

氏名	<small>なかむら たいげん</small> 中村 太源
学位の種類	博士 (医学)
学位授与年月日	平成 24 年 3 月 27 日
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1 項
研究科専攻	東北大学大学院医学系研究科 (博士課程) 医科学専攻
学位論文題目	脳局所化学療法による一過性血液脳関門透過性亢進の解析及びそれによる全身化学療法の治療効果促進
論文審査委員	主査 教授 富永 悌二 教授 青木 正志 教授 中里 信和

論文内容要旨

悪性脳腫瘍の化学療法は、血液脳関門、血液腫瘍関門の存在のために全身投与した薬剤のごく一部しか腫瘍組織へ到達することができず、その効果が限られてきた。この問題を克服する方法として局所投薬も古くより研究されてきたが、薬剤拡散に限られるなどの理由により有効性を示すに至らなかった。しかし、近年、抗癌剤カルムスチン徐放性製剤であるカルムスチンウェハー (グリアデル®) の手術時摘出腔内留置による悪性神経膠腫の局所化学療法の有効性が確認され、局所投薬の有効性が改めて見直されるようになった。

このような背景を受けて東北大学脳神経外科では近年、対流強化輸送 (Convection-enhanced delivery: CED)法を用いた抗癌剤局所投与による悪性神経膠腫の新規治療法開発を目指して研究を進めてきた。この方法は薬剤を微量注入ポンプを用いて持続陽圧下に直接脳内に局所注入し、血液脳関門を介さずに脳実質内に投与薬剤を広く分布させることが可能な新規薬剤脳内局所投与法である。脳腫瘍に対して塩酸ニムスチンを CED 法で投与する治療効果をラット脳腫瘍モデルを用いて示し、さらにこの塩酸ニムスチンの CED 法による投与に化学療法薬テモゾロミドの全身投与を併用することによる相乗効果を同様にラット脳腫瘍モデルで示した。今回、私は CED 法による局所化学療法後に投与局所に起こる血液脳関門透過性の変化を解析するとともに、その変化を応用した全身化学療法併用効果の促進を目標として本研究を実施した。

実験方法としては、最初に正常ラット脳に抗癌剤塩酸ニムスチン (ACNU) を CED 法で局所投与した際の局所に起きる変化を、特に投与後の血液脳関門の透過性に注目して検討した。局所投与する塩酸ニムスチンの濃度は、私たちのグループがこれまでに報告してきた脳組織障害を起こさない最大許容濃度である 1mg/ml に設定した。塩酸ニムスチンの CED 投与を受けたラットに経時的に 2%エバンスブルーを尾静脈より投与し、脳内への漏出量を蛍光顕微鏡および吸光計を用いて定性お

よび定量評価した。また、ラットの脳腫瘍モデルを作成し、塩酸ニムスチンとコントロールとして PBS をそれぞれ CED 法により局所投与し、ドキソルビシン内包リポソーム（ドキシル®；ドキソルビシン塩酸塩リポソーム製剤）の全身投与を併用した際の脳腫瘍内への漏出について蛍光顕微鏡を用いて定性的に比較評価した。最後にラット脳腫瘍モデルに塩酸ニムスチンの CED 法による投与とドキソルビシン内包リポソームの全身投与を様々な投与スケジュールで併用し、生存試験によりその抗腫瘍効果の違いを比較検討した。

塩酸ニムスチンの CED 法による投与後のエバンスブルーの漏出については、定性評価、定量評価ともに局所投与の 7 日から 12 日頃に漏出のピークを認め、その後は次第に減少していく様子が確認された。また、脳腫瘍モデルを用いた研究では、塩酸ニムスチンの CED 投与 7 日後にドキソルビシン内包リポソームを尾静脈投与すると、ドキソルビシン内包リポソームが多量に腫瘍内に分布することが示された。生存試験では、ドキソルビシン内包リポソームの尾静脈投与群では、コントロールと生存に差を認めず ($p = 0.26$)、塩酸ニムスチンの CED 投与群では、我々のこれまでの報告通りにコントロールに比べ生存期間の有意な延長を認めた ($p = 0.017$)。しかし、塩酸ニムスチンの投与後の血液脳関門の透過性亢進時期にドキソルビシン内包リポソームの尾静脈投与を追加した群では、塩酸ニムスチンの CED 法による投与のみで治療した場合に比べて更に生存期間の延長が得られた ($p = 0.003$)。一方でドキソルビシン内包リポソームの尾静脈投与を先行させてから塩酸ニムスチンの投与を追加した群では、コントロールと生存に差を認めなかった ($p = 0.27$)。

以上の結果から、塩酸ニムスチンの CED を行った 7-12 日後に血液脳関門を介して脳実質内への漏出が起これ、この時期に全身化学療法を追加することで治療成績の向上が得られることが示された。

本研究では、脳実質に薬剤を局所投与することで、その投与局所に一時的な血液脳関門の透過性亢進が生じることを発見し、報告した。さらには、この時期に合わせて全身化学療法を併用することの有効性も示した。本研究が、神経膠腫の化学療法に対して新たな可能性を広げるものと期待される。

審査結果の要旨

博士論文題目 脳局所化学療法による一過性血液脳関門透過性亢進の解析及びそれによる
全身化学療法の治療効果促進

所属専攻・分野名 医科学専攻 ・ 神経外科学分野

学籍番号 _____ 氏名 中村 太源

悪性脳腫瘍の化学療法は、血液脳関門、血液腫瘍関門の存在のために全身投与した薬剤のごく一部しか腫瘍組織へ到達することができず、その効果が限られてきた。東北大学脳神経外科では近年、Convection-enhanced delivery (CED)法を用いた抗癌剤局所投与に関する研究を進めてきた。この方法は薬剤を微量注入ポンプを用いて持続陽圧下に直接脳内に局所注入し、血液脳関門を介さずに脳実質内に投与薬剤を広く分布させる新規薬剤脳内局所投与方法である。今回、私はCED法による局所化学療法後に投与局所に起こる血液脳関門透過性の変化を解析するとともに、その変化を応用した全身化学療法併用効果の促進を目標として本研究を実施した。

実験方法は、最初に正常ラット脳に抗癌剤塩酸ニムスチン(ACNU)をCED法で局所投与した際の局所に起きる変化を、投与後の血液脳関門の透過性に注目して検討した。局所投与する塩酸ニムスチン濃度は、脳組織障害を起こさない最大許容濃度である1mg/mlに設定した。塩酸ニムスチンのCED投与を受けたラットに経時的にエバンスブルー色素を尾静脈投与し、脳内への漏出量を蛍光顕微鏡および吸光計を用いて定性および定量評価した。また、ラットの脳腫瘍モデルを作成し、塩酸ニムスチンとPBSをそれぞれCED投与し、ドキシソルビシン内包リポソームの全身投与を併用した際の脳腫瘍内への漏出について蛍光顕微鏡を用いて定性的に比較評価した。最後にラット脳腫瘍モデルに塩酸ニムスチンのCED法による投与とドキシソルビシン内包リポソームの全身投与を様々な投与スケジュールで併用し、生存試験によりその抗腫瘍効果の違いを比較検討した。塩酸ニムスチンのCED後の色素漏出については、局所投与の7日から12日頃に漏出のピークを認め、その後は次第に減少していく様子が確認された。また、脳腫瘍モデルを用いて塩酸ニムスチンのCED投与7日後にドキシソルビシン内包リポソームを尾静脈投与すると、多量に腫瘍内に分布することが示された。生存試験では、塩酸ニムスチンのCED投与群はコントロールに比べ生存期間の有意な延長を認めた。しかし、塩酸ニムスチンの投与後の血液脳関門の透過性亢進時期にドキシソルビシン内包リポソームの尾静脈投与を追加した群では、塩酸ニムスチンのCED投与のみで治療した場合に比べて更に生存期間の延長が得られた。

以上の結果から、塩酸ニムスチンのCEDを行った7-12日後に血液脳関門を介して脳実質内への漏出が起こり、この時期に全身化学療法を追加することで治療成績の向上が得られることを示した。本研究では、脳実質に薬剤を局所投与することで、その投与局所に一時的な血液脳関門の透過性亢進が生じることを発見し、さらには、この時期に合わせて全身化学療法を併用することの有効性も示した。

よって、本論文は博士(医学)の学位論文として合格と認める。