光化学療法の実験的検討

— HpD 局注投与と全身投与の比較 —

Experimental studies on photochemotherapy

— Comparison between intratumoral injection

and systemic injection of HpD —

○山野三紀*, 岡村毅与志, 佐藤信司, 黒川 洋, 男澤伸一
柴田 好, 芦田知史, 村上雅則, 中沢郁生, 原田一道
水島和雄, 並木正義, 大江成博**, 葛西伸一, 水戸迪郎

○ Miki Yamano*, Kiyoshi Okamura, Shinji Satoh, Hiroshi Kurokawa,
Shinichi Ozawa, Yoshimi Shibata, Tomofumi Ashida,
Masanori Murakami, Ikuo Nakagawa, Kazumichi Harada
Kazuo Mizushima, Naruhiro Ôe**, Shinichi Kasai, Michio Mito

*旭川医科大学 第三内科, **同 第二外科

*3rd. Dept. of Internal Medicine, **2nd. Dept. of Surgery, Asahikawa Medical College.

We investigated the anti-tumoral effect of intratumoral injection using nude mice with subcutaneously transplanted MKN-45 gastric cancer followed by exposure to red light in order to avoid phototoxic reaction after intravenous administration of hematoporphyrin derivatives (HpD). Histopathological findings revealed that necrosis was uniform in the group administered intraperitoneally but it was not so in the group administered intratumorally. We conclude that anti-tumoral effect of intraperitoneal injection was superior to that of intratumoral injection but still significant even in the intratumoral injection, based on the results of calculated the necrotic volume(%) by means of Kontron MOP-AM03 instrument in each group.

Key Words : hematoporphyrin derivatives, intratumoral injection, photodynamic therapy.

I. 緒 言

今回我々は胃癌治療において HpD を全身投与するかわりに内視鏡下で腫瘍内に局注投与することによって日光過敏を防止することができないかと考え、第一段階として実験的にレーザー照射による腫瘍縮小効果を HpD 全身投与群, 局注投与群に分けて基礎的検討を行なったのでその概要を報告する。

II. 実験材料及び方法

1. 移植腫瘍の作成

胃癌由来腫瘍細胞 MKN-45 (新潟大学第Ⅰ病理学講座の御厚意による) 10^8 コ/0.1ml を生後4W

のヌードマウス (日本クレア) の皮下に移植し、2-3週間腫瘍径が約10mmとなったものを使用した。

2. 実験方法

HpD 局注群ではレーザー照射 (以下 L-R), 30分前に HpD (2.5mg/kg, 又は0.25mg/kg) を腫瘍内に局所投与し, 全身投与群では L-R, 48時間前に HpD (5 mg/kg 又は0.5mg/kg) を腹腔内に投与した。さらに vehicle として生食局注群 (0.1ml) と生食全身投与群 (0.2ml) を作成した。各々の群についてレーザー照射群 (以下 L-R (+)) と非照射群 (以下 L-R (-)) に分けた。一群3匹である。L-R はアルゴンダイレーザー (クーパー

社)を用い波長630nm, 出力300mW, 20分間照射した。ネンブータル麻酔下(1mg, ip)で皮膚切開後腫瘍の被膜を露出してL-Rを行った。なお腫瘍直上に約1.0cmの穴を持つ黑色板をあて腫瘍以外の部位にレーザー光が散乱しないようにしたうえで腫瘍との照射距離を1.0cmとした。

L-R 24時間後にネンブータル大量投与にてヌードマウスを屠殺。腫瘍を摘出し10%ホルマリンにて固定後, 約2mm間隔で切り出しを行ない型の如くパラフィン切片を作成しH-E染色にて病理組織学的検討を行った。

3. 検討項目

1) 顕微鏡下の病理組織学的検討

2) 腫瘍内の necrosis の占める割合: 画像解析装置(Kontron MOP-AMO 3)を用い各プレパラートの腫瘍面積及び necrosis の面積を測定し, 以下の方法で一腫瘍当たりの近似体積比を算出した。

$$\frac{\text{necrosis}}{\text{の体積比}} = \frac{\sum \frac{\text{necrosis の面積}}{\text{腫瘍全体の面積}}}{n} \times 100 \times \frac{1}{n} (\%)$$

なおここでは necrosis と necrobiosis を一括して necrosis の面積を測定した。

Ⅲ. 結 果

1) 顕微鏡下の病理組織学的検討

HpD 全身投与, L-R (+)群(図1)では, necrosis は, 部位による差がなくほぼ均一であるのに対し, HpD 局注, L-R (+)(図2)群では, necrosis は不均一であり腫瘍内に不規則な間隙がみられた。

2) 腫瘍内の necrosis の占める割合

表1に腫瘍内の necrosis の占める割合を各群別に3匹の平均値で示した。

Ⅳ. 考按とまとめ

小中ら¹⁾は乳癌皮膚転移巣, 皮膚腫瘍や肺癌に HpD 局注法による光化学療法を試みており, 全

身投与に比して効果はばらつきがあるが日光過敏症は認められなかったと報告している。また肺癌移植ヌードマウスを使った HpD 局注実験で3-12ヶ月の観察の期間内で70-90%再発がみられなかったという報告²⁾もある。今回我々の実験では病理組織学的検索の結果, HpD 全身投与後の L-R (+)による腫瘍内の Necrosis の所見は均一であるのに対して局注投与群では不均一であり, しかも局注の際できたと考えられる空隙もみられた。HpD 局注投与では全身投与に比して腫瘍内に部位差があり均一な腫瘍縮小効果を得ることは困難であった。一群3匹と少数であるが今回の条件下では L-R (+) HpD 局注投与の抗腫瘍効果は全身投与に比して劣るが, HpD 局注でもその抗腫瘍効果は少なからず存在することがわかった。今後さらに実験条件を変えて検討を重ねたい。(本研究の一部は厚生省がん研究助成金(小黑班)によったものである。)

文 献

- 1) 小中千守: HpD 局所注入法による光線力学的治療の可能性, 日本レーザー医学会誌 6: 155-158, 1986.
- 2) Moseng D et al: Treatment of mouse carcinomas with intratumoral injections of hematoporphyrin derivatives and red light. Photodermatol. 2: 107-110, 1985.

表1 腫瘍のnecrosisの体積比

投与法	レーザー照射		レーザー非照射群	
	レーザー照射部	レーザー非照射部	レーザー照射部	レーザー非照射部
HpD 局注投与	2.5 mg/kg	51.4%	43.0%	
	0.25 mg/kg	51.7%	34.5%	
HpD 全身投与	5.0 mg/kg	66.7%	13.3%	
	0.5 mg/kg	32.7%	15.9%	
生食 局注投与		44.2%	5.2%	
生食 全身投与		23.3%	5.4%

図1 HpD5mg/kg全身投与L-R (+)

図2 HpD2.5mg/kg局注投与L-R (+)