Pulsed Gold Vapor Laser を用いた Photodynamic Therapy の基礎的検討

An Experimental Study of Photodynamic Therapy using a Pulsed Gold Vapor Laser

山本 肇, 久住 治男, 内藤 克輔, 三崎 俊光

Hajime Yamamoto, Haruo Hisazumi, Katsusuke Naito, Toshimitsu Misaki,

金沢大学医学部泌尿器科学教室

Department of Urology, School of Medicine,
Kanazawa University

ABSTRACT

The development of pulsed lasers, such as a gold vapor laser (GVL), has attracted interest in terms of the possible role it could play in HpD photodynamic therapy (PDT).

In this study the effects of a GVL were compared with those of a continuous wave argon-dye laser in term of tissue penetration and tumoricidal effects. The benefit of the former was thought to be two more times as compared with that of the latter.

The better results obtained by a GVL may be related to the longer extinction length.

(緒言)

ヘマトポルフィリン誘導体 (HpD) を用いた光力学的癌治療には現在 Argon-dye laser (ADL) が用いられているが、光深達度から腫瘍破壊は 1 ~ 1.5cm 以下に止まっている。さらに腫瘍破壊効果を増強するには、組織内深達性の高いレーザーの開発が重要である。我々は波長 630nm の連続波を発振する ADL に代り、パルス波を発振する Gold vapor laser (GVL) を用いて光力学的癌治療の基礎的検討を行ったので報告する。

(実験方法, 結果および考察)

1. 使用動物

生後 6 週齢, 体重約 20g の BALB/c, nu/nu 雌性マウスと体重約 2.5kg の雌性家兎 (日本白色種) を使用した。

2. 培養細胞移植方法

当教室で樹立したヒト膀胱癌由来培養細胞 KK-47 を HamF12, 0.05ml 中に 10^7 個に調整し、ヌードマウス背部皮下に接種し、約 2 週後に約 1 ~ 2cm に発育した腫瘍を切除し、3mm 角に細切後、

新たにヌードマウス背部皮下に再移植した。

3. 使用レーザー

Gold vapor laser (GVL, Oxford Laser Ltd. Model Au 8000) と Argon-dye laser (ADL, Spectra-Physics Ltd. Model 171-07, 375-03) を用いた。

4. 家兎耳介を用いた組織透過性の比較

GVL および ADL の石英ファイバー先端出力 200 mw/cm^2 を用い、家兎耳介 (厚さ 0.7 mm) に対する光消散長を図 1 に示した公式を用いて両レーザー光を比較した。図 2 に示すごとくファイバー先端と家兎耳介間の間隔が 1 cm および 2 cm では GVL の光消散長はそれぞれ 2.7 および 2.6 mm であった。一方、ADL ではいずれも 0.8 mm であった。膀胱癌に対する内視鏡レーザー照射は、一般に約 $1 \sim 2 \text{ cm}$ の距離から行なうので、この範囲では GVL は ADL の約 3 倍大きな組織深達性が期待されるものと考えられた。

図 1

Schematic Representation of Laser Transmission Study

$$L = \frac{1}{\delta} \log_e \frac{100}{10} = \frac{1}{0.434 \times \delta}$$

$$\log_e \frac{I_0}{I} = \delta d$$

L : Extinction length

I_0 : Output power

I : Transmitted power

δ : Absorption coefficient

d : Auricle thickness (0.7 mm)

5. 移植腫瘍を用いた腫瘍内温度効果の比較

レーザー光照射時の温度上昇効果は光力学的効果の比較検討上重要であるため、直径 10 mm の移植腫瘍を用い、腫瘍表面 (A 点)、腫瘍中心部 (B 点)、腫瘍後面 (C 点) の 3 点にサーミスター (宝工業, 12 点式ロガ, Model D 317) を刺入し、同時測定を行った。ファイバー先端は腫瘍表面よ

図 2

Tissue Penetration of Gold Vapor Laser & Argon-dye Laser in Rabbit Auricles

り 10 mm 離し、両レーザー光出力はそれぞれ 150 mw/cm^2 および 300 mw/cm^2 にて 30 分間照射した。表 1 に示すごとく、ADL では 300 mw/cm^2 にて A 点平均 44.6°C , B 点 36.4°C , C 点 33.1°C , 150 mw/cm^2 にて A 点 36.3°C , B 点 32.5°C , C 点 32.2°C を示した。一方 GVL では 300 mw/cm^2 にて A 点 45.9°C , B 点 42.9°C , C 点 39.9°C , 150 mw/cm^2 にて A 点 39.8°C , B 点 38.9°C , C 点 36.1°C と A-B 間の温度差は ADL の約 $1/3$ と小さく、腫瘍内部の温度上昇効果が大き、 300 mw/cm^2 では治療的温熱効果が期待された。

6. 光力学的抗腫瘍効果

移植腫瘍は、移植 2 週間後より指数関数的増殖が認められ、これらのうちから腫瘍体積が $200 \sim 300 \text{ mm}^3$ に発育したものを一群 5 匹として実験に供した。抗腫瘍効果は腫瘍体積 = (短径² × 長径) $1/2$ より求め比較検討した。両レーザー出力は、治療的温熱効果を除外するため ADL 300 mw/cm^2 , GVL 150 mw/cm^2 を用いた。HpD 10 mg/kg をヌードマウス腹腔内投与 48 時間後に、移植腫瘍より 10 mm の距離からそれぞれ 15 分および 30 分照射し、Control 群, HpD 単独投与群, レーザー単独照射群における腫瘍増殖曲線, 腫瘍消失率および消失平均日数を比較検討した。図 3 は GVL 150 mw/cm^2 15 分, 30 分照射時の腫瘍増殖曲線である。HpD 単独投与群およびレーザー単独照射群との間には腫瘍増殖曲線上は差は認められず、抗腫瘍効果も認められなかった。HpD・GVL 併用群の 30 分照射群では、照射後平均 7.4 日にて 5 匹中 5 匹に腫瘍の

表 1

Temperatures at 3 points on the surface of tumor, in a central portion and below the tumor after photoirradiation with laser light for 30 minutes at a 10 mm-distance.

Lasers	Surface	Central area	Below ($^{\circ}\text{C}$)
Argon-dye laser			
Power output			
150 mW/cm ²	36.3 $\pm$ 0.32 *	32.5 $\pm$ 0.18	32.2 $\pm$ 0.05
300 mW/cm ²	44.6 $\pm$ 2.66	36.4 $\pm$ 0.89	33.1 $\pm$ 0.21
Gold vapor laser			
Average power output			
150 mW/cm ²	39.8 $\pm$ 0.43	38.9 $\pm$ 0.46	36.1 $\pm$ 0.43
300 mW/cm ²	45.9 $\pm$ 2.72	42.7 $\pm$ 2.48	39.9 $\pm$ 1.50

* Values are expressed as the mean $\pm$ standard deviation.

完全消失が認められ、15分照射群では平均10.3日にて5匹中4匹に腫瘍の完全消失が認められた。一方ADL 300mw/cm², 15分, 30分照射についてみると図4のごとくHpD・ADL併用群の30分照射群では、照射後平均12日にて5匹中3匹に、15分照射群では平均13日にて5匹中2匹に腫瘍の完

全消失が認められたにすぎなかった。腫瘍消失日数を Duncan's two tailed test にて検定するとGVL 150mw/cm², 30分照射群においては, ADL 300mw/cm², 15分および30分照射群に比し消失日数の有意の短縮が認められた。(P<0.01) 以上より, GVLはADLより抗腫瘍効果は少なくとも2倍以上と推定された。

図 3

Photodynamic Effect of HpD and Argon-dye Laser Light (630nm) on Growth of KK-47 Bladder Cancer Cells Transplanted into Nude Mice

Photodynamic Effect of HpD and Gold Vapor Laser Light (828nm) on Growth of KK-47 Bladder Cancer Cells Transplanted into Nude Mice

7. GVLの組織深達性の機序に関する実験

HpD 3mg/kg 静注48時間後に摘出した家兔肝臓を縦、横それぞれ10mm、厚さ5mmの大きさに切り出し、Power meter probe (Spectra-Physics Ltd. Model 404) 上におき、ADL (output power 1w) を検体表面より5mm、GVL (average power 450mw) は検体側方より5mmの距離から照射するtwo-step laser excitation systemを用いて検討した。ADL上方よりの単独照射では、透過光は20mwを示し、GVL単独側方照射では15mwを示した。ADL照射とGVL側方照射のtwo-step laser irradiationにおける透過光は図5右側に示すごとく100mwで約3倍に増強された。この現象はGVLのhigh frequency pulsed laser光の照射により基底状態のHpDに高密度扇起状態が発生し、照射期間中伊藤らの述べているblesching phenomenonを持続し、ADL光のHpDによる吸収の低下、すなわちtransient transmissionが得られ、その結果高い組織内深達性がもたらされたものと推定された。

(まとめ)

両レーザーの光消散長、組織内温度勾配、抗腫瘍効果の比較によるGVLの有用性は、伊藤らの述べているtransient bleaching phenomenonによる高い組織深達性によるものと推定された。今後、GVLによる治療的温熱効果の併用も考え、その有用性を拡大し、光力学的癌治療確立に近づくよう努力したい。

図 5

Tissue Penetration in the Combination of Gold Vapor Laser and Argon-dye Laser in Rabbit Liver