

学 位 論 文 の 要 旨

三 重 大 学

所 属	甲 三重大学大学院医学系研究科 生命医科学専攻 臨床医学系講座 運動器外科学・腫瘍集学治療学分野	氏 名	足立 ^{あだち} 量平 ^{りょうへい}
-----	--	-----	---------------------------------------

主論文の題名

The Effect of Photodynamic Therapy Using 5-Aminolevulinic Acid in Bone and Soft Tissue Sarcoma Cells

主論文の要旨

【背景】5-アミノレブリン酸 (5-ALA) は生体内で代謝され、光感受性物質である Protoporphyrin IX (PpIX) を産生し、腫瘍内で蓄積すると、光照射で励起され、抗腫瘍効果を発揮する。この性質を使用して光線力学的療法 (Photodynamic therapy: PDT) としてすでに脳神経外科分野など臨床応用されている。今回我々は、骨軟部肉腫に対する PDT の臨床応用を目指し、骨肉腫細胞株および線維肉腫細胞株に対する 5-ALA を用いた PDT (5-ALA PDT) の有効性を評価した。

【方法】細胞株は 143B、LM8、HT1080 および筋芽細胞株 (C2C12) を用いた。PpIX の細胞内蓄積量を比較検討するため、HT1080 と C2C12 に 0、10、100、200 μ g/ml の 5-ALA を投与し吸光度を microplate reader で定量化した。また鉄付加酵素 Ferrochelatase (FECH) は PpIX の代謝を促進する酵素であるが、Western blotting 法にて各細胞における発現量を比較検討した。5-ALA PDT の in vitro での評価のため各細胞を培養し、0、10、100、200 μ g/ml の 5-ALA を投与しストロボ光照射を 10 分間施行後、MTS assay 法で Cell Viability を測定した。

5 週齢マウスの背部皮下に各細胞を 200 万個移植、背部皮下腫瘍モデルを作成し、腫瘍径が 5mm を超えた段階で治療を行った。治療は 5-ALA PDT 群、5-ALA 投与群、ストロボ光単独照射群、無処置の 4 群に分け、5-ALA (250mg/kg) は腹腔内へ単回投与した。5-ALA PDT 群は 5-ALA 投与から 2 時間後にストロボ光照射を行った。治療 2 週後に屠殺し、背部腫瘍と肺転移巣を評価した。背部皮下腫瘍は、腫瘍体積の変化を治療群間で比較した。肺転移に関しては、肺転移数を各治療群間で比較した。

【結果】PpIX は 5-ALA 100、200 μ g/ml にて HT1080 で C2C12 より有意に蓄積を認めた。また Western blotting にて正常細胞である C2C12 が腫瘍細胞より FECH 発現が強くみられた。MTS assay では、全ての肉腫細胞株において 100、200 μ g/ml 5-ALA PDT 群が 0、10 μ g/ml 5-ALA PDT 群と比較して、投与後 24 時間と 48 時間において細胞増殖抑制効果を認めた。

各腫瘍背部皮下移植マウスにおいては、5-ALA PDT 群の腫瘍増大抑制効果を認めた。143B 移植モデルでは、14 日後の 5-ALA PDT 群の平均腫瘍体積は 156.6mm³ で、無処置群 (452.5 mm³)、5-ALA 投与群 (407.9 mm³)、およびストロボ光単独照射群 (452.5 mm³) と比較して有意に腫瘍増大が抑制されていた。同様に LM8 移植モデルでも 14 日後の 5-ALA PDT 群の平均腫瘍体積は

423.9mm³で、無処置群 (761.2 mm³)、5-ALA 投与群 (666.3 mm³)、およびストロボ光単独照射群 (716.6 mm³)と比較して有意に腫瘍増大が抑制されていた。HT1080 移植 モデルでは 14 日後の 5-ALA PDT 群の平均腫瘍体積は 473.4mm³で、無処置群 (627.4 mm³)、5-ALA 投与群 (615.6 mm³)、およびストロボ光単独照射群 (684.6 mm³)と比較して有意に腫瘍 増大が抑制されていた。肺転移数は 143B では肺転移を認めず、LM8 と HT1080 は共に 5-ALA PDT 群において有意差を認め、他の群と比較して肺転移数は減少していた。

【結語】本研究で骨軟部腫瘍株を用いた 5-ALA PDT の有効性が明らかになった。今回使用した細胞株は骨肉腫および線維肉腫であるが、今後は他の組織型での 5-ALA PDT の効果を検証し、骨軟部腫瘍における 5-ALA PDT の臨床応用を目指したい。