



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Porphyrin Derivatives Mediated Sonodynamic Therapy on Malignant Glioma in Vitro [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	遠藤, 将吾
Description	配架番号 : 2134
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第11652号
Issue Date	2015-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/59010
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Shogo_Endo_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（医 学） 氏 名 遠藤 将吾

審査担当者	主査	教授	田中	伸哉
	副査	教授	福田	諭
	副査	教授	白土	博樹
	副査	教授	石川	正純

学 位 論 文 題 名

Porphyrin Derivatives Mediated Sonodynamic Therapy on Malignant Glioma in Vitro
(悪性神経膠腫細胞株に対するポルフィリン誘導体を用いた音響力学療法)

本研究は悪性神経膠腫細胞株 (C6、U87MG) に対する 5-Aminolevulinic acid hydrochloride (ALA) とその代謝産物 protoporphyrin IX (PpIX)、および Talaporfin sodium (TS) を触媒とした音響力学療法 (sonodynamic therapy: SDT) の抗腫瘍効果とその作用機序に関する初めての報告である。

C6を対象とした SDT 群で、未治療群、音響感受性物質単独群、超音波照射単独群と比較していずれの音響感受性物質においても統計学的に有意な腫瘍生存率の低下が確認され、ALA-SDT の細胞障害機序はアポトーシスが主体であることが示された。他方、U87MG に関しては同一の実験条件ながらいずれも有意な抗腫瘍効果は得られず、フローサイトメトリーを用いて細胞内音響感受性物質量の半定量的解析を行った結果、同一の共培養条件下にも係わらずいずれの音響感受性物質においても C6 と比較して U87MG で相対的蛍光強度が低下していたことから細胞内の音響感受性物質の蓄積量が SDT の抗腫瘍効果と相関していることが示唆された。

近年、本態性振戦やParkinson病、神経因性疼痛に対して経頭蓋的MRIガイド下収束超音波照射装置が導入され、深部脳刺激療法に代わる新たな低侵襲治療方法として注目されている。本機器は収束超音波を用いた組織の熱凝固を原理としていることから脳腫瘍などの容積の大きい対象物では周囲正常組織への影響が懸念されるが、本研究においては組織温度の上昇を無視できるほどの 0.16 W/cm^2 という極めて低い超音波強度でSDTの抗腫瘍効果が確認されており、本機器を用いて経頭蓋的に深部の神経膠腫に低強度の超音波を到達させることができれば、低侵襲かつ有用な治療モダリティとなる可能性がある。またALAの誘導体である5-amino-4-oxo hexanoic acid (MALA) に放射性同位元素 ^{11}C を付加し、高度の放射化学的純度を有する ^{11}C -MALAが自動合成できたとの報告があり、本研究の結果と併せてALAを治療と治療計画、さらには治療効果予測と多岐に渡って応用できる可能性が示唆された。

審査にあたり、まず副査の石川正純教授から本実験に用いた超音波照射の周波数について質問があった。申請者は本実験で用いた超音波照射条件は過去の文献を踏襲して決定し、1MHz という低い周波数は手術摘出ができない深部の腫瘍を標的としたためであると回答した。また音響感受性物質は腫瘍内で均一に分布するとは限らないとの指摘があり、申請者は腫瘍内への PpIX の分布を ^{11}C -MALA -PET で検出することができれば、治療ターゲティングに有用であると回答した。

副査の白土博樹教授からは治療 24 時間後の腫瘍生存率評価は適当であるかの質問があり、申請者は C6、U87 の腫瘍倍加時間を考慮した場合、より長時間経過した後に評価することが適切と考えたが、実際には 24、48、72 時間のタイムポイントで同様に腫瘍生存率を算出したところ、いずれも腫瘍生存率に大差がなかったため、24 時間後に評価判定をしたと回答した。さらに音響感受性物質の共培養条件や超音波照射条件以外にも実験結果に影響を与えるパラメーターはあったかとの質問があり、申請者は蛍光灯や日光、検体の持ち運びの際の振動などが影響を与える可能性はあるが、本実験では可能な限りの遮光と慎重な検体運搬を心掛けたと回答した。

副査の福田論教授からは本実験条件下では未治療群と比べて SDT 群で 30%程度の腫瘍生存率の低下が得られたのみであり、殺腫瘍効果は十分ではないという指摘があった。申請者は悪性神経膠腫に対する治療の原則は外科的切除であり SDT はあくまで後療法的位置付けであるが、今後、音響感受性物質の共培養条件や超音波照射条件など最適な治療パラメーターを検索する必要があると回答した。また実臨床においては手術や放射線化学療法などにより腫瘍細胞に修飾が入っている可能性があり、in vitro 実験で用いる単一な細胞条件との解離が生じる恐れがあることを指摘され、申請者はその可能性は否定できないため今後 in vivo 実験で検討すべきであると回答した。

最後に主査の田中伸哉教授から治療機序が類似する photodynamic therapy (PDT) と SDT で活性酸素の産生量や抗腫瘍効果に違いがあるかについて質問があり、申請者は本実験では PDT に用いるレーザー照射装置が使えなかったため両者の違いは検討できなかったが、理論上は両者の照射エネルギー量を統一することは可能であり今後の検討項目であると回答した。さらには SDT に反応しなかった細胞に CD133 などの免疫染色を行いグリオーマ幹細胞の評価を行ったかと質問があり、申請者は本実験での評価項目ではなかったが今後の検討課題であると回答した。

本研究は悪性神経膠腫に対する新規補助療法の確立への挑戦という点において高く評価される。また ALA や TS は本邦において既に臨床応用されている薬剤であること、また経頭蓋的収束超音波照射装置が臨床に導入されたことから SDT はさらに現実味のある治療方法に近づいた可能性が高く、本研究の臨床的価値は高いものと言える。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ、申請者が博士 (医学) の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。