

学位授与番号：乙3087号

氏名：菰池 信彦

学位の種類：博士（医学）

学位授与日付：平成26年3月26日

学位論文名：

大腸炎起因性腫瘍性病変を有するマウスモデルにおける5-アミノレブリン酸を用いた光線力学的診断の有用性に関する検討

主論文名：

Photodynamic diagnosis of colitis-associated dysplasia in a mouse model after oral administration of 5-aminolevulinic acid.

（大腸炎起因性腫瘍性病変を有するマウスモデルにおける5-アミノレブリン酸を用いた光線力学的診断の有用性に関する検討）

学位審査委員長：教授 矢永勝彦

学位審査委員：教授 池上雅博 教授 相羽恵介

学 位 論 文 要 旨

論文提出者名	菰池 信彦 指導教授名 田尻 久雄
<p data-bbox="229 488 411 524">主論文題名</p> <p data-bbox="229 564 1359 645">Photodynamic diagnosis of colitis-associated dysplasia in a mouse model after oral administration of 5-aminolevulinic acid</p> <p data-bbox="376 721 1216 801">(大腸炎起因性腫瘍性病変を有するマウスモデルにおける 5-アミノレブリン酸を用いた光線力学的診断の有用性に関する検討)</p> <p data-bbox="552 869 1040 900">雑誌名: <i>In Vivo</i>. 2013; 27(6): 747-753.</p> <p data-bbox="229 945 1359 1133">潰瘍性大腸炎 (Ulcerative colitis; UC) 長期経過観察症例では腫瘍性病変検出のための surveillance として大腸内視鏡検査が重要である。しかし、大腸炎起因性腫瘍は通常の大腸癌の肉眼型や組織型とは異なることが多く、また、背景粘膜の炎症の残存や多彩な再生性変化のため、色素内視鏡観察を含めた画像強調内視鏡観察法を併用しても、その検出が非常に困難である。</p> <p data-bbox="229 1137 1359 1361">近年、脳神経外科や泌尿器科領域で、腫瘍親和性物質である 5-Aminolevulinic acid (5-ALA) を用いた光線力学的診断 (Photodynamic diagnosis; PDD) が臨床応用されている。5-ALA は生体内で蛍光発光性を有する protoporphyrin IX (PpIX) へと代謝され腫瘍組織に特異的に集積されることが知られており、これを蛍光内視鏡や蛍光顕微鏡で観察できれば腫瘍の検出や範囲診断の一助となり得ると期待されるが、消化管領域ではこの手法の有用性は未だ確立されていない。</p> <p data-bbox="229 1366 1359 1787">そこで、本研究では、ヒトでの 5-ALA を使用した内視鏡観察での診断の裏付けとなる検討を、動物モデルで行うことを目的とした。Apc^{Min/+}マウスは既に確立された系であるが、これに dextran sulfate sodium (DSS) を経口負荷すると大腸腫瘍性病変が発症することが知られている。この実験系に 5-ALA を負荷することで、5-ALA の代謝産物であり腫瘍細胞に特異的に蓄積される PpIX からの蛍光を詳細に観察した。5-ALA 投与後には、大腸粘膜側の肉眼的観察で、腫瘍辺縁に輪状の強い赤色蛍光シグナルが観察され、腫瘍内部では弱い赤色蛍光シグナルが観察された。これらは、光スペクトル波長分析装置では PpIX に特徴的な 635nm であり、同部位の PpIX の集積が証明された。一方で、腫瘍部の免疫組織化学的検索を含めた病理学的所見からは、腫瘍は low~high grade dysplasia と診断され、粘膜筋板以深には浸潤は認めず、ヒト UC での dysplasia と相関性があると考えられた。腫瘍辺縁部は漿膜側からの観察でも粘膜側からの透過光を観察し得るほどの強い蛍光シグナルを発していた。</p> <p data-bbox="229 1792 1359 2016">他臓器の検討でも腫瘍辺縁に PpIX が集積する傾向があることは以前から報告があり、いくつかの推論が検討されてきたが、その理由はいまだ解明されていない。本研究は、大腸炎起因性大腸腫瘍の動物モデルにおいて、5-ALA 投与による蛍光を肉眼的および病理学的に検討した初めての研究であり、ヒト UC 長期罹患症例で surveillance での内視鏡観察に十分に応用可能であり、5-ALA を用いた光線力学的診断は surveillance における腫瘍組織検出の方法として期待のできる手法と考えられた。</p>	

論文審査の結果の要旨

菰池信彦氏の学位請求論文は主論文 1 編 1 冊よりなり、主論文は ‘Photodynamic Diagnosis of Colitis-associated Dysplasia in a Mouse Model after Oral Administration of 5-Aminolevulinic Acid’ (大腸炎起因性腫瘍性病変を有するマウスモデルにおける 5-アミノレブリン酸を用いた光線力学的診断の有用性に関する検討) と題するもので、in vivo 誌に 2013 年に掲載されています。同雑誌の Impact Factor は 1.264 です。指導教授は消化器肝臓内科の田尻久雄教授です。ここでは論文の内容を中心に、研究内容の要旨を説明いたします。

潰瘍性大腸炎 (Ulcerative colitis; UC) の長期経過例には大腸癌が合併しやすく、海外のメタアナリシスでは累積発癌率が 30 年で 18% と報告されています。したがって UC 患者の大腸の腫瘍性病変の検出には大腸内視鏡検査による surveillance が重要です。しかし、UC における大腸炎起因性腫瘍は通常の大腸癌の肉眼型や組織型とは異なることが多く、また、背景粘膜の炎症の残存や多彩な再生性変化のため、色素内視鏡観察を含めた画像強調内視鏡観察法を駆使しても、その検出は容易ではありません。

近年、脳神経外科や泌尿器科領域で、腫瘍親和性物質である 5-Aminolevulinic acid (5-ALA) を用いた光線力学的診断 (Photodynamic diagnosis; PDD) が臨床応用されています。5-ALA は生体内で蛍光発光性を有する protoporphyrin IX (PpIX) へと代謝され、腫瘍組織に特異的に集積されることが知られており、これを蛍光内視鏡や蛍光顕微鏡で観察できれば腫瘍の検出や範囲診断の一助となり得ると期待されます。菰池氏は同手法が消化管領域で未だ確立されていないことに着目し、5-ALA を使用した蛍光内視鏡診断の有用性を動物モデルで検討しました。

方法ですが、dextran sulfate sodium (DSS) を経口負荷することで大腸腫瘍性病変が発症する Apc Min/+マウスのモデルを使用しました。そしてこの実験系に 5-ALA を負荷し、大腸標本において 5-ALA の代謝産物であり腫瘍細胞に特異的に蓄積される PpIXからの蛍光を詳細に観察しました。

結果ですが、5-ALA 投与後の同モデルの大腸粘膜側の肉眼的観察で、腫瘍辺縁では輪状の強い赤色蛍光シグナルが、また腫瘍内部では弱い赤色蛍光シグナルが観察されました。これらは、光スペクトル波長分析装置では PpIXに特徴的な 635nm であり、同部位への PpIXの集積が証明されました。一方、腫瘍部の免疫組織化学的検索を含めた病理学的所見からは、腫瘍は low~high grade dysplasia と診断され、粘膜筋板以深には浸潤は認めず、ヒト UC 患者の大腸の dysplasia と相同性があると考えられました。また腫瘍辺縁部は漿膜側からの観察でも粘膜側からの透過光を観察し得るほどの強い蛍光シグナルを発していました。

過去における他臓器の検討でも腫瘍辺縁に PpIXが集積する傾向が報告されておりますが、その理由はいまだ解明されていません。本研究は、大腸炎起因性大腸腫瘍の動物モデルにおいて、5-ALA 投与による蛍光を肉眼的および病理学的に検討した初めての研究であり、

菰池氏は 5-ALA を用いた大腸の光線力学的診断は同手法がヒト UC 長期罹患症例における内視鏡観察に十分に応用可能であり、また UC 患者の大腸 surveillance における腫瘍組織検出手段として期待のできる手法と結論付けました。また学位審査会では、主論文には掲載されていない臨床例における知見の一部が紹介されました。

以上の趣旨の研究結果の論文に対し、平成 26 年 3 月 11 日に田尻教授ご臨席の下、腫瘍・血液内科の相羽恵介教授、病理学の池上雅博教授と共に公開審査会を開催いたしました。審査では菰池氏のプレゼンテーションの後、各審査委員より、5-ALA の組織障害性、代謝速度、5-ALA の代謝産物 PpIX の組織特異性、臨床の UC と本マウスモデルの相違点、DSS の腫瘍発生のメカニズムあるいは炎症惹起性、5-ALA が PpIX に変換される部位、5-ALA 投与ルートによる蛍光発現の差異、腫瘍の辺縁に強い蛍光シグナルが出る原因、マウスモデルでの大腸標本観察と臨床例での管腔観察の相違点、蛍光内視鏡の技術進歩とコントラストの問題、蛍光物質の開発、臨床例における感触など、多くの質問がなされました。これらに対し、菰池氏は適切に回答いたしました。

相羽、池上両教授と慎重審議の結果、本委員会としては学位請求論文として十分な価値があるものと認定いたしました。