金蒸気レーザー照射による温熱とヘマトポルフィリン

誘導体増感併用抗腫瘍効果の研究

Combined antitumor effects of HpD-photoradiation
and hyperthermia using a gold vapor laser

山本 肇, 久住治男, 森下裕志, 中嶋和喜,
打林忠雄, 内藤克輔

Hajime Yamamoto, Haruo Hisazumi, Hiroshi Morishita,
Kazuyoshi Nakajima, Tadao Uchibayashi and Katsusuke Naito

金沢大学医学部泌尿器科学教室

Temperature rise of KK-47 bladder tumors transplanted into nude mice was determined at an average output of 150 mW/cm^2 ($9 \text{ J/cm}^2/\text{min}$) or 300 mW/cm^2 ($18 \text{ J/cm}^2/\text{min}$) with a gold vapor laser (GVL).

Approximately 43°C hyperthermia of the entire tumor was attained with the 300 mW/cm^2 output.

After 10 mg/kg HpD injection, GVL-photoradiation and concomitant GVL-induced hyperthermia achieved CR in 6 of 6 tumor-bearing nude mice at 3, 7.5, 15 and 30 minute-irradiation times.

With decreasing HpD dosage ranging from 10 to 5 mg/kg , CR rate was decreased at all the irradiation times.

However, analysis of the tumor growth curves of two groups received HpD 1 or 2.5 mg/kg and no HpD injections demonstrated that then HpD resulted in a significant reduction of the GVL-induced hyperthermia antitumor effects.

(緒言)

我々はすでに、金蒸気レーザー (GVL) とアルゴン色素レーザー (ADL) の組織透過性を分光学的に比較検討すると共に、GVLの組織深達性の機序についても検討してきた。さらにヌードマウス移植K K-47膀胱腫瘍に対するヘマトポルフィリン誘導体 (HpD) 投与の光学的治療 (PDT) についてもADLとGVLを比較検討し、GVLのすぐれた抗腫瘍効果を報告してきた。今回は、腫瘍内ハイパーサーミア効果が誘導されうるGVL平均出力300mW/cm²において、照射時間およびHpD投与量について検討したので報告する。

(方法・結果および考察)

1. 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K K-47をHamF12, 0.05ml中に10⁷個に調整し、生後6週齢、体重20gのBALB/c雌性のヌードマウス (nu/nu) 背部皮下に接種し、約2週間後に約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。体積200~300mm³に増殖したものを抗腫瘍効果の実験に供した。また温度上昇効果の実験には、直径10mmの腫瘍を用いた。

2. 移植腫瘍を用いた腫瘍内温度効果 (図1)

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点ロガ, Model D317) 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り10mm離し、GVL先端での平均出力をそれぞれ150mW/cm²および300mW/cm²にて30分間照射した。平均出力300mW/cm²にてA点45.9℃, B点42.7℃, C点39.9℃, 150mW/cm²にてA点39.8℃, B点38.9℃, C点36.1℃が記録された。300mW/cm²照射時のA-B間の温度差は3℃と小さく、抗腫瘍効果の実験に用いる体積200~300mm³の腫瘍では、腫瘍全体に充分ハイパーサーミア効果が期待された。

3. ハイパーサーミア併用光学的抗腫瘍効果の照射時間における検討 (図2, 3)

移植腫瘍体積が200~300mm³に増殖したヌードマウスを一群6匹として実験に供した。

GVL平均出力は、ハイパーサーミア効果が誘

導されうる300mW/cm²を用いた。HpD10mg/kgをヌードマウス腹腔内投与48時間後に、移植腫瘍より10mmの距離から、30分、15分、7.5分および3分レーザー照射した。18日間毎日腫瘍を計測し、腫瘍増殖曲線を作製した。測定不能に至ったものをCR (complete response) とし、その所要日数も記録した。なお、その後も60日間腫瘍の再増殖の有無を観察した。

対照として無処置群、HpD単独投与群、レーザー単独照射群についても検討した。以上、抗腫瘍効果は、腫瘍増殖曲線、腫瘍消失率および腫瘍消失日数で比較した。GVL照射単独群でも明らかなハイパーサーミア効果による腫瘍増殖曲線の低下が見られ、30分、15分、7.5分および3分照射群におけるCRはそれぞれ3/6, 2/6, 0/6, 0/6で30分および15分照射群にそれぞれハイパーサーミア効果によるCR例が見られた。ハイパーサーミア治療+PDT群ではいずれの照射群でもCRは6/6であった。しかし3分照射群では照射後24日目に1例に腫瘍の再増殖が認められた。その他はすべて60日後にも腫瘍の再増殖は認められなかった。これはGVLではハイパーサーミア効果を併用しうることが可能で、治療時間の短縮が得られることを示す。またCRまでの日数もハイパーサーミア効果を併用することにより有意に短縮できることが示された。

4. ハイパーサーミア併用光学的抗腫瘍効果のHpD量における検討 (図4, 5, 6)

光学的治療の問題点の一つであるHpDの皮膚光線過敏性に関連して、GVLのハイパーサーミア効果を併用することにより、PDTにおけるHpD投与量を減少させることの可能性について、ヌードマウス移植腫瘍を用いて検討した。GVLの平均出力300mW/cm²、照射時間を30分、15分および7.5分とし、HpD量は10mg/kg, 5mg/kg, 2.5mg/kg および1mg/kg とした。各群6匹としてPDT後18日間毎日腫瘍を計測し、腫瘍増殖曲線を作製した。対照として無処置群およびレーザー単独照射群についても検討した。30分照射ではHpD10mg/kgおよび5mg/kg投与群においてそれぞれ照射後平均6日および7.8日にCRが100% (6

／6) に得られた。一方、HpD 2.5mg/kg, 1mg/kg およびレーザー単独照射群においては、CR はそれぞれ3／6, 2／6, 3／6にすぎず、またこれら3群は腫瘍増殖曲線上もほぼ同様な照射後の腫瘍体積の明らかな縮小とその後の再増殖が認められた。15分照射ではHpD 10mg/kg および5mg/kg投与群において照射約7日目にCRが100% (6／6) が得られた。しかし、5mg/kg投与群では、3例に照射26日目、30日目および36日目に腫瘍の再増殖が認められた。一方2.5mg/kg投与群ではレーザー単独照射群に比し、腫瘍体積の明らかな減少は認められたが、再増殖は照射後8日と早期に認められた。また1mg/kg 投与群では一時的な腫瘍増殖抑制効果しか認められなかった。7.5分照射におけるCRはHpD 10mg/kg, 5mg/kg, 2.5mg/kg, および1mg/kg 投与群においてそれぞれ6／6, 3／6, 0／6および0／6であった。5mg/kg 投与群では、CRの3例中2例に照射24日目および29日目に腫瘍の再増殖が認められた。2.5mg/kgおよび1mg/kg 投与群は一時的な腫瘍増殖抑制効果は認められなかった。15分照射1mg/kg 投与群および7.5 分照射2.5mg/kg, 1mg/kg 投与群は、一時的な腫瘍増殖抑制効果は認められるが、以後は、無処置群と同様な増殖を示し、レーザー単独照射群より悪い結果となった。当教室の中嶋らはin vitroの実験系でPDTとハイパーサーミアの併用効果に関して、HpD処置を行うことにより、KK-47細胞の熱感受性は低下することを述べている。我々の結果も、同様に少量のHpDと短時間の照射時間のGVLのPDTは同照射時間のレーザー単独照射によるハイパーサーミアよりむしろ抗腫瘍効果を低下させるのではないかと考える。以上のデータはレーザーサーミア効果を併用するPDTにおいては加温時間とHpD量との間に一定の相互関係を設定すべきであることを示唆するものと考えられた。

Temperature Profiles of Transplanted Tumors in Nude Mice Using Gold Vapor Laser (628 nm)

図 1

Photodynamic Effect of HpD and Gold Vapor Laser Light (628 nm) on Growth of KK-47 Bladder Cancer Cells Transplanted into Nude Mice

図 2

Photodynamic Effect of HpD and Gold Vapor Laser Light (628 nm) on Growth of KK-47 Bladder Cancer Cells Transplanted into Nude Mice

図 3

Photodynamic Effect of HpD and Gold Vapor Laser Light (628 nm) on Growth
of KK-47 Bladder Cancer Cells Transplanted Into Nude Mice
(n=8)

図 4

Photodynamic Effect of HpD and Gold Vapor Laser Light (628 nm) on Growth
of KK-47 Bladder Cancer Cells Transplanted Into Nude Mice
(n=8)

図 6

Photodynamic Effect of HpD and Gold Vapor Laser Light (628 nm) on Growth
of KK-47 Bladder Cancer Cells Transplanted Into Nude Mice
(n=8)

図 5