エキシマ・ダイ・レーザーを用いた組織内光線力学的治療効果

Effect of Photodynamic Therapy Using Excimer Dye Laser

○酒井治正, 會沢勝夫,* 加藤治文, 小中千守, 河手典彦, 西宮克明,
齊藤 誠, 木下孔明, 野口正之, 早田義博

○Harumasa Sakai, Katsuo Aizawa,* Harubumi Kato,
Chimori Konaka, Norihiko Kawate, Katsuaki Nishimiya,
Makoto Saito, Komei Kinoshita, Masayuki Noguchi,
Yoshihiro Hayata

東京医科大学外科, 同第2生理*

Dept. of Surgery Tokyo Medical College
Dept. of Physiology Tokyo Medical College*

ABSTRACT

Various basic and clinical studies have been performed concerning photodynamic therapy (PDT) with hematoporphyrin derivative (HpD). Up to the present argon dye lasers have been used as an excitation source for HpD. Argon dye laser emits a continuous wave beam. Recently we have been using an excimer dye laser which emits a pulse laser beam. It is generally accepted that PDT performed with continuous wave light (E.G. an argon dye laser) results in necrotic changes in tumor tissue up to depth of 5mm. In this experiment we obtained necrotic changes up to about 10-15mm in depth in mouse breast cancer tumor with the excimer dye laser.

1. はじめに

ヘマトポルフィリン誘導体(HpD)を用いた光線力学的治療(Photodynamic therapy ; PDT)について数多くの研究, 報告がなされている。現在, 悪性腫瘍治療に際して, HpDの励起光源として630nmのアルゴン・ダイ・レーザーが使われている。我々はより強い殺細胞効果を得る為, 連続光であるアルゴン・ダイ・レーザーにかわって, パルス光であるエキシマ・ダイ・レーザーを使用し,

励起光源の違いによる, PDT効果の差について基礎実験を行った。

以前より, 投与したHpDの量, 方法, 励起光照射条件が等しいのにもかかわらず, PDT効果にバラツキのある事は, 多くの人々によって指摘されてきた。我々は, エキシマ・ダイ・レーザーを使用した顕微分光測光を行なう事により, 腫瘍内におけるHpDの分布状態を測定し, PDT効果の差に及ぼす要因の一つの究明を試みた。

2. 方 法

装置は、波長308nm、パルス幅10nsec のパルス光を発する浜松フォトリクス社製のキセノンクロライドガス封入エキシマ・レーザーC1891 を色素励起光源として使用した。これをRodamine による色素装置を使い、波長630nm、パルス幅10nsec、1パルス1.54mJ、3.75Hz のパルス光を得た。(Fig 1)

対象はFM系自然発症乳癌マウス、及びマウス腎細胞起源のmKS-A細胞をRPMI-1640培地で培養し細胞 1×10^7 個を週令3週のBALB/C マウス背面皮下に移植したものを使用した。

それぞれにHpD 50mg/kgを腹腔内投与し、6時間後、エーテル麻酔を行ない、3.75Hz、10 分間の照射を剃毛した腫瘍部に皮膚上より行なった。

照射後ただちに腫瘍を摘出し、ホルマリン固定した後、H-E染色、顕微鏡的検索を行なった。マウス実験腫瘍内におけるHpD 取り込み分布に対する実験では、HpD 50mg/kg を腹腔内投与し、その後13ないし14時間後に腫瘍摘出を行なった。摘出腫瘍の迅速凍結切片を作製し、腫瘍標本を 1×1 ないし 2×2 cm の分画に分け、各分画について蛍光顕微鏡で蛍光を観察すると共に、高速顕微蛍光分光測光計を使用して蛍光 線を求めた。蛍光曲線より615nmから645nm の範囲のarea 計算を行ない、その値の比をもって、各分画に含まれるHpDの相対量とし、腫瘍内におけるHpD分布状態を観察した。

相対蛍光量はFig 8のごとく5段階に分け、各分画毎に識別してその分布状態を観察した。

3. 結 果

Fig 2. 3 FM系自然発症乳癌に照射した後のH-E染色した標本である。照射光は上方より下方に向かっていているが、入射光に一致した壊死変化が認められ、厚さ8mmの腫瘍下部まで完全に貫通している事がわかる。又レーザー光の光路よりはずれている所には変化が認められていない。

Fig 1

Fig 4. 5 同様にFM系自然発症乳癌に対し、左上方より2ヶ所照射したものである。光照射部位に一致した壊死変化が認められ、PDT 効果が、深さ10mmに達している事がわかる。

Fig 6. 7 自然発症乳癌に上方より照射したものであるが、これでは非常に良い深速度が得られ最大15mmにまでPDT 効果が達している。

以上の様にFM系自然発症乳癌では、非常に良いPDT効果が得られたが、mKS-A細胞移植BALB/cmouseでは、壊死変化に非常なバラツキがあり、ほとんど壊死変化が認められないものもあった。

そこでmKS-A細胞移植マウス腫瘍のHpD 顕微蛍光測定を行った。Fig 8のごとく相対蛍光量を分画ごとに測定すると、Fig 9. 10の結果を得た。図より明らかな様に、同一腫瘍内で、HpDの分布に非常なバラツキが見られ、HpDが存在しない部位もかなり広範囲に認められる。

4. 考 察

エキシマ・ダイ・レーザーを使用したPDTにおいては、最大15mm、多くの場合約10mmまでは壊死変化が認められ、連続光の効果が約5mmと言われてきたのに比べ、明らかにすぐれていると考えられる。これはHpDが励起一重項状態より、無輻射的に三重項状態となり、そのエネルギーによってSinglet oxygenが産生され、殺細胞効果を示すと考えられている事から、又、HpD1分子を励

Fig 2

Fig 3

Fig 4

Fig 5

Fig 6

Fig 7

Fig 8

起するのに数フォトンでよいと思われる実験結果がある事などからみて、一瞬に多くのエネルギーを供給できるパルスレーザーは、非常に多くのメリットがあると考えられる。すなわち一瞬に多くのエネルギーが供給されると、励起一重項状態となったHpDが基底状態にもどるわずかな時間の間に、より深部にあるHpD分子にエネルギーが届く為と思われる。

同一条件で行なった実験で、自然発症乳癌に十分なPDT効果が認められたのにもかかわらず、腫瘍細胞移植マウス腫瘍では、ほとんど壊死変化が認められなかったのは、その腫瘍があくまで移植されたものであり、自然発症乳癌に比べ、栄養血管の状態など、実際の生体の癌の状態とかなり異なっている為と思われる。この事は顕微蛍光測光の結果からも明らかであり、HpDの効果判定をする上で、より実際の癌の状態に近い自然発症乳癌等により判定を下さなければならないと思われる。

5. ま と め

マウス自然発症乳癌において、エキシマ・ダイレーザーを用いた、パルス光照射によるPDTによって、最大15mm、通常約10mmに達する壊死変化を認めた。これは、連続光の効果が約5mmと言われてきたのに対し、明らかにすぐれている。又、照射周波数の向上により、PDT治療時間の大幅短縮が可能となる。

文 献

- 1) 大多和正樹：マウス実験腫瘍でのエキシマダイレーザーによるphotodynamic therapy の基礎的

Fig 9

Fig 10

研究東京医大雑誌 第43巻 第1号

- 2) 會沢勝夫：HpDを用いたレーザー光化学反応の基礎：日本レーザー医学会誌5(4)：3-12, 1985
- 3) 加藤治文・他：色素レーザーによる診断と治療：臨床外科 第37巻 第4号
- 4) 西宮克明・他：レーザー診断装置を用いたマウス移植腫瘍及びマウス臓器におけるHpDの集積性の検討：第43回日本癌学会総会抄録：447, 1984