

## ヒトセミノーマモデルを用いたレーザー療法における パルス波と連続波 Nd:YAG レーザーの有用性の 比較に関する実験的検討

富山県立中央病院泌尿器科

山 本 肇

金沢大学医学部泌尿器科

打 林 忠 雄 並 木 幹 夫

### AN EXPERIMENTAL STUDY OF LASER TREATMENT USING TWO DIFFERENT TYPE OF NEODYMIUM: YAG LASER ON TRANSPLANTED TUMOR IN SCID MICE

Hajime Yamamoto

Department of Urology, Toyama Prefectural Central Hospital

Tadao Uchibayashi and Mikio Namiki

Department of Urology, School of Medicine, Kanazawa University

(Background) We report basic animal experimental study which we evaluated the thermocoagulation effects of two different type of Nd:YAG laser (pulse and continuous wave (CW) laser).

(Methods) The Rotalase internally reflecting fiber delivery system coupled to the pulse and CW Nd:YAG laser was used to create lesions in Seminoma tissue implanted Scid mice with the fiber tip 2 mm away from the target tissue under the water. Laser power output used was 20, 40 and 60-watt for varying times (30-180 sec) of irradiation. Stationary lesions, where a single spot of target was irradiated, were created. On the other hand, we measured tissue temperatures at 7, 10 and 14 mm from tissue surface. The seminoma tissues removed from Scid mice were photographed after bisection, the fixed in 10% formalin and examined histologically.

(Results) For the purpose of these experiments, ablated tissue is defined as the volume of tissue that has been destroyed by both coagulation and vaporization. Estimates of the volume of ablated tissue were made by macroscopic examination of the bisected lesion, measuring the depth and width of the lesion as seen from the edges of the coagulated area around vaporized zone. The mean depth and width penetration, volume ablation and rising of the tissue temperature at pulsed 60-watt, 60 seconds was greater than that observed at other groups. Irradiated spot lesions were characterized by an initial 10-20 second period of tissue blanching followed by an audible "popcorn phenomenon" which meant more than 100°C in tissue temperature, then formation of small surface bubbles as tissue began to evaporate and char.

(Conclusion) This study suggests the potential usefulness of the pulse Nd:YAG laser for Visual Laser Ablation of the Prostate (VLAP).

**Key words:** Nd:YAG laser (pulse wave, continuous wave), VLAP, Seminoma tissue implanted Scid mice

要旨: (背景と目的) ヒト精巣セミノーマ移植腫瘍に対し, 共通の90度側射ファイバーを使用し, パルス波と連続波発振 Nd:YAG レーザー光による温熱効果と組織内温度上昇について両レーザー間で比較検討した。

(対象と方法) 担癌マウスを仰臥位で固定し、水没した腫瘍に対し側射ファイバー反射面より2mmの距離で固定照射を行った。各群は5匹ずつとし、照射出力、時間は、20W、180秒照射群、40W、90秒および120秒照射群、60W、30秒、60秒および90秒照射群とした。照射終了後、移植腫瘍の腫瘍剖面像で、凝固層の深さと幅を測定した。照射時の組織内温度上昇は腫瘍表面より7、10、14mmの距離で両レーザー出力20W、40W および60Wにて90秒照射し、経時的に温度測定を行った。

(結果と結論) 同エネルギー量3600J、6群(パルス波、連続波:20W、180秒照射群、40W、90秒照射群、60W、60秒照射群)における比較検討でパルス波60W、60秒照射群(深さ、幅、仮想体積:平均10.6mm、12.7mm、736mm<sup>3</sup>)がその他のいずれの群より凝固層の拡大を認めた。さらに組織内温度からも明らかにパルス波の良好な熱伝達性が証明された(パルス波60W:腫瘍表面から7、10、14mmの位置でそれぞれ平均96、77、40°C)。

キーワード: Nd:YAG レーザー (パルス波、連続波)、VLAP、ヒト精巣セミノーマ移植腫瘍

## 緒 言

近年、前立腺レーザー療法は、数多くの施設において、種々のレーザーファイバーやレーザー発生装置を使用し、種々の照射条件で行われている<sup>1)2)</sup>が、さらに治療効果が一定で良好な結果が得られるレーザーファイバー、レーザー発生装置および至適照射条件が望まれている。これらの要望については、臨床および実験的にも照射出力と照射時間の関係が多く述べられている<sup>3)~9)</sup>。しかし、レーザー装置について、特に今回報告する同波長ではあるが、連続波、パルス波と波形が違うレーザー発生装置間の比較に関する報告は内外の発表および文献において現在のところ極めて乏しい。この理由は、臨床の場合において両レーザーは同効果のものとして理解され、使用されているからである。しかし、他レーザー治療領域ではすでに、同じ波長のレーザーでも尖頭値の高いパルス波レーザーは連続波レーザーに比し、同エネルギー量でもより温熱効果がすぐれ、有用であると言われている<sup>10)~12)</sup>。

今回は、前立腺レーザー療法で一般的に用いられている連続波発振 Nd: YAG レーザーと同波長 (1,064 nm)ではあるが、ピーク値が1kW と極めて高いパルス波を発振する Nd: YAG レーザーを用いて、パルス波と連続波レーザー光による温熱効果と組織内温度上昇について両レーザー間で比較すると共に、至適照射条件についても検討したので報告する。

## 対象および方法

### 1. 使用動物

5週齢で体重約20gの雄性 Scid mouse (CB-17 strain; SLC, Shizuoka, Japan) を使用した。

### 2. 麻酔方法

ネンブタール (Sodium Pentobarbital) (Abbott Laboratories, North Chicago) 1mg を生理食塩水に

溶解し、腹腔内に投与した。

### 3. 実験移植腫瘍作成法

平成5年7月7日、52歳男性の鎖骨上リンパ節転移巣より摘出された再発性精巣セミノーマを Scid マウスの背側皮下に移植した。約4~6週間後に直径約1.5~2cmに発育した腫瘍を切除し、3mm角に細切後、新たに Scid マウスの背側皮下に再移植した。平成7年6月の時点で15世代目であるが14世代目まで組織学的にも初代移植腫瘍と比較して変化は認められない。また腫瘍の増殖も安定している。

### 4. レーザー装置とレーザーファイバー

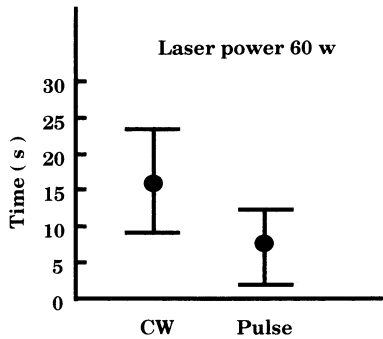
Nd: YAG レーザー発生装置 (波長1,064nm) はヘレウスサージカル社製 HERCULES5060U (連続波) とシンテック社製 OPTICA60Z (パルス波、50/60Hz、ピーク値1kW、出力1~60W)を用いた。レーザーファイバーは90度側射ファイバー、シンテック社製 Rotalase を共通に用いた。

なお、レーザー出力およびジュール数はレーザー本体で設定した。さらにファイバー先端出力は2種類のレーザーパワーメーター (Power Max 500A, モレクトロン社:ファイバー先端光を空中で測定、Power Wizard PW-250, シンラード社:ファイバーチップを水面下2mmで固定し反射光を測定) でそれぞれ測定し、両レーザー間で出力の違いのないことを確認した。また、実験終了後に再度測定し、実験によるファイバーおよびファイバーチップの反射板の損傷も確認した。

### 5. 照射効果の比較

Scid マウス背部に移植され、直径約20mmに成長したヒト精巣セミノーマ腫瘍に対して照射実験を行った。ヒト精巣セミノーマ移植腫瘍は、前立腺腺腫とは組織の違いはあるが、色調、腫瘍硬度が前立腺腺腫と類似している点、および直径約20mmの腫瘍でも中心

Fig. 1 Irradiation time of popcorn phenomenon (laser power 60W).



壊死が認められない点で本実験に用いた。担癌マウスを仰臥位で固定し、水没した腫瘍を側射ファイバー反射面より2mmの距離（非接触照射）で種々の条件で固定照射を行った。ただし、照射中はレーザーファイバーおよび照射面に対し200~300ml/minで持続灌流を行った。照射出力、照射時間は各群5匹として、20W、180秒照射群、40W、90秒および120秒照射群、60W、30秒、60秒および90秒照射群とした。照射中は、照射直後から小ポップコーン現象（組織内温度100°C以上）発生までの時間も記録した。照射終了直後、マウスを屠殺し、移植腫瘍を摘出した。照射面中央の腫瘍剖面像で、凝固層の深さと幅を測定した。測定後10%ホルマリン溶液に固定し、連続切片を作製して、病理学的にも検討した。

#### 6. 腫瘍内温度測定

レーザー光照射時の組織内温度上昇はNd:YAGレーザー効果の比較検討上重要であるため、照射効果の結果を参考に腫瘍表面より一定の距離（7, 10, 14 mm）で平行に5mm間隔で3点にサーミスター（宝工業, 12点式ログ, Model D 317）を刺入し、側射ファ

イバー反射面を腫瘍表面より2mm離し、両レーザー光出力をそれぞれ20W, 40W および60Wにて90秒照射し、経時的に温度測定を行った。各群それぞれ3匹行った。

#### 結果

1. 腫瘍剖面像での凝固像の深さおよび幅の検討では、パルス波は連続波に比し、同出力でもレーザー光の組織内への熱伝達が早く（ $p < 0.01$ ）〔小ポップコーン現象が早い段階に始まる（パルス波60W：所要時間 $6.9 \pm 4.9$ 秒（平均値±標準偏差）、連続波60W：所要時間 $15.9 \pm 5.4$ 秒）〕（Fig. 1）、また同エネルギー量でもより深部までの凝固層が得られた（パルス波60W、60秒>連続波60W、60秒>パルス波40W、90秒>連続波40W、90秒>パルス波20W、180秒=連続波20W、180秒）（Table 1, Fig. 2a, 2b）。

2. 腫瘍剖面像での凝固層の深さ、幅より計算した仮想体積をパルス波と連続波の60W、60秒群、40W、90秒群、20W、180秒群の同エネルギー3,600J、6群の検討ではパルス波60W、60秒群がその他のいずれの群との比較でも凝固層の有意の拡大が認められた（連続波40W、90秒群および両波20W、180秒群との間： $p < 0.01$ 、連続波60W、60秒群およびパルス波40W、90秒群との間： $p < 0.05$ ）〔パルス波60W、60秒（平均 $736 \text{ mm}^3$ ）>パルス波40W、90秒（平均 $470 \text{ mm}^3$ ）=連続波60W、60秒（平均 $453 \text{ mm}^3$ ）>連続波40W、90秒（平均 $276 \text{ mm}^3$ ）>パルス波20W、180秒（平均 $178 \text{ mm}^3$ ）=連続波20W、180秒（平均 $154 \text{ mm}^3$ ）〕（Table 1, Fig. 2c）。

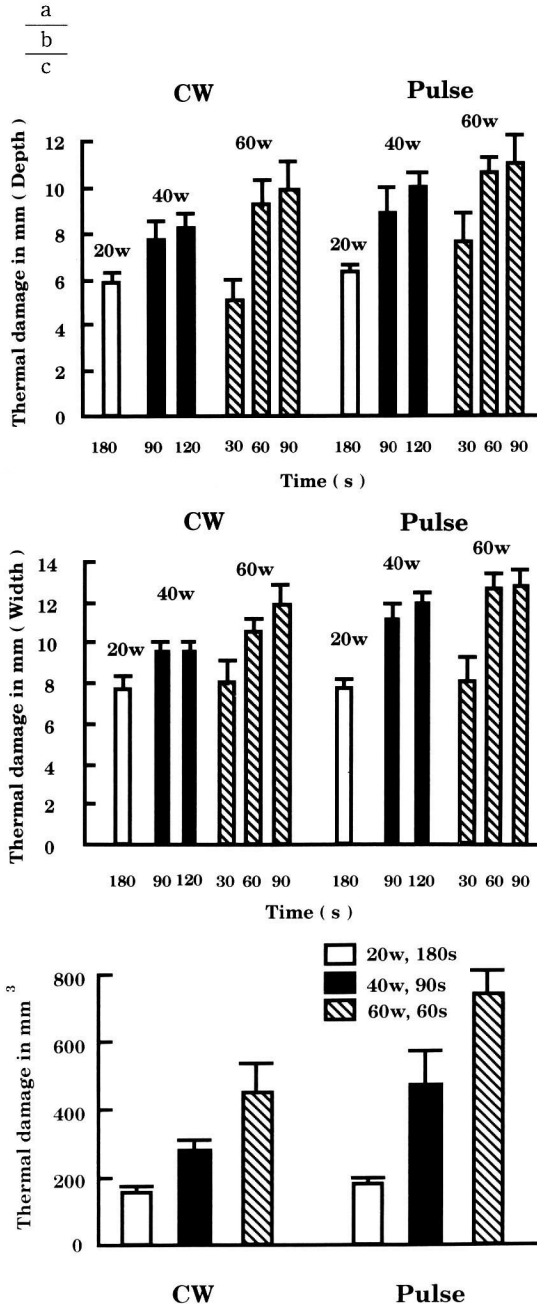
3. 凝固層外側組織において組織学的にパルス波群にのみ血管に多数の血栓が認められた（Fig. 3）。

4. 温度測定において照射60秒後、腫瘍表面から7 mmの位値（パルス波と連続波の60W、60秒群、40W、90秒群ともに凝固層が形成される位置）ではパルス波60W： $96 \pm 2.5^\circ\text{C}$ （平均値±標準偏差）、連続波60W：

Table 1 Effect of noncontact of right angle fiber with target on static lesion size and volume (mean±SD)

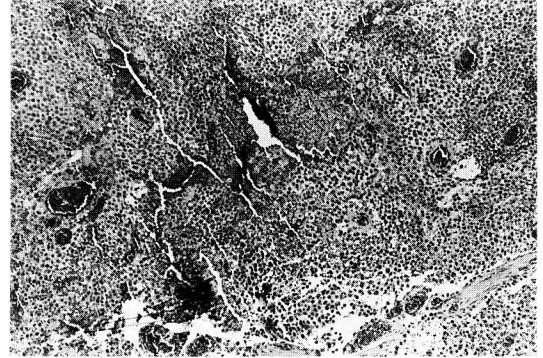
Laser Regimen (W×Sec)	n	CW			Pulse		
		Depth (mm)	Width (mm)	Volume (mm <sup>3</sup> )	Depth (mm)	Width (mm)	Volume (mm <sup>3</sup> )
20W, 180s	5	5.8±0.4	7.6±0.9	154±23	6.3±0.3	7.7±0.6	178±12
40W, 90s	5	7.7±0.7	9.6±0.5	276±38	8.8±1.1	11.2±0.8	470±105
40W, 120s	5	8.2±0.6	9.6±0.5	361±16	10.0±0.5	12.0±0.7	628±63
60W, 30s	5	5.0±1.0	8.0±1.1	219±95	7.6±1.1	8.4±0.5	248±47
60W, 60s	5	9.2±1.1	10.5±0.5	453±81	10.6±0.7	12.7±0.4	736±61
60W, 90s	5	9.8±1.3	11.9±0.7	657±69	11.0±1.2	12.8±0.6	824±86

Fig. 2 Effect of noncontact of right angle fiber with target on static lesion size (depth (a), width (b)) and volume (c).



68±3.6°C, パルス波40W : 63±3.1°C, 連続波40W : 52±2.5°C, パルス, 連続波20W : 39±0.6, 39±0.4°Cであった (Fig. 4a). 腫瘍表面から10mmの位置 (パルス波60W, 60秒群でのみ凝固層が形成される位置) で

Fig. 3 Histological appearance of the tissue out of the macroscopic coagulated area after irradiation with pulsed 60-watt, 60 second. Severe hemorrhage and hemorrhagic infarction are observed. H & E, reduced from ×40.



はパルス波60W : 77±3.1°C, 連続波60W : 平均46±2.5°C, パルス波40W : 42±1.5°C, 連続波40W : 34±0.4°C, パルス, 連続波20W : 33±0.3, 33±0.4°Cであった (Fig. 4b). 腫瘍表面から14mmの位置 (すべての群で凝固層が形成されない位置) ではパルス波60W : 40±2.1°C, 連続波60W : 32±0.5°C, パルス波40W : 31±0.4°C, 連続波40W : 28±0.3°C, パルス, 連続波20W : 28±0.3, 28±0.4°Cであった. 温度測定からも明らかにパルス波 (特に60W群) の良好な熱伝達性が証明された. また, 14mmでは, すべてのレーザー群において温度低下が認められた (Fig. 5).

考 察

波長の異なるレーザー光は生体に対しても相異なる作用をおよぼすことはよく知られている. また, レーザー光の透過性は, 同一検体, 同一条件下では, 個々のレーザー光の波長により決定され, 波長が同じであれば光の効果は同じであるとも言われている. しかし, 最近, 癌治療における光力学療法の領域で, 同じ波長のレーザーでも尖頭値の高いパルス波レーザーは連続波レーザーと比較し, レーザー光の透過性は変わらないが, 光の質の違いより組織内深達度 (温熱効果) がすぐれ, 治療効果が良好であると言われている<sup>10)-12)</sup>. さらに, 臨床的には, 出力60Wで前立腺Nd:YAGレーザー療法を行った場合, パルス波レーザーと連続波レーザーでは蒸散までの早さと範囲が異なることにも気付く. 一方, 温熱効果を増強するために, 連続波レーザーでも単にレーザー出力をあげれば良いという意見もある. しかし, その場合ファイバー先端の劣化

Fig. 4 Temperature profile of transplanted tumors in Scid mice using pulse and CW Nd: YAG laser at a 2mm distance (depth 7mm (a), depth 10mm (b)).

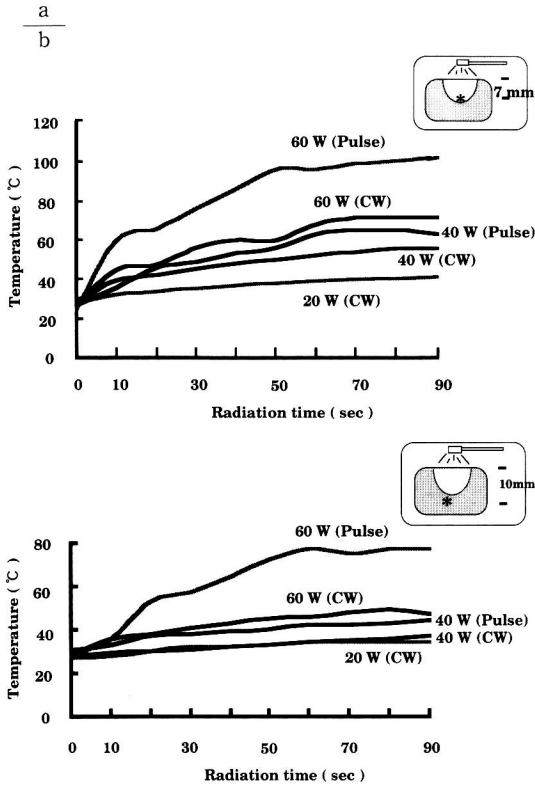
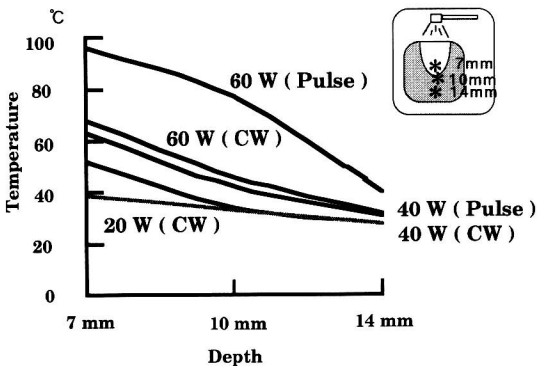


Fig. 5 Temperatures at 3 points of 7, 10 and 14mm from tissue surface irradiated with pulse and CW Nd: YAG laser at a 2mm distance.



が早くなる点やパーベキュー効果により浅層でレーザー光の反射が起こり、逆に光の深達度が悪くなる点で実用的ではない。それ故にレーザー発生装置の出力

限界の問題もあるが、一般には非接触照射の場合、ほぼ60W以下の出力で治療が行われているのが現状である。

本研究では、同波長の連続波発振 Nd: YAG レーザーとピーク値が1kWと極めて高いパルス波を発振する Nd: YAG レーザーを用い、両レーザー光による温熱効果の差とその背景となる組織内温度上昇、さらに至適照射条件についても検討した。

前立腺レーザー療法における Nd: YAG レーザーの種々の至適照射条件についての検討は、前立腺全摘除術直前のヒト前立腺組織を用いた結果が最適と考えられる。しかし、照射環境、照射条件および症例数に問題があり、現実的ではなく、現在のところその報告はきわめて少ない<sup>7)8)</sup>。また、犬の前立腺やポテトを用いた照射実験はすでに報告されているが、血流の問題やヒト前立腺とは組織中の水分量、組織構築の違いから臨床結果とは異なり、その結果については意見の分かれるところである<sup>3)~9)</sup>。これらの点から我々が行った実験は照射対象物の面からは、前立腺とは異なり多少問題があると考えられるが、照射環境、照射条件および例数については、両波形の Nd: YAG レーザーの光効果の比較を示す最良の実験法と考えられる。また、両レーザーの凝固層の範囲の結果は臨床におけるヒト前立腺組織 VLAP の凝固層の範囲の結果と類似している<sup>1)</sup>。

パルス波と連続波の比較では、尖頭値の高いパルス波レーザーが連続波レーザーよりも組織内温度上昇がすばやく（小ポップコーン現象の平均所要時間：パルス波6.9秒、連続波15.9秒）、熱効果が組織深くまで連することは本実験における凝固層の範囲および温度測定から明らかと思われた。その要因は本パルスレーザーの高い尖頭値によると考えられる。その説明としては、尖頭出力の高いパルスレーザーはその高い尖頭出力により組織に高密度励起状態が過渡的に発生し、その結果組織透過性が増大する<sup>10)</sup>ことと、音響波が発生する<sup>13)</sup>ことが関係すると言われている。この現象と同様なことが、光学的療法（波長630nm）におけるパルス波（エキシマダイレーザー、金蒸気レーザー）と連続波（アルゴンダイレーザー）の比較でもすでに報告されている<sup>10)~12)</sup>。

至適照射条件については、従来より60W、60秒と40W、90秒照射の比較<sup>3)~5)</sup>や15W、180秒（低出力、長時間）と50W、60秒照射（高出力、短時間）の比較<sup>9)</sup>について報告されている。しかし、結果が報告により異なっ

たり、照射環境や条件に問題があるものもある。さらにいずれの報告にも温熱効果のデータの基礎となる経時的な組織内温度測定はなされておらず、照射面より組織欠損最深部までの距離、組織欠損表面積、体積についてのみで検討されている。また、本実験における実験環境については、照射中はレーザーファイバーおよび照射面に対し200~300ml/minで持続灌流を行った結果、組織表面の変化、すなわちバーベキュー効果やファイバー先端の劣化が起こらず、レーザー光本来の性質の比較（各照射出力、照射時間）が可能であった。我々はこの持続灌流という照射環境は臨床においても必要なことと考えている。この持続灌流条件下に行われ、温熱効果（凝固層：組織の不可逆な蛋白変性）（Fig. 2）と組織内温度（Fig. 4, 5）とがほぼ一致した本実験データは信頼できるものと考え、非接触固定照射（同エネルギー量）においてより組織欠損部体積を大きくするには両レーザーとも60W、60秒照射が40W、90秒照射や20W、180秒照射よりも良い照射条件と判断する。

Nd: YAG レーザーを用いたレーザー治療の安全性については、照射対象物の厚さが15~20mm以上あればレーザー照射は安全に行えると言われている。その理由としては、一般に波長、1,000nm領域の光ではmaximum light penetrationが約15mm以下であることが物理的に言われているからである。今回の実験からも、最大凝固層の深さが $11 \pm 1.2$ mm（パルス波60W、90秒照射）であった結果と、深さ14mmの部位では、すべてのレーザー照射群において温度低下が認められた温度測定結果から、一般的なNd: YAG レーザー治療と同様、非接触照射前立腺レーザー療法では照射面より前立腺被膜までの距離が15~20mm以上であれば安全に治療ができると考えられた。

前立腺肥大症に対するより簡便で低侵襲性の外科的治療法として、レーザー治療以外でも高密度焦点超音波（HIFU）<sup>14)</sup>、経尿道的前立腺電気蒸散（TVP）<sup>15)16)</sup>、経尿道的高温治療法<sup>17)</sup>などが注目されている。しかし、これらの治療の中でも非接触型前立腺レーザー療法を、前立腺肥大症の低侵襲性外科治療法として確立し、経尿道的前立腺切除術（TURP）と同様の効果に近づけるには、まず前立腺表面の色調や間質の組織構築、照射条件により異なるレーザー光の特徴（吸収、反射、透過、拡散、後方反射）を術者が理解することが必要であると考えられる。その上で、レーザー効果をより良好で一定した効果が得られるようにするには、本実験の

結果からは、①照射面（バーベキュー効果予防）とファイバーの冷却のために灌流速度を200~300ml/minとし、②組織熱伝達性が良好な尖頭値の高いパルスレーザーを使用し、③60W、60秒の固定照射（6~10点）およびローリング照射の追加で治療することが最良の照射方法ではないかと考えた。今後さらにこのパルスレーザーを使用した照射法による臨床的検討が必要であると思われる。

なお、本文の要旨は第83回日本泌尿器科学会総会および第16回日本レーザー医学会大会シンポジウム13で報告した。

## 文 献

- 1) 内田豊昭, 原野祐司, 須山一穂, 西村清志, 青 輝明, 藤野淡人, 横山英二, 真下節夫, 遠藤忠雄, 渋谷宗則, 小柴 健: 90° 偏光レーザーファイバー (Urolase®) による経尿道的前立腺切除 (VLAP) の治療成績. 泌尿器外科, 6, 771-781, 1993.
- 2) Kabalin, J.N., Bite, G. and Doll, S.: Neodymium: YAG laser coagulation prostatectomy: 3 years of experience with 227 patients. J. Urol., 155, 181-185, 1996.
- 3) Kabalin, J.N. and Gill, H.S.: Dosimetry studies utilizing the Urolase right angle firing neodymium: YAG laser fiber. Lasers. Surg. Med., 14, 145-154, 1994.
- 4) Kandel, L.B., Harrison, L.H., McCullough, D.L., Woodruff, R.D. and Dyer, R.B.: Transurethral laser prostatectomy in the canine model. Lasers. Surg. Med., 12, 33-42, 1992.
- 5) 西村清志: Right angle laser fiberを用いたNd-YAG レーザー照射. 日泌尿会誌, 86, 290-295, 1995.
- 6) Johnson, D.E., Price, R.E. and Cromeens, D.M.: Pathologic changes occurring in the prostate following transurethral laser prostatectomy. Lasers. Surg. Med., 12, 254-263, 1992.
- 7) Shanberg, A.M., Sawyer, D.E., Lee, I.S., Rodgers, L.W., Tansey, L.A. and Ahlering, T.: Depth of penetration of the Neodymium: Yttrium-Aluminum-Garnet laser in the human prostate at various dosimetry. Urology, 43, 809-812, 1994.
- 8) Costello, A.J., Johnson, D.E. and Bolton, D.M.: YAG laser ablation of the prostate as a treatment for benign prostatic hypertrophy. Lasers. Surg. Med., 12, 121-124, 1992.
- 9) Orihuela, E., Motamedi, M., Cammack, T., Torres, J.H., Pow-Sang, M., Lahaye, M., Cowan, D.F. and Warren, M.M.: Comparison of thermocoagulation effects of low power,

- slow heating versus high power, rapid heating Nd: YAG laser regimens in a canine prostate model. *J. Urol.*, **153**, 196—200, 1995.
- 10) 山本 肇：光力学的治療における金蒸気レーザーとアルゴン色素レーザーの有用性の比較に関する実験的研究。金沢大学十全医学会誌, **96**, 1237—1250, 1987.
- 11) 平野 達, 鈴木健司：PDT 用エキシマダイレーザー。日本レーザー医学会誌, **16**, 29—35, 1995.
- 12) Olunaka, T., Kato, H. and Konaka, C.: A Comparison between Argon-dye and Excimer-dye laser for photodynamic effect in transplanted mouse tumor. *Jpn. J. Cancer Res.*, **83**, 226—231, 1992.
- 13) 植村晋一郎, 川畑健一, 弓田長彦：超音波による音響化学活性物質の局所活性化とがん治療への応用。応用物理, **62**, 269—272, 1993.
- 14) Madersbacher, S., Kratzik, C., Susani, M. and Marberger, M.: Tissue ablation in benign prostatic hyperplasia with high intensity focused ultrasound. *J. Urol.*, **152**, 1956—1961, 1994.
- 15) Kaplan, S.A. and Te, A.E.: Transurethral electrovaporization of the prostate: A novel method for treating men with benign prostatic hyperplasia. *Urology*, **45**, 566—572, 1995.
- 16) 西村泰司, 阿部裕行, 伊藤 博, 池田一則, 岡 史篤, 吉田和弘, 秋元成太：前立腺肥大症と経尿道的前立腺電気蒸散。臨泌, **50**, 47—50, 1996.
- 17) 久保田茂弘, 田崎 亨, 三波祐三, 金武 洋, 齊藤 泰：前立腺肥大症に対するプロスタレーズによる単回経尿道的高温治療の成績。日泌尿会誌, **86**, 1610—1615, 1995.

(1996年10月3日受付, 1997年5月22日受理)