

Photodynamic Therapy Using Pheophorbide a and Nd:YAG Laser

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-27 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 藤島, 一郎 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/1400

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博論第 123号	学位授与年月日	平成 4年 3月 9日
氏名	藤 島 一 郎		
論文題目	Photodynamic Therapy Using Pheophorbide a and Nd : YAG Laser (ネオジミウム：ヤグレーザーとフェオフォルバイド a を用いた光化学療法)		

医学博士 藤島一郎

論文題目

Photodynamic Therapy Using Pheophorbide a and Nd:YAG Laser

(ネオジミウム：ヤグレーザーとフェオフォルバイド a を用いた光化学療法)

論文の内容の要旨

腫瘍に対する photodynamic therapy (PDT) は1978年に Dougherty らが臨床応用を報告して以来、光化学物質としてヘマトポルフィリン誘導体 (HpD) が用いられ、励起光は主としてアルゴンダイレーザーが用いられてきた。しかし、HpDの皮膚光線過敏症が強いこと、レーザーの組織透過性が小さく、大きな病巣の治療に不向きであるなどの問題点も多い。これらの欠点解消のために、我々は光化学物質としてクロロフィルからマグネシウムとフィチルのとれた pheophorbide a (Ph-a)、励起光に neodymium yttrium-argon-garnet (Nd:YAG) レーザーを用いた光化学療法を開発し、実験的脳腫瘍に対する効果を調べた。

(方法)

光化学物質としては Ph-a を用い、レーザーは医療用の Nd:YAG レーザーに Q スイッチをつけて連続波とパルス波を利用できるようにし、quartz fiber に導光して使用して以下の実験を行った。(1) Ph-a の組織内分布を調べるために F344 rat の視床に rat T9 glioma cell を移植して実験的脳腫瘍を作成して、Ph-a を 3 mg/kg 静注、24 時間後に諸臓器を取り出して高速液体クロマトグラフィーにて Ph-a の濃度を測定した。(2) Ph-a による皮膚の光線過敏反応をみるために F344 rat に Ph-a 30 mg/kg 静注し 24 時間暗室内に飼育した後、2 万ルクスのタングステンランプを 2 時間照射して皮膚の光線過敏反応を観察した。(3) レーザー光線の脳内分布を見るために、猫の脳に連続波と Q スイッチ付でパルス変換した Nd:YAG レーザーを照射し、脳内の各地点における相対強度を power meter で測定した。次に rat T9 glioma cell を用いて in vitro、in vivo 実験を行い PDT の実験的脳腫瘍に対する効果を見た。(4) in vitro 実験として Ph-a 処理、および未処理の cell に、パルス変換した Nd:YAG レーザーを照射し生存率を trypan blue 染色にて算出した (student's-t 検定 $n=6$)。また恒温槽を用いて培養液の温度を 37.0°C と 44.0°C に変化させ温熱による影響も見た。(5) in vivo 実験として F344 rat の背部皮下に実験的脳腫瘍を作成し、12 日後に Ph-a 30 mg/kg を投与、48 時間後に腫瘍内レーザー照射を行った。(A) PDT 群 (B) PDT と温熱療法併用群 (C) 未処理群として経時的に腫瘍の大きさを測定した (各群 $n=6$)。

(結果)

- (1) Ph-a の組織内分布は実験的脳腫瘍 ($0.063 \pm 0.023 \mu\text{g}^*$) の方が同側大脳 ($0.0084 \pm 0.003 \mu\text{g}$)、対側大脳 ($< 0.0030 \mu\text{g}$) より有為に濃度が高かった。
- (2) F344 rat では Ph-a による皮膚光線過敏反応はみられなかった。
- (3) レーザー光の脳内分布は Q スイッチ付きの Nd:YAG レーザー光は連続波に比べて probe のごく近傍から散乱が起こり組織加温範囲内で均一な光分布を示し、組織深達度も連続波よりやや良好であった。
- (4) in vitro 実験にて rat T9 glioma cell の生存率は PDT 施行群では 68.8% であり、連続波照射群の 93.5% より有意に低かった ($P < 0.01$)。また 44.0°C の恒温槽内では生存率が 15.8% とさらに低下し、温熱処理下での PDT がより効果がある事を示した。
- (5) in vivo 実験で PDT 施行群は 6 例中 4 例に腫瘍が消失し、PDT とレーザー温熱療法併用群は全例に腫瘍の消失を見た。未処理群については腫瘍の消失はなかった。

(考案)

Ph-a は広く自然界に存在し、小量であれば漬物などを通じて我々が経口摂取している物質であるが、光化学物質としても知られている。吸収波長のピークは 670 nm であるが、工業用の Nd:YAG レーザー (1063 nm) に Q スイッチをつけてパルス変換した光 (giant pulse) を照射し、2 光子吸収のメカニズムで PDT 反応を起こす事ができると報告されている。しかし、このままでは fiber に導光できないため実用的でない。我々は医療用の Nd:YAG レーザーに Q スイッチ (acoustic Q switch) をつけて使用する事によ

り quartz fiber レーザー光を導光して PDT 反応を起こす事に成功した。Ph-a は脳腫瘍に対する集積性がよく、皮膚光線過敏症が少ない。また、Nd:YAG レーザーは組織透過性がよく大きい腫瘍の治療が可能なことやレーザー温熱療法との併用が容易なことなどから従来のアルゴンダイレーザーより有利な点が多い。今後、実用化されれば脳腫瘍等の治療に効果が期待できる。

論文審査の結果の要旨

腫瘍に対する photodynamic therapy (PDT) は1978年に Dougherty らが臨床応用を報告して以来、光化学物質としてヘマトポルフィリン誘導体 (HpD) が用いられ、励起光は主としてアルゴンダイレーザーが用いられてきた。しかし、HpD の皮膚光線過敏症が強いこと、レーザーの組織透過性が小さく、大きな病巣の治療に不向きであるなどの問題点も多い。申請者は光化学物質としてクロロフィルからマグネシウムとフィチルのとれた pheophorbide a (Ph-a)、励起光に neodymium yttrium-argon-garnet (Nd:YAG) レーザーを用いた光化学療法を開発しラット脳腫瘍細胞を用いて脳腫瘍治療の基礎を築いた。

(方法)

光化学物質としては Ph-a を用い、レーザーは医療用の Nd:YAG レーザーに Q スイッチをつけて連続波とパルス波を利用できるようにし、quartz fiber に導光して使用して以下の実験を行った。(1) Ph-a の組織内分布を調べるために F344 rat の視床に rat T9 glioma cell を移植して実験的脳腫瘍を作成して、Ph-a を 3 mg/kg 静注、24 時間後に諸臓器を取り出して高速液体クロマトグラフィーにて Ph-a の濃度を測定した。(2) Ph-a による皮膚の光線過敏反応をみるために F344 rat に Ph-a 30mg/kg 静注し 24 時間暗室内に飼育した後、2 万ルクスのタングステンランプを 2 時間照射して皮膚の光線過敏反応を観察した。(3) レーザー光線の脳内分布を見るために、猫の脳に連続波と Q スイッチ付でパルス変換した Nd:YAG レーザーを照射し、脳内の各地点における相対強度を power meter で測定した。次に rat T9 glioma cell を用いて in vitro、in vivo 実験を行い PDT の実験的脳腫瘍細胞に対する効果を見た。(4) in vitro 実験として Ph-a 処理、および未処理の cell に、パルス変換した Nd:YAG レーザーを照射し生存率を trypanblue 染色にて算出した (student's-t 検定 $n=6$)。また恒温槽を用いて培養液の温度を 37.0°C と 44.0°C に変化させ温熱による影響も見た。(5) in vivo 実験として F344 rat の背部皮下に実験的脳腫瘍を作成し、12 日後に Ph-a 30 mg/kg を投与、48 時間後に腫瘍内レーザー照射を行った。(A) PDT 群 (B) PDT と温熱療法併用群 (C) 未処理群として経時的に腫瘍の大きさを測定した (各群 $n=6$)。

(結果)

- (1) Ph-a の組織内分布は実験的脳腫瘍 ($0.063 \pm 0.023 \mu g^*$) の方が同側大脳 ($0.0084 \pm 0.003 \mu g$)、対側大脳 ($<0.0030 \mu g$) より有為に濃度が高かった。
- (2) F344 rat では Ph-a による皮膚光線過敏反応はみられなかった。
- (3) レーザー光の脳内分布は Q スイッチ付きの Nd:YAG レーザー光は連続波に比べて probe のごく近傍から散乱が起こり組織加温範囲内で均一な光分布を示し、組織深達度も連続波よりやや良好であった。
- (4) in vitro 実験にて rat T9 glioma cell の生存率は PDT 施行群では 68.8% であり、連続波照射群の 93.5% より有意に低かった ($P < 0.01$)。また 44.0°C の恒温槽内では生存率が 15.8% とさらに低下し、温熱処理下での PDT がより効果がある事を示した。
- (5) in vivo 実験で PDT 施行群は 6 例中 4 例に腫瘍が消失し、PDT とレーザー温熱療法併用群は全例に腫瘍の消失を見た。未処理群については腫瘍の消失はなかった。

以上により Ph-a の脳腫瘍に対する良好な集積性や、皮膚光線過敏症が少ない点、また Nd:YAG レーザーの組織透過性、レーザー温熱療法との併用が容易なことなどから、実用化されれば脳腫瘍等の治療に効果が期待できる事が示唆された。

審査委員会においては、以上の口頭発表と提出された主論文について以下の質疑がなされた。

- ① Nd:YAG レーザーを用いた理由
- ② pheophorbide-a を photosensitizer として用いた理由

- ③ pheophorbide-a の吸収スペクトルと Nd : YAG レーザーで励起するメカニズムについて
- ④ type I、type II の反応はどちらが主要な役割を演じているか
- ⑤ レーザー光の組織透過性について
- ⑥ PDT と温熱療法の関係について
- ⑦ in vivo 実験で腫瘍が消失しなかった例について、考えられる理由

これらの質問に対して申請者の解答は適切であり、問題点の把握も十分であった。その結果、本審査委員会は本論文が博士（医学）の学位授与に値する内容を備えているものと全員一致で判定した。

論文審査担当者	主査	教授	中野	稔				
	副査	教授	神田	洋三	副査	教授	馬場	正三
	副査	教授	藤瀬	裕	副査	教授	吉田	孝人