

# AMCoR

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

Drug Delivery System (1996.03) 11巻2号:105～110.

ポルフィリン誘導体の腫瘍組織集積性のメカニズムと癌診断・治療への応用

中島 進、坂田 功、竹村 健

## ポルフィリン誘導体の腫瘍組織集積性のメカニズムと 癌診断・治療への応用

中島 進<sup>\*1)</sup>, 阪田 功<sup>\*2)</sup>, 竹村 健<sup>\*3)</sup>

*Mechanism of accumulation of porphyrin derivatives in tumor tissues and its application to the diagnosis and treatment of cancer*

One of the "dreams" of cancer treatment is missile therapy targeted specifically to cancer tissues. At first, monoclonal antibodies were expected to play primary roles in this therapy and were studied globally at a number of institutions. However, the practical use of monoclonal antibodies is hampered by their poor accumulation in tumor tissues and side effects such as the human antigen-murine antibody reaction (HAMA) phenomenon.

Porphyrin derivatives are low-molecular-weight agents that accumulate in tumor tissues and have recently attracted much attention as possible substitutes for monoclonal antibodies.

We have synthesized about 750 porphyrin-related derivatives since 1980, when we first became interested in the tumor tissue accumulating property of porphyrins, and have studied them in many respects. The mechanisms of tumor tissue accumulation of porphyrins as we speculate at present are followings; Important factors are the strong affinity of porphyrins to proteins because of their high  $\pi$  electron contents and the amphipathicity to water and oil due to the stacking phenomenon. As for the tumor tissue, active endocytosis associated with enhancement of LDL and transferrin receptor activities and the immaturity or lack of lymphatic tissues in tumor are important factors. The increased permeability of tumor vessels, which has been discussed for years, is also considered to be a factor in tumor tissue accumulation of porphyrins.

In this issue, recent knowledge about the mechanism of accumulation of porphyrins in the tumor tissues and the prospects of their application to the diagnosis and treatment of cancer are discussed.

Susumu Nakajima<sup>\*1)</sup>, Isao Sakata<sup>\*2)</sup>,  
Takeshi Takemura<sup>\*3)</sup>

*key words* : porphyrin, tumor tissue affinity, endocytosis, LDL, transferrin receptor, tumor diagnosis and treatment

より効果的、かつ副作用の少ない癌治療のためには、癌組織に選択的な DDS の技術の開発が不可欠である。当初、モノクローナル抗体がその役割を負うことが期待され、世界的にも活発な研究が行われたが、腫瘍組織への集積性や HAMA 現象などの副作用のため、実用化は大きな壁に阻まれている。

これにかわるものとして、低分子量で腫瘍組織に集積するポルフィリン誘導体が注目されてきた。ポルフィリンの研究の歴史は古く、70年前から腫瘍に集まる性質は注目され<sup>1)</sup>、主に表在癌を対象とした光化学治療におけるフォトセンシタイザーとして開発され、臨床応用も行われてきている<sup>2,3)</sup>。

筆者らは、ポルフィリン誘導体の腫瘍組織集積性を深部存在癌や難治療の診断・治療に応用すべく基礎研究を進めており、本稿ではその一端を紹介したい。

<sup>\*1)</sup> Division of Surgical Operation, Asahikawa Medical College 旭川医科大学附属病院手術部

<sup>\*2)</sup> Toyo Hakka Kogyo Co., Ltd. 東洋薄荷工業株式会社

<sup>\*3)</sup> Research Institute for Electronic Science of Hokkaido University 北海道大学電子研究所有機材料  
Offprint requests to: Susumu Nakajima, M. D., Ph. D., Div. of Surgical Operation, Asahikawa Medical College, 3-11 Nishikagura 4-sen 5-go, Asahikawa 078

ポルフィリン誘導体の腫瘍組織集積性のメカニズム —特にエンドサイトーシスの重要性—  
担癌動物を用いた生化学的分析、疎水性の異なる 14 種の Cn-Ga-P を用いた *in vivo*, *in vitro* の

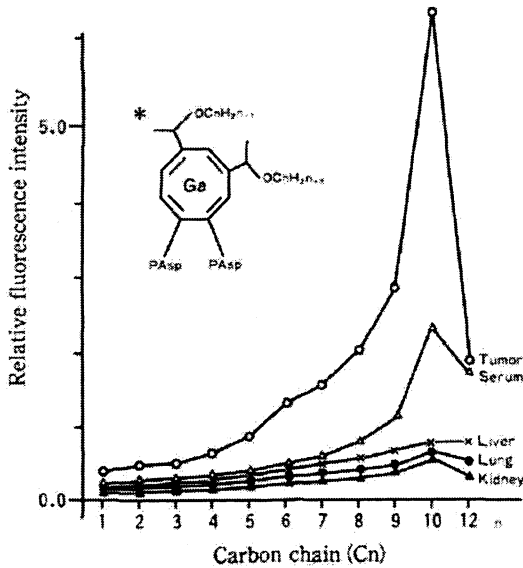


図1 Cn-Ga-P のゴールデンハムスター移植腺癌における腫瘍組織集積性  
 図の縦軸は窒素パルスレーザーによる腫瘍、各臓器の蛍光強度(腫瘍組織集積性)を示す。  
 疎水性の異なる12種(n=12)の誘導体の体内分布。C10-Ga-Pにもっとも強い腫瘍組織集積性を見る。  
 図中の\*は Cn-Ga-P の化学構造式

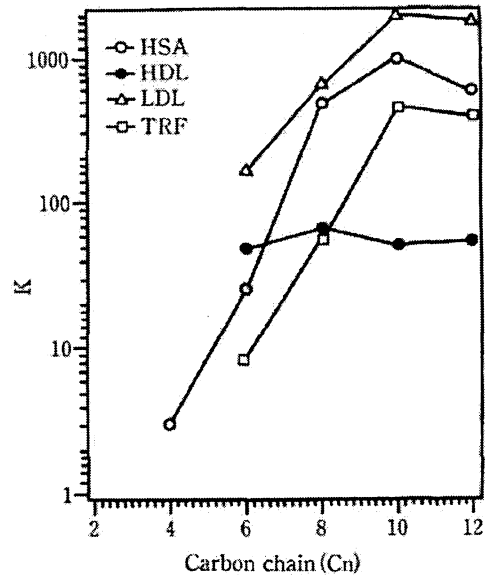


図2 Cn-Ga-P の *in vitro* におけるアルブミン(HSA), LDL, HDL, transferrin に対する親和性  
 HDLを除きC10-Ga-Pに強い親和性を有し、生体における結果と一致した、腫瘍組織においてはLDL, transferrin レセプター活性が昂進しており、ポルフィリンはエンドサイトーシスにより癌細胞内に取り込まれる。

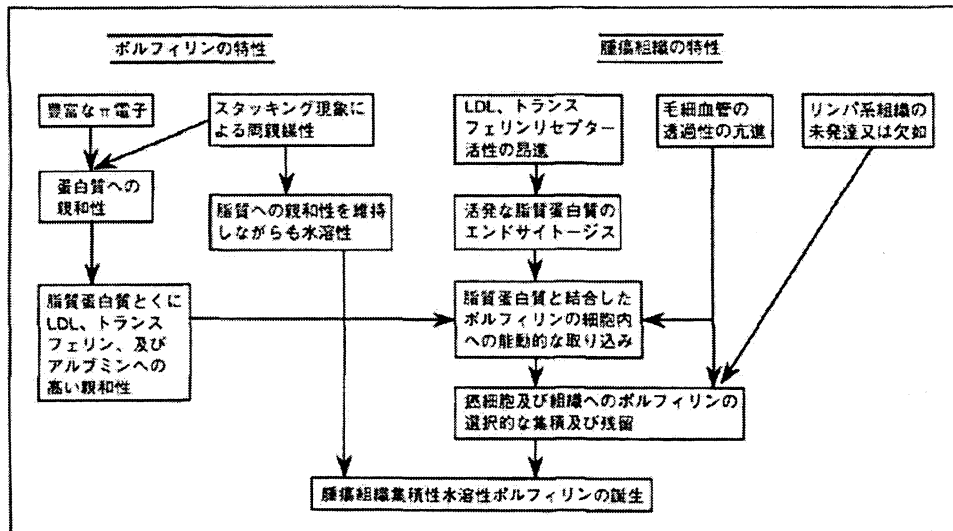


図3 ポルフィリン誘導体の腫瘍組織集積性のメカニズム

腫瘍組織集積性に関する実験(図1), および LDL, トランスフェリンへの親和性に関する分光学的解析<sup>9)</sup>(図2), ポルフィリン結合 <sup>99m</sup>Tc-標識化合物に

よる体内動態の観察などにより<sup>6)</sup>, ポルフィリン誘導体の腫瘍組織集積性は図3のごとくまとめられる。すなわち、ポルフィリンの腫瘍組織集積性

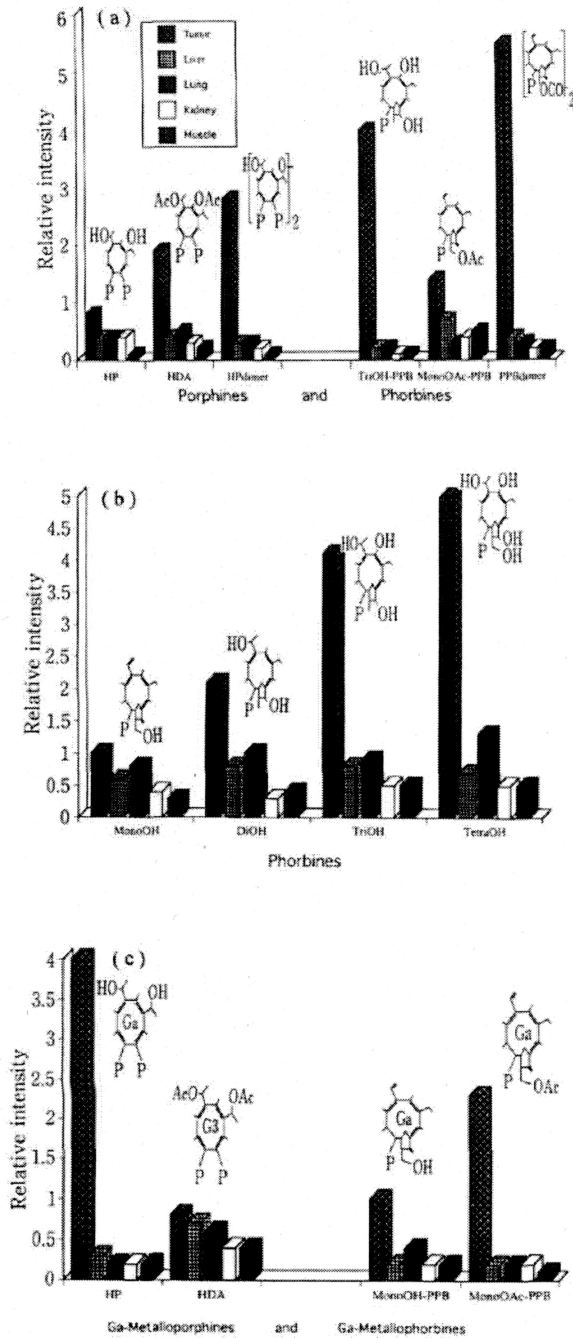


図4 ポルフィリンの化学構造と腫瘍組織集積性  
各表の縦軸は相対的蛍光強度(腫瘍組織集積性)を  
示す。

は、この物質がもつユニークな物理化学的特性と、  
癌組織の重大な組織・機能欠陥(治療する側から  
みて)により獲得されることが明らかとなった。  
重要な因子としては、ポルフィリンの側では豊富

なπ電子による蛋白への強い親和性、および  
stacking 現象による油にも水にも溶ける両親媒  
性がある。

一方、腫瘍組織においては、LDL、トランスフェ  
リンレセプター活性の昂進に伴う活発なエンドサ  
イトーシスが行われており<sup>6,7)</sup>、ポルフィリンが結  
合した LDL やトランスフェリンを、レセプター  
を介して積極的に細胞内に取り込む。しかし、腫  
瘍組織にはリンパ組織が未発達ないしは欠如して  
おり<sup>8)</sup>、腫瘍細胞、組織に取り込まれたポルフィ  
リンを容易に排除できない。

**ポルフィリンの化学構造と腫瘍組織集積性の関  
連性**

血色素由来のポルフィンと葉緑素由来のフォル  
ピンの2種類のポルフィリン誘導体について、側  
鎖化学構造が腫瘍組織集積性にどのような影響を  
もたらすかを、N2-pulsed laser spectro-fluoro-  
metry 法により、ゴールデンハムスター移植化学  
発癌腫瘍を用いて検討した<sup>9,10)</sup>。

図4(a, b, c)に示すごとく、ポルフィン誘導体  
においては、OH 側鎖基のような親水性基が存在  
すると腫瘍組織集積性は減少し、OAc 基のよう  
な疎水性基が存在すると増加することが明らかと  
なった。一方、フォルピン誘導体においては、親  
水性側鎖基が増せば増すほど腫瘍組織集積性が  
増大し、ポルフィン誘導体と反対の性質を有す  
ことが明らかとなった。金属ポルフィンにおいて  
は、親水性側鎖基が増せば増すほど腫瘍組織集  
積性は増大し、金属フォルピン誘導体において  
はその逆の関係にあることが判明した。またポ  
ルフィン、フォルピン誘導体とも、ダイマー構  
造にすると腫瘍組織集積性をいちじるしく増す  
ことが観察された。

このように、ポルフィリン誘導体の側鎖化学  
構造と腫瘍組織集積性は密接な関連を有する  
ことが明らかとなり、その後の診断・治療剤の  
開発に重要な手掛かりを与えた。

現在、基礎研究をもとに新しい癌診断・治療  
法の確立を目指して図5のごとく各種誘導体が  
合成され、実用化を目指して検討が行われてい  
る。

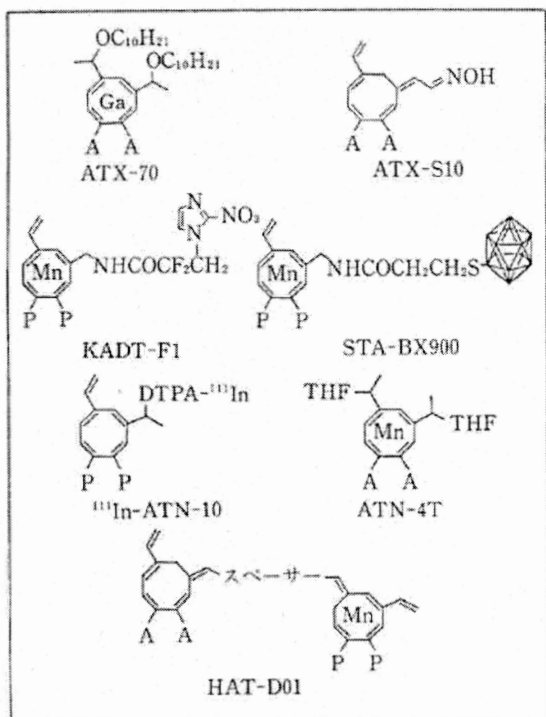


図5 現在開発中の各種誘導体  
 ATX-70: 腫瘍組織集積性超音波センシタイザ-  
 ATX-S10: 第2世代のフォトセンシタイザ-腫瘍  
 蛍光診断剤  
 KADT-F1: 腫瘍組織集積性放射線センシタイザ-  
 STA-BX-900: 中性子捕捉用ボロン化合物  
<sup>111</sup>In-ATN-10: 腫瘍性シンチグラム剤  
 ATN-4T: MRI 用腫瘍造影剤  
 HAT-D01: 光感受性のない腫瘍蛍光診断剤

各種腫瘍画像診断法によるポルフィリン誘導体の腫瘍組織集積性の証明

(1) 腫瘍陽性シンチグラム剤 (<sup>111</sup>In-ATN-10)<sup>12)</sup>

図6は、マウス移植ルイス肺癌における腫瘍シンチ画像を示す。左は現在臨床に用いられている<sup>67</sup>Gaを用いたもの、右はポルフィリンシンチ剤<sup>111</sup>In-ATN-10による画像で、前者に比較してより鮮明な腫瘍画像をうる事ができる。

(2) 核磁気腫瘍イメージング剤 (ATN-4T)

より微細な腫瘍病変を開発すべく腫瘍 MR イメージング剤が合成された<sup>12)</sup>。図7右はコロン26腫瘍移植マウスにおける無投与例、左は ATN-4T(0.1 mM, 静注1時間後)投与例で、ATN-4T

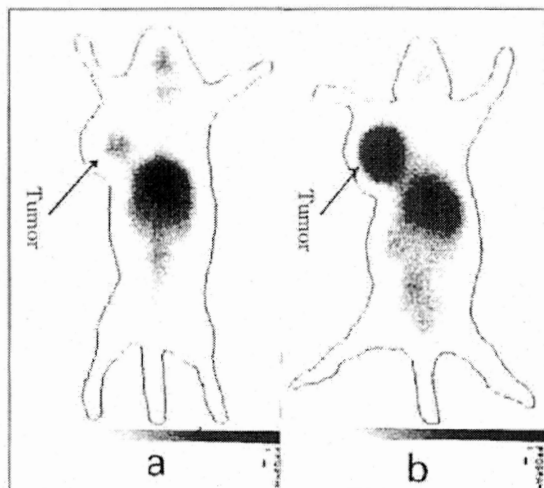


図6 <sup>111</sup>In-ATN-10 のルイス肺癌におけるシンチ画像  
 左は現在臨床で使用されている<sup>67</sup>Ga-citrate, 右は本剤による腫瘍描出画像



図7 MRI 腫瘍造影剤 ATN-4T によるコロン26腫瘍における T1 強調画像  
 左が ATN-4T(0.1 mM)投与例, 右はコントロール, →は腫瘍部

の強い腫瘍部における T1 強調効果を認める。

(3) 腫瘍蛍光診断治療剤 (ATX-S10)<sup>13)</sup>

高感度蛍光診断装置を用いて新しいフォトセンシタイザ-として開発された ATX-S10 の組織蛍光を観察した。図8の左から腫瘍、肝臓、肺、腎臓、筋肉、脳における ATX-S10(25 mg/kg, 静注2時間後)の蛍光を示すが、腫瘍に強い蛍光発生をみる。

このように、3種類の異なる腫瘍画像診断法によってもポルフィリン誘導体のすぐれた腫瘍集積性は証明された。



図8 腫瘍蛍光剤 ATX-S10 (0.03 mM) 投与2時間後の各種臓器の蛍光(高感度蛍光測定装置で撮影)  
左から腫瘍, 肝臓, 肺, 腎, 筋肉, 脳

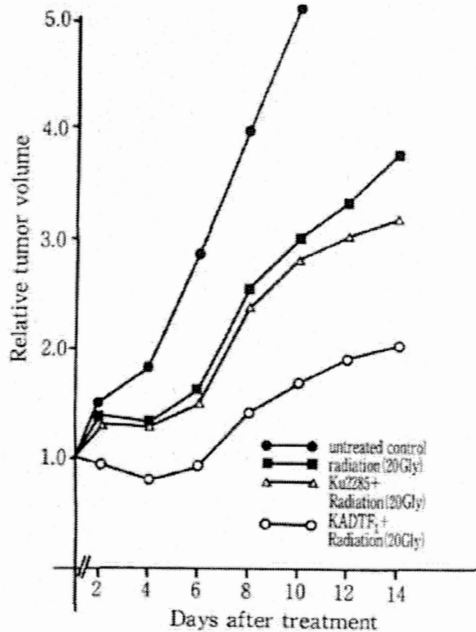


図9 腫瘍組織集積性放射線センシタイザ-の C3H マウス移植 SCC VII 腫瘍に対する 20 Gy, 1回の放射線治療効果

#### 癌治療への応用

図5に示したごとく深部存在癌・難治癌の治療を目指した誘導体の合成が行われ, 臨床応用のための検討が行われている。

日立基礎中央研究所梅村博士と共同で, 腫瘍組織集積性超音波センシタイザ- ATX-70 に関する研究が行われている<sup>14)</sup>。また筑波大学脳神経外

科松村講師と共同研究の形で, 中性子捕捉療法用ボロン10-ポルフィリン化合物 STA-BX-900 が合成され, 治療実験が行われている。さらに現在, 放射線センシタイザ-の専門家である京都大学胸部疾患腫瘍医学芝本助教授との共同研究として, 腫瘍組織集積性放射線センシタイザ- KADTF の開発, 治療実験が進行している。過去数十年にわたって2-ニトロイミダゾール誘導体を用いた低酸素圧細胞放射線センシタイザ-の開発が行われ, 臨床応用もなされた。しかし, 腫瘍組織集積性に乏しくかつ重篤な神経毒性のために, 現在新規開発は中断された状態になっている。

KADTF は, 京大で開発された放射線センシタイザ- KU2280 を, 腫瘍組織集積性にすぐれた Mn-ポルフィリンの側鎖基に結合させた誘導体で, 腫瘍組織集積性を有し, 低酸素圧放射線増感効果を保持していることが実証された誘導体である。図9は, LINIAC 照射装置により 20Gy 1回照射の効果をも, C3H マウス移植 SCCVII 腫瘍を用いて観察したものであるが, 明らかな制癌効果を示した。KADTF は Mn ポルフィリンを用いているために, MRI 腫瘍造影剤としての役割も期待されている。

腫瘍組織指向性制癌剤など, ポルフィリンの腫瘍組織に集まる性質を利用した癌治療剤の検討も行われており, 臨床応用を目指しての努力が継続されている。

## 文 献

- 1) Policard, A., Leuller, A. : Etude sur les aspects offerts par des tumeurs experimentales examinees á la lumiere de woods. Compt. Rend. Soc. Wood 91 : 1423-1424, 1924.
- 2) Dougherty, T. I., Grinsley, G., Fiel, G., Weinaupt, K. R., Doyle, D. : Photoradiation therapy, cure of animal tumors with hematoporphyrin and light. J. Natl. Cancer Inst. 55 : 115-119, 1975.
- 3) Hayata, Y., Kato, H. : Hematoporphyrin derivatives and laser photoradiation in the treatment of lung cancer. Chest. 81 : 269-277, 1982.
- 4) 中島 進, 阪田 功, 竹村 健 : ポルフィリン誘導体の腫瘍組織集積性のメカニズムとがん診断, 治療への応用. ポルフィリン・ヘムの生命科学. (ポルフィリン研究会・編), 東京化学同人, 1995, p 209-216.
- 5) Nakajima, S., Sakata, I., Takemura, T. et al. : Tumor localizing activity of porphyrin and its affinity to transferrin. Cancer letter 92 : 113-118, 1995.
- 6) Kessel, D. : Porphyrin-lipoprotein association as a factor in porphyrin localization. Cancer letter 33 : 183-188, 1986.
- 7) Laurence, R., Carmen, O. T. : Transferrin receptor in normal and neoplastic brain tissue : implications for brain tumor immunotherapy. J. Neurosurg. 72 : 941-945, 1990.
- 8) Butler, T. P., Graham, F. H. : Bulk transfer of fluid in the interstitial compartment of mammary tumors. Cancer Res. 35 : 3084-3088, 1985.
- 9) Nakajima, S. et al. : The tumor-localizing properties of porphyrin derivatives. J. Photochem. Photobiol. B7 : 189-198, 1982.
- 10) Nakajima, S., Sakata, I., Maeda, T., Takemura, T., Yamauchi, Y., Koshimizu, K. : Detection and quantitative estimation of metalloporphyrins *in vivo*. J. Photochem. Photobiol. 8 : 409-417, 1991.
- 11) Nakajima, S., Yamauchi, H., Sakata, I., Yamazaki, K., Maeda, T., Takemura, T. : <sup>55</sup>In labeled Mn-metalloporphyrin for tumor imaging. Nucl. Med. Biol. 20 : 231-237, 1993.
- 12) 中島 進, 阪田 功, 竹村 健・他 : MRI用腫瘍組織集積性 Mn(III)金属ポルフィリン. オンコジア 26 : 242-244, 1993.
- 13) Nakajima, S., Sakata, I., Takemura, T. et al. : Tumor localizing and photosensitization of photochlorin ATX-S10. Photodynamic Therapy and Biomedical Lasers. (ed. Spinelli, P.), Elsevier Science Publisher, 1992, p 531-534.
- 14) 梅村晋一郎, 川畑健一, 佐々木一昭 : 第2高調波重畳による音響化学効果の原理 (音響化学療法の研究 XVI). 日本超音波医学研究発表会抄録集 254 : 1995.