

| | |
|---------|---|
| 氏名(本籍) | ほつ た そう いち 堀 田 総 一 (東京都) |
| 学位の種類 | 博 士 (医 学) |
| 学位記番号 | 博 乙 第 1,016 号 |
| 学位授与年月日 | 平成 6 年 7 月 31 日 |
| 学位授与の要件 | 学位規則第 5 条第 2 項該当 |
| 審査研究科 | 医 学 研 究 科 |
| 学位論文題目 | 癌に対する光化学治療と温熱療法の併用効果に関する基礎的研究 |
| 主査 | 筑波大学教授 医学博士 稲田 哲雄 |
| 副査 | 筑波大学教授 医学博士 久保 武士 |
| 副査 | 萬有製薬株式会社 理学博士 西村 暹 つくば研究所長(筑波大学客員教授) |
| 副査 | 筑波大学教授 医学博士 深尾 立 |
| 副査 | 筑波大学教授 医学博士 渡邊 照男 |

論 文 の 要 旨

〈目的〉

内視鏡を用いて、胃癌などの深部腫瘍に対しても、光化学治療 (photodynamic therapy, 以下 PDT) や、レーザー温熱療法 (laser hyperthermia, 以下 LH) を施行することが可能になったが、PDT, LH とともに単独では腫瘍の根治を得るには未だ不十分と言わざるを得ないのが現状である。そこで、より大きな抗腫瘍効果が期待される PDT と LH の併用療法を臨床応用することを目的に、この併用療法に関して基礎的検討をおこなった。

〈対象と方法〉

ヒト子宮頸癌由来の培養株である HeLa 細胞を用い、以下の 3 点に関し検討した。

1) 光感受性物質である hematoporphyrin derivative (HpD) の非添加時および添加時の腫瘍細胞の 37~48℃で、1 時間処理後の生存率と、37℃および 44℃で、15 分間~3 時間処理した後の細胞死亡率を計測した。さらに HpD 添加腫瘍細胞にアルゴンレーザー (波長 514.5nm, 6 J/cm² と 30 J/cm²) を照射する PDT に、44℃, 15 分間の温熱処理を順序および間隔を変えて加えた時の細胞致死率をトリパンプブルー色素排除法を用いて計測した。

2) HpD を腹腔内投与した 48 時間後にアルゴンレーザーを照射する PDT と、neodymium : yttrium-aluminum-garnet (Nd : YAG) レーザー (波長 1060 nm, 約 1 W/cm²) を用いた LH を、ヌードマウス (35 匹) に HeLa 細胞を移植して作製した腫瘍 (高さ 7~8 mm) に対して施行し、それぞれ単独施行時と、単独時のそれぞれ半分のエネルギー量の PDT と LH を前後の順序を変えて併用した時の腫瘍縮小効果

と治療直後の組織学的所見を比較検討した。

3) 20匹のヌードマウスに移植腫瘍を作製し、前項と同様の方法で治療を行い、その直後の腫瘍組織を電子顕微鏡と morphometry を用いて検討した。

〈結果〉

1) HpD 非添加 HeLa 細胞は、42℃以上の温熱処理で、HpD 添加 HeLa 細胞は、40℃以上の温熱処理で、37℃に比し細胞致死率の増加が認められた。HpD 添加 HeLa 細胞を44℃、3時間の温熱処理を行った後でも、20%以上の細胞が生存していた。併用療法に関する検討では、PDT 6 J/cm²および30 J/cm²で施行時ともに、PDT 終了後30分以内に温熱処理を加えた場合にのみ、PDT 単独施行時に比し細胞致死率の有意な増加が認められた。PDT 終了60分後に温熱処理を加えた時や、PDT の前に温熱処理を加えた時の細胞致死率は、PDT 単独施行時と有意差はなかった。

2) Nd:YAG レーザーの約 1 W/cm²の照射により、移植腫瘍の表面温度は約46℃に、腫瘍底の温度は約42℃に維持され、移植腫瘍全体をほぼ温熱効果が期待できる温度に維持することが可能であった。PDT 後に LH を加えた時には、エネルギー量のより高い LH 単独施行時よりも、大きな腫瘍縮小率と顕著な腫瘍血管の障害が認められた。LH 後の PDT を加えた時には、その効果は LH 単独施行時とほぼ同等か、それ以下であった。

3) 各治療直後に、ミトコンドリアの内膜の破壊を伴う膨化所見が認められた (volume density の増加と内膜の surface density の減少)。2) において治療4日後の腫瘍縮小率は、PDT 後 LH 群において最大で、以下LH 後 PDT 群、LH 単独群、PDT 単独群の順であったが、抗腫瘍効果が大きかった両併用療法においては、細胞質濃縮、apoptotic body などの apoptosis を示唆する形態学的変化が治療直後の腫瘍細胞に認められた。しかし、核には典型的な apoptosis の所見は認められなかった。

〈考察〉

in vitro、および in vivo において、PDT 後早期 (30分以内) に温熱療法を加えることにより、PDT、温熱療法それぞれ単独施行時よりも抗腫瘍効果が増強された。その理由として、in vitro では PDT 後に加える温熱が、PDT 後に sub-lethal state に陥った腫瘍細胞の修復を障害すること、in vivo では PDT 後に生ずる腫瘍の血流障害のために、腫瘍が低酸素、かつ酸性状態となり、温熱感受性が増すものと推測された。

電子顕微鏡を用いた検討では、ともに低出力レーザーを用いた PDT、LH それぞれ単独および両者の併用療法の最初の標的細胞小器官は、ミトコンドリアと考えられた。また、これらの治療によって惹起される腫瘍変性過程として necrosis によるものの他に apoptosis の関与も示唆された。

審 査 の 要 旨

光化学治療 (PDT) 後早期 (30分以内) にレーザー温熱療法 (LH) を加えることが、抗腫瘍効果を増強させる点で有効な手段であることが確認された。この成果は、PDT と LH の併用療法を臨床に応用する際にきわめて有意義であると考えられるが、HpD による光線過敏症やレーザーの組織深達性な

どの問題点もある。これらの短所を解決すべく、最近開発された組織深達性の高い長波長レーザーでも吸収効率がよく、腫瘍集積性が高く、皮膚に残留性の少ない、フェオフォルバイド誘導体、クロリン誘導体、金属ポルフィリンなどを用い、より副作用が少なく、抗腫瘍効果が高い PDT を導入し、検討することが望まれる。

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。