不良である。外科的に胸膜肺全摘術が施行されても、極めて侵襲が大きな手術で、予後向上に寄与していない。薬物療法、放射線治療などに対しても治

療抵抗性である。

(2) 光線力学的治療（PDT）は、腫瘍親和性光感受性物質と低出力レーザー照射により、光線力学反応を生じさせ、抗腫瘍効果を発揮する治療法である。早期肺癌だけでなく、胃癌、子宮頸癌に対して臓器温存、低侵襲の治

療法としてその有効性が確立されている。米国 NCI の肺癌治療指針、日本肺癌学会の肺癌診断・治療ガイドラインでも、PDT は早期肺癌に推奨されている。従来、腫瘍親和性光感受性物質の光線過敏症が問題であったが、光線過敏の極めて軽度な第 2 世代光感受性物質 **レザフィリン (talaporfin sodium, NPe6)** が 2004 年に厚生労働省より認可を受けた。レザフィリンは、患者に対する負担が少なく、入院期間も短期間で済むために、様々な疾患に対して適応拡大が期待されている(1, 2)。悪性胸膜中皮腫に対する PDT の有用性は、ラットモデルで実証され、海外では様々な形で臨床試験がなされている。特に外科的に胸膜肺全摘術後に胸腔内に PDT を施行する試みがなされ、Pass らによって悪性胸膜中皮腫に対する集学的治療の中における PDT の有用性が報告された。我々は、ヒト悪性胸膜中皮腫細胞に対して、レザフィリンと 664 nm 付近の赤色 LED による PDT を試行して、上皮型・肉腫型に対しても強い抗腫瘍効果を有することを明らかにした。LED は、低コストで作成可能で様々な用途に応用可能である。しかし、LED はレーザーと異なり、直進性がなく距離が離れると著しく出力が低下する欠点を有している。多くの施設で妨げとなっているレーザー装置が高価であること、使用取扱いに慣れる必要があるなどの問題などを克服するためにも、今後レーザー装置の代わりとなる LED 装置の開発が望まれた。

## 2. 研究の目的

- (1) 悪性胸膜中皮腫に対して、LED を使用した PDT の治療法を開発することを目的とした。
- (2) LED はレーザーと異なり、直進性がなく距離が離れると著しく出力が低下する欠点を有している。多くの施設で妨げとなっているレーザー装置が高価であること、使用取扱いに慣れる必要があるなどの問題などを克服するためにも、今後レーザー装置の代わりとなる LED 装置の開発が望まれる。申請者は、以上のことを踏まえ、LED 表面に集光レンズを組み合わせ、LED 素子から放出される光の方向を矯正し、集光させる装置を開発し、悪性胸膜中皮腫に対する蛍光診断である **Photodynamic diagnosis (PDD)** や PDT を施行し、その有効性を検討することを目的とする。
- (3) PDT は、放射線治療と異なり、繰り返し病巣に対して試行が可能であることなどから、いくつかの抗がん剤 (ALIMTA) や分子標的治療薬との相乗効果について検討する。

## 3. 研究の方法

- (1) 市販のレンズを使用して、LED の赤色光を集光させ、PDT の抗腫瘍効果を得られるか否かを検証した。ヒト悪性胸膜中皮腫細胞 MSTO-211H を使用してレザフィリンと 3 時間接触させた後、664 nm 付近の LED と LED 前面

に平凸レンズを合わせた 2 種の照射方法を行い、in vitro で抗腫瘍効果を検討した。

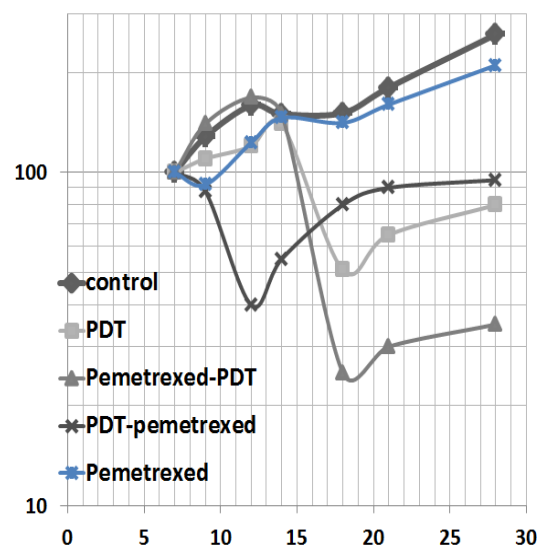
- (2) 悪性胸膜中皮腫に対する PDT と抗がん剤 pemetrexed との併用療法について in vitro、in vivo で感受性試験を行った。

## 4. 研究成果

- (1) LED による赤色光は、レーザーのように直進性がないため、LED 表面からの対象物までの距離が大きくなると出力が著しく減少する。LED 表面からの光軸にたいして約 50 度になると光量は半減する。我々は、発散角 50 度の LED lamp (波長 660 nm, Epitex 社製) に対して球面両凸レンズを用いて LED 光の集光を試みた。レンズを決めるために、以下のようなシミュレーションを行った。LED 発光部のサイズを 6 mm、発光面からレンズまでの距離 10 mm とした。レンズで集光された LED 光の効率率は、10~20% 程度と推測された。赤色 LED 発光面から 10 mm の位置で計測された出力は、レンズにより約 18% の増加をみとめた。今後は、LED の発散角をより小さくするような改良を行えば、より効率に集光することが可能であると考えられた。

- (2) ヒト悪性胸膜中皮腫細胞株 H-28, H-2052, H2452, MSTO-211H, H28 細胞を pemetrexed で治療後、レザフィリン (NPe6)-PDT の IC50 の条件で治療し感受性試験を施行した。Pemetrexed 先行投与してから PDT を施行すると、in vitro において相加効果をみとめた。しかし、同じ条件で治療しても PDT 先行させると、併用による相加効果をみとめなかった。

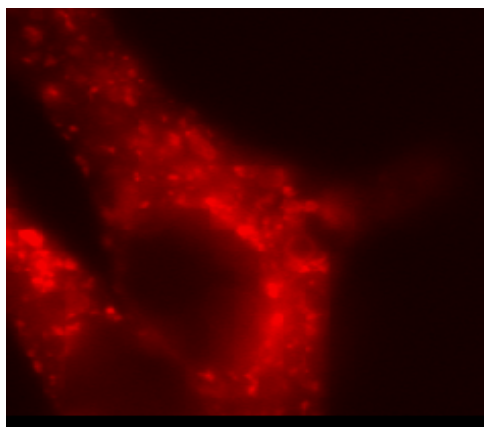
- (3) MSTO-211H 細胞をヌードマウスの皮下に移植し、PDT と pemetrexed との併用療法を施行した。図 1 は、治療後の腫瘍の体積を示したものである。Pemetrexed を先行したのち、(図 1)



PDT を施行すると (pemetrexed-PDT) in vitro の結果と同様に相加効果をみとめた。しかし、

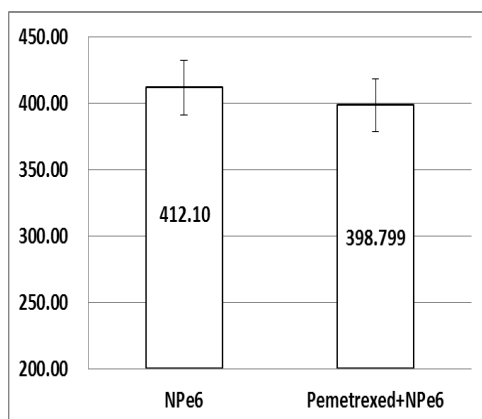
PDT 施行後に pemetrexed 治療を施行しても (PDT-pemetrexed)、PDT 単独治療群と同様に治療後の腫瘍体積に変化をみとめず、相加効果を認めなかった。

(図 2)



(4) 次に MST0-211H 細胞内のレザフィリン (NPe6) 濃度について蛍光顕微鏡で測定した (図 2)。MST0-211 細胞に NPe6 を接触させた場合と NPe6 と Pemetrexed を同時に接触させた場合では、細胞内の NPe6 の濃度に差異はみとめなかった (図 3)。

(図 3)



すなわち、Pemetrexed の投与は、細胞内のレザフィリン (NPe6) 取り込みに影響を与えなかった。

(5) pemetrexed の薬剤感受性に関わる thymidine synthase (TS) の発現について免疫染色を施行した。PDT 先行すると TS の発現が高くなり、pemetrexed が効きにくくなること があきらかになった。

以上の結果より、悪性胸膜中皮腫に対する PDT と pemetrexed の併用療法は期待でき、LED を改良した PDT は胸膜中皮腫に対して新たな治療法として期待できると考えられた。

##### 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 19 件)

1. Usuda J., Ichinose S., Ishizumi T., Ohtani K., Inoue T., Imai K., Maehara S., Ohira T., Kato H., Ikeda N. (2011) Molecular determinants of photodynamic therapy for lung cancers. *Lasers Surg Med.* 43: 591-599
2. Ikeda N., Usuda J., Kato H, Ishizumi T, Ichinose S, Ohtani K, Honda H, Furukawa K, Okunaka T, Tsutsui H. (2011) New aspects of photodynamic therapy for central type early lung cancer. *Lasers Surg Med* 43: 749-754
3. Usuda J., Ichinose S., Ishizumi T., Hayashi H., Ohtani K., Maehara S., Ono S., Honda H., Kajiwara N., Uchida O., Tsutsui H., Ohira T., Kato H., Ikeda N. (2010) Outcome of photodynamic therapy using NPe6 for bronchogenic carcinomas in central airways > 1.0 cm in diameter. *Clin Cancer Res.* 16: 2198-2204
4. Usuda J., Ichinose S., Ishizumi T., Hayashi H., Hayashi H., Ohtani K., Maehara S., Ono S., Kajiwara N., Uchida O., Tsutsui H., Ohira T., Kato H., Ikeda N. (2010) Management of multiple primary lung cancer in patients with centrally located early cancer lesions. *J Thorac Oncol.* 5: 62-68.
5. Usuda J., Tsunoda Y., Ichinose S., Ishizumi T., Ohtani K., Maehara S., Ono S., Tsutsui H., Ohira T., Okunaka T., Furukawa K., Sugimoto Y., Kato H., Ikeda N. (2010) Breast cancer resistant protein (BCRP) is a molecular determinant of the outcome of photodynamic therapy (PDT) for centrally located early lung cancer. *Lung Cancer.* 67: 198-204.
6. Kasuya K, Shimazu M, Suzuki M, Kuroiwa Y, Usuda J., Itoi T, Tsuchida A, Aoki T. (2010) Novel photodynamic therapy against biliary tract carcinoma using mono-L-aspartyl chlorine e6: basic evaluation for its feasibility and efficacy. *J Hepatobiliary Pancreat Sci.* 17: 313-321.
7. 臼田実男, 池田徳彦 (2012) 肺癌に対する治療戦略. *光アライアンス* 23 巻 7号、1-4
8. 臼田実男, 池田徳彦 (2012) レーザーによる中心型肺癌の早期発見と内視鏡治療. *光アライアンス* 23 巻、7号、23-26
9. 臼田実男, 池田徳彦 (2012) 光線力学的診断と治療. *医学のあゆみ* 240 巻、501-504
10. 奥仲哲弥、坂庭信行、臼田実男、池田徳彦 (2012) 光線力学的療法(PDT)の現状と将来展望. *Oplus E(OPTIC*

- ELECTRONICS)、34巻、2号、135-138
11. 臼田実男、池田徳彦(2011) 気管支内視鏡検査と画像所見のABC 画像の読影⑤癌光診断. レスビレーションリサーチファンデーション・呼吸・30巻、134-138
  12. 石角太一郎、臼田実男、池田徳彦 2011. 肺癌の病態と治療・光線力学的治療. からだの科学 (日本評論社) 270巻、99-102
  13. 奥仲哲弥、坂庭信行、臼田実男、池田徳彦 2011. がんにおける光線力学的治療法(PDT)の現状. レーザー研究 39巻、101-105
  14. 加藤治文、臼田実男 2010. 我が国における PDT(Photodynamic therapy)開発とレーザー装置の変遷. レーザー研究 38巻、733
  15. 臼田実男、池田 徳彦. 2009. 特集 内視鏡における診断・治療法の新展開 治療 1) 気管支内腫瘍の光線力学的治療. 呼吸器科 (科学評論社) 14巻 492-497
  16. 大谷圭志、臼田 実男、嶋田 喜久、相馬 孝博、池田 徳彦. 2009. レーザー治療・高周波治療. 胸部外科(南江堂). 62巻 : 739-743
  17. 本多英俊、山口市、大谷圭志、臼田実男、池田紀彦. 2009. 自家蛍光気管支鏡を用いた蛍光診断—その変遷と今後の展望. 日本レーザー医学会誌. 30巻、31-36
  18. 奥仲哲弥、臼田実男、池田紀彦. 2009. 特集 生活習慣病クリニック 予防と治療 効果対策 肺癌. モダンフィジシャン (新興医学出版社) 29巻、871-874
- [学会発表] (計 26 件)
1. Usuda J.: Photodynamic therapy using NPe6 for multiple primary lung cancers. The 3<sup>rd</sup> Symposium of the Asian Photodynamic Association (Seoul, South Korea). August, 2011
  2. Honda H, Usuda J., Ikeda N.: Diagnosis and Treatment Outcomes of Early Central Lung Cancer-including a case of synchronous double squamous primaries. 14<sup>th</sup> World Congress on Lung Cancer (Amsterdam, Netherlands). July, 2011
  3. Usuda J.: Photodynamic therapy for lung cancers. 13<sup>th</sup> International Photodynamic Association World Congress (Innsbruck, Austria). May, 2011
  4. Usuda J.: Photodynamic therapy using NPe6 for multiple primary lung cancers. 14<sup>th</sup> World Congress on Lung Cancer (Amsterdam, Netherlands). July, 2011
  5. Usuda J, Ikeda N, Kato H, Ohira T.: Photodynamic therapy using NPe6 for bronchogenic carcinomas in central airways more than 1.0 cm in diameter. 2010 ASCO Annual Meeting (Chicago, USA). June, 2010
  6. Usuda J.: Photodynamic therapy for lung cancers. 13<sup>th</sup> International Photodynamic Association World Congress (Innsbruck, Austria). May, 2011
  7. Usuda J.: Photodynamic therapy using NPe6 for multiple primary lung cancers. 14<sup>th</sup> World Congress on Lung Cancer (Amsterdam, Netherlands). July, 2011
  8. 臼田実男: 肺癌に対するレーザー治療 第18回気管支鏡専門医大会 (東京) 2月、2011
  9. 臼田実男 (11人中1番目): 呼吸器内視鏡の夢を語る—気管支鏡治療の立場から 第34回日本呼吸器内視鏡学会学術集会 (浜松) 6月、2011
  10. 臼田実男 (9人中1番目): 肺癌に対する光線力学的治療 第21回日本光線力学学会学術集会(大阪)7月、2011
  11. 臼田実男 (11人中1番目): 神経内分泌肺癌における Kotho 発現と予後との関係 第52回日本肺癌学会総会 (大阪) 11月、2011
  12. 臼田実男、奥仲哲弥、池田紀彦: 肺癌に対するレーザー治療 第32回日本レーザー医学会総会(横浜)11月、2011
  13. Usuda J, Ikeda N, Kato H, Ohira T.: Photodynamic therapy using NPe6 for bronchogenic carcinomas in central airways more than 1.0 cm in diameter. 2010 ASCO Annual Meeting (Chicago, USA). June, 2010
  14. Usuda J.: Outcome of photodynamic therapy using NPe6 for bronchogenic carcinomas in central airways more than 1.0 cm in diameter. 16<sup>th</sup> World Congress for Bronchology (Budapest, Hungary). June, 2010
  15. Usuda J, Kato H, Ikeda N.: Photodynamic therapy using NPe6 for bronchogenic carcinomas in central airways. 24th International Congress Laser Medicine and International Academy of Laser Medicine and Surgery (IALMS) Courses (Florence, Italy). November, 2010
  16. Usuda J.: Management of Multiple

Primary Lung Cancer Patients with Centrally Located Early Cancer Lesions. 4th Asia Pacific Lung Cancer Conference (Seoul, South Korea). December, 2010

17. 臼田実男 (10人中1番目): 肺癌に対する最新のレーザー治療 レーザー学会学術講演会第30回年次大会 (大阪) 2月、2010
18. 臼田実男 (11人中1番目): 末梢型肺癌に対する光線力学的治療の検討 第33回日本呼吸器内視鏡学会学術集会 (横浜) 6月、2010
19. 臼田実男 (10人中1番目): レザファイブの進行肺がん治療への応用について (ランチョンセミナー) 第20回日本光線力学学会学術講演会 (福井) 6月、2010
20. 臼田実男 (7人中1番目): 外科における PDT 第32回日本光医学・光生物学会 (東京) 7月、2010
21. 臼田実男 (10人中1番目): 肺大細胞神経内分泌癌におけるアンチエイジング遺伝子 Klotho 発現の臨床的意義 第51回日本肺癌学会総会 (広島) 11月、2010
22. 臼田実男 (9人中1番目): 肺癌に対する最新のレーザー治療 第31回日本レーザー医学会総会 (名古屋) 11月、2010
23. Usuda J. (Outcome of photodynamic therapy using NPe6 for bronchogenic carcinomas in central airways more than 1.0 cm in diameter. The 2010 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (Honolulu, USA). December, 2010
24. Usuda J.: Breast cancer resistant protein (BCRP) is a molecular determinant of the outcome of photodynamic therapy (PDT) for centrally located early lung cancer. 12<sup>th</sup> International Photodynamic Association World Congress (Seattle, USA). June, 2009
25. Usuda J.: Combined therapy with photodynamic therapy and chemotherapy using pemetrexed for malignant mesothelioma. The 5th Meeting of Asian Thoracic Surgical Club (Fukuoka, Japan). April, 2009
26. Usuda J.: Breast cancer resistant protein (BCRP) is a molecular determinant of PDT using Photofrin. 13th World Conference on Lung

Cancer (San Francisco, USA). July, 2009

〔図書〕 (計7件)

1. 臼田実男、池田徳彦 (2012) 17 光線力学治療 気管支鏡ベストテクニック (浅野文祐、宮沢輝臣 編著) 1版、74-79、中外医学社 (東京都新宿区矢来町 62) 213-221
2. 池田徳彦、本多英俊、臼田実男 (2012) 5 自家蛍光気管支鏡 気管支鏡ベストテクニック (浅野文祐、宮沢輝臣 編著) 1版、74-79、中外医学社 (東京都新宿区矢来町 62)
3. Kato H and Usuda J. (2012) Therapeutic Bronchoscopy: Photodynamic therapy in Lung Cancers. Flexible Bronchoscopy. Ko-Pen Wang, Atul C Mehta, J. Francis Turner Jr, eds. Wiley-Blackwell 3<sup>rd</sup> edition. 286-293
4. 臼田実男 (2011) 12 肺癌—⑥特殊な治療—a)光線力学的治療 インフォームドコンセントのための図説シリーズ 肺癌 (西條長宏、加藤治文 編集)、改訂4版、150-153、医薬ジャーナル社 (大阪市中央区淡路町 3-1-5)
5. 奥仲哲弥、臼田実男 (2010) 第11章、光線力学的治療の適応拡大、次世代光医療—レーザー技術の臨床への橋渡し (粟津邦男、監修) 1版、125-134、シーエムシー出版 (東京都中央区内神田 1-13-1)
6. 池田徳彦、臼田実男 (2009) 14 肺癌の治療—2)特殊な治療—②光線力学的治療 インフォームドコンセントのための図説シリーズ 肺癌 (西條長宏、加藤治文 編集)、改訂3版、96-97、医薬ジャーナル社 (大阪市中央区淡路町 3-1-5)
7. 加藤治文、臼田実男、萩原優、河野貴文、加藤靖文、稻田秀洋 (2009) 5 最新の癌治療—レーザー療法 がん診療 update・日本医師会雑誌特別号 (跡見裕、監修) 138巻、136-137、日本医師会 (東京都文京区本駒込 2-28-16)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計0件)

○取得状況 (計0件)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

臼田 実男 (Usuda Jitsuo)  
東京医科大学 外科学・准教授  
研究者番号: 60338803

(2) 研究分担者

池田 徳彦 (Ikeda Norihiko)  
東京医科大学 外科学・教授  
研究者番号: 70246205