

博士の学位論文審査結果の要旨

申請者氏名 佐藤 格

横浜市立大学大学院医学研究科

審査員

主査 横浜市立大学大学院医学研究科教授 井上 登美夫

副査 横浜市立大学大学院医学研究科教授 折舘 伸彦

副査 横浜市立大学大学院医学研究科教授 大橋 健一

博士の学位論文審査結果の要旨

口腔癌における温熱療法の応用

-フェルカルボトランを用いた温熱化学療法の検討 -

頭頸部癌のなかでもとりわけ口腔癌は、手術療法によって顔面の変形による審美障害、口腔機能低下による摂食・嚥下障害、構音障害が著明である。また、進行癌や再発症例においては化学放射線療法に対して抵抗性を示すものがある。そこで、手術回避、また放射性治療や化学療法に対して抵抗性を示す症例に対し、温熱療法を治療法の選択肢の1つとして着目している。癌細胞に熱を加えた場合、42.5℃を過ぎると急激に死滅するようになる。また、正常組織より癌の組織が熱に弱いことが示されており、この性質を利用し正常細胞にはダメージを与えず癌細胞のみを選択的に死滅させるのが温熱療法の考え方である。近年、温熱療法は癌治療の補助療法として研究や臨床の場で進歩を遂げてきた。そして、その抗腫瘍効果は大きな成果をあげている。温熱療法は、Radio Frequency (以下 RF) 誘電加温装置やマイクロ波加温装置を用いた外部加温法が一般的である。口腔癌の原発巣への温熱療法は、従来の RF 誘導加温装置ではアプリケーションの装置が原発巣へは解剖的に使用出来ないことより、きわめて困難な部位とされていた。そこで、磁性体を用いた磁場誘導組織内加温法が考案され、臨床的にも試みられた。しかし、磁性体を用いた組織内加温法は腫瘍内への刺入方向により安定した温度が得られないため、磁性微粒子を用いた組織内加温法に注目した。その1つとして MRI 造影剤であるフェルカルボトランを用いた温熱療法の抗腫瘍効果、およびフェルカルボトランを用いた温熱療法とシスプラチンとの併用療法について検討を行った。

まず、フェルカルボトランの交流磁場下での温熱療法に適した温度上昇検討を行った。交流磁場下で細胞培養液に添加したフェルカルボトランは、42℃以上まで温度上昇を示した。温熱療法の温度条件検討から、ヒト由来扁平上皮癌細胞に対してシスプラチンと交流磁場下でのフェルカルボトランを用いた温熱併用の抗腫瘍効果を検討した。シスプラチンに交流磁場を用いてフェルカルボトランを発熱させることで得られる温熱作用を併用することでアポトーシスは増強した。また、シスプラチンに温熱を併用する事で、ROS の産生が増加し作用機序の1つとして関与することが示唆された。シスプラチンとフェルカルボトランを用いた温熱併用での細胞周期の変化を検討した結果から、シスプラチン単独では、G0/G1 期の細胞の減少に伴い、S 期と G2/M 期で細胞周期の進行を停止させた。細胞周期と熱感受性の関連について、S 期および M 期は熱感受性が高いことが知られている。よって、シスプラチンによって S 期と G2/M 期で細胞周期の進行を停止した細胞が増加することは、温熱療法に優位になることが示唆された。

本研究より、MRI 造影剤であるフェルカルボトランは、臨床で使用されている濃度で十分に温度上昇を示し温熱療法として応用が可能であった。また、シスプラチンと交流磁場下

のフェルカルボトラン温熱併用による抗腫瘍効果の増強を示し、ROS の産生、細胞周期の変化も作用機序に関与していると考えられた。

審査にあたり、以上の論文内容の説明がなされた後、以下の質疑応答が行われた。

まず、大橋副査より以下の質問と意見がなされた。

- 1) フェルカルボトランを温熱療法に用いるときの濃度は、現在臨床で用いている濃度に比べてどうなのか。
- 2) フェルカルボトランは、臨床でどのように造影剤として使用されているか。
- 3) 実際に臨床で使用するときはどのように腫瘍に集積させるのか。
- 4) 今回の実験で用いた 2 種類の細胞の特徴は何か。

以上の質問に対し、以下の回答がなされた。

- 1) 今回、温熱で使用したフェルカルボトランの濃度は現在臨床で使用されている濃度に比べて低い。濃度の面で安全に臨床に応用が出来る考える。
- 2) 網内系の異物貪食作用を利用し、肝臓の細網内皮系細胞であるクッパー細胞に取り込まれることにより肝臓に特異的な造影効果を示す。
- 3) 当科で行っている超選択動注療法を応用し、腫瘍局所にフェルカルボトランを高濃度に集積させることを考えている。また、表在部であれば磁石によって腫瘍局所に集積させることも可能である。
- 4) 今回使用した細胞は、ヒト由来扁平上皮癌細胞である。OSC-19 細胞は舌癌原発由来であり、HSC-3 細胞は舌癌の頸部リンパ節転移由来である。

次に、折館副査より以下の質問と意見がなされた。

- 1) 温熱療法の作用機序は ROS 産生によるものか。
- 2) ROS はミトコンドリアのどの複合体由来か。
- 3) ROS 産生によるものであれば、他の薬剤にいいものがあるのではないか。
- 4) 放射線併用とハイパーサーミア併用の関連はどうか。

以上の質問に対し、以下の回答がなされた。

- 1) シスプラチンに温熱を併用する事で、ROS の産生が増加し作用機序の 1 つとして関与することが考えられる。

- 2) 複合体Ⅲが大きく関与していると考えられている。
- 3) 抗癌剤メトトレキサートも ROS の産生を増加させることが知られているが、口腔癌の標準治療としてシスプラチンが用いられている。よって、今回はシスプラチンを実験に用いた。
- 4) 放射線感受性の低い S 期で温熱感受性が高いことから、放射線治療と温熱療法の併用が行われている。

最後に、井上主査より以下の質問と意見がなされた。

- 1) 申請者本人が実際行った部分はどこか。
- 2) この実験は何回繰り返し行ったか。
- 3) HSC-3 細胞と OSC-19 細胞を選んだ理由は。
- 4) 今後は、この報告をどのように展開させていくか。

以上の質問に対し、以下の回答がなされた。

- 1) すべての実験を申請者本人が行った。論文に関しては、申請者本人が下書きし指導教官に指導を受けた。
- 2) 1つの実験に対して 10 回以上の再現性を確認している。
- 3) 過去の論文で報告が多く、当科においても実験で使用されているため特徴がよく知られていることから使用した。
- 4) 今後は、細胞実験において抗腫瘍効果を検討したいと考えている。

本学位論文は、MRI 造影剤であるフェルカルボトランを用いた温熱療法の抗腫瘍効果、およびフェルカルボトランを用いた温熱療法とシスプラチンとの併用療法の有用性を示した貴重な報告であり、学術的価値が高いと思われる。また、申請者は本学位論文の内容について幅広い質問に的確に回答し、本研究課題について深い理解と洞察力を持っていることを示した。以上より本研究は博士(医学)の学位に値するものと判断された。