



Title	近赤外線光免疫療法による腫瘍微小環境変化の病理組織学的解析 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	千田, 健博
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(歯学)
Dissertation Number	甲第15505号
Issue Date	2023-03-23
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/89656
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Takehiro_Chida_abstract.pdf, 論文内容の要旨



学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（歯学） 氏 名 千 田 健 博

学 位 論 文 題 名

近赤外線光免疫療法による腫瘍微小環境変化の病理組織学的解析

近赤外線光免疫療法，腫瘍微小環境，口腔がん，腫瘍血管，EGFR

これまでがん治療は、手術・化学療法・放射線治療の3つの治療法が主軸となっていて行われてきた。これらの治療法では腫瘍の残存、播種ならびに転移した腫瘍に対する効果が限定的であることやがん細胞以外の正常な細胞にも少なからず傷害を与えることが知られており、重篤な副作用が直接的な死因につながるケースも少なくない。そのため、正常細胞には影響を与えず、がん細胞のみを破壊する新しい治療法の開発が望まれている。

2011年に近赤外線光免疫療法（Near Infrared Photoimmunotherapy：NIR-PIT）が新たながん治療として開発された。NIR-PITは、がん細胞と特異的に結合する抗体に光吸収体（IR700）を結合させた複合体を患者の体内に静注し、近赤外線光を照射することでがん細胞のみを破壊する治療法である。光吸収体が近赤外線光により活性化すると、熱が産生され、がん細胞の細胞膜に孔が形成される。浸透圧によりその孔から細胞内に細胞外液が流入するため、がん細胞が膨潤・破裂し、ネクロシスを起こす。使用する抗体の受容体がない正常細胞には影響がないとされ、副作用はほとんどないと考えられている。

NIR-PITによる腫瘍あるいは周囲正常組織の変化については不明な点が多く、NIR-PITによる腫瘍微小環境への影響を病理組織学的に解明した報告は未だない。そこで本研究ではNIR-PITによる腫瘍微小環境の変化を組織学的に解析し、治療効果の機序を明らかにすることを目的とした。

これまでにがん細胞を使用した *in vitro* での NIR-PIT による治療実験では、近赤外線光照射後数秒でがん細胞は形態学的変化を示し、破裂・壊死する

ことが報告されている。我々の *in vivo* での解析では腫瘍壊死領域の割合は近赤外線光直後から近赤外線照射後 6 時間までは非治療群と同程度であった。近赤外線光照射後 24 時間では腫瘍のおよそ 80% の領域に壊死を認めたが、腫瘍体積の減少は認めなかった。一般的に創傷治癒の過程において、壊死細胞はマクロファージを初めとした炎症細胞の貪食により処理されるが、治療後 24 時間では腫瘍の壊死が生じるものの、マクロファージなどの炎症細胞による貪食処理が追いつかず、腫瘍の体積に変化がみられなかったと考えられる。より詳細にがん細胞の形態学的変化について観察するために EGFR の免疫組織化学染色を行なった。その結果、近赤外線光照射直後に壊死領域との境界部で、がん細胞の細胞膜に EGFR の発現の減少がみられた。このことから近赤外線光照射直後にがん細胞の膜タンパクの発現に変化がみられることが示された。さらに時間が経過すると、細胞膜に障害がみられないが、核が消失した壊死細胞と考えられる細胞が認められた。

我々の実験結果からはこれまでの報告のような近赤外線照射直後の細胞の破壊は観察されなかったが、生体内の腫瘍組織においては、がん細胞に近赤外線が到達するまでに皮膚や線維組織が介在することから、がん細胞の破壊が起きるまでに時間がかかることが考えられる。また、近赤外線光照射後には、細胞の形態は保たれているが、核が消失している凝固壊死に類似した組織像を示す腫瘍細胞がみられた。このような細胞死をおこした細胞は形態が保たれているため、腫瘍体積や壊死領域の割合が変わらないようにみえると考えられた。

NIR-PIT により正常組織に影響はないと報告されているが、NIR-PIT による腫瘍血管への影響が本当にみられないのか確認するため、NIR-PIT 前後の腫瘍血管の性質の変化を血管周皮被覆率で評価することとした。非治療群と比較し、治療群における腫瘍血管の血管周皮被覆率にほとんど差は認めなかった。非治療群、治療群ともに周皮細胞の被覆がない、もしくは僅かに被覆している未熟な血管が約 7 割に上った。この結果から NIR-PIT は血管周皮被覆率に影響を与えないことが示された。

血管の組織学的形態を観察すると、NIR-PIT により血管の内腔が拡張していることが示された。血管の拡張は近赤外線光照射直後には近赤外線光により発生する熱により生じ、腫瘍の壊死が進行すると腫瘍血管に対する腫瘍組織圧から解放され、腫瘍血管が拡張したと考えられる。

さらに NIR-PIT により損傷した腫瘍組織へのマクロファージの集積を評価

した。経時的に組織を観察すると、時間依存的にマクロファージの増加を認め、特に拡張血管部においてマクロファージの集積を認めた。マクロファージの集積は腫瘍血管が拡張したことで、拡張血管周囲への単球の輸送が容易になったためと考えられた。しかし、拡張血管周囲のみならず、非拡張血管周囲にもマクロファージの集積を認めた。マクロファージは組織修復の際に損傷部の血管に引き寄せられ、修復プロセスに関連していることが報告されている。このことからマクロファージが拡張血管を経て腫瘍部に到達し、損傷部の拡張血管あるいは非拡張血管に引き寄せられ集積していると考えられた。

本研究では、NIR-PITによる腫瘍の壊死がみられたが、腫瘍深部に腫瘍の残存がみられた。このことから近赤外線光が腫瘍深部に到達しなかったことが示唆されるため、腫瘍を完全に消失させるには近赤外線光の照射強度を高める必要があると考えられる。また、今回は細胞性免疫を欠くヌードマウスを用いたため、免疫の活性化による抗腫瘍効果の増強について検討することができなかった。今後、免疫能を有するマウスに腫瘍を移植し、免疫の活性化による NIR-PIT の効果の増強について検討したいと考えている。

本研究から、NIR-PIT治療後早期に腫瘍微小環境の変化が生じることが示された。今後はNIR-PITにより腫瘍微小環境に変化が生じる要因を解明し、より効果的な治療法の開発に繋げていきたい。