

原文題目(出處):	Photodynamic therapy with mono-L-aspartyl chlorin e6 can cause necrosis of squamous cell carcinoma of tongue: Experimental study on an animal model of nude mouse Oral Oncol (2006) 42, 46-50
原文作者姓名:	Kobayashi W, Liu Q, Nakagawa H, Sakaki H, Teh BW, Matsumiya T, Yoshida H, Imaizumi T, Satoh K, Kimur H
通訊作者學校:	Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Hirosaki University
報告者姓名(組別):	R2 陳靜怡
報告日期:	96.01.23

內文:

Summary

前言: Mono-L-aspartyl chlorin e6 (NPe6) 為一種有效的 photosensitizer, 主要的absorption band為 664 nm。NPe6 具有可開發作為photodynamic therapy (PDT) 的潛力, 而且不會造成正常皮膚prolonged photosensitization的副作用。然而, 直到現在並沒有NPe6應用於口腔癌症的臨床與實驗報告。

目的: 在本篇報告中, 作者應用diode laser治療nude mice舌癌的方法來研究NPe6-induced PDT 的效能。

方法: 在六隻有experimental tongue cancer (HSC-3)的nude mice身上以靜脈注射方式給予10 mg/kg NPe6, 兩小時後再以laser diode(light dose : 100j/cm², wavelength : 664nm)進行PDT。

結果: PDT治療後42-72小時, 對腫瘤進行組織檢查發現幾乎所有的腫瘤都產生壞死現象, 部分實驗案例還有存活的腫瘤細胞在腫瘤的周圍區域。產生壞死的平均深度為2.1 mm, 腫瘤的平均厚度為2.3 mm, 兩個數據相符。NPe6-induced PDT 具有tumor selectivity 並且能有效地使舌癌腫瘤產生壞死, 這個療法被建議可用於治療其他表淺的口腔癌。

Introduction

Photodynamic therapy (PDT) for tumor ablation 在治療表淺癌症是有效的, 無庸置疑, 皮膚與口腔癌症比其他病變更適合PDT。PDT是一種結合全身性給予photosensitizer與局部non-thermal light的療法, 因此PDT的進步有賴於photosensitizer與light source的發展。一些photosensitizer目前已經開始應用於口腔癌的臨床治療, 包括dihaematoporphyrin (Photofrin)、5-aminolaevulinic acid (ALA) and meta tetrahydroxy phenyl chlorin (mTHPC), 它們對口腔癌與癌前病變的效用已有臨床與實驗的報告。Mono-L-aspartyl chlorin e6 (NPe6) 為一種有效的 photosensitizer, 主要的absorption band為664 nm並具有可開發作為photodynamic therapy (PDT) 的潛力。他的優點為不會造成正常皮膚prolonged photosensitization的副作用。NPe6-induced PDT 對其他腫瘤(例如fibrosarcoma)的效果曾被研究, 但直到現在才被應用在口腔癌的臨床與實驗性研究。本報告中, 作者以nude mouse為animal model, 研究NPe6-induced PDT 對舌頭鱗狀上皮癌的效果。

Materials and methods

1. Animal model of tongue cancer

Animal model : 6隻BALB/c nude mice

(1) 性別: female; (2) 年齡: 4-week-old; (3) 重量: between 15 and 20 g

Cell line of Tongue cancer : HSC-3(human oral squamous cell carcinoma),

(1) 培養(culture): in MEM supplemented with 10% FBS and antibiotics and antimycotics.

(2) 細胞懸浮液(cell suspension): 5x10⁶ cells/ml in Hanks' balanced salt solution (HBSS).

(3) 注射(injection): 以27-gauge needle將0.02 ml cell suspension (1x 10⁵ cells)注射至nude mice右舌側緣,

(4) 腫瘤: 過三星期腫瘤長到約直徑4-5 mm後進行實驗 (Fig. 1).

2. PDT for the tongue cancer of the mice

在乙醚吸入式麻醉下, 以10 mg/kg的劑量由nude mice的tail vein靜脈注射NPe6. 兩小時後再以laser diode (light dose : 100j/cm², wavelength : 664nm)進行PDT。

3. PDT對舌癌效果的評估: 組織切片檢查

(1) 實驗老鼠在PDT治療後42-72小時, 給予過量乙醚殺死後, 切除腫瘤與舌頭組織, 以10% neutral buffered formalin 固定, 然後脫水、包埋成蠟塊, 再以5 μm 厚度切片進行H&E染色。

(2)在eyepiece graticule的協助下，測量腫瘤厚度與壞死組織的深度。壞死組織深度的定義：舌頭表面黏膜向下測量至壞死組織最深點。

4.統計：腫瘤厚度與壞死組織深度的關係以the test of Pearson's correlation coefficient進行分析。

Results

1. Gross appearance

PDT之後，腫瘤表面出現潰瘍病變。未作PDT的控制組，腫瘤由黏膜表面侵犯至舌頭中心 (Fig. 2)。

2. PDT with NPe6的效果 — 使舌鱗狀上皮癌發生壞死

3. 腫瘤厚度

(1) 範圍 -- 1.45 mm ~ 4.0 mm below the surface

(2) 平均值 -- 2.3 mm (SD = 1.23)

4. 組織病理變化

(1) 表面被amorphous eosinophilic fibrinopurulent slough所取代

(2) 壞死區域由黏膜表面延伸至腫瘤底部 (Fig. 3)

(3) 腫瘤大部分區域都呈現壞死，但部份cases在腫瘤週遭區域仍有 viable-like neoplastic cells (Fig. 4).

(4) 所有的cases都有小血管內皮層受傷的特徵，包括hemorrhage, thrombosis and fibrous exudation (Fig. 5).

5. 壞死組織的深度

(1) 範圍 -- 1.1 mm ~ 4.0 mm below the surface

(2) 平均值 -- 2.1 mm (SD = 1.02)

6. 腫瘤厚度與壞死組織深度的關係 - 兩者相符僅一個case除外 (Pearson's correlation coefficient: 0.957, $p = 0.001$) (Fig. 6)

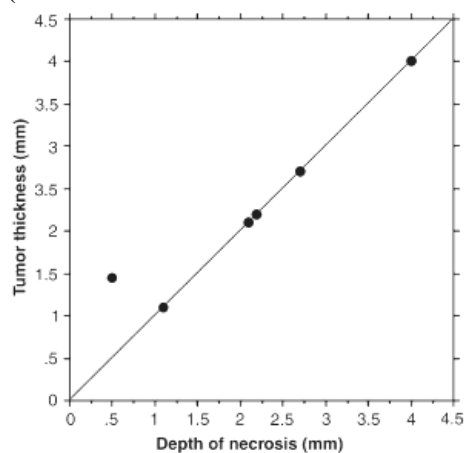


Figure 6 The test of Pearson's correlation coefficient between necrosis depth and tumor thickness. Tumor thickness coincides with the depth of necrosis completely except one case. Pearson's correlation coefficient: 0.957, $p = 0.001$.

Discussion

1. hematoporphyrin 衍生物對惡性組織所造成的選擇性光退化作用 (selective photodegradation) 已被證明在癌症治療方面是一種可期待的新物理療法。PDT的效果已被認可，Photofrin 則是臨床癌症治療上最常被使用的 photosensitizer NPe6是PDT的 photosensitizers 其中的一種，對數種癌症的實驗模組 (experimental model)都是有效的介媒 (mediator)，例如fibrosarcoma，本篇報告則是第一篇探討NPe6在tongue SCC動物模組之效果的研究。

2. 與其他photosensitizers比較

本篇研究結果顯示NPe6-induced PDT對口腔癌的治療有類似的傑出效果。

(1) 5-ALAinduced PDT for oral cancer

- A. 壞死組織深度 -- 0.2 ~ 0.6 mm (mean 0.4 mm)
- B. 壞死深度不足以完全移除腫瘤，不適用於口腔癌的治療
- C. 可能較適合治療表淺的癌前病變
- (2) photofrin-induced PDT for oral cancer (Grant et al)
- A. 壞死組織深度 - 1.1 ~ 4.1 mm (mean 2.1 mm)
- (3) NPe6-induced PDT for oral cancer (this study)
- A. 壞死組織深度 - 1.1 ~ 4.0 mm (mean 2.1 mm)
- B. NPe6與photofrin有幾乎相同的效果
3. 優缺點
- (1) 會造成藥物引起的陽光敏感(drug-induced sensitivity to sunlight) 可能的症狀由輕微紅腫到廣泛的皮膚受損壞死都有可能。
- (2) 理想的photosensitizer 應避免造成正常皮膚暴露於陽光下後產生有害反應。
- (3) 5-ALA 的主要優點在於即使在全身性使用後，表皮的光敏感性只會持續1-2天，但治療效果不佳；數種photosensitizers, ex: photofrin, 可存在皮膚中數個星期造成對光敏感，雖然他們具有較好的PDT效果。
- (4) Nelson et al的報告顯示接受NPe6 (10 mg/kg) and 100-1000 J/cm²的光對動物不會產生有害的副作用，反之對HpD的動物則會產生水泡與隨後造成的皮膚脫皮及壞死反應。
- (5) NPe6-induced PDT 的主要優點
- A. 不具有皮膚photosensitivity
- B. 最少的副作用
4. Tissue selectivity
- 與腫瘤壞死以及藥物引起的對陽光敏感有關。ALA已被證實具有腫瘤選擇性而photofrin則沒有。不具有皮膚photosensitivity以及壞死深度與腫瘤厚度相同這兩點顯示NPe6具有腫瘤選擇性
5. Laser irradiation
- 常用於PDT的雷射種類如下
- (1) argon-dye laser; (2) excimer-dye laser; (3) gold vapor laser
- 若要廣泛使用上述儀器都太貴，Katumi et al. 發展出一種高能量、連續波(high-power, continuous-wave)的新雷射系統使用red diode laser，波長為664 nm and 輸出能量為50-500 mW/cm²。這個系統比其他系統定、較小也較便宜。本研究及使用此系統。

Conclusion

本篇研究顯示NPe6-induced PDT by a diode laser能有效地使nude mice的舌癌腫瘤產生壞死，壞死組織可達一定深度而且缺乏對陽光的敏感度，這顯示NPe6-induced PDT可應用於表淺癌症的臨床治療。

題號	題目
1	下列gene何者與squamous cell carcinoma較無關聯? (A) ras (B) E-cadherin (C) cerbB (D) PTCH
答案(D)	出處：Oral and maxillofacial pathology, Neville, p297
題號	題目
2	關於SCC的分期與預後，下列何者錯誤? (A) T4表示tumor size大於4公分 (B) N2b表示對側有一個以上positive的lymph nodes (C) Histopathological grading與臨床行為有某種程度的關聯 (D) 腫瘤的位置會影響預後
答案(B)	出處：Oral and maxillofacial pathology, Neville, p302