悪性脳腫瘍に対する光線力学的療法 (PDT) の基礎

山本 哲哉, 上月 暎浩, 鶴淵 隆夫, 松田 真秀, 阿久津 博義, 石川 栄一, 高野 晋吾,
松村 明

筑波大学医学医療系脳神経外科

Basics of Photodynamic Therapy for Malignant Brain Tumors

Tetsuya Yamamoto, M.D., Ph.D., Hidehiro Kozuki, M.D., Takao Tsurubuchi, M.D., Ph.D.,
Masahide Matsuda, M.D., Ph.D., Hiroyoshi Akutsu, M.D., Ph.D., Eiichi Ishikawa, M.D., Ph.D.,
Shingo Takano, M.D., Ph.D., and Akira Matsumura, M.D., Ph.D.

Department of Neurosurgery, Faculty of Medicine, University of Tsukuba

Photodynamic therapy (PDT) for primary malignant brain tumors has now been approved for coverage under Japanese national health insurance. In this therapy, talaporfin sodium (Laserphyrin®) is used as a photosensitizer to be used along with an exclusively developed laser beam source. PDT is a tumor-selective, bimodal treatment, that is based on various photodynamic reactions involving molecular oxygen and oxygenated products, which are harmful for tumor tissue. After administration, the photosensitizer is accumulated and localized in the tumor tissue, which is then exposed to a laser beam with a wavelength appropriate for absorption by the sensitizer, providing photodynamic reactions. The treatment rationale, characteristics of talaporfin sodium and the laser source used for PDT of malignant brain tumors are also described.

(Received July 7, 2016; accepted August 25, 2016)

Key words : PDT, glioma, talaporfin

Jpn J Neurosurg (Tokyo) 25 : 905-911, 2016

はじめに

原発悪性脳腫瘍に対するタラポルフィンナトリウム (レザフィリン®) を用いた光線力学的療法 (photodynamic therapy : PDT) が 2015 年 5 月に保険収載された。近年の外科的摘出では、術中電気生理モニタリングや覚醒下手術による神経機能の情報、ナビゲーションや術中 MRI、拡散テンソル画像や methionine-PET 等の画像情報、5-アミノレブリン酸による術中蛍光所見を組み合わせ、安全でかつ最大限の摘出が行われている⁹⁾¹²⁾。原発悪性脳腫瘍の代表格である悪性神経膠腫の標準治療は

手術による最大摘出の後にテモゾロミドを併用した X 線分割照射を行うものである¹³⁾。このような総合的なアプローチによる現在の手術治療によっても、摘出腔周囲にある肉眼的に識別不能の浸潤腫瘍細胞や、機能局在部位に近接し意図的に摘出を避けざるを得ない残存腫瘍塊の発生は避けられず、本腫瘍の再発は発育形態の特徴である浸潤性性格や放射線化学療法への抵抗性とも関係し、全体の 95% が摘出腔に近接 (2 cm >) した脳組織から起きてくる⁸⁾。悪性神経膠腫の術後治療では重要な機能を有する脳領域に接した残存腫瘍や、正常脳に浸潤した腫瘍細胞を完全に治療しても正常脳機能を損なわない、強

連絡先: 山本哲哉, 〒 305-8575 つくば市天王台 1-1-1 筑波大学医学医療系脳神経外科

Address reprint requests to: Tetsuya Yamamoto, M.D., Ph.D., Department of Neurosurgery, Faculty of Medicine, University of Tsukuba, 1-1-1 Tennoudai, Tsukuba-shi, Ibaraki 305-8575, Japan

力がかつ腫瘍選択性の高い治療法の開発がこれまでも必要とされてきた。PDTはこういった難題を解決し得る魅力的な理論的背景をもつ方法である。

村垣ら⁶⁾は、13例の初発膠芽腫を含む27例の脳腫瘍に対してのPDTの第Ⅱ相試験を報告し、この臨床試験が保険適応認可の基礎データとなっている。このPDTの臨床試験では腫瘍摘出を行った後に、汎用の手術用顕微鏡に付設された半導体レーザー照射装置により15 mm径の円形照射野1～3カ所に対してレーザー光(150 mW/cm², 27 J/cm²)を術中照射している。光増感剤として用いられたタラポルフィンナトリウム(40 mg/m², 静脈内投与)は、PDT手技を行う22～27時間前に投与された。軽度かつ低頻度(7.4%)の皮膚障害を除き重篤な合併症はなく、また1年生存率100%、生存期間および無増悪生存期間はそれぞれ中央値24.8カ月、12.0カ月と本治療法の安全性と効果が示された。PDTの施行に際しては、外科的摘出をはじめ、適応とレーザー照射範囲の判断、実際の治療手技、治療後の管理は原則としてすべて脳神経外科医が行う。本稿では、PDTを行ううえで知っておくべき基礎的事項の中で、光増感剤タラポルフィンナトリウムや励起用レーザーの特性、抗腫瘍効果等について概説する。

一重項酸素と光増感剤の働き

PDTは、光増感剤の腫瘍集積性と励起用レーザー照射後の光化学反応を利用し、腫瘍細胞選択的な効果を得ようとする手法である。PDTではレーザー光が直接腫瘍組織に作用するのではなく、レーザー光と光増感剤の反応を介して腫瘍組織内で発生する一重項酸素が腫瘍細胞に効果を及ぼす。またその抗腫瘍効果にはアポトーシスやネクローシス、腫瘍血管閉塞による腫瘍壊死、さらにサイトカインを介した機序が関係するとされている¹⁾²⁾⁴⁾⁷⁾¹⁰⁾。光増感剤に近接して発生する一重項酸素の移動距離は0.1 μm程度(0.02～1)、その寿命はマイクロ秒(0.04～4)オーダーといわれており、光増感剤の腫瘍集積特性と発生する一重項酸素が光増感剤の腫瘍組織内分布に一致して殺細胞効果を示すことが、PDTにおける腫瘍選択性効果の理論的背景となっている²⁾。

PDTにおける光増感剤の働きは、腫瘍組織内の溶存酸素内に殺細胞効果を有する一重項酸素を効率よく発生させることにある。腫瘍組織内での一重項酸素の発生は、通常の条件下では定常状態にある酸素(三重項酸素)に単純にエネルギーを与えて励起させようとしても達成できない。しかし、特定波長のレーザー光で励起される光

増感剤の三重項状態は、一重項酸素と三重項酸素とのエネルギー差にほぼ等しい励起エネルギーを持っていて、励起された光増感剤が三重項酸素と衝突する際に電子とエネルギーの交換が起こり、光増感剤が基底状態に戻ると同時に三重項酸素は一重項酸素に容易に遷移する(Type 2 反応)。このような励起方法は光増感法と呼ばれ、PDTでは光増感剤による効率的な一重項酸素の発生が利用されている。したがって、PDTでの光増感剤の役割は腫瘍組織選択的な分布・集積と光化学反応でのエネルギー交換の仲介(光増感剤)が重要である。臨床で用いられる光増感剤にはタラポルフィンのほかに先行して研究されてきたporfimer sodium, aminolevulinic acid hydrochloride, temoporfin などがあるが、国内で使用でき、悪性脳腫瘍に適応があるのはタラポルフィンのみである。原発悪性脳腫瘍に対する実臨床のPDTでは、まず患者に薬剤を投与し(40 mg/m² i. v.)、22～32時間後に腫瘍摘出腔の壁や残存腫瘍に対しレーザー光を照射する方法がとられている。

光増感剤に求められる特性と タラポルフィンナトリウム

悪性脳腫瘍のPDTに用いる光増感剤は、①高い腫瘍細胞選択性、②血液脳関門を通過しない、③近赤外線波長域の700 nm近傍またはより長波長域での吸光特性、④高い光増感作用、⑤低い毒性といった特性が求められる。PDTの効果はこれらの光増感剤の特性のほかにも、レーザー光の分布強度、腫瘍組織(細胞)のPDTに対する感受性、溶存酸素の状態などにも影響を受けると考えられる。*in vitro*の細胞照射実験では薬剤濃度依存性の効果が認められる¹⁵⁾。ポルフィリンに代表される光増感剤を静脈内投与すると、血液中や細網内皮系や腎排泄系を除く正常組織では時間経過とともに薬剤濃度が低下するのに対し、腫瘍内濃度はfirst passでの低下の後に薬剤濃度が増加する2相性の変化を示す¹⁷⁾。これは腫瘍親和性を示すポルフィリン化合物によくみられ、薬剤の両親媒性、腫瘍組織での血管透過性亢進、LDLやトランスフェリン、アルブミンへの親和性とレセプター活性の上昇、細胞内への能動的な取り込み、リンパ系組織の未発達・欠如によるがん組織での排泄機能低下に関係して、緩徐に腫瘍内濃度が上昇するためと考えられている¹¹⁾。

PDTで高い効果を得るには高い腫瘍内濃度と選択性が重要である。脳腫瘍組織は壊死部分や細胞密度、血管密度が均一ではなく、*in vivo*のラット脳腫瘍モデルでは、タラポルフィンの壊死部分や浮腫領域への移行は腫

Fig. 1 Photographs showing the macroscopic coronal section (A) and the fluorescence image (B) of a rat C6 brain tumor model 6 hours after the administration of talaporfin sodium. Arrowheads indicate the tumor margin corresponding to that of the hematoxylin-eosin (HE) staining (C). Fluorescence image was obtained using a 610 nm long path filter. Asterisks show positive fluorescence in the edematous tissue around the tumor.

瘍組織よりも低いことが示されている³⁾。浮腫領域への薬剤移行は浸潤腫瘍細胞への治療効果を得るのに有用な反面、正常組織障害発生の原因となる。脳腫瘍モデルにタラポルフィンを投与し、レーザー光による励起 (670±10 nm) を行うと、腫瘍に一致した明るい赤色蛍光が観察される (Fig. 1, 3)¹⁴⁾。タラポルフィンは腫瘍に良好に移行するとともに、腫瘍の範囲から連続して同側の脳組織にも拡散し、別の凍結損傷血管浮腫モデルでは血液中のタラポルフィン濃度上昇に伴いより早期に腫瘍同様に薬剤の分布を示す弱い蛍光が観察される (Fig. 2, 4)。したがって、実際の治療においては腫瘍周囲浮腫組織への薬剤移行を考慮して治療を行う必要がある。

PDT に使用するレーザー

PDT の光増感では、病巣に対して正確にかつ十分な照射量を確保する目的で、径の細い光源から単一波長で効率よく照射できるレーザー光が用いられる。悪性脳腫瘍に対する PDT では、手術用顕微鏡に設置したレーザー光源を使用し、腫瘍摘出後にその摘出腔内から腫瘍床に向けてレーザー照射を行う。レーザーの組織透過性には限

界があるので、腫瘍摘出度は高いほど PDT には有利である。また、PDT の腫瘍選択性は光増感剤の腫瘍への親和性 (生物学的選択性) によって得られるが、治療効果はレーザー照射された部分に限って惹起されるので、レーザーの照射範囲によっても治療範囲を限定することができる (物理的選択性)。PDT で用いる光増感剤の吸光度特性は、励起光として用いるレーザーの波長が長いほど組織深部への到達がよいから、治療可能な深度と効果に影響する。光増感剤の吸光度特性は、用いるレーザーの影響が PDT の照射野 (術野) に存在する腫瘍以外の組織や血液にも影響する。酸化ヘモグロビンの吸光曲線は 400 nm と 600 nm 付近にピークを有し、水では 700 nm 付近から急峻に立ち上がることから、両者の吸光度の谷間にあたる 664 nm 付近にピークを有し、かつより長波長を用いることで深部到達性の面で有利なタラポルフィンナトリウムの吸光度特性は PDT を行ううえで理想的といえる (Fig. 5)。悪性脳腫瘍に対する PDT の臨床においては、励起光源として励起波長 664+2 nm の PDT 半導体レーザー (PD レーザ BT ZH-LD31A02J, パナソニックヘルスケア) が使用されている (Fig. 6)。628~635 nm に吸収帯をもつ hematoporphyrin derivative (HPD) では

Fig. 2 Photographs showing the macroscopic coronal section (A) and the fluorescence image (B) of a rat cold-injury-induced vasogenic brain edema model 6 hours after the administration of talaporfin sodium. Arrowheads indicate the margin of the cold injury corresponding to that of the hematoxylin-eosin (HE) staining (C). Asterisks show positive fluorescence in the edematous tissue around the cold injury.

Fig. 3 The time course distributions of the relative fluorescence intensity of the rat brain tumor, the ipsilateral cortical brain and the contralateral cortical brain are shown in arbitrary units after the administration of talaporfin sodium with an excitation wavelength of 405/40 nm and an emission wavelength of 670 ± 10 nm. The relative fluorescence intensities of the samples were normalized to the relative fluorescence intensities per 1 g-weight of the samples ($n=5$).

Fig. 4 The time course distributions of the relative fluorescence intensity of the cold-injury-induced vasogenic edema, the ipsilateral cortical brain and the contralateral cortical brain are shown in arbitrary units after the administration of talaporfin sodium with an excitation wavelength of 405/40 nm and an emission wavelength of 670 ± 10 nm. The relative fluorescence intensities of the samples were normalized to the relative fluorescence intensities per 1 g-weight of the samples ($n=5$).

Fig. 5 The absorbance characteristics of talaporfin sodium and hemoglobin. Talaporfin sodium has absorbance peaks at 401 nm and 664 nm.

この波長の励起光での組織深達度は5 mm程度である²⁾。国内で悪性脳腫瘍のPDTに使用されているタラポルフィンナトリウムも同様の664 nm付近に吸収帯のピークをもつため、その治療可能深度は同程度と考えられる。悪性脳腫瘍に前述のレーザー照射装置を使用してPDTを行う場合の治療可能な深度について詳細なデータは今のところない。肺癌に対するタラポルフィンを用

Fig. 6 A 664-nm semiconductor laser source (Panasonic Healthcare), providing a laser beam with a diameter of 1.5 cm, radiation power density of 150 mW/cm^2 , and radiation energy density of 27 J/cm^2 . In PDT for brain tumors, this laser source is used in combination with a surgical microscope.

いたPDTでは10 mm以上の病変に対しても効果が確認されており¹⁶⁾、実際のPDTの治療効果は物理的なレーザーの組織深達度を超えて認められるとするデータも少なくない。前述のごとく、PDTの効果には腫瘍血管への効果のほか、免疫系の関与も多く報告されており、TGF, FGF, IL-1, IL-6, PDGF, TNF等のサイトカインがPDTに伴う細胞障害機構に関して報告されてきている⁵⁾。脳腫瘍の領域においても、局所のPDTの効果についてより詳細な検討がなされることが期待される。

まとめ

患者の QOL に配慮した低侵襲治療が強く求められる今日にあって、脳原発悪性脳腫瘍の外科治療では高い摘出率達成と神経機能温存の両立が困難な例が少なくないことから、腫瘍選択的な特徴をもつ PDT は有望な治療手段である。本治療に用いられる光増感剤であるタラポルフィンナトリウムは吸収帯が長波長側にあるため高励起効率がよく、また排泄が早いいため光線過敏症等の副作用が少ない特徴をもつ。悪性脳腫瘍に対する PDT の第 II 相試験では、本治療法の安全性と効果が示され、今後の第 III 相試験での確認が期待されている。その一方で、照射部位を広げた場合の安全性、レーザーの深達度と薬剤の腫瘍選択性といった原理上の制限や免疫系の関与が治療効果に及ぼす影響、他の治療法との関係についてはまだまだ不明な点が多い。今後、臨床データの蓄積とともに、これら基礎的な医学データによる PDT の適正化や改良が進むことを期待したい。

著者の COI (conflicts of interest) 開示：本論文の発表に関して開示すべき COI はありません。

文 献

- 1) Angell-Petersen E, Spetälen S, Madsen SJ, Sun CH, Peng Q, Carper SW, Sioud M, Hirschberg H: Influence of light fluence rate on the effects of photodynamic therapy in an orthotopic rat glioma model. *J Neurosurg* **104**: 109-117, 2006.
- 2) Kostron H, Obwegeser A, Jakober R: Photodynamic therapy in neurosurgery: a review. *J Photochem Photobiol B* **36**: 157-168, 1996.
- 3) Matsumura H, Akimoto J, Haraoka J, Aizawa K: Uptake and retention of the photosensitizer mono-L-asparthyl chlorine e6 in experimental malignant glioma. *Lasers Med Sci* **23**: 237-245, 2008.
- 4) Miki Y, Akimoto J, Yokoyama S, Homma T, Tsutsumi M, Haraoka J, Hirano K, Beppu M: Photodynamic therapy in combination with talaporfin sodium induces mitochondrial apoptotic cell death accompanied with necrosis in glioma cells. *Biol Pharm Bull* **36**: 215-221, 2013.
- 5) Mroz P, Hashmi JT, Huang YY, Lange N, Hamblin MR: Stimulation of anti-tumor immunity by photodynamic therapy. *Expert Rev Clin Immunol* **7**: 75-91, 2011.
- 6) Namatame H, Akimoto J, Matsumura H, Haraoka J, Aizawa K: Photodynamic therapy of C6-implanted glioma cells in the rat brain employing second-generation photosensitizer talaporfin sodium. *Photodiagnosis Photodyn Ther* **5**: 198-209, 2008.
- 7) Pichlmeier U, Bink A, Schackert G, Stummer W; ALA Glioma Study Group: Resection and survival in glioblastoma multiforme: an RTOG recursive partitioning analysis of ALA study patients. *Neuro Oncol* **10**: 1025-1034, 2008.
- 8) Senft C, Bink A, Franz K, Vatter H, Gasser T, Seifert V: Intraoperative MRI guidance and extent of resection in glioma surgery: a randomised, controlled trial. *Lancet Oncol* **12**: 997-1003, 2011.
- 9) Seshadri M, Bellnier DA, Vaughan LA, Sperryak JA, Mazurchuk R, Foster TH, Henderson BW: Light delivery over extended time periods enhances the effectiveness of photodynamic therapy. *Clin Cancer Res* **14**: 2796-2805, 2008.
- 10) Shibata Y, Matsumura A, Yoshida F, Yamamoto T, Nakai K, Nose T, Sakata I, Nakajima S: Competitive uptake of porphyrin and LDL via the LDL receptor in glioma cell lines: flow cytometric analysis. *Cancer Lett* **166**: 79-87, 2001.
- 11) Stummer W, Pichlmeier U, Meinel T, Wiestler OD, Zanella F, Reulen HJ; ALA-Glioma Study Group: Fluorescence-guided surgery with 5-aminolevulinic acid for resection of malignant glioma: a randomised controlled multicentre phase III trial. *Lancet Oncol* **7**: 392-401, 2006.
- 12) Stupp R, Mason WP, van den Bent MJ, Weller M, Fisher B, Taphoorn MJ, Belanger K, Brandes AA, Marosi C, Bogdahn U, Curschmann J, Janzer RC, Ludwin SK, Gorlia T, Allgeier A, Lacombe D, Cairncross JG, Eisenhauer E, Mirimanoff RO; European Organisation for Research and Treatment of Cancer Brain Tumor and Radiotherapy Groups; National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group: Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma. *N Engl J Med* **352**: 987-996, 2005.
- 13) Tsurubuchi T, Zaboronok A, Yamamoto T, Nakai K, Yoshida F, Shirakawa M, Matsuda M, Matsumura A: The optimization of fluorescence imaging of brain tumor tissue differentiated from brain edema—in vivo kinetic study of 5-aminolevulinic acid and talaporfin sodium. *Photodiagnosis Photodyn Ther* **6**: 19-27, 2009.
- 14) Tsutsumi M, Miki Y, Akimoto J, Haraoka J, Aizawa K, Hirano K, Beppu M: Photodynamic therapy with talaporfin sodium induces dose-dependent apoptotic cell death in human glioma cell lines. *Photodiagnosis Photodyn Ther* **10**: 103-110, 2013.
- 15) Usuda J, Ichinose S, Ishizumi T, Hayashi H, Ohtani K, Maebara S, Ono S, Honda H, Kajiwarra N, Uchida O, Tsutsui H, Ohira T, Kato H, Ikeda N: Outcome of photodynamic therapy using NPe6 for bronchogenic carcinomas in central airways >1.0 cm in diameter. *Clin Cancer Res* **16**: 2198-2204, 2010.
- 16) Yamamoto T, Matsumura A, Shibata Y, Fujimori H, Nakai K, Yoshida F, Nose T, Sakata I, Nakajima S, Miwa N: Manganese-metalloporphyrin (ATN-10) as a tumor-localizing agent: Magnetic resonance imaging and inductively coupled plasma atomic emission spectroscopy study with experimental brain tumors. *Neurosurgery* **42**: 1332-1338, 1998.

要 旨

悪性脳腫瘍に対する光線力学的療法（PDT）の基礎

山本 哲哉   上月 暎浩   鶴淵 隆夫   松田 真秀
阿久津博義   石川 栄一   高野 晋吾   松村 明

光線力学的療法（photodynamic therapy: PDT）は、光増感剤の腫瘍集積性と励起用レーザー照射後の光化学反応を利用し、腫瘍細胞選択的な効果を得ようとする手法である。PDT ではレーザー光が直接腫瘍組織に作用するのではなく、光エネルギーを吸収して励起状態（一重項状態）に遷移した光増感剤が基底状態に戻る際のエネルギー転換により一重項酸素（活性酸素の一種）が発生し、その強力な酸化作用が腫瘍組織内の光増感剤周囲のごく限られた範囲に短時間作用することで腫瘍組織選択的な効果が得られる。この稿では、原発性悪性脳腫瘍に対する PDT に使用する光増感剤タラポルフィンナトリウム、励起用レーザーに焦点をあて、概説した。

脳外誌 25 : 905-911, 2016