

# 野中良和 論文内容の要旨

主 論 文

Synergic Effect of Photodynamic Therapy using Talaporfin Sodium with Conventional Anticancer Chemotherapy for the Treatment of Bile Duct Carcinoma

胆管癌におけるタラポルフィンナトリウムを用いた光線力学的療法と  
既存の抗癌剤との相乗効果

野中良和 七島篤志 野中隆 上原雅隆 磯本一 阿保貴章 永安武

JOURNAL OF SURGICAL RESEARCH 掲載予定

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科医療科学専攻  
(主任指導教員：永安 武 教授)

## 【緒 言】

光線力学的療法 (Photodynamic Therapy ; 以下 PDT) は、光感受性物質の腫瘍細胞への特異的な集積性を利用し、レーザー光を用いて光感受性物質を励起し癌細胞の細胞毒性を誘発する、腫瘍特異的な癌治療の一つで、これまで様々な癌治療に広く適用されてきた。胆道癌においても、切除不能胆道癌や術後再発に対し、PDT は有用な局所治療選択肢の一つであることを報告してきた。また進行胆管癌に対する化学療法は新規抗癌剤の登場によりその有用性が報告されており、各種局所治療を組み合わせた集学的治療戦略が望まれている。一方で、我々は PDT における光感受性薬剤として、従来の Porfimer Na (フォトフリン®) にかわる新規光感受性薬剤 Talaporfin Na (レザフィリン®) を用いた PDT の有用性を報告し、Talaporfin Na がより高い細胞効果を示すことを報告してきた。今回我々は次世代 PDT の臨床応用に向けた基礎的研究として、ヒト由来胆道癌細胞 (NOZ) を用いて、Talaporfin Na-PDT と各種抗癌剤との相乗効果の検討を *in vitro* 及び *in vivo* の基礎研究を行った。

## 【対象と方法】

*in vitro* : ヒト由来胆道癌細胞 (NOZ) を培養し、胆道癌に用いられる各種抗癌剤 (gemcitabine, CDDP, oxaliplatin, 5-FU) を 24 時間接触させた後、レザフィリン-PDT を施行し、PDT 後 24 時間の細胞活性を MTS assay にて解析した。*in vivo* : ヒト由来胆道癌細胞 (NOZ) をヌードマウス (BALB, c, nu/nu, 4W, male) の背部に皮下移植し、約 21 日後に照射に適した腫瘍径 7mm 大の胆道癌皮下移植モデルを作成した。抗癌剤を腹腔内投与した後に、Talaporfin Na-PDT を施行した。照射レーザーの条件は  $10\text{mJ}/\text{cm}^2$  を 10 分照射 (計  $60\text{J}/\text{cm}^2$ ) とした。PDT 試行後 72 時間で腫瘍組織標本を摘出し、その解析を cell viability や腫瘍壊死率及び TUNEL 染色、PCNA 染色、VEGF 染色にて行った。

## 【結 果】

***in vitro* の実験**：MTT assay において併用する至適抗癌剤濃度を設定し、PDT 単独と PDT と各種抗癌剤併用（単独または二剤併用）による cell viability を検討した。抗癌剤単独や PDT 単独群(48%)に比べ PDT+各種抗癌剤併用群でいずれも有意に cell viability の低下を認め（5FU 40%、gemcitabine 38%、oxaliplatin 37%、CDDP 37%）、NOZ 細胞の殺細胞相乗効果を認めた ( $P < 0.05$ )。さらに抗癌剤 2 剤併用下では CDDP+5FU 42%、oxaliplatin+5-FU 44 %、CDDP+5-FU 42%、oxaliplatin+5-FU 44%、CDDP+ gemcitabine 32%、oxaliplatin+gemcitabine 28%と、gemcitabine+oxaliplatin との組み合わせにおいて最も高い殺細胞の相乗効果を認めた ( $p < 0.05$ )。この結果を基に PDT+抗癌剤二剤併用による *in vivo* 実験を行った。

***in vivo* の実験**：毒性実験から talaporfin Na、oxaliplatin、gemcitabine 投与量を設定した。皮下移植腫瘍の壊死率は PDT+gemcitabine+oxaliplatin の二剤併用では 33%であり、PDT 単独群の 28 に比べ有意に高値を示した ( $p < 0.05$ )。また PDT 二剤併用群は、アポトーシス誘導効果において PDT 単独（17%）に比べ高い値を示した（30%）。PCNA L. I. による腫瘍細胞増殖活性では PDT 二剤併用群は 14%と PDT 単独（26%）に比べ有意に減少し、増殖抑制効果を示した ( $p < 0.05$ )。新生血管因子である VEGF 活性(PVIA 値)は、PDT 単独に比べ(18%)、PDT 二剤併用群は、有意に高い値（31%）を示した。

## 【考 察】

胆管癌は診断時より高度に進展する傾向にあり、外科治療が唯一の根治治療であるものの、非切除症例では有用な局所治療は明らかとされてこず、化学療法単独でも満足のいく治療効果が得られていないのが現状である。一方、PDT はこのような対象に有用な局所治療であり、さらに新規光感受性物質(NPe6, レザフィリン)を用いることで、より深い組織への浸透性、低い皮膚光毒性による治療効果の増強を我々は臨床経験や基礎研究で報告してきた。

PDT の効果は、急性期の腫瘍細胞のアポトーシスや炎症反応、免疫反応そして周囲の微小血管障害を誘導する特異な細胞障害による殺細胞効果を発揮する。しかしながら基礎実験においても PDT 単独で完全な壊死効果を得ることは困難であり、抗癌剤により誘導されるサイトカインや DNA の損傷といった相乗効果によって、PDT の免疫学的細胞障害効果を増強させ腫瘍壊死・アポトーシスを促進すると仮説をたて、PDT と抗癌剤の併用がより高い治療効果を発揮する実験系を立案した。結果、抗癌剤や PDT 単独投与に比べ抗癌剤を併用することにより、より高いアポトーシス誘導効果と細胞増殖抑制が確認され、仮説が実証された。

また新たに PDT で VEGF の高発現を認めることができ、このことは酸素を消費し低酸素状態を引き起こすことで、VEGF 遺伝子の転写活性化を引き起こすものと考察した。さらに抗癌剤を併用することにより腫瘍部への低酸素障害を増強し、VEGF 発現を増加させる相乗効果が認められた。

今回の研究により Talaporfin Na-PDT と抗癌剤併用は、胆道癌局所治療における新しい promising な治療選択肢として臨床応用をすすめる根拠を導いた。