低出力半導体レーザーを用いた光線力学的治療の基礎的検討

黒木雅彦、田尻久雄、林 琢也、小林正彦、永尾重昭、
宮原 透、荒井 恒憲、菊地 眞、丹羽 寛文、
防衛医科大学校第2内科、同 医用電子工学

Basic Study of Photodynamic Therapy Using a Low Power Semiconductor Laser
Masahiko Kuroki, Hisao Tajiri, Takuya Hayashi, Masahiko Kobayashi, Shigeaki Nagao,
Toru Miyahara, Tunenori Arai*, Makoto Kikuchi*, Hirohumi Niwa

The Second Department of Internal Medicine and Medical Engineering*,
National Defense Medical College, School of Medicine

To clarify the mechanism of photodynamic therapy(PDT) using ATX-70(Gallium porphyrin complex) and a pulsed Nd:YAG laser with a Q switch(pulsed YAG laser), 36 female nude mice transplanted human pancreatic cancer were irradiated with a lower power semiconductor laser with or without ATX-70. Nude mice were divided into 3 groups; 1)control group(n=10), 2)experimental group 1(n=14): pulsed YAG laser irradiation in a condition of 50mW and 2 kHz, 3)experimental group 2(n=12): a frequency doubled YAG laser(532nm laser) in a condition of 15mW and 3kHz. For nude mice of experimental groups, ATX-70 was injected intraperitoneally in a dose of 25mg/kg 24 hours before and the tumors were irradiated for 10 minutes with the end of a quartz fiber inserted in a depth of 2mm. The results were as follows; 1)the difference of the therapeutic effects between control and irradiation groups with or without ATX-70 could not be recognized in experimental group 1(pulsed YAG laser irradiation), 2)the necrotic areas of groups irradiated by 532nm laser were significantly larger than those of control group and furthermore the necrotic areas of the group irradiated with ATX-70 were rather larger than those of another group irradiated without ATX-70. The peak power of pulsed YAG laser on the above condition was thought to be insufficient to cause the effect of PDT. On the other hand, 532nm laser may cause the therapeutic effect with ATX-70. It is suggested that results would become a key to analyze the mechanism of PDT with ATX-70

1. 緒言

これまでわれわれはGa金属ポルフィリンの一種のATX-70について検討してきた。ATX-70はヌードマウス移植腫瘍(ヒト未分化肺癌)およびBOP誘発ハムスター実験肺癌に優れた腫瘍集積性を持ち、その吸収帯のほぼ倍の波長1063nm

のQスイッチパルスNd:YAGレーザー(パルスYAGレーザー)との組み合わせた光線力学的治療(PDT)で、5W繰り返し周波数50Hzの照射条件でATX-70投与後の治療効果は、照射単独群と比較し良好で、ATX-70はパルスYAGレーザーの効果を増強した^{1,2)}。また、温水を還流させたブルー

ンによる単純加温の治療の実験では、ATX-70の投与の有無は治療効果に影響を与えず、このPDTの効果には光化学反応の関与あると考えられることを報告してきた。

しかし、この作用機序は未だ完全には解明されておらず、0.5Wの低出力パルスYAGレーザーによる治療でも腫瘍中心部の温度が42-3℃と上昇し、単純加温実験で40℃の治療にても腫瘍に壊死が生じていることから、これまでのPDTの検討では腫瘍の温度変化による影響が無視できず光化学反応によるもののみとは断定できないと思われた。そのため今回は更に低出力のレーザー（パルスYAGレーザーとそれに第二高調波発生装置を用いた532nmレーザーの2種類）とATX-70を用い検討した。

2. 対象・方法

1) 対象

6週齢雌性のヌードマウス36匹の背部皮下にPNSヒト肺癌株を移植し約2-3週間後腫瘍径が1cm大になった時点で以下の実験に用いた。

2) 光感受性物質 (図1)

$C_{62}H_{89}N_6O_{14}Ga$: 1212.15

$(C_{62}H_{87}N_6O_{13}Ga \cdot H_2O)$

図1 2,4bis(1-decyloxyethyl)-Ga-

deuterioporphyril diaspertic acid (ATX-70)

光感受性物質にはGa金属ポルフィリンの一種のATX-70を用いた。405nmのソーレ帯と540nmと575nmのQ帯を持ち、二光子吸収の機序によるパルスYAGレーザー($\lambda=1064nm$)、または第二高調波発生素子(SHG)により生じる532nmにより励起されPDTの可能性があると報告されている。また、24時間後に腫瘍集積のピークが認められている。

3) 実験群

34匹をコントロール群5匹、ATX-70投与単独群5匹の他、実験1と実験2に分けた。

a) 実験1・パルスYAGレーザー治療実験

Group1はパルスYAGレーザー照射単独群5匹、Group2はPDT群5匹、Group3照射単独で24時間後評価群2匹、Group4は、PDT施行2匹の14匹4群とした。Group1とGroup2は治療後1週間、Group3とGroup4は治療後24時間で腫瘍を摘出した。

b) 実験2・532nmレーザー治療実験

Group1は照射単独群5匹、Group2はPDT群7匹の2群12匹とした。

4) レーザー装置

Spectra-Physics社製半導体レーザー励起のQスイッチパルスNd:YAGレーザー装置($\lambda=1063nm$)および第二高調波発生装置を用いた。(図2)

5) レーザーの照射方法・条件

ファイバー断端を腫瘍部皮下に2mm刺入し、実験1はパルスYAGレーザーを平均出力50mW繰り返し周波数2kHz、実験2は532nmレーザーを平均出力15mW繰り返し周波数3kHzの条件で照射単独群は10分間照射のみとし、PDT群はATX-70を25mg/kg腹腔内投与24時間後に10分間照射した。

6) 治療効果の評価

治療後24時間または1週間に腫瘍を摘出しホ

ルマリン固定後病理組織標本を作り腫瘍壊死部の最大断面における病理組織像で評価した。

図2 レーザー装置

3. 成績

a) 実験1・パルスYAGレーザー治療実験

治療後1週間における評価では、腫瘍の自然壊死により治療による変化が隠されてしまいGroup1・照射単独群およびGroup2・PDT群とも治療効果を確認することができなかった。治療後24時間における評価では、Group4・PDT群の方がわずかに照射部位近傍の細胞浸潤が多い傾向が認められたが明らかに差異があるとは判定できなかった。また照射中の腫瘍の表面温度の変化は認められなかった。

b) 実験2・532nmレーザー治療実験

照射単独群、PDT治療群とも腫瘍中心部に壊死が認められ、コントロール群の自然壊死と比べ大きかった。また、PDT群の方が照射単独群と比較し壊死部の割合がやや大きくPDTの治療

効果が認められている可能性があると思われた（表1）。腫瘍表面の温度変化は実験1と同様に認められなかった。

表1 ATX-70と532nmレーザーによる治療成績

Group	n	最大断面における 腫瘍壊死部の割合
コントロール群	5	35.0 ± 7.3% ^a
532nmレーザー		
照射単独群	5	53.6 ± 13.9% ^b
ATX-70・532nm レーザーPDT群	7	64.8 ± 14.0% ^c

a vs b: $p < 0.05$ a vs c: $p < 0.01$ b vs c: n.s.

4. 考察

現在PDTに用いられているアルゴンダイレーザーおよびエキシマダイレーザーは組織透過性が不十分であり、この欠点を克服するためにより深達度の高い長波長のレーザー光によるPDTを考える必要がある⁴⁾。そこで1986年、益子らによって、クロロフィルの分解産物であるフェオフォルバイドaが、Nd:YAGレーザーにQスイッチをつけることでパルスレーザー化し二光子吸収によりNd:YAGレーザーの波長のほぼ半波長の吸収スペクトルを持つ物質が励起されることが報告された⁵⁾。また、ハムスターの実験性癌にてフェオフォルバイドaとパルスYAGレーザーを用いたPDTの可能性があると報告している⁶⁾。

今回のATX-70は、540nmに吸収帯を持ち、現

在数多く臨床で使用されているNd:YAGレーザーにQスイッチをつけたパルスYAGレーザーにより二光子吸収による治療、およびSHGによる532nmのレーザー光による治療が可能であり、既存の技術、設備の使用が可能であり、比較的費用も少なくすむと考えられる。

今までの実験でATX-70とパルスYAGレーザーを用いたPDTは良好な治療成績を示したがその効果発現の仕組みには不明な点も多く腫瘍の加温治療の成績併せ考えると腫瘍の温度変化も無視できない程度のものと考えられた。しかし、今回の検討では従来の方法による吸収波長をレーザーを照射するPDTではある程度効果が認められたもののパルスYAGレーザーを用いたPDTでは明らかな効果を確認できなかった。この原因としては、レーザーのピーク出力がこれまでの実験と比較すると1000分の1程度でありこの方法によるPDTの条件として不十分であったと思われる。また、効果が表われるためにはある程度温度変化が必要な可能性も考えられる。また、他のレーザー治療でも考えられていることですがパルスレーザーの特殊性も考えられます。これらことを確認するためにはピーク出力を保ったまま温度変化を生じさせない条件で検討が必要と思われた。

5. 結論

今回ATX-70と低出力QスイッチパルスNd:YAGレーザーでのPDTの検討は良好な評価ができなかった。この原因の一つとしてピーク出力が低過ぎたことが考えられた。

ATX-70と532nmのレーザーとの組み合わせによる実験では平均出力15mWとの条件にも拘らずPDTの効果を伺わせる所見があった。

稿を終えるにあたり、御指導、御教示を賜りました旭川医科大学・中島進先生、北海道大学電子化学研究所・竹村健先生、東洋薄荷工業・阪田功先生に深感謝致します。

6. 文献

- 1) 黒木雅彦 他, Ga金属ポルフィリン誘導体を用いた光線力学的治療の基礎的検討, *Gastroenterol Endosc.* 1992;34:2559-63.
- 2) 黒木雅彦 他, ヌードマウス可移植性ヒト脾癌に対するGa金属ポルフィリンを用いた光線力学的治療の検討, *Gastroenterol Endosc.* 投稿中
- 3) Tajiri H. et al. Photodynamic therapy using a new photosensitizer gallium porphyrin complex in the treatment of experimental pancreatic cancer, *Dig. Endosc* 1994;6:28-33.
- 4) 竹村健 他, PDTにおける光励起光源と深達度, 二光子吸収の可能性, *日本レーザー医学会論文集*, 1990;11:223-6.
- 5) 益子信郎 他, Nd:YAGレーザー光照射によるフェオフォルバイドaの光化学効果の基礎研究, *日本レーザー医学会誌*, 1986;6:113-6.
- 6) 石塚裕昭 他, ハムスター実験脾癌に対するフェオフォルバイドaをもちいた光線力学的治療効果に関する検討, *日本レーザー医学会誌*, 1991;12:3-7.