悪性グリオーマに対する第二世代光感受性物質Talaporfin sodiumを用いた 蛍光診断ならびに光線力学的療法 ～臨床試験から医師主導治験へ～

秋元 治朗

東京医科大学 脳神経外科学 (〒160-0023 東京都新宿区西新宿6-7-1)

Intra-Operative Photodynamic Diagnosis and Therapy for Malignant Glioma Using Second-Generation Photosensitizer Talaporfin Sodium

Jiro AKIMOTO

Department of Neurosurgery, Tokyo Medical University, 6-7-1 Nishishinjuku, Shinjuku-ku, Tokyo 160-0023

(Received January 10, 2012)

We employed second-generation photosensitizer, Talaporfin sodium, for the intra-operative photodynamic diagnosis (PDD) and photodynamic therapy (PDT) for glioblastoma patients. 22 consecutive patients with glioblastoma (16 newly diagnosed and 6 recurrence) received intravenous dosed of Talaporfin sodium (40 mg/m^2) 24 hours prior to craniotomy. Intra-operatively, tumor fluorescence was visualized using modified diode laser (664 nm) mounted surgical microscope. Fluorescence-guided resection of tumor tissue was performed, and additional PDT (150 mW/cm^2 , 27 J/cm^2) was performed to 11 cases on invading tissues in eloquent area. A clear fluorescence signal was demonstrated in the tumor bulk and peritumoral zone, and the satisfactory resection of contrast-enhancing tumor was confirmed and achieved 9 months of median survival time. Mild liver dysfunction was occurred in 11.6% of cases, and skin photosensitivity was occurred in 1 case. The clinical experience in this study indicates the clinical feasibility of Talaporfin-induced PDD and PDT for glioblastoma patients.

Key Words: Malignant glioma, Photodynamic diagnosis, Photodynamic therapy, Talaporfin sodium, Skin photosensitivity

1. はじめに

脳腫瘍の治療は、手術による腫瘍摘出を基本とし、術後の放射線化学療法を組み合わせた集学的治療が一般的であるが、腫瘍周囲の正常脳組織、特に運動野、言語野、その他重要な機能の温存という観点から、腫瘍の摘出範囲は制限を受けることが多い。近年、蛍光標識診断、脳機能マッピング・モニタリング、ナビゲーション、その他様々な技術等の導入により、腫瘍摘出度は向上している。しかし、周囲の正常脳組織への浸潤性発育を特徴とする悪性脳腫瘍(Grade 3および4)の場合、神経機能維持を考慮すると腫瘍を完全に摘出することはほぼ不可能である。

Wilsonによる膠芽腫(Grade 4)の細胞レベルでの進展に関する研究結果¹⁾によると、画像診断にて直径4 cmの腫瘍が描出された場合、全腫瘍細胞の92%がtumor bulkに存在し、辺縁2 cmの領域に6%が、さらにその2 cm辺縁に1.8%が、そして遠隔正常脳に0.2%が分布していた

ことが示されている。このことは、tumor bulkを正確に同定し、全摘出し得たとしても、その周囲4 cmの範囲に8%前後の腫瘍細胞が残存している可能性があることを意味している。実際に、悪性神経膠腫の再発のうち、ほとんどが初回手術摘出部位の周辺から発生しており、この周辺部位の局所制御の重要性が示唆される。

これらのことから、いかにして腫瘍周囲の正常脳組織の機能温存を図りつつ、腫瘍組織を最大限に摘出し、さらに浸潤部の腫瘍細胞の制御を図り得るかが、悪性脳腫瘍の治療における長年の課題となっている。

2. 光線力学的療法(Photodynamic Therapy: PDT)

PDTは腫瘍組織や新生血管への集積性がある光感受性物質を患者に投与した後、組織にレーザー光を照射することにより光感受性物質に光化学反応を引き起こし、細胞を変性壊死させる治療法である。この細胞の変性壊死は、特定の波長のレーザー光と光感受性物質との光化学

反応によって産生される一重項酸素(活性酸素)の強い酸化作用によるものである。

PDTは光感受性物質が存在し、レーザー光が照射された部位のみに光化学反応を起こさせ、細胞を変性壊死させる局所的療法である。この作用の主役である一重項酸素の寿命は $0.04\sim 4\ \mu\text{s}$ と短いため、効果の範囲はレーザー光が照射された部位に限られている。また、PDTで使用するレーザーは一般的なレーザー治療に用いられる高出力のものとは全く異なり、出力は弱い。高出力のレーザー治療は熱エネルギーにより病巣を焼き切る(蒸散させる)方法であり、癌治療の分野においても腫瘍を縮小あるいは破壊するのに用いられることがあるが、この方法は腫瘍選択性がなく、レーザー光が照射された部位は正常部位でも反応が起こる。一方、PDT用レーザーの出力は手をかざしてもほとんど熱さを感じない程度であり、反応が起こる範囲を光感受性物質が集積した病変部位へとコントロールできることが特徴である。これらのことから、PDTは正常組織への侵襲性が少ない病変部位選択的な治療法として、様々な疾患領域において益々発展していくことが予想される。

3. 悪性脳腫瘍におけるPDTの意義

悪性脳腫瘍の治療では、浸潤腫瘍細胞と正常脳組織の混在部位において、腫瘍細胞だけを選択的に傷害し得るかが最大の鍵となる。この腫瘍選択的な治療法が確立できれば、腫瘍細胞の根絶と神経機能の維持という相反する課題の克服に近づくことが理論上可能である。

悪性脳腫瘍に対する本PDTの狙いは、手術により最大限に腫瘍組織を摘出した後の残存浸潤腫瘍細胞を選択的に傷害し、神経機能を温存しつつ腫瘍再発までの期間を延長させることにある。現在施行し得る最善の技術を用いた外科的手技に、PDTという光化学反応に基づいた術中追加治療を加えることで、従来の集学的治療への上乗せ効果が期待でき、生存率の更なる向上に繋がるものと考えている。

4. Talaporfin sodiumおよび半導体レーザー

Talaporfin sodium(商品名: レザフィリン[®])は第二世代の光感受性物質であり、半導体レーザー(商品名: PDレーザー)との組み合わせによるPDTは、早期肺癌に対する治療として2003年に保険承認されている。Talaporfin sodiumは第一世代の光感受性物質であるPhotofrin[®]と比較して体内からの排泄速度が速いため、光感受性物質の投与で問題となる光線過敏反応の消失が早いという特長がある。これにより、Photofrin[®]では投与後少なくとも1ヵ月間は300ルクス以下の薄暗い室内で過ごす必要があったが、Talaporfin sodiumでは500ルクス以下の室内で2週間以内と遮光度の軽減およびその期間が短縮された。レーザー装置に関しては、Photofrin[®]と組み合わせて用いられるexcimer dyeレーザーあるいはYAG-OPOレーザー(YAGレーザー励起OPO)は、装置の大きさが

飲料自動販売機程度あり、本体質量は250 kg以上と人力では持ち上げられないものであった。しかし、Talaporfin sodiumと組み合わせて用いられる半導体レーザー装置は、質量14 kg、ビデオデッキ程度の大きさであり、一人でも持ち運べるサイズまで小型・軽量化された。また、消費電力も少なく、色素交換が不要でメンテナンスが容易といった特長もある。さらに、早期肺癌に対する有効性はPhotofrin[®]と同程度以上の成績が得られたのである。

これらの特長は臨床現場では非常に大きなベネフィットとなり得ると考え、Talaporfin sodiumと半導体レーザーを用いたPDTを悪性脳腫瘍の治療に適用することを目的に、我々は2001年から非臨床研究を開始、東京医科大学倫理委員会承認の後、2004年から臨床研究を開始した。

5. 非臨床研究から得られた重要な所見の要約

ラット脳腫瘍移植モデルにおいて、Talaporfin sodiumを用いた蛍光診断(Photodynamic diagnosis: PDD)及びPDTの抗腫瘍効果を検討した。その結果、PDDではTalaporfin sodiumの分布を示す蛍光強度と腫瘍細胞の密度に関連性がみられた。更にPDTでは腫瘍細胞の凝固壊死及びアポトーシスが誘発され、抗腫瘍効果も確認されたのである^{2,3)}。

6. 臨床研究から得られた重要な所見の要約

悪性脳腫瘍患者を対象として、腫瘍摘出手術におけるTalaporfin sodiumと半導体レーザー装置を用いたPDD及びPDTの有効性、安全性を検討することを目的とした臨床研究を実施した。

Talaporfin sodiumは早期肺癌の適応量と同じ $40\ \text{mg/m}^2$ 単回静脈内投与とした。手術にて開頭後、露出された脳に半導体レーザー装置を用いて664 nmのレーザー光を照射することによりPDDを実施し、腫瘍本体、正常脳への浸潤部、正常脳を同定した。また、腫瘍摘出を行った上で、機能野などに浸潤腫瘍が残存した場合あるいは残存が疑われた場合は、残存腫瘍組織に対してPDTを施行した。薬剤投与からレーザー照射までのインターバル時間については、3~24時間の条件を研究開始当初に検討し、その検討結果に基づき24時間を基本とした。PDT照射パワーについては早期肺癌適応と同一の $150\ \text{mW/cm}^2$ としたが、PDT照射エネルギー密度については、摘出した脳腫瘍組織を用いて27もしくは $100\ \text{J/cm}^2$ の条件を研究開始当初に検討し、その検討結果に基づき $27\ \text{J/cm}^2$ を基本とした。有効性の評価項目は、PDT施行例における腫瘍縮小効果、無増悪生存(PFS)、レーザー照射部位における増悪抑制、全生存(OS)とした。また、有害事象及び副作用の検討を行い、安全性を評価した。

膠芽腫を対象にPDTが施行された12例(初発4例、再発8例)の腫瘍縮小効果は、CR 2例、NC 2例、PD 4例、NE 4例であった。12例の6ヵ月PFS率は28.0%(95%信頼区

間：0.0%–70.3%)であったが、レーザー照射部位における6ヵ月増悪抑制率は77.8%(95%信頼区間：50.6%–100.0%)であり、12例中10例でレーザー照射部位には増悪を認めていない。また、OS期間中央値は9.0ヵ月であり、12ヵ月OS率は45.7%(95%信頼区間：1.8%–89.7%)であった。対象症例の多くが再発例であり、腫瘍がeloquent areaまたはその周辺部位に位置している治療困難な症例であったことを考慮すると、良好な成績と考えられた⁴⁵⁾。

現在までに悪性脳腫瘍を含む58例の脳腫瘍にTalaporfin sodiumを投与したが、有害事象によって死亡した症例はなかった。自覚症状・他覚所見に関する重篤な副作用として、麻痺、脳浮腫がそれぞれ1例認められた。また、臨床検査値に関する重篤な副作用はアラニン・アミノトランスフェラーゼ増加、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ増加、血中乳酸脱水素酵素増加の3件が1例に認められた。この1例は、Talaporfin sodium投与後に急性肝障害を発現し、PDDおよびPDTの実施を中止した。その他の重篤ではない副作用としては、嘔吐、発熱、肝障害、四肢痛、譫妄、アラニン・アミノトランスフェラーゼ増加、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ増加、血中乳酸脱水素酵素増加、 γ -グルタミルトランスフェラーゼ増加、血中アルカリホスファターゼ増加が数例で認められた⁴⁾。

7. 代表症例呈示

60歳男性。徐々に増強する頭痛と嘔気にて発症。しばらく経過観察したが、徐々に右半身の脱力感と失語症が出現したため、当科を受診した。頭部MRIにて左側頭葉前半部を占拠する腫瘍性病変を認めたため、膠芽腫の診断にてTalaporfin sodium 40 mg/m²を投与し、24時間後にPDD下に腫瘍を全摘出した。病理診断は膠芽腫であり、術後補助療法として局所放射線照射60 GyとTemozolomide内服を施行し、社会復帰した。しかし術後1年の時点で軽度の右半身麻痺を訴えたため頭部造影MRIを施行したところ、摘出腔最深部に再発を認めた。

再手術時もTalaporfin sodium 40 mg/m²を投与し、24時間後にPDDにて腫瘍を同定し、可及的摘出を施行した。(Fig. 1A)腫瘍の視神経(視索)および大脳脚への浸潤が確認されたため、運動神経モニタリング下に(Fig. 1B)、150 mW/cm²、27 J/cm²のPDTを施行(Fig. 1C)、photobleaching(蛍光の消失)を確認した時点で手術を終了した。(Fig. 1D)術後は明らかな運動麻痺は生じず独歩退院し、Temozolomideの内服維持療法を続けた。

Fig. 1 A: Identification of optimal PDT target on intra-operative navigation monitor (Cross point). B: During PDT, the amplitude of motor evoked potentials (MEP) had not diminished. C: Irradiation energy density of 27 J/cm² (power density 150 mW/cm², irradiation time 180 seconds) of 664 nm diode laser for PDT was irradiated superficially to one target of tumor bed. D: After PDT, photobleaching was demonstrated.

8. 考 察

ドイツ国内で施行された悪性脳腫瘍手術に対する、光感受性物質5-aminolevulinic acid (5-ALA)を用いた術中蛍光診断(PDD)による腫瘍摘出度向上と予後に関する第III相試験の結果⁶⁾によると、6ヵ月無増悪生存率が改善された(5-ALA: 41.0% vs White light: 21.1%, $p=0.0003$)ものの、生存期間の延長には至らなかった(5-ALA: 13.5 months vs White light: 15.2 months, $p=0.1$)。このことは、術中蛍光診断に基づく手術摘出の限界を示しており、局所浸潤腫瘍細胞の制御無くしては、悪性脳腫瘍の生命予後の改善は得られないことを改めて示す結果となった。

PDTの目的は、この浸潤腫瘍細胞を光化学反応にて選択的に傷害することである。具体的には、術前画像診断で確認し得る腫瘍本体を術中蛍光診断を用いて可及的に全摘出した後、摘出が困難な機能野へ浸潤した腫瘍細胞を、正常神経組織の損傷無く傷害する。PDTによる術中追加治療の有用性を評価するためには、腫瘍再発の制御とともに、神経機能の維持が、安全性という観点から求められるわけである。

PDTの作用機序は、光感受性物質と励起レーザー光が惹起する、singlet oxygen(一重項酸素)による組織障害活性に起因する。狭義のPDT概念では細胞レベルでの障害、すなわちapoptosisをその機序としたdirect damageをtargetとしたものであるが、多くの報告は腫瘍血管内皮の障害によるfibrin血栓形成に起因する血管閉塞がPDT障害の主機序であるとしている。特にTalaporfin sodiumと半導体レーザーを用いたPDTによって惹起される細胞障害はこのindirect damage、すなわち腫瘍血管閉塞による凝固壊死が主機序と考えられている。既に報告した我々の基礎実験系においても、C6 glioma組織はレーザー照射した腫瘍表面に近い部分では凝固壊死組織が、遠い部分では細胞死が生じていた。しかし実際の組織障害の面積比を考えれば、その80%に及ぶ部分が前者による組織障害であったのである。Yamamotoら⁷⁾は癌組織に対するPDT施行後、20秒以内に血管内皮細胞障害に起因するFactor XIIIの活性化が生じ、fibrin血栓が形成されるとされ、本機序がPDTのmain mechanismに他ならないと述べた。

前述した様に我々のstrategyは、PDDで認識される所謂tumor bulkを手術にて可及的に摘出し、重要な機能を有する部に進展する蛍光陽性組織に対してPDTを行うものである。PDTの血管障害性のみが前面に出てしまうと、正常脳組織へのdamageが生ずる可能性が高いものと思われる。Madsenら⁸⁾はPDT効果を左右する因子として、組織側の因子としての光感受性物質の組織内濃度、組織の酸素化の程度、レーザー照射部からの深度を、照射レーザー側の条件としての照射エネルギー、照射時間の設定をあげている。如何にしてvascular effectよりもcytotoxic effectを高められ、正常脳組織の障害を最小限に抑えられるかが、悪性gliomaの治療にPDTが参入し得る否かの鍵となるであろう。

今回の我々の方法論では、早期肺癌に対するPDTにおいて承認された照射パワーである150 mW/cm²を用いたが、薬剤の投与から24時間後という、血液中からのある程度のwash outが得られた時期を選択、さらに照射時間を抑えることにより、照射エネルギー27 J/cm²をPDT施行条件と設定した。12例という少ない経験であるが、この条件により術後の画像診断、神経症状の観察からもPDTによる直接的な有害事象を経験していない。CR 2例においては術前の神経症状の改善すら得られており、本PDT条件においては正常脳機能を損傷するリスクは少ないと思われた。しかしPDT施行条件に関しては十分検討を加えるべきと考えている。最近Bislandら⁹⁾が低doseの5-ALAを数時間に分けて投与したラット脳腫瘍モデルに対し、低doseの光照射を長時間かけて行ったところ、血管障害性壊死は全く生じず、浸潤部の腫瘍colonyにのみapoptosisを惹起できたと報告した。彼らの提唱するmetronomic PDTを臨床に応用する為には、植込み型のlaser probeなどのdeviceの開発が必要と思われる。理想的なPDTを施行するために今後も検討を重ねてゆきたい。

9. まとめ

PDTが物理化学的論理に基づいた治療戦略であることを理解していただけたものと思う。Stummerらも5-ALAを何とかPDTへ応用すべく非臨床研究を重ね、組織内レーザー照射による臨床治験を始めている¹⁰⁾。比較的小型の再発膠芽腫10例を対象とした、組織内PDT(633 nm, 100 J/cm²)の結果¹⁰⁾では、平均15ヵ月の生存期間が得られ、有害事象も経験しなかったという。この方法で56ヵ月のPFSが得られた再発膠芽腫症例を最近報告しており¹¹⁾、悪性gliomaに対するPDTの効果が現実味を帯びてきた。

現在、我々はレザフィリン[®]と半導体レーザーを用いた、悪性グリオーマに対するPDTの医師主導治験を開始しており、“日本発”の悪性グリオーマに対するPDTのevidenceを構築しつつある。レザフィリン[®]を励起するレーザー光は5-ALAの励起光よりも長波長(664 nm)であり、脳組織への進達度も理論的に高い。悪性グリオーマの浸潤先端をより深く傷害し得るという観点からも、我々のprotocolはStummerら以上の治療成果を示すものと信じている。

参考文献

- 1) C. B. Wilson: Glioblastoma: Clin. Neurosurg. **38** (1992) 32.
- 2) H. Matsumura, J. Akimoto, J. Haraoka, and K. Aizawa: Lasers Med. Sci. **23** (2008) 237.
- 3) H. Namatame, J. Akimoto, H. Matsumura, J. Haraoka, and K. Aizawa: PDPDT **5** (2008) 198.
- 4) 秋元 治朗, 深見 真二郎, 富田 丈博, 原岡 襄, 會沢 勝夫: 蛍光細胞診断システムの開発. 悪性グリオーマ手術への応用. 脳腫瘍の外科, 黒岩敏彦(編) (メデイカ出版2007) p.205.
- 5) 秋元 治朗, 深見 真二郎, 原岡 襄, 會沢 勝夫: 浸潤先端をターゲットとしたグリオーマの手術. 脳腫瘍の外科, 甲村英二(編) (メデイカ出版2008) p.8.

- 6) W. Stummer, A. Novotny, H. Stepp, C. Goetz, K. Bise, and H. J. Reulen: *Lancet Oncol.* **7** (2006) 392.
- 7) Y. Yamamoto, H. Shibuya, T. Okunaka, K. Aizawa, and H. Kato: *Lasers Med. Sci.* **14** (1999) 129.
- 8) S. J. Madsen, E. Angell-Petersen, S. Spetalen, S. W. Carper, S. A. Ziegler, and H. Hirschberg: *Lasers Surg. Med.* **38** (2006) 540.
- 9) S. A. Bisland, A. Lige, A. Lin, R. Rusnow, and B. C. Wilson: *Photochem. Photobiol.* **80** (2004) 22.
- 10) T. J. Beck, F. W. Kreth, W. Beyer, J. H. Mehrkens, A. Obermeier, H. Stepp, W. Stummer, and R. Baumgartner: *Lasers Surg. Med.* **39** (2007) 386.
- 11) W. Stummer, T. Beck, W. Beyer, J. H. Mehrkens, A. Obermeier, N. Etminan, H. Stepp, J. C. Tonn, R. Baumgartner, J. Herms, and F. W. Kreth: *J. Neurooncol.* **87** (2007) 103.

レーザーワード

第二世代光感受性物質(second generation photosensitizer)

Photodynamic therapy (PDT)は癌細胞に特異的に集積する光感受性物質(Photosensitizer: PS)と、特定波長のレーザー光の照射によって生ずる光化学反応により、癌細胞内に活性酸素が産生され、その毒性によって癌細胞選択的な細胞死を誘導し得る局所療法である。1979年にDoughertyらが乳癌皮膚転移例に対して、ヘマトポルフィリン誘導体(Hematoporphyrin derivatives: HpD)を用いて施行して以来、長い歴史を有する治療法である。しかし、初期に用いられたPSは癌細胞特異性の低さや代

謝時間の長さなどの問題点を有し、照射レーザー機器にも種々の問題点があったため、PDTの施行は一部の施設に限られていた。しかし1990年頃から5-ALA[®]、Visudyne[®]やLaserphyrin[®]など、初期のPSの欠点を克服し得る薬剤が開発され、レーザー機器の改良も相まって、PDT施行施設やその適応疾患も拡大しつつある。これらのPS開発とPDT発展の歴史を鑑み、初期のPSを第一世代、1990年以降に開発されたPSを第二世代と称している。

(秋元 治朗)