

# 学位論文要約

Protoporphyrinogen oxidase is involved in the fluorescence intensity of 5-aminolevulinic acid-mediated laser-based photodynamic endoscopic diagnosis for early gastric cancer

(早期胃癌に対する5-アミノレブリン酸を用いたレーザー光線力学的内視鏡診断の蛍光強度にはprotoporphyrinogen oxidaseが関連する)

光線力学的診断(photodynamic diagnosis:PDD)は腫瘍細胞特異的なポルフィリン代謝を可視化することで、腫瘍の局在を診断する分子イメージング法である。5-aminolevulinic acid(5-ALA)は細胞内で代謝され、腫瘍特異的にprotoporphyrin IX(PpIX)が集積する。PpIXは410 nm波長の青紫色レーザーを照射すると、635 nm波長付近の赤色蛍光を発する特性がある。レーザー光線力学的内視鏡診断(laser-based photodynamic endoscopic diagnosis:LPDED)は、PDDを応用した内視鏡診断である。著者らは以前、5-ALAを用いた上部消化管腫瘍に対するLPDEDの有用性と、その蛍光性にはoligopeptide transporter-1(PEPT-1)とcoproporphyrinogen oxidase(CPOX)が関連していることを報告した。PpIXの合成には直前の反応を触媒するprotoporphyrinogen oxidase(PPOX)が重要な役割を果たすが、これまで同酵素の発現とLPDEDの蛍光性との関連を検討した報告はない。今回、胃腫瘍における5-ALAを用いたLPDEDの蛍光性と臨床病理学的特徴の関連を明らかにし、PPOXの発現との関連性を検討した。また、著者らが以前検討したCPOXとの関連性について検討した。

## 方 法

胃腫瘍30例33病変を対象に、臨床病理学的特徴とLPDEDの有用性を検討した。検討項目は年齢、性別、組織型、部位、肉眼型、腫瘍径、深達度、ステージとした。20 mg/kgの5-ALAを経口投与し、3~6時間後に臨床研究試作機器Sie-P1で胃腫瘍の蛍光性を確認した。光線過敏症を予防するために、5-ALA内服後24時間は500 lux以下に遮光した。症例毎に5-ALAあるいはLPDEDに関連する有害事象を確認した。切除後検体を用いてPPOXの発現を免疫組織学的に検討した。さらに臨床病理学的特徴とPPOX発現の関連性をより明確にするため、外科切除が施行された胃癌75例の切除標本を用いて、PPOXとCPOXの発現を免疫組織学的に検討した。周囲の非腫瘍組織と比較して染色の程度を0~2にスコア化した。臨床病理学的特徴はt検定あるいは $\chi^2$ 検定で評価し、SPSSを用いて多変量解析を実施した。p値が0.05以下

を有意差ありとした。また、PPOXとCPOX発現の関連性はクラメール連関係数を用いて解析した。クラメール連関係数が0.25以上を関連性ありとした。

## 結 果

周囲の非腫瘍部と比較して、腫瘍部で赤色蛍光を確認できた症例をLPDED陽性とした。78.8%(26/33)の胃腫瘍でLPDED陽性であった。有害事象は軽度の嘔気を1例に認めた。解析の結果、組織型とLPDEDの蛍光性に明らかな関連性を認めた。すなわち、印環細胞癌では全例でLPDEDが陰性であった。組織型毎にPPOX発現のスコアを平均値化し比較検討したところ、有意な差を認めた。さらに、外科切除された75例の検体を用いてPPOXの発現を検討したところ、組織型(高分化型腺癌、低分化型腺癌、印環細胞癌の3群)によりPPOX発現に有意な差が確認された。また、外科切除された75例の同検体を用いてCPOX発現を検討したところ、同様に組織型毎に有意な差を認めた。PPOXとCPOX発現のクラメール連関係数は0.457であった。

## 考 察

先行研究では上部消化管腫瘍患者の11.4%で過去3年以内の上部消化管内視鏡検査において腫瘍の見逃しがあったと報告されており、見逃し率は低くない。胃癌の拾い上げの補助となり得る、より客観的な診断法の開発が望まれており、LPDEDがその一つとなる可能性がある。本研究では管状腺癌の89.7%で腫瘍の赤色蛍光を確認でき、有害事象は嘔気が1例のみであり、有用で安全な診断法と考える。しかし、印環細胞癌で蛍光性を確認できないことが課題である。印環細胞癌はほとんどの場合、粘膜下層に深く浸潤し粘膜内癌はまれであるため、LPDEDで視認できない可能性がある。著者らは、LPDEDが施行された管状腺癌は印環細胞癌と比較してCPOXとPPOXの発現が高いことを確認した。そこで著者らは外科切除が施行された胃癌検体を用いてCPOXとPPOXの発現を確認し、組織型と両酵素の発現の関連性を確認した。また、CPOXとPPOXの発現に関連性を認めた。CPOXとPPOXの直接の関連性は不明であるが、ミトコンドリア内でPpIXが合成される直前と二つ前の化学反応を触媒する二つの酵素が、PpIX集積に関連している可能性がある。

## 結 論

CPOXとPPOXの発現がLPDEDの蛍光性に関与していることが示唆された。