

## 光化学療法の臨床応用に関する研究

千葉大学医学部産科婦人科学教室 (主任: 高見沢裕吉教授)

久保田浩一 河西十九三 岩崎 秀昭 高見沢裕吉

## Clinical Studies on Photoradiation Therapy with Hematoporphyrin Derivatives (HpD) and Argon Dye Laser

Koichi KUBOTA, Tokuzo KASAI, Hideaki IWASAKI  
and Hiroyoshi TAKAMIZAWA

Department of Obstetrics and Gynecology, School of Medicine, Chiba University, Chiba

(Director : Prof. Hiroyoshi Takamizawa)

**概要** 光感受性物質である hematoporphyrin 誘導体 (HpD) と argon-dye レーザー照射による光化学療法 (photoradiation therapy, PRT) を外陰部腫瘍 4 例, 陰癌 1 例, 子宮頸癌 1 例, 子宮頸部上皮内癌 (carcinoma in situ, CIS) 8 例に対して施行し, 以下の結果を得た。

1) HpD 全身投与群では陰癌 1 例が PRT 後, 6 カ月現在, CR を示し, 外陰癌 2 例が PR, 外陰癌 1 例, 外陰ページェット病 1 例が, NC であった。組織学的効果としては腫瘍組織の変性, 壊死がみられ, 細胞変化としては核が pyknotic に濃染萎縮する細胞と淡染膨化する細胞が主にみられた。腫瘍体積の大きい症例, 腫瘍表面が正常上皮でおおわれている症例, ページェット病など HpD 取り込みに問題がある症例は PRT の適応ではないと考えられた。

2) HpD 局所投与群では PRT 後のコルポ診断と手術摘出標本の組織学的検索より, CIS 2 例で CR, 子宮頸癌 1 例, CIS 6 例で PR を示した。

CR を示した症例は HpD 局注による局所投与群であり, コルポ診では病変部は頸管内にはなく, 外子宮口より外側に確認された。

PR を示した 2 例は glandular involvement として, 1 例は頸管内病変として腫瘍の残存が認められた。HpD 局注による PRT は副作用を防げる点, 効果の確実性から, PRT の一方法として有効と考えられた。

以上より, PRT の臨床応用に際しては適応症例の選択とともに, HpD 投与法のくふうによる腫瘍組織への HpD の取り込み改善および, 組織浸透性のすぐれたレーザー器機の開発が望まれた。

**Synopsis** Photoradiation therapy (PRT), in which hematoporphyrin derivatives (HpD) are activated by an argon-dye laser, was performed on superficial or subcutaneous tumors in 4 vulvar carcinoma, 1 vaginal carcinoma, 1 invasive cervical carcinoma and 8 carcinoma in situ (CIS) of the uterine cervix.

1) In PRT with intravenous administration of HpD, PRT obtained complete response (CR) in one vaginal carcinoma with follow up to 6 months. Histological examination, 7 days after PRT, revealed swelling and edema of the tumor, showing degenerated cells with pyknotic nuclei or weakly stained, swollen nuclei.

2) In PRT with local injection or local attachment of HpD, performed on 9 cervical carcinoma, PRT obtained CR in 2 CIS and PR in 7 carcinoma.

3) A side effect with PRT was found in a patient who received intravenous administration of HpD. All patients who received PRT with local administration of HpD were free of side effects.

4) PRT could be used as a primary treatment or upon tumor recurrence following conventional modalities such as surgery, chemotherapy and radiation therapy. In carrying out PRT, selection of patients and improvement of photosensitizing agents and laser equipment were most important.

**Key words:** HpD · Argon-dye laser · PRT · Antitumor effects

## 結 言

近年, 医学分野でのレーザー光の利用はめざましく, その利用は診断用, 治療用と広範囲に及ん

でいる。

レーザー装置はその発生媒質の種類によつて気体 (CO<sub>2</sub>, Argon, He-Ne など), 固体 (Nd-YAG,

Ruby, Glass など), 液体 (色素, 有機キレートなど) レーザーなどがある。

レーザー光の特性としては熱作用, 圧力作用, 光としての作用などがあり(表1), そのうち, 熱作用と圧力作用を主に利用した, CO<sub>2</sub>レーザー, YAGレーザーなどは外科領域において広く臨床応用されている<sup>14)</sup>。

一方, レーザー光励起による生体の光化学反応を診断, 治療に応用しようとする試みが近年, 急速に発展しつつある<sup>7)~9)11)12)17)</sup>。

すなわち, 腫瘍親和性光感受性物質として

hematoporphyrin derivatives (以下 HpD と略す) を用い, 励起レーザー光線照射により腫瘍の治療を行う方法である。この場合のレーザー光は熱エネルギーの利用ではなく, 光化学反応を起こすための励起光線としての利用であり, すぐれた効果を示す特性を有している<sup>7)8)17)</sup>。

著者らは婦人科各種悪性腫瘍に対してこの光化学療法 (photoradiation therapy 以下 PRT と略す) を臨床応用し, PRT の婦人科領域における有用性および問題点について検討した。

### 治療対象と方法 (表2)

#### 1. 対象

外陰部腫瘍4例 (ページェット病術後再発例1例, 扁平上皮癌, II期1例, III期1例, II期術後再発例1例), 腔癌1例 (扁平上皮癌II期), 子宮頸部上皮内癌 (carcinoma in situ, CIS) 8例, 子宮頸癌1例 (扁平上皮癌II期) の計14例である。

#### 2. 治療方法

##### i) HpD の投与方法

##### a) 全身投与

外陰部腫瘍4例, 腔癌1例に対しては HpD (Photofrin, Oncology Research & Development, Inc, Cheektowaga, New York) 2.5mg/kg を静注し, 48, 72時間後の2回, レーザー照射を行った。

##### b) 局所投与

表1 レーザーの生体への作用機序<sup>8)</sup>

1) 熱による作用
a) 数 msec という短時間照射部が200~1,000°Cという高温になり, 蒸発・気化する
b) 数秒~数分間45~70°C程度の温度になり, 組織が凝固・変性する
2) 圧力による作用
a) 光子自体の圧力(数~数10g/cm <sup>2</sup> で小さい)
b) 組織の熱膨張による衝撃波
c) 蒸発による反衝圧力波
d) 光波の電歪現象による超音速波
3) 光としての作用
a) 光の量子エネルギーによる化学変化
b) 色素による選択的吸収
c) 二次高調波などによる化学作用
4) 電磁界作用
電磁場生成によるイオン化, 遊離基発生, 分子結合の破壊

表2 PRT の治療成績

Radiation: Time 20~40min. Power 150~200mW.

No.	Age	Site of Tumor	Stage	Dose & Method of HpD	Response
1	63	Vulva	II	2.5mg/kg i.v.	PR
2	62	Vulva	Recurrence	2.5mg/kg i.v.	PR
3	58	Vulva	III	2.5mg/kg i.v.	NC
4	77	Vulva	Paget's D.	2.5mg/kg i.v.	NC
5	61	Vagina	II	2.5mg/kg i.v.	CR
6	50	Cervix	IIb	Local application	PR
7	35	Cervix	0	Local application	PR
8	56	Cervix	0	Local application	PR
9	37	Cervix	0	Local application	PR
10	37	Cervix	0	30mg Local injection	CR
11	40	Cervix	0	30mg Local injection	CR
12	39	Cervix	0	30mg Local injection	PR
13	50	Cervix	0	30mg Local injection	PR
14	42	Cervix	0	30mg Local injection	PR

HpDの全身投与による副作用である光線過敏症を避けるため、HpDの局所投与を行った。方法として子宮頸癌1例、CIS 3例に対してはHpDを十分しみ込ませたタンポンを病変部に24時間密着させ、HpDを取り込ませた。CIS 5例に対してはコルポスコピーで確認した病変部の周囲皮下、1~10mmの深さにHpDを6cc (30mg)分注した。投与後、24, 48時間後の2回、レーザーを照射した。

#### ii) アルゴンダイレーザー照射

アルゴンダイレーザー (Spectra physics 社)<sup>5)</sup>を肉眼およびコルポスコピーで確認した病変部に150~200m Watt/cm<sup>2</sup>の出力で20~40分間照射した。

#### 3. 効果判定

手術適応の外陰癌II期1例、子宮頸癌1例、CIS 8例についてはPRT後、7~10日で手術摘除を行い、摘出標本の亜連切により、手術不適例については生検により、各々組織学的効果を検討した。効果判定ではCR (complete response) は腫瘍の完全な消失が手術摘出標本または細胞診、組織診などにより臨床的に確認されたもの、PR (partial response) は腫瘍の縮小および組織学的にPRTによる変性、壊死が明らかに認められたもの、NC (no change) は臨床的にも組織学的にも効果の認められなかつたものを示す。

#### 4. その後の治療

手術不適例についてはPRTの効果判定後、症例により放射線療法、化学療法を施行した。症例5の腔癌については骨盤内リンパ節への転移の可能性もあり、PRT後、1週間で骨盤外照射 (Linac) 5,000radsを施行し、細胞診、コルポ診、組織診にて経過観察を行った。

#### 成 績

##### 1. HpD全身投与群

###### i) 肉眼的効果

症例1, 2の外陰癌では明らかな腫瘍の縮小と腫瘍表面の壊死化がみられた。症例3, 4は照射部の発赤を認めるのみで腫瘍の縮小はみられなかつた。症例5の腔癌ではPRT後、6カ月現在、内診、コルポ診にて腫瘍の残存は認めなかつた。写真1

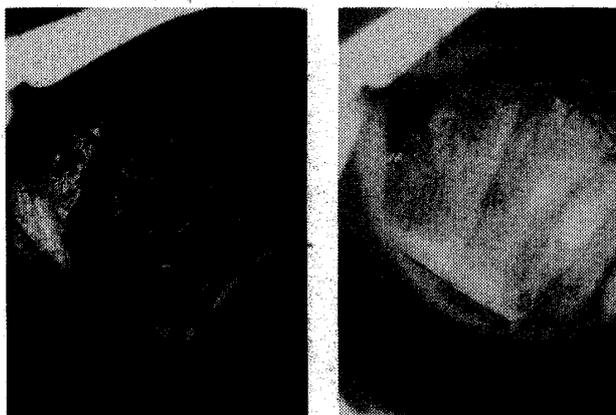


写真1 左：症例5, 腔癌II期の治療前のコルポ像  
右：同PRT後, 3カ月目のコルポ像

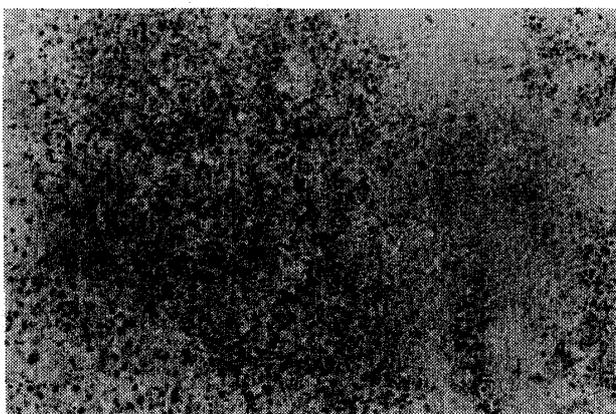


写真2 症例1, PRT後, 3日目の組織像(HE染色, ×100)

左は同症例のPRT施行前のコルポ像であり、腫瘍表面は浮腫状、易出血性を示した。右はPRT後、3カ月目のコルポ像であり、腫瘍の残存を示す所見はみられなかつた。

###### ii) 組織学的効果

症例1, 2ではPRT後、3日目で腫瘍細胞の核は濃染萎縮するもの、淡染膨化するものなどを示し、組織学的に変性、壊死像を示した(写真2, 3)。同症例のPRT後、3日目の細胞診では組織像と同様に小型で濃染萎縮した核を有する細胞と強い変性のため、核は膨化し、両染色性を示す細胞が主に認められた(写真4)。症例3, 4は組織学的に明らかな変性像を認めなかつた。症例5はPRT後、3日目で組織学的に変性像を認め、3カ月後の組織検査では腫瘍の残存は認めなかつた。

###### iii) 総合効果判定

肉眼的および組織学的効果判定により、表2に

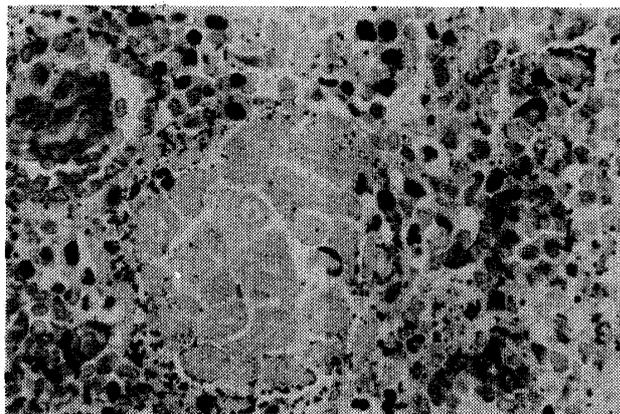


写真3 症例1, PRT後, 3日目の組織像(強拡大)  
(HE染色, ×400)

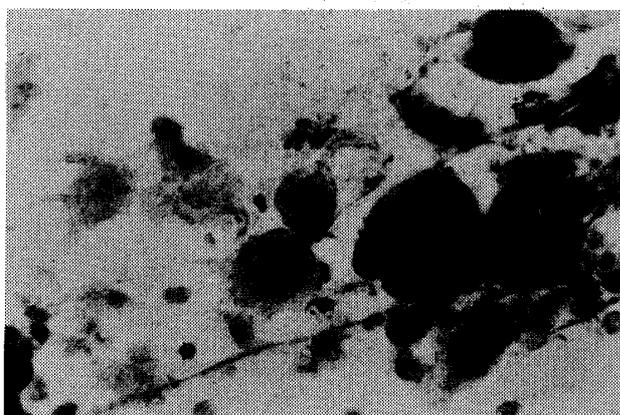


写真4 症例1, PRT後, 3日目の細胞像(pap染色,  
×400)

示す如く, CR 1例, PR 2例, NC 2例であつた。

## 2. HpD局所投与群

### i) 肉眼的効果

#### 局所塗布群:

子宮頸癌II期ではPRT後, 3日目で腫瘍表面は薄い白苔におおわれたが腫瘍の明らかな縮小は認められなかつた。

CIS 3例は照射部に粘液分泌物の付着が多くみられ, 異常コルポ所見を示す病変部の縮小がみられたが完全な消失は認めなかつた。

#### 局注群:

症例10, 11はPRT前のコルポ診で病変部は外子宮口より外側にあり, 頸管内病変は確認できなかつた。PRT後, 3日目で病変部は白苔でおおわれ, 鉗子で容易に剝離された。剝離後は異常コルポ所見を認めなかつた(写真5)。症例12, 13, 14



写真5 症例10, PRT後, 3日目のコルポ像

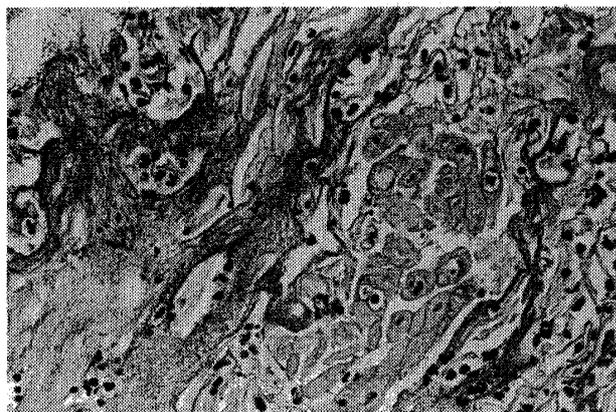


写真6 症例10, PRT後, 3日目の剝離組織の組織像  
(HE染色, ×200)

はPRT前のコルポ診で病変部は頸管内にも広がっていた。PRT後, 3日目で病変部は白苔におおわれていたが容易には剝離せず, コルポ診でも頸管内に白斑を認めた。

### ii) 組織学的効果

症例10, 11の剝離した白苔は組織学的には浮腫状の壊死物質から形成され, 一部には染色性が失われた核を有する腫瘍細胞が認められた(写真6)。手術摘出標本の検索からは症例10, 11では腫瘍の残存は認めなかつた。

症例12, 13ではglandular involvementとして腫瘍の残存を認め(写真7), 症例14では子宮頸管



写真7 症例12, PRT後, 7日目の組織像。腫瘍の残存は glandular involvement として認められる。(HE染色, ×100)

内に腫瘍の残存を認めた。

### iii) 総合効果判定

肉眼的および組織学的効果より, 局所塗布例ではPR 4例, 局注例ではCR 2例, PR 3例であった。

### 3. 副作用

副作用としては日焼け症状が症例1で軽度みられたが局所投与群ではみられなかつた。

血液所見, 肝機能などの生化学的検査ではPRTによると考えられる検査異常値を認めなかつた。

### 考 察

腫瘍親和性光感受性物質と光を用いた癌の診断, 治療の歴史はRaab<sup>14)</sup>に始まり, Tomson<sup>16)</sup>は感受性物質としてアクリジンオレンジを用いたPRTの治療実験を初めて報告した。Lipson et al.<sup>13)</sup>によつて開発されたHpDはそれまでの感受性物質よりも腫瘍親和性および抗腫瘍効果にすぐれており, 臨床応用への道を開いた。

1978年, Dougherty et al.<sup>7)</sup>は24症例, 113カ所の皮下転移巣に対し, ナトリウムネオンレーザーによるPRTを施行し, そのうち, 21症例, 98カ所の転移巣でCRを示し, 組織型によつて効果の違いは認められなかつたと報告した。以来, 本邦においても肺癌, 消化器癌, 膀胱癌など広い分野で臨床応用が試みられている<sup>3)11)12)17)</sup>。婦人科領域ではCO<sub>2</sub>およびYAGレーザーを用いた, ビラン, 異形成上皮, 上皮内癌, コンジローマなどの治療についての報告はあるが<sup>14)</sup>PRTについての報告は少

ない<sup>15)</sup>。

PRTによるレーザー光の利用はCO<sub>2</sub>およびYAGレーザーなどの高出力の器機と違い, 光化学反応によつて惹起される singlet oxygen または hydroxyl radical による酸化反応<sup>6)10)</sup>で腫瘍細胞を変性, 壊死に至らしめるもので, その詳しい作用機序, 臨床効果については不明な点が多い。

症例1, 2の外陰癌では腫瘍は単発性で直径3cm以下と比較的小さく, 腫瘍表面は正常上皮に被われず, ビラン面を形成していた。

PRT後, 1週間で腫瘍はかなり縮小し, 組織学的には特異な壊死像を示していた。レーザー照射を受けた腫瘍中心部では腫瘍細胞はほとんど壊死に陥り, エオジン好性を示し, 核は輪郭を示すだけで染色性は全く失われていた。壊死組織周辺には出血, 色素沈着の他に核が濃染萎縮した腫瘍細胞を認め, potential lethal damage を受けた細胞と考えられた。

著者ら<sup>9)</sup>が報告した in vitro の実験ではPRTにより培養細胞はレーザー照射直後より細胞質の著しい変性がみられ, 数時間後には細胞質はほとんど消失し, 今回の in vivo とは対照的な変化を示した。核については in vitro でPRT後, 24時間で濃染萎縮するもの, 淡染膨化するものなどを認めたが臨床例でも同様な変化を示す細胞が組織内に認められた。これらの所見の違いは培養という特殊な条件下で核と細胞質の示す反応が in vivo では組織間結合織や血管, リンパ管などのより複雑な環境の違いから, in vitro とは違つた反応を示したものと推察された<sup>7)</sup>。

PRT後, 1日目の細胞診では核が濃染萎縮した細胞と核が膨化し, 核内構造も失われ, 両染色性を示す細胞が認められ, 組織像を反映した所見と考えられた。

症例3の外陰癌Ⅲ期では腫瘍は多発性で腫瘍の大きさも最大径4cm以上と大きく, 腫瘍表面はほとんど正常上皮に被われていたためレーザー光が腫瘍細胞に十分到達しなかつたと考えられた。大きな腫瘍に対してはHpDの取り込みの問題とともにレーザー光の組織浸透性に限界があるため効果があまり期待できない。

Dougherty et al.<sup>7)</sup>は色素の多い腫瘍、血管の豊富な腫瘍、大きな腫瘍に対しては、HpD 投与量の増量、レーザー照射量の増加など、より aggressive な治療の必要性を説いている。また、腫瘍内に needle を介して optical fiber を差し込み、腫瘍内深く、光を透過させることによつて効果も改善されると推奨している<sup>7b)</sup>。

症例4のページェット病ではPRTによりNCであつたがページェット病の場合、上皮内腫瘍であるため、HpDの取り込みとそのretensionに問題があり、十分なレーザー照射にも効果がみられなかつたと考えられた。

症例5はII期の腔癌で腫瘍の大きさは2×3cm、深さは内診から1cm以下と考えられ、単径部や子宮旁結合織には腫瘍の存在は触知されなかつた。Soma et al.<sup>15)</sup>は同様な腔癌症例に対してPRTを施行し、腫瘍の完全消失をみたと報告しており、手術や放射線治療の困難な腔癌症例に対しては有望な治療法と期待される。

PRTによつては血液所見、血液化学、凝固系などに影響はないといわれており<sup>7)</sup>、今回の症例でもこれらに異常はみられなかつた。

PRTによる副作用として臨床上、問題となるのは光線過敏症であり、Dougherty et al.<sup>7)</sup>はPRT 25例中6例に第2度の火傷がみられたが症状は2～3日で消失し、長期間にわたる合併症はなかつたという。しかし、臨床応用にあつては患者への十分な説明、1カ月以上直射日光を避けることなどが必要である。

そこで今回、HpDの局所投与を試みたわけであるが文献上では局所投与の報告はみられない。

腫瘍表面からHpDがどの程度取り込まれるか今後の検討が必要であるが、今回のPRTでは4例ともPRを示した。症例6の子宮頸癌II期の組織学的検索では表面の腫瘍細胞は壊死に陥り、腫瘍周辺の正常頸管腺細胞も表層より深い部分で変性像がみられるなど特異な所見を示した。この変化は温熱効果によるものではないことは温熱の効果をより受ける表層の腺細胞では変化がみられないことから明らかである<sup>9)</sup>。

HpDの局注により、上皮内癌の腫瘍細胞にどの

程度HpDが取り込まれるかは明らかではないがPRTにより腫瘍組織は白苔となり、その組織像からもPRTの効果が明らかに認められた。しかし、手術摘出標本の検索では5例中PR3例、CR2例と治癒率は40%にとどまり、CO<sub>2</sub>やYAGレーザーによるdysplasiaの治癒率<sup>14)</sup>と比較して満足のいくものではなかつた。PRを示した症例ではglandular involvementとして腫瘍の残存を認めたものが2例、頸管内に残存を認めたものが1例あり、レーザー光の組織浸達性の限界とともにPRTの適応症例の選択が臨床応用に際し、重要であることが示唆された。

放射線治療、化学療法などは手術療法とともに癌治療の中心であるが無制限に行うことはできず、また、その副作用は無視しえるものではない。患者にとっては癌以上の障害となることもある。長期的には放射線の影響により二次的に発癌の可能性もあり、嚴重なfollow-upが必要とされる。この点、PRTはくり返し行うことができ、直接DNA障害を起こさないといわれており<sup>10)</sup>、in vitroの突然変異原性の実験<sup>10)</sup>でも放射線の10分の1以下と発癌性も放射線より、非常に低いと報告されている。しかし、紫外線と皮膚癌の関係もあり、照射部の皮膚に対しては十分注意しなければならない。

以上、PRTによる皮下悪性腫瘍に対する治療は他の治療にないすぐれた特性を有する。しかし、現段階ではHpDの取り込みの問題とともにレーザー光の組織浸達性の限界による効果の不確実性のため、手術、放射線療法、化学療法の行えない上皮内悪性腫瘍が適応となろう。

今後は腫瘍組織を気化するCO<sub>2</sub>、YAGレーザーの併用によるPRTの効果促進、適応症例の選択、よりすぐれた腫瘍親和性光感受性物質およびレーザー器機の開発により、癌治療の一分野として、発展が期待される。

本論文の要旨は第36回日本産婦人科学会学術講演会にて発表した。

なお本研究は厚生省がん研究助成金、56-5早田班によつてなされた研究の一部である。

## 文 献

1. 新井正夫, 蔵本博行, 脇田邦夫, 佐々木統充: YAGレーザー臨床応用. 日産婦誌, 35: 1801, 1983.
2. 瀧美和彦: レーザー医学. 基礎と臨床. 31, 中山書店, 東京, 1980.
3. 早田義博, 加藤治文, 小野寿太郎, 桜内運起, 小川一平, 山田隆一: ヘマトポルフィリン誘導体による癌の診断と治療. 日本レーザー医学会誌, 3: 9, 1983.
4. 河西十九三, 岩崎秀昭, 武田 敏, 高見沢裕吉: CO<sub>2</sub>レーザーを用いた dysplasia の治療法の研究. 日産婦誌, 34: 1245, 1982.
5. 河西十九三, 久保田浩一, 岩崎秀昭, 山内一弘, 関谷宗英, 高見沢裕吉, 天神美夫: Hematoporphyrin 誘導体と Argon Dye レーザーによる腫瘍の光化学治療—In vitro における基礎的検討. 日産婦誌, 36: 2533, 1984.
6. Cozzani, I., Jori, G., Reddi, E., Fortunato, A. and Zorat, P.: Distribution of endogenous and injected porphyrins at the subcellular level in rat hepatocytes and in ascites hepatoma. Chem. Biol. Interactions, 37: 67, 1981.
7. Dougherty, T.J., Kaufman, J.E., Goldfarb, A., Weishaupt, K.R., Boyle, D. and Mittleman, A.: Photoradiation therapy for the treatment of malignant tumors. Cancer Research, 38: 2628, 1978.
8. Dougherty, T.J., Laurence, G., Kaufman, J.H., Boyle, D., Weishaupt, K.R. and Goldfarb, A.: Photoradiation in the treatment of recurrent breast carcinoma. J. Natl. Cancer Inst., 62: 231, 1979.
9. Dougherty, T.J.: Photoradiation therapy for bronchogenic cancer. Chest, 81: 265, 1982.
10. Evensen, J.F. and Moan, J.: Photodynamic action and chromosomal damage. A comparison of haematoporphyrin derivative (HPD) and light with X-irradiation. Br. J. Cancer, 45: 456, 1982.
11. Hayata, Y., Kato, H., Ono, J., Matsushima, Y., Hayashi, N., Saito, T. and Kawate, N.: Fluorescence fiberoptic bronchoscopy in the diagnosis of early stage lung cancer. Recent Results in Cancer Research, 82: 121, 1982.
12. Hayata, Y., Kato, H., Konaka, C., Ono, J., Matsushima, Y., Yoneyama, K. and Nishimiya, K.: Fiberoptic bronchoscopic laser photoradiation for tumor localization in lung cancer. Chest, 82: 10, 1982.
13. Lipson, R.L., Baldes, E.J. and Olsen, A.M.: The use of a derivative of hematoporphyrin in tumor detection. J. Nat. Cancer Inst., 26: 1, 1961.
14. Raab, O.: Uber die Wirkung fluoresciender Stoffe auf Infusorien. Ztschr. Biol., 39: 524, 1900.
15. Soma, H., Akiya, K., Nutahara, S., Kato, H. and Hayata, Y.: Treatment of vaginal carcinoma with laser photoradiation following administration of haematoporphyrin derivative. Annales Chirurgiae et Gynaecologiae, 71: 133, 1982.
16. Tomson, S.H.: Tumor destruction due to acridine orange photoactivation by argon laser. Ann. N.Y. Acad. Sci., 267: 191, 1976.
17. Tsuchiya, A., Obara, N., Miwa, M., Ohi, T., Kato, H. and Hayata, Y.: Hematoporphyrin derivative and laser photoradiation in the diagnosis and treatment of bladder cancer. The Journal of Urology, 130: 79, 1983.

(No. 5809 昭60・8・21受付)