

氏名（本籍）	塚西 敏則
学位の種類	博士（医学）
学位記番号	博甲第 7443 号
学位授与年月	平成 27 年 3 月 25 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	転移性骨腫瘍に対する蛍光イメージングと光線力学療法の有効性
主査	筑波大学教授 博士（医学） 南 学
副査	筑波大学教授 工学博士 榮 武二
副査	筑波大学講師 博士（医学） 藤澤 康弘
副査	筑波大学講師 博士（医学） 松井 裕史

論文の内容の要旨

（目的）

近年、インドシアニングリーン（ICG）の蛍光物質としての特性を生かし近赤外蛍光イメージング技術や近赤外レーザー照射と組み合わせた光線力学療法（PDT）の研究が多くなされている。新規 ICG 内包ナノ粒子（ICG ラクトソーム）は径 35nm のナノ粒子で、血管透過性が亢進しリンパ管網の乏しいがん組織の性質により腫瘍選択的に集積する特徴がある。本研究では、転移性骨腫瘍に対する ICG ラクトソームを用いた近赤外蛍光イメージングと光線力学療法の有効性を検証し、転移性骨、特に脊椎、腫瘍に対する新しい局所診断と治療法としての可能性を検証する。

（対象と方法）

臨床でも骨転移の頻度が高いヒト乳癌細胞株（MDA-MB-231）を使用した。

実験1：in vitro での PDT による細胞増殖抑制の検討

96 ウェルプレートを用いて 16 ウェルに癌細胞を培養し、無処置（Control 群）、ICG ラクトソームのみを添加（ICG lactosome 群）、近赤外レーザー光のみを照射（Laser 群）、光線力学療法（PDT 群）の 4 群間での細胞増殖抑制効果を WST-1 assay での吸光度（n = 16）を 96 時間まで測定し比較した。

実験2：ICG ラクトソームを用いたヒト乳癌骨転移巣の近赤外蛍光イメージングの可能性の検討

BALB 系のヌードマウスの右脛骨に癌細胞を移植して作製した骨転移モデル（n = 8）に、ICG ラクトソームを腹腔内投与し近赤外蛍光イメージング装置（IVIS Spectrum）を用い、投与直前、投与直後、投与 6、12、24 および 48 時間後に撮影を行い、転移巣と正常組織の蛍光強度比を測定し比較した。

実験 3 : in vivo での PDT による骨転移巣発育抑制の検討

実験 2 と同じ 26 匹のモデルマウスを用い、無治療 (Control 群 : n = 9)、近赤外レーザー光のみを照射 (Laser 群 : n = 9)、光線力学療法 (PDT 群 : n = 8) に振り分け、治療 24 時間前に ICG ラクトソームを全身投与後、細胞移植 1, 3 および 5 週後の計 3 回治療を行った。単純 X 線による溶骨性病変部の面積、実験中の体重を測定し比較した。また細胞移植 7 週後に病理組織学的観察 (H&E 染色、TUNEL 染色) を行った。

統計学的解析には、多重比較 (Tukey-Kramer post hoc-test)、Mann-Whitney U-test、Paired-t test (使用ソフト : StatFlex software version 6.0 Artech, 大阪) を用いた。

(結果)

実験 1にて、PDT 群では他の 3 群に比べて有意に細胞増殖が抑制されており、その効果は治療直後～96 時間後まで継続して持続していた。**実験 2**では、投与直後は腹部に集中していた蛍光が、24 時間の経過で徐々に右脛骨の転移巣に蛍光が集中し正常組織に比べ最大となり、投与 48 時間後でも蛍光は残存していた。**実験 3**にて、細胞移植後 7 週で PDT 群は Control 群、Laser 群と比較し、溶骨性病変部の面積が統計学的に有意に小さかった。初回治療後の細胞移植後 3 週時点で PDT 群は Control 群と比較して、統計学的に有意に骨転移の発育が抑制されていた。病理所見では PDT 群で転移巣内に多くの TUNEL 染色陽性の癌細胞を確認した。

(考察)

これまでヒト癌細胞を使用した ICG ラクトソームでの骨転移のイメージングと光線力学療法の検証は行われておらず、本研究が初めてである。実験 1 より、ICG ラクトソームのみでは細胞増殖に影響を与えないが、ICG ラクトソームを用いた光線力学療法は高い細胞増殖抑制効果があり、少なくとも 96 時間にわたり細胞増殖抑制効果が持続することが分かった。実験 2 より、全身投与された ICG ラクトソームは徐々に骨転移巣に集積し、投与後 24 時間で蛍光強度は正常組織と有意差を持って最大となることが分かった。実験 3 より、PDT 群では有意に溶骨性病変の拡大が抑えられ、骨転移巣の発育が抑制されていることが分かった。

(結論)

転移性骨腫瘍に対して ICG ラクトソームを用いた近赤外蛍光イメージングは有用であり、近赤外レーザー光と組み合わせた光線力学療法は骨転移の発育抑制効果に有効であった。

審査の結果の要旨

(批評)

著者は、ICG 単独投与では腫瘍への選択的集積性が乏しい点を克服するため、ナノ粒子である ICG ラクトソームを新規に導入し、転移性骨腫瘍に対する蛍光イメージングと光線力学療法の可能性を細胞・動物実験にて検討した。その発想は非常に興味深く、手法は科学的である。実臨床への応用に際しては至適エネルギー・照射時間の検討などまだ数多くの解決すべき問題が残されているが、転移性骨腫瘍の手術時における残存腫瘍の蛍光イメージングとそれに対する補助療法としての可能性を実証した点は評価に値する。

平成 27 年 1 月 5 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) の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認める。