

AMCoR

Asahikawa Medical College Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

気管支学 (2006.11) 28巻7号:482～486.

【気管支鏡的画像診断の最前線】 Photodynamic Diagnosisの診断への応用

大崎能伸、澁川紀代子

Photodynamic Diagnosis の診断への応用

大崎能伸¹; 澁川紀代子¹

索引用語 — 中枢型早期肺癌, 光線力学的治療, 蛍光気管支鏡, 光線力学的診断

(気管支学, 2006;28:482-486)

Clinical Application of Photodynamic Diagnosis

Yoshinobu Ohsaki¹; Kiyoko Shibukawa¹

KEY WORDS — Central type lung cancer, Photodynamic therapy, Auto-fluorescence bronchoscope, Photodynamic diagnosis

(JJSRE, 2006;28:482-486)

1. はじめに

光線力学的治療 (photodynamic therapy, PDT) は, 光感受性物質を治療する病変に集積させて, レーザー光を照射する治療法である。光線に曝露されると, 光感受性物質は光のエネルギーを吸収して励起状態に転位する。励起状態から基底状態に遷移する際に, 活性酸素を生じて細胞内呼吸を障害することによって, 細胞を変性し壊死させると考えられている。

低いエネルギーの光を照射すると, 光感受性物質は蛍光を発生する。この性質を利用して, 腫瘍に選択的に集積した光感受性物質の局在を画像に描出することが可能である (Figure 1)。集積した光感受性物質であるポルフィリン誘導体の蛍光を観察して癌を発見する診断法が, 光線力学的診断 (photodynamic diagnosis, PDD) である。

2. 光感受性物質の集積と蛍光の発生

光感受性ポルフィリン化合物にレーザーなどの高エネルギーの光を照射すると励起される。光励起されたポルフィリン化合物のエネルギーによって活性酸素が生成さ

れて, 生体組織を傷害する。PDT では 650 nm から 700 nm のレーザー光を吸収して活性酸素を生成する性質を持った, ポルフィリン化合物が使用される。このポルフィリン化合物を低いエネルギーの光で励起すると, 670 nm から 720 nm の鮮明な赤色蛍光を発生する。腫瘍病変にポルフィリン化合物を集積させた後に励起光を照射し, 腫瘍の局在を診断するのが PDD の原理である。わが国で, 固形癌に対する PDT に承認されているポルフィリン化合物はフォトフリンとレザフィリンの 2 種類で, 診断を用途とした場合は適応とはされていない。405 nm 付近の青色光で励起すると, フォトフリンは 630 nm, レザフィリンは 670 nm の赤色蛍光を発生する。アミノレブリン酸 (aminolevulinic acid, ALA) は水溶液にして内服すると, 腫瘍に取り込まれて励起光によって強い赤色蛍光を発生するが, わが国では医薬品としては認可されていない。

自然界に存在するポルフィリン誘導体として, 4つのピロール環をメチン基で結合した環状化合物のポルフィリンを基本骨格として, 1つの還元ピロールを持つクロロリン, および, 向かい合った2つの還元ピロールを持つバクテリオクロロリンが存在する (Figure 2)¹。合成

¹旭川医科大学呼吸器内科。
著者連絡先: 大崎能伸, 旭川医科大学呼吸器内科, 〒078-8510
北海道旭川市緑が丘東2条1丁目1-1。

¹Respiratory Medicine, Asahikawa Medical College, Japan.
Correspondence: Yoshinobu Ohsaki, Respiratory Medicine, Asa-

hikawa Medical College, 2-1-1-1 Midorigaoka Higashi, Asahikawa, Hokkaido 078-8510, Japan.

Received September 20, 2006; accepted October 5, 2006.

© 2006 The Japan Society for Respiratory Endoscopy

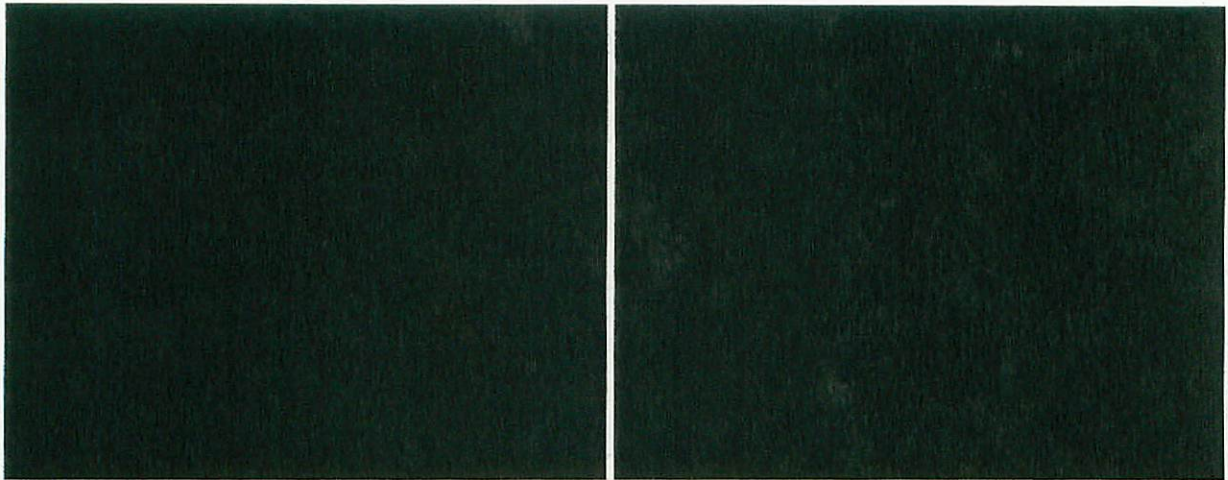


Figure 1. 培養細胞でのフォトフリンの取り込みと蛍光の発生. 左: ヒト線維芽細胞, 右: ヒト肺扁平上皮癌細胞. 扁平上皮癌細胞ではフォトフリンが細胞質に取り込まれて強い赤色蛍光を発生している.

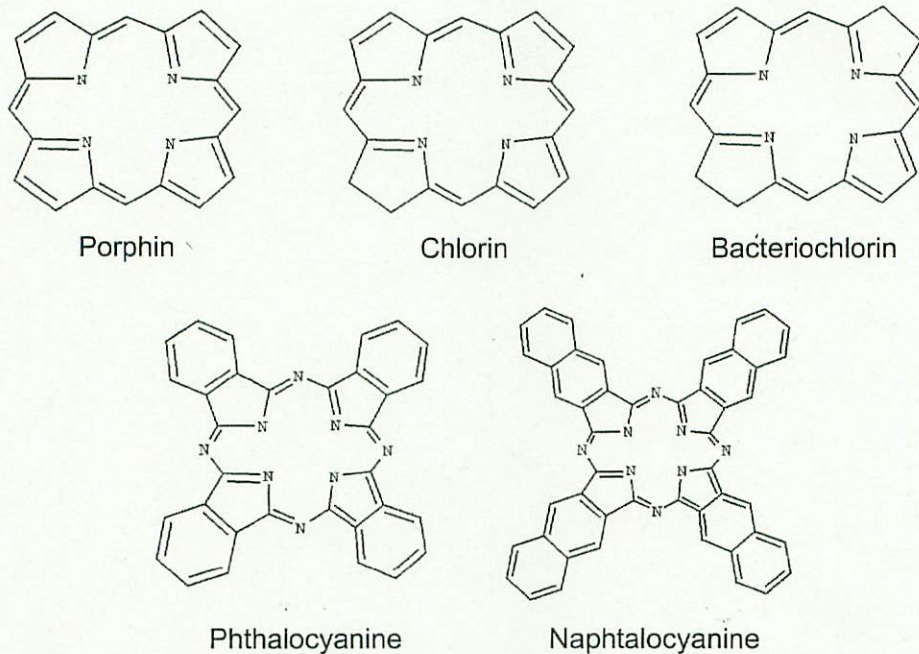


Figure 2. 光感受性物質ポルフィリン誘導体の基本構造.

ポルフィリンには、4つのメソ位がフェニル基で置換された tetraphenylporphine tetrasulfonic acid (TPPS) と、アザポルフィリンに分類されるフタロサイアニンが存在する。ALA は、生体内でプロトポルフィリン IX (protoporphyrin-IX, PpIX) に代謝されるヘムの前駆物質である。

ポルフィリン化合物が選択的に腫瘍組織に蓄積する機序は十分に解明されていないが、ポルフィリン化合物の化学的な性質や腫瘍組織と腫瘍血管の構造と機能が、蛋

白に結合したポルフィリン化合物の蓄積に深く関連していると考えられている。分子量が 1000 以下の疎水性ポルフィリン化合物が、タンパク質に高い親和性を持つこと、stacking 現象を示すことなどが知られている。stacking 現象とは、親水性の環境ではポルフィリン化合物の親水性側鎖基を、疎水性の環境では疎水性側鎖基を外方に出すことでどちらの環境にも溶け込むことをさす。この性質によりポルフィリン化合物は水にも油にも溶解することができ、水に溶けていながらリポ蛋白などに強い親和

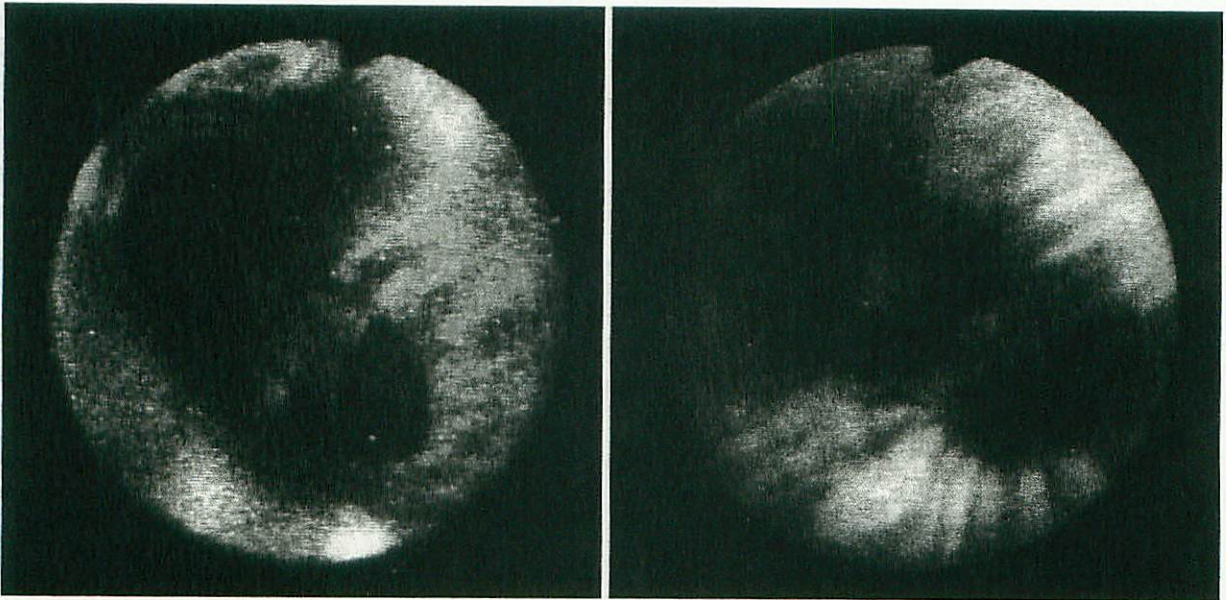


Figure 3. 左：フォトフリンの赤色蛍光。緑の自家蛍光を背景に分岐部から左側の気管支壁上方に赤色蛍光が観察される。右：レザフィリンの赤色蛍光。緑色の自家蛍光を背景にレザフィリンの蛍光が観察される。レザフィリンの蛍光のほうが鮮やかである。いずれも PDS-2000 を用いた、PDT 時の扁平上皮癌の蛍光所見。

性を示す。活発に増殖する腫瘍組織では low density lipoprotein (LDL) レセプター活性が上昇していることが知られている。ポルフィリン化合物は LDL に高い親和性を示すことから、腫瘍組織でポルフィリン化合物と結合した蛋白質が、透過性の亢進した腫瘍血管から LDL レセプターなど介して、腫瘍内に取り込まれると考えられている。腫瘍組織ではリンパ循環が未発達なために、腫瘍内に入ったポルフィリンに結合した蛋白を排除することができない。この結果、選択的に腫瘍内のポルフィリン濃度が上昇すると考えられている。LDL レセプターの増加、リンパ流の低下と腫瘍血管透過性の亢進のほかでは、間質の pH の低下、コラーゲンの増加を伴った間質の増生などがポルフィリンの蓄積に関与するとされている²⁴。

近年、腫瘍組織への集積性が高い親水性ポルフィリン化合物に LDL への結合性が低いものが存在すること、腫瘍への集積性が低いヘマトポルフィリンの LDL 親和性が高いことなどが明らかにされてきた。このような、親水性ポルフィリン化合物の腫瘍内への蓄積の機序が研究されるに伴って、ポルフィリン化合物の腫瘍での蓄積の機序はさらに複雑である可能性が示唆されている。

3. PDD の応用

ポルフィリン化合物が発生する蛍光を利用した癌の診断は 1950 年代から報告されてきた。1955 年に Rassmussen-Taxdal ら⁵ はヘマトポルフィリンを良性、

悪性疾患患者に注射して検討を加えた。8 人の癌患者のうち 7 人でポルフィリンからの蛍光が観察され、3 例の良性疾患では 1 例に観察されたと報告した。投与量を増加すると、乳癌からの蛍光が、皮膚を通過して観察されている。

1960 年代に入ると、内視鏡を用いて病変からの蛍光を観察する臨床研究が報告されるようになった。Lipson ら⁶ は、腫瘍に取り込まれたポルフィリン誘導体の蛍光を、気管支鏡や食道鏡を用いて観察した。400 nm の励起光を除去するフィルターを使用した内視鏡による観察で、14 の腫瘍性病変のうち 10 病変でポルフィリン誘導体からの蛍光が観察された。この 1961 年の報告が、生体での PDD の最初の報告とされている。その後、気管支鏡による 50 例の検討⁷、34 例の子宮頸癌を含む婦人科悪性腫瘍の検討⁸ などが報告された。1968 年の Gregorie らの検討⁹ では、173 例の悪性腫瘍と 53 例の良性病変の 226 例の検討で、腺癌の 84%、扁平上皮癌の 77%、肉腫の 62.5% で赤色蛍光を観察したのに対して、良性病変では 22% であったと報告されている。観察された赤色蛍光は、良性病変に比較して腫瘍性病変部で蛍光強度が強かったが、診断精度は十分ではないとされた。1971 年の頭頸部腫瘍の検討では¹⁰、腫瘍病変からの赤色蛍光が観察されたが、蛍光が観察できない症例や正常粘膜で蛍光が観察された症例があった。正常粘膜が腫瘍病変を覆った状態や、リンパ球の浸潤によって偽陰性や偽陽性が生じる可能性が示唆された。

1970年代後半のメイヨークリニックにおける肺癌での水銀灯を光源にした検討では、in situ 気管支癌が発見できたと報告されている^{11,12}。その後、ポルフィリンを効率よく励起できる405 nmの波長を持ったクリプトンイオンレーザーを用いたPDDの可能性が検討された¹³。Hayataら¹⁴は36例の気管支腫瘍と4例の扁平上皮化生病変を観察し、3例の早期癌、33例の進行例でポルフィリン誘導体の赤色蛍光を観察した。

以上のように、1960年代からポルフィリン誘導体の腫瘍選択的な集積と、赤色蛍光の発生を利用した悪性腫瘍の蛍光診断の有用性が示されてきた。しかし、蛍光の観察装置、励起光を照射するための光源、励起光を除去するフィルターなどの新しい機器の開発が進まないこと、安価で安全な診断用ポルフィリン誘導体が臨床に導入されないこと、ときに偽陽性所見が見られることなどからPDDの臨床への導入は急速には進まなかった¹⁵。

4. 内視鏡による蛍光の観察

内視鏡を使用した優れたPDDを開発するためには、高感度の蛍光観察内視鏡システム、安定して効率が良い励起光源、高性能の励起光除去フィルター、適切な光感受性物質の存在が不可欠である。

現在わが国で使用できる蛍光観察内視鏡システムは、PDS-2000（浜松ホトニクス）、AFI（オリンパス）、LIFE（Xillix）、D-Light AF（Storz）の4機種である。そのほかに、SAFE-3000（ペンタックス）があり、2006年11月から国内での販売が開始された。PDS-2000はカラー-intensified CCDを用いたシステムで、400 nmから700 nmの波長を観察することができるためにフォトフリン、レザフィリン、ALAなどの赤色蛍光をカラーで観察できる¹⁶。PDS-2000の励起光はキセノン光源から405 nmの波長を選択し、観察時には専用フィルターで選択的に除去している。このため、励起光以外のすべての色を観察することができる（Figure 3）。蛍光観察のためには感度の良いCCDが必要であるために、AFI、LIFEではモノクロCCDを用い、基本的には正常粘膜からの緑色蛍光を観察するための自家蛍光観察システムである。D-Light AFは3管式カラーCCDと専用の気管支鏡を用いた自家蛍光観察システムであり、蛍光強度の強いALAの蛍光が観察できるが感度に劣る。

蛍光観察のための励起光を得るために、水銀アーク灯、クリプトンイオンレーザーなどの強力な光源が使用されてきた。レーザー光の発生のためには大掛かりな装置が必要であるが、現在はCCDの感度が上昇したために、内視鏡光源に用いられるキセノン灯が利用されることが多い。励起光の除去にはフィルターが使用される。耐熱性が高く、選択的に励起光波長のみを除去するフィルター

の開発には高度な技術を要する。

PDDに使用するポルフィリン誘導体は、光線過敏症の発症が少ないなど安全性が高く代謝が早く、手軽に使用できて安価なものが求められる。現在わが国で固形癌に対して全身的に使用できるポルフィリン誘導体はフォトフリンとレザフィリンであり、どちらもPDTのみの適応である。ポルフィリン誘導体を利用したPDTは眼科領域で加齢黄斑変性症の治療にも用いられている¹⁷。前述したように、フォトフリンは630 nm、レザフィリンは670 nmの蛍光を発生する。現在開発中のポルフィリン誘導体にはATX-S10 (Na)（光ケミカル）などがある¹⁸。ATX-S10 (Na)を励起すると670 nmの明るい赤色の蛍光を発生し、蛍光診断への応用が期待されている。正常気管支粘膜に励起光を照射すると550 nm付近の緑色蛍光を発生する。ポルフィリン誘導体の鮮やかな赤色蛍光は正常粘膜には存在しない色調である。ポルフィリン誘導体を取り込まれる腫瘍性の病変があれば、緑色蛍光を背景にして観察されるために局在診断が容易である。

新しい蛍光診断システムと治療用のポルフィリン誘導体を利用した、中枢型肺癌の蛍光診断の有用性が報告されている^{19,20}。PDT術前の自家蛍光観察およびPDT時のPDDの併用で、PDTの治療成績が向上する可能性も期待されている。また、ALAの蛍光は感度の良いデジタルカメラなどでも観察可能であるが、この性質を利用した脳腫瘍の局在診断が臨床研究的に試みられている²¹。

5. PDDの診断効果

PDTの対象となる症例は、高齢者、高度喫煙者、有害物吸入歴などの高リスク患者が多く、気管支癌が多発しやすい。見落としやすい重複病変や前癌病変を発見するために、私たちの施設ではPDS-2000を用いた中枢型肺癌の蛍光診断を行ってきた²²。とくにPDTの対象症例では、術前にAFBを行い病変の広がりや他病変が無いかを確認し、さらにPDT時にはPDDを同時に行い、癌が疑われるような赤色蛍光が観察されると同部位を病理学的に検討している。また、PDT予定病変部でのPDD所見を参考にして照射範囲やレーザーの照射法を直前に再度検討している。PDDでポルフィリン誘導体の赤色蛍光が観察されて、迅速細胞診あるいは病理組織学的検査で癌と診断された病変については、一期的もしくは後日にPDT治療を追加する。PDTを行った病変とPDDで赤色蛍光が観察されたが病理学的に癌が発見されなかった部位については、蛍光気管支鏡（auto-fluorescence bronchoscopy, AFB）を併用した気管支鏡検査を行って経過を観察する。

当施設の中西らは12症例で18回のPDDを行った結果を報告した²³。PDT予定病変部以外の23部位で赤色

蛍光を認め、生検または擦過細胞診で3部位を扁平上皮癌と診断した。その3病変のうち2病変は一期的にPDTを行い、1病変については後日に治療した。さらに、経過観察中に23部位中の他の3部位から扁平上皮癌が発見された。その3病変のうち2病変についてはPDT治療を行い、1病変は経過観察中に癌が陰性化した。PDDで赤色蛍光が観察された23病変から新たに発見されてPDTを行った5病変は、いずれも再発しなかった。

PDDは蛍光観察システムや適切な光感受性物質の導入が必要であるために、臨床での普及には時間を要すると思われる。しかし、私たちの経験では、PDDによって発見が難しい早期病変や前癌病変を発見することができた。将来的には、最初からAFBで病変をスクリーニングして、PDDでさらに診断精度を高めるような内視鏡検査法が一般的になるかもしれない。

まとめ

内視鏡を使用した優れたPDDを開発するためには、高感度の蛍光観察内視鏡システム、安定して効率の良い励起光源、高性能の励起光除去フィルター、適切な光感受性物質の存在が不可欠である。世界をリードするわが国の優れた合成技術、映像技術、画像解析技術を駆使した、新しい発想の内視鏡診断システムの開発が期待される。

REFERENCES

1. 中島 進, 竹村 健, 阪田 功. PDTの原理と光感受性物質の動向. 加藤治文, 監修, 奥仲哲弥, 編集. PDTハンドブック. 東京: 医学書院; 2002:1-10.
2. Henderson BW, Bellnier DA. Tissue localization of photosensitizers and the mechanism of photodynamic tissue destruction. *Ciba Found Symp*. 1989;146:112-130.
3. Kessel D. Porphyrin-lipoprotein association as a factor in porphyrin localization. *Cancer Lett*. 1986;33:183-188.
4. Peng Q, Moan J, Cheng LS. The effect of glucose administration on the uptake of photofrin II in a human tumor xenograft. *Cancer Lett*. 1991;58:29-35.
5. Rasmussen-Taxdal DS, Ward GE, Figge FH. Fluorescence of human lymphatic and cancer tissues following high doses of intravenous hematoporphyrin. *Cancer*. 1955;8:78-81.
6. Lipson RL, Baldes EJ, Olsen AM. Hematoporphyrin derivative: a new aid for endoscopic detection of malignant disease. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1961;42:623-629.
7. Lipson RL, Baldes EJ, Gray MJ. Hematoporphyrin derivative for detection and management of cancer. *Cancer*. 1967;20:2255-2257.
8. Gray MJ, Lipson R, Maeck JV, et al. Use of hematoporphyrin derivative in detection and management of cervical cancer. *Am J Obstet Gynecol*. 1967;99:766-771.
9. Gregorie HB Jr, Horger EO, Ward JL, et al. Hematoporphyrin-derivative fluorescence in malignant neoplasms. *Ann Surg*. 1968;167:820-828.
10. Leonard JR, Beck WL. Hematoporphyrin fluorescence: an aid in diagnosis of malignant neoplasms. *Laryngoscope*. 1971;81:365-372.
11. Kinsey JH, Cortese DA, Sanderson DR. Detection of hematoporphyrin fluorescence during fiberoptic bronchoscopy to localize early bronchogenic carcinoma. *Mayo Clin Proc*. 1978;53:594-600.
12. Cortese DA, Kinsey JH, Woolner LB, et al. Clinical application of a new endoscopic technique for detection of in situ bronchial carcinoma. *Mayo Clin Proc*. 1979;54:635-641.
13. *Laser and hematoporphyrin derivative in cancer*. Hayata Y, Dougherty DJ, eds. Tokyo: Igaku-Shoin; 1983.
14. Hayata Y, Kato H, Konaka C, et al. Fiberoptic bronchoscopic laser photoradiation for tumor localization in lung cancer. *Chest*. 1982;82:10-14.
15. Profio AE, Doiron DR. Dose measurements in photodynamic therapy of cancer. *Lasers Surg Med*. 1987;7:1-5.
16. Ohsaki Y, Takeyama K, Nakao S, et al. Detection of Photofrin fluorescence from malignant and premalignant lesions in the bronchus using a full-color endoscopic fluorescence imaging system: A preliminary report. *Diagnostic Therapeutic Endoscopy*. 2001;7:187-195.
17. 尾花 明. 加齢黄斑変性症に対するPDTの適応と実際. 加藤治文, 監修, 奥仲哲弥, 編集. PDTハンドブック. 東京: 医学書院; 2002:75-83.
18. Takahashi H, Itoh Y, Nakajima S, et al. A novel ATX-S 10(Na) photodynamic therapy for human skin tumors and benign hyperproliferative skin. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*. 2004;20:257-265.
19. Lam S, Palcic B, McLean D, et al. Detection of early lung cancer using low dose Photofrin II. *Chest*. 1990;97:333-337.
20. Kato H, Cortese DA. Early detection of lung cancer by means of hematoporphyrin derivative fluorescence and laser photoradiation. *Clin Chest Med*. 1985;6:237-253.
21. 金子貞男. 脳腫瘍に対する光モニタリング-ALA induced PpIXによる術中脳腫瘍蛍光診断. 脳神経外科. 2001;29:1019-1031.
22. Kurihara M, Nakanishi K, Fujita Y, et al. Color autofluorescence from cancer lesions: Improve detection of central type lung cancer. *Lung Cancer*. 2005;49(Suppl 2):S158.
23. 中西京子, 大崎能伸, 佐藤真紀, ほか. 中枢型早期肺癌の光線力学的治療. 日レ医誌. 2003;24:293-297.