

## Nd-YAG Laser 照射と光線力学的治療との 併用療法に関する基礎的研究

東京医科大学外科第一講座, <sup>1)</sup>東京医科大学生理学第二講座

田中浩一 加藤治文 奥仲哲弥  
會沢勝夫<sup>1)</sup>

**【要旨】** 悪性腫瘍に対する治療において、高出力レーザーの一つである Nd-YAG Laser を用い腫瘍を焼灼する方法と、光感受性物質投与後に低出力レーザーを照射し抗腫瘍効果を得る光線力学的治療 (Photodynamic Therapy: PDT) の、2つのレーザー治療法を併用した際の治療効果について検討した。

Meth-A 腫瘍を移植した balb/c マウスに対し、コントロール (未治療) 群 (n=16), Nd-YAG Laser 単独照射群 (1,320nm, 600J) (n=7), PDT 単独施行群 (Excimer dye Laser 628nm, 50J/cm<sup>2</sup>, Photofrin 5mg/kg iv) (n=15), YAG-PDT 併用群 (YAG 600J, PDT Ex50J/cm<sup>2</sup> Photofrin 5mg/kg) (n=47) を設定し生存率を比較検討した。

コントロール群の平均生存日数は 28.8 日, 90 日生存率は 0%, YAG 単独群では各々 33.6 日, 0%, PDT 単独群では 35.0 日, 0% であった。一方 YAG 照射直後に PDT を施行した群では 33.1 日, 0%, YAG2 日後 PDT では 32.9 日, 0%, YAG4 日後 PDT では 31.3 日, 0%, YAG8 日後 PDT では 35.1 日, 10%, YAG14 日後 PDT では 40.6 日, 18.2% であった。YAG 単独群および PDT 単独群に比べ YAG14 日後 PDT 群で有意な延命効果を得た (P<0.01)。さらに正常組織への影響も少なかった。

YAG と PDT を併用した治療方法は、適切な間隔で照射することにより各単独治療に比べ有効な治療成績が得られた。この方法は臨床の場においても、中枢気道の閉塞性腫瘍性病変などに対し有意な価値を見いだせる可能性があると考えられた。

### 結 言

悪性腫瘍に対するレーザー治療には主に 2つの方法がある。1つは Nd-YAG Laser に代表される高出力レーザーを用いて熱効果により腫瘍を焼灼し縮小させる方法であり、もう1つは光線力学的治療 (Photodynamic Therapy: PDT) で、光感受性物質投与後に低出力レーザーを照射し、抗腫瘍効果を得ようとするものである。これらの単独使用による治療成績は数多く報告されている<sup>1)~8)</sup>。

Nd-YAG Laser 照射 (YAG) による治療では即時的な治療効果が得られるが、腫瘍選択性がないため正常組織への障害等の問題が起きやすい。一方 PDT では腫瘍に取り込まれた光感受性物質がレーザー光

線を吸収し、腫瘍細胞に対して選択的に殺細胞効果を引き起こすが、レーザー照射後腫瘍縮小効果発現まで数日を要し、また深達度に限界があるなど、YAG, PDT とも各々利点と欠点がある<sup>7)8)</sup>。

今回、この2つのレーザー治療法を併用することによって相互の欠点を補いあい、一層効果的な治療成績が得られるかどうかを検討することを目的に、その基礎実験を行なった。

### 材料と方法

雌 4 週齢の balb/c マウス (体重 16~20 g) の右臀部皮下に Meth-A 腫瘍 (National Institute of Health, Tokyo: mouse fibrosarcoma cell line; 1×10<sup>6</sup> cell/mouse) を移植, 7 日後に腫瘍部分およびそ

1995年2月9日受付, 1995年2月23日受理

キーワード: Nd-YAG レーザー, 光線力学的治療, 延命効果。

(別刷請求先: 〒160 東京都新宿区西新宿 6-7-1 東京医科大学外科学教室第一講座 田中浩一)

の周囲を剃毛し、腫瘍の長径+短径が 19±1 mm のものを実験群として採用した。

Nd-YAG Laser 照射には Olympus 社製 MYL-1 改良型 (1,320 nm) と非接触型のチップを使用した。担癌マウスをエーテル麻酔後、四肢をセルロイド板にテープで固定、体動不能の状態として約 1.5 cm の距離から 20 w×1.0 秒の断続照射を行った。PDT には浜松フォトニクス社製 Excimer dye laser (EDL-I, 628 nm, 4.0 mJ/pulse, 40 Hz) を用い、光感受性物質として Photofrin (日本レダリー株式会社:凍結暗所保存したものを PBS にて溶解) を使用した。以上の材料、条件により ①コントロール群、② YAG 単独群、③ PDT 単独群、④ YAG-PDT 併用群 の 4 群を設定し実験を行った。

コントロール群は腫瘍移植 7 日後に腫瘍の長径+短径が 19±1 mm となつてから、未治療で腫瘍の増大によって死亡するまでの日数を測定した (n=16)。

YAG 単独群では、はじめに照射量と治療効果の関係を見るため 700~2,100 J の間で照射量を変え YAG 照射を行った (n=11)。さらにこれらとは別に、YAG-PDT 併用群との治療効果の比較のため、YAG 単独 600 J の照射を行った (n=7)。

PDT 単独群では、Photofrin 5 mg/kg をマウス尾静脈より注入し、48 時間後に Excimer dye Laser 50 J/cm<sup>2</sup> の照射を行った (n=15)。

YAG-PDT 併用群では、YAG 600 J の照射と、PDT として Photofrin 5 mg/kg 静注 48 時間後 Excimer dye laser 50 J/cm<sup>2</sup> の照射を行った。YAG と PDT の照射間隔の違いによる治療効果の差を見るため、YAG 照射後 PDT 施行の時間を、直後 (n=9)、4 日後 (n=8)、8 日後 (n=10)、14 日後 (n=11) に分類し、YAG 照射後死亡までの日数を測定した。

これら 4 群の生存率を Kaplan-Meier 法により算出し、各群間の有意差検定は一般化 Wilcoxon 検定を用い危険率 P<0.05 をもって統計学的に有意とした。

結 果

YAG 単独 700~2,100 J の照射を行った 11 匹の照射量と再発の有無の関係を図 1 に示した。縦軸は YAG 照射量を表し、表中左側は 90 日以上局所での再発なく生存したもので (4 匹)、平均照射量は 1,583 J であった。右側は腫瘍再発により死亡したもので

(7 匹)、平均照射量は 1,268 J であった。この表からわかるように、照射量が多い方が再発が少ない傾向がみられるものの、1,200~1,800 J の間では再発するものとししないものの両方がみられた。再発死亡例ではほとんどが腫瘍周辺部、つまり正常組織との境界付近より再発増大しており、この部位への照射不足が起き易いことがわかった。なお、1,000 J 以上照射した全例で腫瘍下層にある大腿筋の拘縮、下肢の運動制限を認めた。

この YAG 700~2,100 J の結果を参考に、YAG 単独で根治はしなくても、大腿筋拘縮のような周囲正常組織への影響が起きづらく、かつ必要最低限の腫瘍容積の縮小が得られる照射量、として YAG-PDT 併用群における YAG 照射量を 600 J に設定した。

各治療法別の平均生存日数および 90 日生存率を表 1 に示した。

コントロール群の平均生存日数は 28.8 日、90 日生存率は 0% であった。

YAG 600 J の照射群では大腿筋の拘縮、下肢の運動制限は見られずほぼ十分な腫瘍容積の縮小効果を得た。しかし全例再発死亡し、平均生存日数 33.6 日

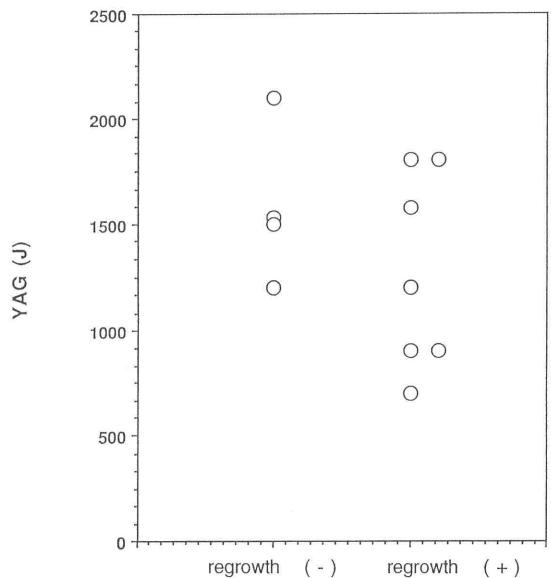
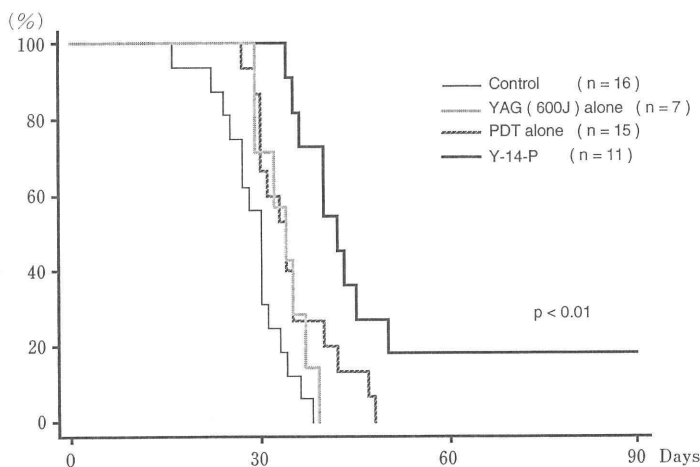


図 1 Therapeutic Results by YAG alone (700~2100 J)  
regrowth (-) : Alive for 90 days or more. Average energy of irradiation was 1583 J  
regrowth (+) : Dead in 90 days by regrowth of tumor. Average energy of irradiation was 1268 J

表 1 Survival after Laser Treatment

|             | n  | average survival (days) | 90-day-survival (rate) |
|-------------|----|-------------------------|------------------------|
| control     | 16 | 28.8                    | 0%                     |
| YAG (600 J) | 7  | 33.6                    | 0%                     |
| PDT         | 15 | 35.0                    | 0%                     |
| Y-O-P       | 9  | 33.1                    | 0%                     |
| Y-2-P       | 9  | 32.9                    | 0%                     |
| Y-4-P       | 8  | 31.3                    | 0%                     |
| Y-8-P       | 10 | 35.1                    | 10.0%                  |
| Y-14-P      | 1  | 40.6                    | 18.2%                  |

“Y-O-P” means PDT was performed immediately after YAG.. “Y-2-P” mens PDT 2 days after YAG. “Y-4-P” means PDT 4 days after YAG. “Y-8-P” means PDT 8 days after YAG. “Y-14-P” means PDT 14 days after YAG.



“Y-14-P” means PDT was peformed 14 days after YAG

図 2 Survival Curve

であった。

PDT 単独群は、15 例全例腫瘍増大により死亡し、平均生存日数は 35.0 日であった。

YAG-PDT 併用群での平均生存日数および 90 日生存率は、YAG 照射直後 PDT 施行群 (Y-O-P) が 33.1 日、0%、YAG 2 日後 PDT (Y-2-P) が 32.9 日、0%、YAG 4 日後 PDT (Y-4-P) が 31.3 日、0%、YAG 8 日後 PDT (Y-8-P) が 35.1 日、10%、YAG 14 日後 PDT (Y-14-P) が 40.6 日、18.2%であった。

コントロール群、YAG (600 J) 単独群、PDT 単独群、YAG 14 日後 PDT 施行群 (Y-14-P) の各生存曲線 (Kaplan-Meier 法) を図 2 に示した。この 4 群間に  $p < 0.01$  で統計学的有意差を認めた。YAG (600 J) と YAG-PDT 併用各群との 2 群間の検定で

は、YAG 14 日後 PDT (Y-14-P) のみで統計学的有意差を認めた ( $p < 0.01$ )。

### 考 察

#### (1) YAG-PDT 併用の有用性

気道閉塞性腫瘍性病変の治療にあたってはしばしば Nd-YAG Laser 照射による腫瘍の焼灼が行われてきた。この場合、照射により即時的な腫瘍容積の縮小が得られるため、末梢無気肺の早期改善、また中枢気道病変の場合では呼吸苦、チアノーゼ等に対する救命救急的処置のひとつとして有用な治療方法である。また、気管気管支壁から内腔に突出した良性腫瘍に対しては本法単独で根治的治療となりうる。

しかし一方でレーザーが照射された部位は腫瘍か

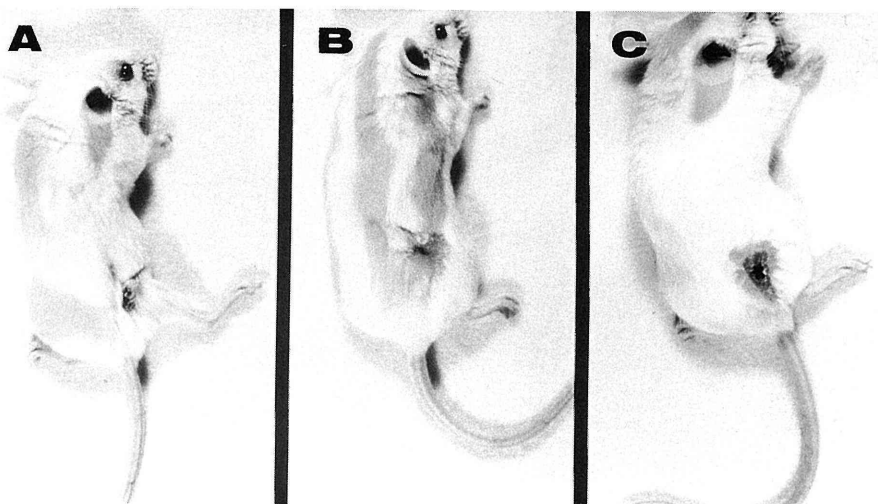


写真1 Appearance of Mice in which 90-day-survival was obtained, Treated by YAG alone, PDT alone, and Combined YAG+PDT.

A: YAG alone: 30 days after YAG (2100 J)

B: PDT alone: 16 days after PDT (Photofrin 5 mg/kg, excimer dye laser 100 J/cm<sup>2</sup>)

C: YAG+PDT: 12 days after PDT (Photofrin 5 mg/kg, excimer dye laser 50 J/cm<sup>2</sup>) which was performed 8 days after YAG (600 J)

正常組織かに関係なく焼灼されるため、正常気管支壁焼灼による気道内出血、呼吸不全、気道穿刺や、腫瘍組織への部分的な照射不足による再発、再度の気管・気管支狭窄という問題が起きやすい<sup>1)~3)</sup>。

原発性中心型早期肺癌に対する PDT の応用は数多く報告され多数の完全寛解を得ており、非外科的治療法として特に表層扁平上皮癌や多発中心型肺癌において有力な治療のひとつである<sup>4)~8)</sup>。また PDT では Nd-YAG Laser 照射と違い、光感受性物質が取り込まれた部位のみに殺細胞効果を引き起こすため、周囲正常組織への障害は起きにくく、よって出血、穿孔などの合併症は少ない<sup>9)</sup>。しかしレーザー照射に先立って (48~72 時間前) 光感受性物質の静注が必要な上、レーザー照射後、実際に腫瘍容積の縮小効果が現れるまでには 24 時間以上を要し、また一時的に浸出液や壊死物質の増加、腫瘍の膨化による狭窄の増悪を引き起こすことがあり、早急な気道開通が必要な症例に対しては適応とはならない。

今回の実験では、YAG 単独照射 (700~2,100 J) で一部に治癒例 (90 日生存例) を得たが、高照射量を必要とし、その結果腫瘍の下層にある大腿筋の拘縮、下肢の運動制限など周囲正常組織へ過大な影響を及ぼした。しかし、Nd-YAG Laser を 600 J という腫瘍容積をほぼ十分に減らすことができ、かつ周

囲正常組織への障害を起こしにくい低量で照射し、その後一定期間をおいてから PDT を施行した結果、障害の少ない有効な治療成績を得た。

写真 1 に、YAG 単独、PDT 単独、YAG-PDT 併用により完全治癒 (90 日生存) を得た実例を示した。左は YAG 2,100 J 照射 30 日後で、局所は治癒したものの大腿筋拘縮による右下肢の変形が著明である。中央は PDT 単独 (Photofrin 5 mg/kg excimer dye laser 100 J) 施行後 16 日目の写真で、表面の炭化、下肢の変形も見られず、周囲の毛の再生も良好である。右は、YAG 600 J 照射 8 日後に PDT (Photofrin 5 mg/kg Excimer dye laser 50 J) 施行した例の、PDT 後 12 日目の写真である。表面の炭化はほぼ消失し、周囲の毛も再生し始めている。大腿筋の拘縮による下肢の変形は見られない。

このように治癒の状態だけを考えると PDT 単独が有利であるが、気道病変など臨床応用を考えた場合、低量の YAG 照射と PDT の併用は、即時的な効果と良好な治癒状態が同時に得られる有効な治療法ということができる。

McCaughan, JS. ら<sup>10)11)</sup> は 88 例の臨床病期 III 期の扁平上皮癌症例に対し、PDT あるいは Nd-YAG Laser による治療を施行した。平均生存期間は、PDT 単独 (14 例) が 4.8 カ月、YAG 単独 (49 例)

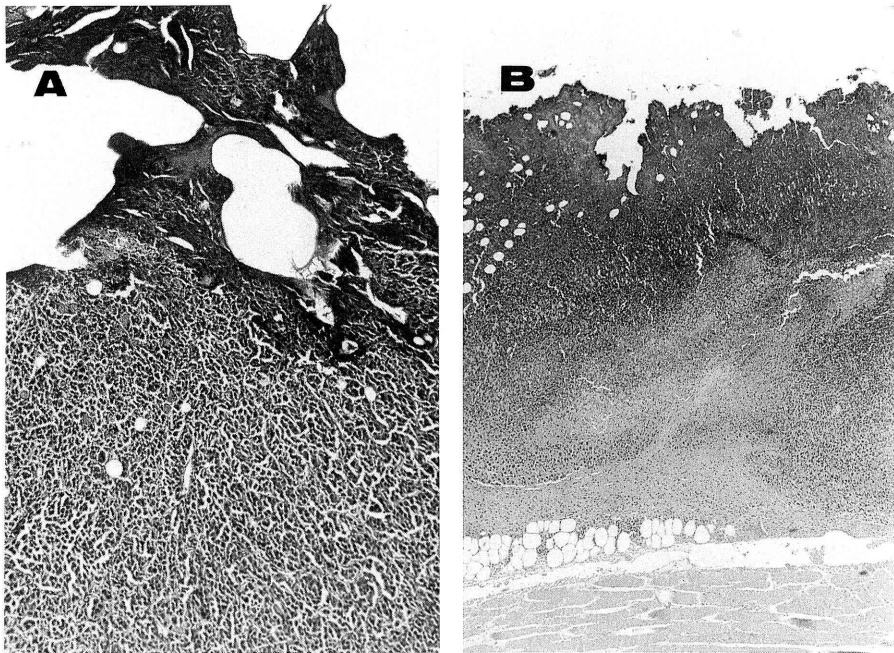


写真 2 A: Pathological findings immediately after YAG vaporization.  
B: Pathological findings 4 days after YAG alone.

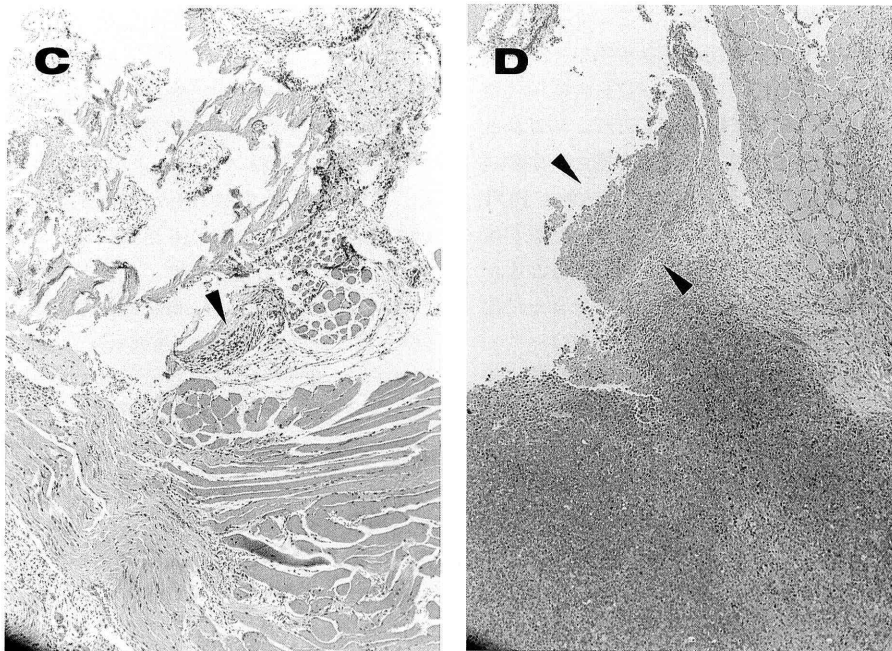


写真 3 C: Pathological findings 8 days after YAG alone.  
D: Pathological findings 14 days after YAG alone.  
Arrows show the area containing viable fibrosarcoma cells

が3.3カ月に対し、両者併用(25例)が9.2カ月と良好は結果を得ている。また両者併用のうちPDTを先行させた群(8例)の平均生存期間は10.9カ月で、YAGを先行させた群(17例)では9.0カ月であった。この差は統計学上有意ではないが、YAGを先行させた場合腫瘍表面の黒色壊死組織(炭化組織)がPDTレーザーの組織透過性を悪化させてしまうことに起因しているのではないかと推測している。この報告にはYAGとPDTの施行間隔について記載はないが、YAG-PDT併用療法の臨床での延命効果と安全性が報告されている。なお、今回の我々の実験では、臨床応用に際しYAGによる早期の気道開通を念頭においたためPDTを先行させた実験群は設定しなかった。

## (2) YAG照射後PDT施行までの適正な間隔

YAG照射直後、2日後、4日後の各治療効果はYAG単独照射の結果とほぼ同一であり、PDTの効果はほとんど出現しなかった。

写真2にYAG照射直後と4日目の腫瘍部分の病理組織像を示した。表面は炭化した組織に被われ、下層の腫瘍組織にも変性が起きている。このような腫瘍表面の炭化組織がExcimer dye laserの組織透過性が低下させ、さらにYAGの熱効果による組織全体の障害により、生き残った腫瘍細胞へのPhotofrinの集積が阻害されたことによって、PDTの効果を得られなかったと推測される。

一方、8日後並びに14日後にPDTを行った群では、YAG単独に比べ生存日数および生存率において若干の延命を認めたが、8日後よりも14日後の方が有効であった。これも前述のようなレーザーの組織透過性とPhotofrinの集積性に差によると考えられた。つまり、8日後ではまだ炭化の消失(肉眼的に10~15日で消失することが多い)、組織の修復(血流の再開)は不十分であり、PDTを行うのはYAG照射後14日後が最適と考えられた。写真3にYAG照射8日目と14日目の病理組織像を示した。ほとんどが変性死滅した組織の中で矢印の部分に各々viableな腫瘍組織がみられ、この後この部分が増殖し肉眼的に腫瘍の再発として認められるようになると推測される。

## 結 語

このように、2つのレーザーを併用した治療方法

は、適切な間隔で照射することにより相互の欠点を補いあい、実際の臨床の場合においては例えば気管・気管支閉塞性腫瘍性病変に対し、早期の気道開通、気道内出血の危険性の低減、再発・再狭窄までの期間の延長、頻度の低下など、有意な価値を見いだせる可能性が示唆された。

なお本論文の要旨は、第12回日本レーザー医学会総会にて報告した。

## 参 考 文 献

- 1) 於保健吉, 雨宮隆太, 他: レーザーを用いた肺癌治療. 胸部外科 **42**: 695~700, 1992
- 2) Myron J. Jacobson, Joseph LoCicero: Endobronchial Treatment of Lung Carcinoma. Chest **100**: 837~841, 1991
- 3) Brutinel WM, Cortese DA., et al.: A two year experience with the neodymium-YAG laser in endobronchial obstruction. Chest **91**: 159~165, 1987
- 4) 加藤治文, 奥仲哲弥, 他: 気管支癌のレーザー内視鏡治療. 図説臨床癌シリーズ No37 癌の内視鏡治療, 末舛恵一編, メジカルビュー社, 東京, 1993 99~106
- 5) Hayata, Y., et al.: Hematoporphyrin derivative and laser photoradiation in the treatment of lung cancer. Chest **81**: 269, 1982
- 6) Okunaka, T., et al.: Photodynamic therapy for multiple primary bronchogenic carcinoma: Cancer **68**: 253, 1991
- 7) Okunaka, T., et al.: A comparison between Argon-dye and Excimer-dye Laser for Photodynamic effect in transplanted mouse tumor: Jpn. J. Cancer Res **83**: 226~231, 1992
- 8) 奥仲哲弥, 加藤治文, 他. 進行肺癌に対するレーザー治療の適応と限界: PDT vs Nd-YAG レーザー治療. 気管支学 **15**: 733~737, 1993
- 9) McCaughan, JS., et al.: Photodynamic therapy of endobronchial malignancies. Cancer **62**: 691~701, 1988
- 10) McCaughan, JS., et al.: Stage III endobronchial squamous cell cancer: survival after Nd-YAG laser combined with photodynamic therapy vs. Nd-YAG laser or photodynamic therapy alone. SPIE **1426**: 279~286, 1991
- 11) McCaughan, JS., et al.: Photodynamic therapy versus Nd-YAG laser treatment of endobronchial or esophageal malignancies. Photodynamic therapy and biomedical lasers: 23~36, 1992

## Combined Nd-YAG Laser and Photodynamic Therapy for Fibrosarcoma in Mice

Koichi TANAKA, Harubumi KATOH, Tetsuya OKUNAKA, Katsuo AIZAWA\*

Department of Surgery, Department of Physiology\*, Tokyo Medical College

Among the two methods of laser for malignant tumors, one method uses high power Nd-YAG laser (YAG) to vaporize tumor tissue. Another method is photodynamic therapy (PDT), in which antitumor effects are obtained by irradiation using a low power laser after administration (intravenous infusion) of photosensitizer. The purpose of this study is to obtain better effects in cancer therapy by combining these two methods of laser therapy, using the advantages of each method.

Fibrosarcoma cells were transplanted subcutaneously in BALB/c mice. The average survival interval of the untreated control group (n=16) was 28.2 days, and the 90-day-survival rate was 0%. The average survival interval of the YAG-only group (1320 nm, 600 J, n=7) was 33.6 days, and the 90-day-survival rate was 0%. The average survival interval of the PDT-only group (Excimer dye laser 628 nm 50 J/cm<sup>2</sup>, Photofrin 5 mg/kg iv, n=15) was 35.0 days, and 90-day-survival rate was 0%. In the group with YAG-PDT combined therapy (YAG=600 J, PDT=excimer dye laser 628 nm 50 J/cm<sup>2</sup>, Photofrin 5 mg/kg iv), the average survival interval and 90-day-survival rate were 33.1 days and 0% when PDT was performed immediately after YAG (n=9), 32.9 days and 0% when PDT was performed 2 days after YAG (n=9), 31.3 days and 0% when PDT was performed 4 days after YAG (n=8), 35.1 days and 10% when PDT was performed 8 days after YAG (n=10), and 40.6 days and 18.2% when PDT was performed 14 days after YAG (n=11). There was better survival benefit PDT was performed 14 days after Nd-YAG laser irradiation than in cases of Nd-YAG laser alone or PDT alone (p<0.01).

The reason for better effects being obtained with PDT after an interval of 14 days was because immediately after YAG vaporization the discolored surface of the lesion prevented penetration of the excimer laser beam.

Thus, there is a significant value derived from combined laser therapy with Nd-YAG laser and PDT for the treatment of cancer, for example for patients who have obstruction or stenosis caused by carcinoma in a large bronchus or trachea who require opening of the airway urgently, and with an appropriate interval between YAG and PDT.

---

<Key words> Nd-YAG Laser, Photodynamic Therapy, Survival benefit.

---