

ふりがな氏名	さい しんごう 崔 晋豪
学位の種類	博士（歯学）
学位記番号	甲 第 977 号
学位授与の日付	令和 6 年 3 月 1 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項に該当
学位論文題目	Effectiveness of near-infrared light photodynamic therapy on oral cancer cells (口腔癌細胞に対する近赤外光光線力学療法の有効性)
学位論文掲載誌	Journal of Osaka Dental University 第 58 巻 第 1 号 令和 6 年 4 月
論文調査委員	主 査 富永 和也 教授 副 査 井関 富雄 教授 副 査 竹信 俊彦 教授

論文内容要旨

口腔癌に対する治療は、化学療法と放射線療法とに外科手術を組合せたものが一般的で、治療後の 5 年生存率は 50%以下、患者の QOL に強い影響を与える場合が多い。光線力学的療法（PDT）は、腫瘍や歯周病等を診断、治療する新しい手法である。PDT における癌治療のメカニズムは、光源と光増感剤の組合せによって活性酸素（ROS）を発生させ、一連の酸化ストレス反応を引き起こすことで癌細胞を死滅させるというものである。本研究では、光増感剤 Chlorine e6（Ce6）とアップコンバージョンナノ粒子 NaYF₄:Yb/Er（UCNPs）を併用し、近赤外光線力学的療法（NIR-PDT）が口腔癌細胞に対して治療効果があるかどうか、またその作用機序を検討した。

MTT assay を使用して、Ce6 と UCNPs との適切な濃度の組合せを決定した後、ヒト扁平上皮癌細胞（HSC-3）を Ce6 と UCNPs とを添加後に NIR-PDT で処理した。MTT assay、生細胞および死細胞染色によって細胞の増殖と生死を、FITC-Annexin V/PI assay によってアポトーシスの有無を、さらに細胞内一重項酸素および活性酸素（ROS）の発生について観察した。その結果、0.5 ng/μl Ce6 および 0.1 ng/μl UCNPs を添加後に NIR-PDT を行くと、HSC-3 の増殖を阻害し、細胞内一重項酸素および ROS が増加して、アポトーシスが観察された。

以上から、Ce6 を 0.5 ng/μl および UCNPs を 0.1 ng/μl 添加後に NIR-PDT を行えば、HSC-3 の増殖を抑制し、アポトーシスを誘導することが示唆される。

論文審査結果要旨

歯科用デンタルレーザーは、約 980nm の波長を励起するものが多い。しかし、この光線力で癌細胞を死滅させることは困難である。本研究は、約 980nm という近赤外光（NIR）を用いた光線力学的療

法（PDT）で口腔癌細胞に対して治療効果を示す方法、またその作用機序について観察している。なお、本研究で使用した培養細胞はヒト口腔扁平上皮癌細胞株 HSC-3、光増感剤は Chlorin e6（Ce6）およびアップコンバージョンナノ粒子は $\text{NaYF}_4\text{:Yb/Er}$ （UCNPs）である。

まず、Ce6 と UCNPs とが HSC-3 に細胞毒性を示さない濃度を MTT assay によって、それぞれ決定し、Ce6 と UCNPs との適切な濃度の組合せを決定し、これらの濃度で NIR-PDT を行っている。また、HSC-3 細胞内に蓄積される Ce6 濃度を計測することで細胞内取り込み時間を観察している。さらにレーザー光の強さに関しては、Ce6 と UCNPs とを加えた条件で細胞を培養し、種々の強度のレーザー光を照射して細胞死の量を測定している。上記によって決定した条件で、MTT assay、生細胞および死細胞染色によって細胞の増殖と生死を、FITC-Annexin V/PI assay によってアポトーシスの有無を、さらに細胞内一重項酸素および活性酸素（ROS）の発生について観察している。

その結果、 $0.5\text{ng}/\mu\text{L}$ の Ce6 および $0.1\text{ng}/\mu\text{L}$ の UCNPs が細胞毒性の少ない適切な濃度であること、HSC-3 は Ce6 を経時的に取り込むが、3 時間後の取り込み量が最も多いこと、Ce6 と UCNPs とを加えて $0.5\sim 1.5\text{W}$ の各レーザー光を照射すると、細胞死を示すものの有意差が無いため、最小出力の 0.5W に統一し、研究を行っていること、そして $0.5\text{ng}/\mu\text{L}$ の Ce6 および $0.1\text{ng}/\mu\text{L}$ の UCNPs 各濃度含有培地に交換し、3 時間後に 0.5W の光強度で NIR-PDT を行くと、細胞内一重項酸素および活性酸素が発生し、ミトコンドリア膜電位が変化し、アポトーシスが誘導されること、さらに細胞膜の損傷が増加していることから、ネクローシスを引き起こすことを示唆している。すなわち、Ce6 と UCNPs とを併用することで、NIR-PDT によって HSC-3 の増殖を抑制し、アポトーシスを誘導することを明らかにした。

以上、光増感剤とアップコンバージョンナノ粒子とを併用することで、近赤外光による光線力学的療法が口腔癌細胞に対して有効で、活性酸素を発生させ、アポトーシスを誘導することを証明した点において、本論文は博士（歯学）の学位を授与するに値すると判定した。