

氏名(本籍)	ふなやまとおる 船山 徹 (神奈川県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	博甲第6236号
学位授与年月日	平成24年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
審査研究科	人間総合科学研究科
学位論文題目	転移性脊椎腫瘍に対する局所治療としての光線力学療法の可能性
主査	筑波大学教授 博士(医学) 櫻井英幸
副査	筑波大学教授 博士(医学) 原尚人
副査	筑波大学講師 博士(医学) 大川敬子
副査	筑波大学講師 博士(医学) 酒井光昭

## 論文の内容の要旨

### (目的)

インドシアニングリーン (ICG) と近赤外レーザー光を利用した光線力学療法が乳癌細胞の細胞増殖に与える影響を検討すること、および脊椎転移乳癌モデル動物に対する光線力学療法により下肢運動機能の維持に与える影響を検討すること。

### (対象と方法)

細胞株はラット乳癌細胞である CRL-1666 を選択し増殖期の細胞を用いた。実験動物は Fischer 344 ラットの雌を用いた。近赤外レーザー装置は波長 810 nm の医用半導体レーザーを用いた。プローブは先端径 600 $\mu$ m で直射タイプを用いた。光線力学療法における光感受性物質としてインドシアニンググリーンを用いた。脊椎転移乳癌ラットは Mantha ら (2005 年) が提唱したラット乳癌腫瘍片を腰椎椎体に直接移植して作成するモデルを選択した。

#### <実験 1> 光線力学療法による細胞増殖抑制効果の検討

ICG を添加した培地で培養した CRL-1666 細胞に 10 W、30 秒間 (合計エネルギー 18.8 J/cm<sup>2</sup>) の近赤外レーザー照射を行い、細胞活性を比較検討した。

#### <実験 2> 近赤外レーザーによる椎体照射の安全性試験

正常ラットの L6 椎体左側面に出力を変えた照射を行い麻痺の有無を観察した。

#### <実験 3> 近赤外レーザー照射単独による治療効果の検討

脊椎転移乳癌ラットを作成後 7 日目に再開腹し転移巣に出力 1 W、10 秒間 (合計エネルギー 10 J) の照射を行った。コントロールを無治療群とした。

#### <実験 4> 光線力学療法による治療効果の検討

脊椎転移乳癌ラットを作成後 7 日目に再開腹し転移巣に ICG を局所投与もしくは全身投与した後に出力 1 W、10 秒間 (合計エネルギー 10 J) の照射を行った。コントロールを無治療群とした。

実験 3 および 4 ではラットの下肢運動機能を Basso-Beattie-Bresnahan (BBB) スケール (21 点満点) で評価した。「実験終了」を 3 点となった日もしくは観察時死亡していた日と設定し、さらにモデル作成から実

験終了までの日数を「観察期間」と定義し、下肢運動機能の推移、観察期間および病理組織を検討した。

#### (結果)

実験1より、近赤外光照射単独でも細胞増殖抑制効果はあるが、ICGと組み合わせたPDTを行うことでより高い細胞増殖抑制効果があることが分かった。さらにPDTでは長時間にわたり細胞増殖抑制効果が持続した。

実験2より、出力1W、10秒間（合計エネルギー10J）までが安全であった。

実験3より、脊椎転移乳癌ラットに対する近赤外レーザー照射単独では椎体内の腫瘍細胞は十分に殺傷されず、下肢運動機能温存効果は限定的であり、観察期間の有意な延長効果はなかった。

実験4より、脊椎転移乳癌ラットに対するPDTでは照射範囲内の腫瘍細胞は十分殺傷され、ICGの投与経路によらず有意な下肢運動機能温存効果が認められ、さらに観察期間の有意な延長効果も認められた。

#### (考察)

ICGと近赤外光を組み合わせたPDTでは光線力学反応により一重項酸素やフリーラジカルなどの活性酸素が産生され細胞毒性を持つことに加え、ICGは近赤外光により分解され、その分解産物が細胞活性を低下させるといわれている。

実験3では下肢運動機能温存効果は認められたが期間は限定的であり観察期間の延長効果は得られなかった。しかし実験4では照射エネルギーは同じでもICGを投与してPDTを行うことでより長い期間下肢運動機能温存効果があり、観察期間の延長効果も認められた。病理組織学的所見から近赤外レーザー照射のみでは椎体内の腫瘍細胞は存在していたが、PDTでは照射範囲内の腫瘍細胞は見られなかった。これらは実験1の結果を反映しているものと考えられた。

本研究の限界として実験4においてもコントロールを無治療群としたため近赤外光照射単独と比較したPDTの効果が不明な点、PDTによる治療後の効果を経時的に病理学的に検討していない点があげられた。また転移巣におけるICGの局所濃度を計測していないため、ICGの投与経路の違いによる治療効果に差がなかった原因を明らかにできなかった点などがあげられた。

## 審 査 の 結 果 の 要 旨

ラット乳癌細胞に対する細胞増殖は光線力学療法直後より抑制され長時間にわたり効果が持続した点、さらに脊椎転移乳癌ラットに対する光線力学療法により有意な下肢運動機能温存効果と観察期間の延長効果がインドシアニングリーン投与経路によらず認められた点において、新たな発見があり、今後の転移性骨腫瘍の治療研究に発展しうる可能性がある。

平成23年12月27日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもと論文について説明を求め、関連事項について質疑応答を行い、最終試験を行った。その結果、審査委員全員が合格と判定した。

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。