

学 位 論 文 題 名

動物の腫瘍に対する BPD-MA
(benzoporphyrin derivative monoacid ring A) を
用いた光線力学療法の基礎的および臨床学的研究

学位論文内容の要旨

動物の悪性固形腫瘍の治療は、外科的摘出を基本とし、放射線療法や抗がん化学療法を併用して行われているものの、耐性の出現や副作用の点でさらに有効な治療法が望まれている。その可能性を有する治療法の一つとして期待される光線力学療法（PDT）は、腫瘍親和性の光感受性物質をあらかじめ投与し、その後に光励起することによって腫瘍を消退させる治療法である。現在ヒト医療で臨床応用されている第一世代の光感受性物質は皮膚への長期残留や短い吸収波長のため組織透過性が小さいなどの点で問題が多い。したがって、様々な光感受性物質が検討され、それらの腫瘍細胞内での局在性や光物理化学的反応の機序についても議論が進められている。

以上のことから、本研究では体外への排泄が速く、組織透過性が大きい 690 nm の吸収波長を有する第二世代の光感受性物質 BPD-MA (benzoporphyrin derivative monoacid ring A) を PDT に用い、動物の腫瘍治療に応用するための基礎的および臨床学的研究を行った。

第 1 章では、BPD-MA を用いた PDT に対する光感受性の違いをマウス色素性黒色腫 (b16F1)、マウス肺扁平上皮癌 (KLN205)、マウス骨肉腫 (LM8) およびラット神経膠腫 (LM8) の 4 種類の腫瘍細胞を用いて比較検討した。0.10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の BPD-MA 濃度での細胞生存率は、BPD-MA の取り込み量、あるいは細胞のコロニー形成効率との間に強い相関が認められた。また、細胞傷害活性において、BPD-MA 濃度あるいはレーザー光の照射量を示すフルエンスの用量依存性の光毒性が認められた。さらに、レーザー光照射後 3 時間日のアポトーシスの割合は、4 種類の腫瘍細胞の間に有意差が認められた。これらの細胞の光感受性の違いは、腫瘍細胞の大きさやコロニー形成効率などの細胞の性質の違いであると考えられた。

以上の結果から、腫瘍細胞における BPD-MA の光物理化学的反応は、腫瘍細胞の種類、光感受性物質の濃度やフルエンスなど、様々な要因に影響を受けていると考えられた。

In vivo における PDT による抗腫瘍効果は、少なくとも腫瘍細胞に対する直接効果と血管傷害による間接効果（抗血管効果）の二つの機序によって起こる。その抗血管効果による血流動態の変化と抗血管効果の有効性について議論がなされている。

第 2 章では、KLN205 腫瘍および LM8 腫瘍の 2 種類のマウス腫瘍モデルにおける BPD-MA を用いた細胞標的 PDT（3 時間間隔 PDT）あるいは血管標的 PDT（15 分間隔 PDT）による

抗腫瘍効果、腫瘍血管の血流動態の変化および腫瘍組織の低酸素状態を総合的に評価した。腫瘍の成長抑制効果は、両腫瘍ともに3時間間隔 PDT 群に比べて15分間隔 PDT 群の方が強かった。超音波パワードプラ検査において、3時間間隔 PDT 群に比べて15分間隔 PDT 群の方が腫瘍内の血管分布および血液灌流量の有意な減少が認められた。組織学的検査において、3時間間隔 PDT 群では細胞死が腫瘍辺縁を除く腫瘍組織全体に認められた。これに対し、15分間隔 PDT 群では主に傷害を受けた腫瘍血管の周囲に細胞死が認められた。以上の結果から、3時間間隔 PDT 群に比べて15分間隔 PDT 群の方が血流の遮断とそれによる抗腫瘍効果はより強いことが示唆された。

血管標的 PDT (抗血管 PDT) は、腫瘍血管を標的にするため、レーザー光の照射時における光感受性物質の血中濃度が重要である。したがって、抗血管 PDT の対象である腫瘍動物における BPD-MA の薬物動態を把握する必要がある。

第3章では、頭部腫瘍の9頭の犬に対して抗血管 PDT を臨床的に適用した際の BPD-MA の臨床薬物動態を評価した。0.5 mg/kg の BPD-MA を症例犬の静脈内に投与した後の各種パラメーターはそれぞれ以下の通りであった。半減期 ($T_{1/2}$): 8.14 ± 5.34 時間、クリアランス (Cl): 35.13 ± 9.62 ml/(時間・kg)、中心コンパートメント分布容積 (V_c): 0.08 ± 0.01 l/kg、定常状態分布容積 (V_{ss}): 0.38 ± 0.31 l/kg。白血球数および血清アルカリフォスファターゼ値の一時的な上昇が認められたが、これ以外の临床上考慮すべき異常は特に認められなかった。犬の $T_{1/2}$ は、ラットと同様の値であり、また犬の $T_{1/2}$ 、Cl および V_{ss} は、ヒトのこれらの値に比べて低値であった。頭部腫瘍の犬の BPD-MA の薬物動態の各種パラメーターから判断すると、BPD-MA を用いた抗血管 PDT は、短時間で治療を終了することができ、また BPD-MA の蓄積性が低いため繰り返して行うことができると考えられる。したがって、本治療法は悪性固形腫瘍の犬に対して有用であることが示唆された。

最後に第4章では、頭部腫瘍の19頭の犬に対して、0.5 mg/kg の BPD-MA を症例犬の静脈内に投与開始して15分後に690 nm のレーザー光を照射する抗血管 PDT を行った。抗血管 PDT 後1年以上の経過を観察することができた口腔腫瘍の6頭の犬の生存期間の中央値は423日で、1年生存期間は67%であった。抗血管 PDT 後1年以上の経過を観察することができた鼻腔腫瘍5頭の犬の生存期間の中央値は533日で、1年生存率は60%であった。造影前と後の CT 値の差を示す増強 CT 値において、抗血管 PDT 前と後の腫瘍の間に有意差が認められた。抗血管 PDT 前と後の腫瘍の増強 CT 値は、それぞれ 54.3 ± 25.8 HU (15頭で21回の治療) および 5.5 ± 5.7 HU (11頭で18回の治療) であった。21回の治療の内、腫瘍に対して抗血管 PDT が効果的であった19回の治療における腫瘍の増強 CT 値の平均は57.2 HU であったが、効果が低かった残り2腫瘍の増強 CT 値の平均は27.5 HU であった。主な副作用として、抗血管 PDT 後に照射領域周辺に一過性の浮腫が認められたが、特に治療の必要はなかった。さらに、BPD-MA は排泄が速くて蓄積性が低いので、繰り返して PDT を行うことが可能であった。以上の結果から、固形腫瘍の治療において抗血管 PDT は重度な副作用もなく、非常に有効な治療法であると考えられた。血管造影 CT は、抗血管 PDT の適応症例の選択および治療効果の判定に極めて有用な方法であると考えられた。

本研究の結果、*in vitro* における PDT の光感受性は様々な要因に影響を受けることがわかった。*In vivo* では、抗血管 PDT によって腫瘍血管が重度に傷害され、細胞標的 PDT

に比べて大きな抗腫瘍効果が認められた。臨床治療試験においては、血中の BPD-MA 濃度は急激に低下するため、光照射を短時間で終了する必要があるが、一方で排泄が速くて蓄積性が低いため、繰り返して PDT を行うことが可能であった。

結論として、動物の悪性固形腫瘍に対する BPD-MA を用いた抗血管 PDT は重度な副作用もなく有望な治療法の一つになり得るものと判断された。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 藤 永 徹

副 査 教 授 栗 原 幹 典

副 査 助 教 授 落 合 謙 爾

副 査 助 教 授 奥 村 正 裕

動物の腫瘍に対する BPD-MA

(benzoporphyrin derivative monoacid ring A) を 用いた光線力学療法の基礎的および臨床学的研究

光線力学療法(PDT)は、腫瘍親和性の光感受性物質を腫瘍動物にあらかじめ投与し、その後に光励起することによって腫瘍を消退させる新しい治療法である。

申請者は、組織透過性が高い 690 nm の吸収波長を有する第二世代の光感受性物質である BPD-MA を動物の腫瘍に対する PDT に適応するため、基礎的および臨床学的研究を行った。

腫瘍細胞に対する BPD-MA の光物理化学的反応について、げっ歯類の異なる 4 種類の腫瘍細胞を用いて *in vitro* で検討した結果、腫瘍細胞の種類、光感受性物質の濃度、あるいは照射光量を示すフルエンスなどの様々な要因の影響を受ける事を明らかにした。*In vivo* では、BPD-MA 投与開始 3 時間後に PDT を実施した群に比べて、15 分後に PDT を行う抗血管 PDT 群の方が血流の遮断とそれによる抗腫瘍効果がより強いことを示した。犬の臨床治療試験例において、血中の BPD-MA 濃度の推移を検討した結果、BPD-MA は急速に代謝されるため、光照射を短時間で終了する必要があるものの、排泄が速くて蓄積性が低いため、繰り返して PDT を行うことが可能であると判断された。19 症例の頭部腫瘍の犬に 0.5mg/kg の BPD-MA を静脈内に 10 分間かけて投与し、投与開始 15 分後に光照射を実施する抗血管 PDT の結果、従来の放射線療法や抗がん化学療法などに比べてより良好な治療結果を得た。さらに血管造影 CT 法は、腫瘍血管構築網を描写することができるため、抗血管 PDT の適応症例の選択および治療効果の判定に極めて有用な方法になり得る成績を得た。

以上の通り申請者は、小動物の悪性固形腫瘍の治療において、BPD-MA を用いた抗血管 PDT は反復実施可能で顕著な副作用も少なく、治療効果の高い新しい治療法になり得ることを示した。さらに、血管造影 CT 法は、抗血管 PDT の適応症例の選択と予後診

断に有用な情報源となり得ることを明らかにした。

よって、審査員一同は、上記博士論文提出者大崎智弘氏の博士論文は、北海道大学大学院獣医学研究科規程第 6 条の規定による本研究科の行う博士論文の審査等に合格と認めた。