

学位論文内容の要旨

論文提出者氏名	論文審査担当者
平松 亮	主査 教授 鳴 海 善 文 副査 教授 猪 俣 泰 典 副査 教授 森 脇 真 一 副査 教授 瀧 内 比 呂 也
主論文題名 Application of a novel boronated porphyrin (H ₂ OCP) as a dual sensitizer for both PDT and BNCT (新規ホウ素化ポルフィリン(H ₂ OCP)の光線力学的療法・ホウ素中性子捕捉療法双方への適応)	
学位論文内容の要旨	
《緒 言》 悪性神経膠腫、特に神経膠芽腫(glioblastoma : GB)は極めて予後不良で、その多くに摘出腔隣接部からの局所再発が認められる。そのため、腫瘍摘出術後に周辺組織内に残存する腫瘍細胞への局所制御能力の高い治療法の開発が必要である。そこで、光線力学的療法(photodynamic therapy : PDT)・ホウ素中性子捕捉療法(boron neutron capture therapy : BNCT)という 2 つの局所制御能力にたけた治療法について検討した。PDT は腫瘍に取り込まれる光感受性物質(主にポルフィリン誘導体)に、その物質を励起し得るレーザー光を照射することによって生ずる光力学反応を利用した治療である。一方 BNCT は腫瘍に取り込まれたホウ素化合物に、正常組織に影響のない程度の中性子を照射することによって放出される α 粒子の高線量エネルギー付与(高 linear energy transfer : LET)を利用した治療法である。この 2 つの治療法で使用可能な化合物がホウ素化ポルフィリンである。このホウ素化ポルフィリンには以下の特性がある。1 つはポルフィリン環にホウ素化合物が結合した構造式であるため PDT・BNCT 双方の治療法に適用することが可能であること、次にポルフィリン環による腫瘍親和性を有することである。2005 年に共著者であるレイジアナ州立大学グループより報告された Octa-anionic 5,10,15,20-tetra	

[3,5-(nido-carboranylmethyl)phenyl] porphyrin(H_2OCP)は、ポルフィリン環に 8 つのホウ素クラスターが結合した構造式の新規ホウ素化ポルフィリンである。今までの H_2OCP を含めたホウ素化ポルフィリンを用いた報告には BNCT への適応についてのみの報告が多く、PDT・BNCT 双方への適応についての報告は少ない。今回我々は H_2OCP の PDT・BNCT 双方への適応を確認するため、F98 ラットグリオーマ細胞を用い実験を行った。

《対象および方法》

F98 ラットグリオーマ細胞はフィッシャーラットを起源とした浸潤性を有する悪性グリオーマ細胞で、放射線治療を含めた多くの治療に抵抗性を示す。今回全ての実験においてこの細胞を用いた。BNCT への適応を確認するため、現在臨床で使用されているホウ素化合物である boronophenylalanin(BPA)、borocaptate sodium(BSH)と H_2OCP との細胞内薬物動態を比較した。ホウ素濃度測定には inductively coupled plasma atomic emission spectrometry を用いた。PDT への適応を確認するため、F98 ラットグリオーマ細胞に H_2OCP を 24 時間処理後 405nm の波長を有するレーザー光を照射し、その熱エネルギーごとの殺腫瘍効果をコロニーフォーミングアッセイを用いて評価した。また PDT 後の細胞と PDT を行っていない細胞をそれぞれ同個数ずつフィッシャーラットに移植し、その生存期間の比較も行った。その他 H_2OCP 自体の細胞毒性評価を細胞カウント、コロニーフォーミングアッセイを用いて行い、さらにポルフィリン環の蛍光特性を生かし倒立蛍光顕微鏡を用いた画像解析も行った。

《結 果》

(1) H_2OCP は BPA、BSH と比較して細胞内ホウ素取り込み量が有意差を持って高い値を示した。さらに H_2OCP の細胞内ホウ素保持能力は BPA より高く、BSH と同等レベルであることも示された。

(2) PDT 後のコロニーフォーミングアッセイでは、 $10\mu\text{g }^{10}\text{B/ml H}_2\text{OCP}$ 処理後 8J/cm^2 の照射で細胞生存率は 0.05 以下で、*ex vivo* では PDT を行った群の生存期間中央値は 14 日、行っていない群は 12 日で有意差を持って生存期間の延長を認めた。

(3) 細胞毒性評価は今回実験で使用した最高濃度を使用して細胞カウントにて、最高濃度の 2 倍を使用してコロニーフォーミングアッセイにて行ったが、ともに H_2OCP の細胞毒性を認めなかった。

(4) 倒立蛍光顕微鏡では、 H_2OCP は核を含めた細胞内に存在することが確認できた。

《考 察》

BNCT の殺腫瘍効果は、 $4\sim 9\mu\text{m}$ という短い距離に α 粒子が放出されることによる。この距離が細胞の大きさよりも短いためホウ素化合物が取り込まれた細胞に対してのみ殺腫瘍効果を認め、周りの細胞への影響が少ない。そのため、もしホウ素化合物が腫瘍選択性に取り込まれれば、まさに GB 治療に理想的である。我々は臨床においてこの BNCT を悪性神経膠腫、悪性髄膜腫の患者約 80 名以上に施行し、現在の標準治療を上回る生存期間の延長を認めて報告してきた。一方 PDT の殺腫瘍効果は、光化学反応にて生じるエネルギーが一重項酸素を生成することによる。この一重項酸素が腫瘍細胞に反応し殺腫瘍効果を認める。海外では悪性神経膠腫患者を対象に第 I 相臨床試験も行われており、BNCT 同様局所制御にたけた治療法として知られている。双方の治療においてホウ素化合物・光感受性物質が腫瘍選択性に取り込まれることがより高い局所制御を生み出す結果につながる。その可能性を有する化合物が今回検討した腫瘍親和性を有するホウ素化ポルフィリンである。このホウ素化ポルフィリンには臨床における多くの利点もある。1 つはポルフィリン環の蛍光特性を生かし術中に光線力学的診断(photodynamic diagnosis : PDD)、および蛍光ガイド下腫瘍摘出術に利用することが可能であるこ

とである。PDD は術中の蛍光を確認し鑑別診断に役立てることが出来る。また蛍光ガイド下腫瘍摘出術は腫瘍摘出率の向上とそれに相関した予後の改善を認めたという報告があり、現在多くの施設で脳腫瘍手術支援法として利用されている。もう 1 つは術中 PDT ならびに術後 BNCT に適用することが可能であることである。このように実際の臨床においても有用性の高いこのホウ素化ポルフィリンは、今後実用化に向けてさらなる実験が行われるべき化合物である。

審査結果の要旨および担当者

報告番号	甲第	号	氏名	平松 亮
論文審査担当者			主査教授 鳴海 善文	
			副査教授 猪俣 泰典	
			副査教授 森脇 真一	
			副査教授 瀧内 比呂也	
主論文題名				
Application of a novel boronated porphyrin (H ₂ OCP) as a dual sensitizer for both PDT and BNCT				
(新規ホウ素化ポルフィリン(H ₂ OCP)の光線力学的療法・ホウ素中性子捕捉療法双方への適応)				
論文審査結果の要旨				
<p>ホウ素化ポルフィリンは、悪性神経膠腫の治療法である光線力学的療法(photodynamic therapy : PDT)・ホウ素中性子捕捉療法(boron neutron capture therapy : BNCT)双方への適応が期待される化合物である。従来のホウ素化ポルフィリンの多くは、ポルフィリン環に4つのホウ素クラスターが結合した構造式で、その有用性はBNCTに関する適応についてのみ報告されていることが多い。しかし、今回申請者らはH₂OCPという8つのホウ素クラスターが結合した新規ホウ素化ポルフィリンを用い、さらにPDT・BNCT双方への適応について確認を行った。</p> <p>この数十年の間に多くの悪性腫瘍に対する治療法が認可され、それによる予後の改善を認めてきた。一方悪性神経膠腫、特に神経膠芽腫(glioblastoma : GB)は現在でも極めて予後不良で、生存期間中央値は腫瘍摘出後に放射線療法ならびに化学療法を併用しても約1年と治療抵抗性を示す疾患である。その原因はグリオーマ細胞の浸潤性性格にあり、多くの場合で摘出腔隣接部からの再発を認める。そのため、GBの治療に求められるものは、局所制御能力にたけた治療法であり、PDT・BNCT</p>				

双方がその代表的な治療法である。申請者らは、臨床症例において悪性神経膠腫、悪性髄膜腫の患者に対して BNCT を行い良好な結果を得てきた。一方、PDT も海外で悪性神経膠腫患者を対象に臨床試験が行われている。ホウ素化ポルフィリンは、この双方に適応することが出来ること以外に、臨床の場において多くの長所を持ち合わせた化合物である。1 つはポルフィリン環の蛍光特性を生かし術中に光線力学的診断(photodynamic diagnosis)、および蛍光ガイド下腫瘍摘出術に利用することが可能であることである。もう 1 つは術中 PDT ならびに術後 BNCT に適用することが可能であることである。このように実際の臨床において有用性の高いホウ素化ポルフィリンは今後実用化に向けてさらなる実験を行われるべき化合物で、その意味でも本研究の結果は極めて重要な意味を有するものである。

以上により、本論文は本学大学院学則第 11 条に定めるところの博士（医学）の学位を授与するに値するものと認める。

(主論文公表誌)

Lasers in surgery and medicine 43 (1): 52-58, 2011