

AMCoR

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

BME (2000.07) 14巻7号:29～34.

【レーザー装置と治療技術の新展開】
PDT(Photodynamic Therapy)薬剤の新展開

中島 進、阪田 功、竹村 健

PDT (Photodynamic Therapy) 薬剤の新展開

中島 進*・阪田 功**・竹村 健***

1. はじめに

ポルフィリン誘導体であるフォトフリンとエキシマダイレーザーによる光線力学的療法 (photodynamic therapy: PDT) は日本に於いても各種早期癌を対象としての臨床が始まり、その治療成績及び適応拡大に大きな期待が寄せられている¹⁾。一方、ポルフィリン誘導体が有する腫瘍組織集積性や外部エネルギーに対する反応性を利用して単に早期癌を目的にするだけでなく腫瘍蛍光診断、皮膚癌、各種進行癌、眼科に於ける加齢性黄斑症の治療等、適応拡大にむけた動きも活発化している。こうした中で本療法の基礎をなす、各種光センシタイザーの開発も世界各国で進められ、臨床応用の為の商用化の試みも為されているが、ポルフィリン本来が持つ優れた性能からかけ離れた不良なセンシタイザーも多く、PDTはある意味では大きな飛躍の前に足踏み状態にあると言えよう。こうした状況下では今一步原則に立ち返りポルフィリンの腫瘍組織集積性や光反応性等基礎的観点から問題点を掘り下げて土台を築き直す事が現状では重要な事と思われる。

我々の研究グループは過去 20 年間に世界で最も多い 1,100 種以上のポルフィリン誘導体を合成し、腫瘍組織集積性のメカニズムの解明や励起反応性に関する検討を行い、さらにポルフィリンを用いた癌の診断・治療に関する広範囲な応用を提

唱してきた^{2~6)}。今回は長らくポルフィリン誘導体の合成・評価に携わってきた経験から現在の光センシタイザー開発の現況、問題点に関する我々の見解を述べたい。

2. ポルフィリンの腫瘍組織集積性のメカニズムをめぐる最近の話題 —ポルフィリンと癌の浸潤・血管新生に 関与する matrix metallo-protease との関連—

PDT の魅力の一つはこの治療法が腫瘍組織に選択的であり、その点で他の癌治療法より、優れている事である。図 1 は我々が開発中の光センシタイザー ATX-S 10 (Na) のカラーイメージングインテンシファイアーを用いた腫瘍を含む各臓器の蛍光画像を示す。腫瘍に選択的な蛍光発生を認める。こうしたポルフィリンの選択的な腫瘍組織への取り込みは古くから多くの研究者によって報告されているが⁷⁾しかしそのメカニズムは未だ不明とされている。

旧来まではポルフィリンの腫瘍集積性のメカニズムは以下の如く説明されてきた。すなわちポルフィリンは豊富な π 電子と特異な両親媒性 (水にも油にも溶ける性質) のために水に溶解しながらもリポ蛋白に強い親和性を有する。癌組織に於いては活発な増殖を維持する為に低比重リポ蛋白 (LDL) などのポルフィリンキャリアー蛋白リセプター活性が上昇しており、癌組織に於ける毛細血管透過性亢進も相まって、ポルフィリンと結合した蛋白を能動的に細胞内に取り込む、一方、癌

* Nakajima S 帯広畜産大学保健管理センター

** Sakata I 光ケミカル研究所

*** Takemura T 北海学園大学開発研究所

組織にはリンパ系組織が欠如しており，ポルフィリンを排除出来ない．この様に癌組織は「飽食と排泄不全」の性質を有しており，この性質から腫瘍集積性を獲得する．しかし，1998年にT.J.

Doughertyらによって発表されたPDTに関する総説によれば⁸⁾優れた腫瘍組織集積性を示す光センシタイザー (aluminium phthalocyanine tetra-sulfonate等)はLDLに親和性を示さないのに反して余り腫瘍集積性を示さないhematoporphyrinが逆にLDLに親和性を示すなど最もキャリアー蛋白として重要視されてきたLDLが決定的な役割を演じていない事が明らかにされてきた．そこでこれら不明な点を解決すべく我々は腫瘍シンチグラム剤の一つとして開発されたGaポルフィリンであるATN-2⁹⁾を用いて最近，ポルフィリン結合蛋白の同定を試みた．人血清，SCC VIII腫瘍，Colon 26腫瘍を用いHPLC法，2重拡散HPLC法，7種類の免疫沈降反応，アミノ酸末端配列解析により，ATN-2結合キャリアー蛋白が推定分子量約7万のヘモペキシンと同じドメイン構造を有する糖蛋白である事を突き止めた¹⁰⁾．図2は2次元拡散HPLCのデータを示しているがATN-2結合蛋白はアルブミンとトランスフェリンの中間に存在し，その分子量は約7万と判明した．更に図3に示す如く7種類の抗蛋白血清に反応して沈降物にATN-2を認めたものはヘモペキシン抗血清のみであった．我々が現在臨床応用を目指して開発中の光センシタイザーATX-S 10 (Na)もLDLの分画ではなく分子量7万の位置にその存在を明らかにしており，アルブミンよりやや大きく，トランスフェリンよりやや小さい分子量に位置する蛋白が今後重要な分析

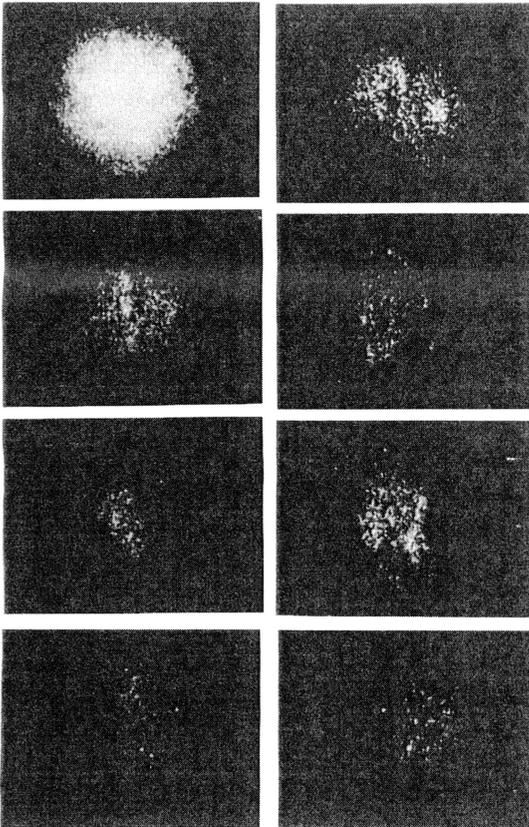


図1 ATX-S 10 (Na) の蛍光
上段から腫瘍，肝臓，肺，筋肉左は投与例，右は非投与例

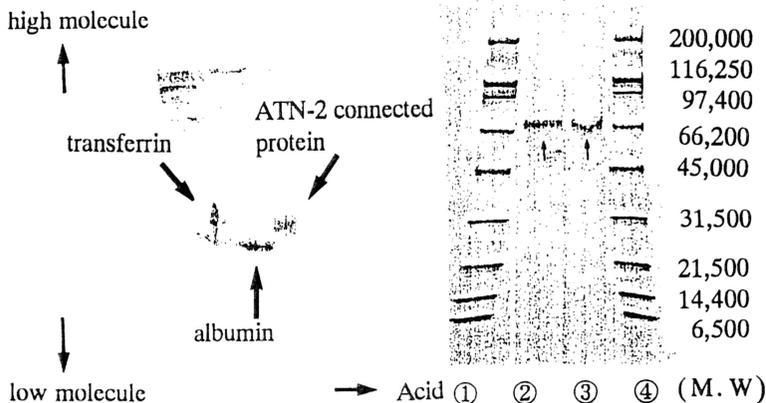


図2 二次元拡散HPLCによるATN-2の結合蛋白の同定

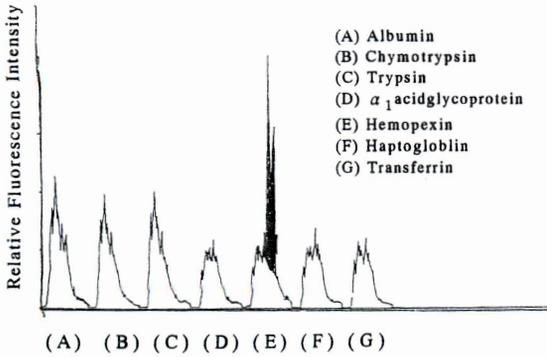


図3 免疫沈降反応による7種類の各種血清蛋白の反応

対象になると思われる。

我々が目下注目しているヘモペキシンがポルフィリンのキャリアー蛋白である事は旧来からヘモペキシンが余剰ヘム（鉄ポルフィリン）の処理蛋白とされてきた事からみても不思議ではない。しかし、近年ヘモペキシンの新たな機能が相次いで報告されるに至り、状況が一変してきた。最近の報告から紹介すると、蛋白の融解に関与するヒアルロニダーゼがヘモペキシンと同一の構造であり、前立腺癌に於いては悪性度に比例して含有量を増している事、癌の浸潤、転移、新生血管に関与している matrix metallo-protease の大部分の糖鎖構造がヘモペキシンドメインを有する等である¹¹⁻¹⁵⁾。この様にポルフィリンの腫瘍組織集積性に関して、腫瘍組織で含有量を増大し、かつ癌の浸潤、血管新生などに関与する機能蛋白の存在が明らかになってきた。今後の光センシタイザーの評価にあたってはこれらの特殊蛋白との関連性が重要なチェック項目になる事が予想される。こうした最近の基礎研究の進展はポルフィリンを用いた腫瘍蛍光診断、PDT、進行癌に対する Interstitial PDT の役割が他の治療法と比較してさらにより一層発展する可能性を示唆していると思われる。

3. ポルフィリンの両親媒性と PDT 効果

一水溶性を示さない光センシタイザーは将来主役にはならないであろうー

分子量1,000弱と低分子量であるポルフィリン

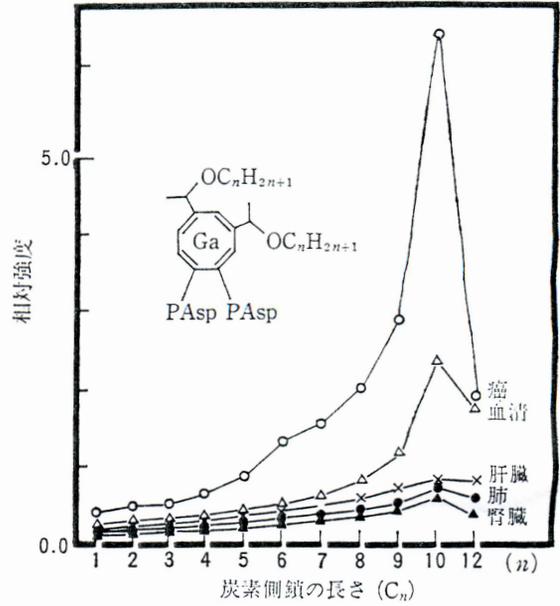


図4 Ga-ポルフィリンの炭素数の変化と相対蛍光濃度の変化

Ga-ポルフィリンの化学構造と炭素数の変化による腫瘍組織集積性の変化窒素パルス蛍光測定装置により含有量測定。化合物が重合状態となると蛍光量は源弱する $\log r=0$ は5%の蛋白濃度に一致する

が示す特異的な作用としては両親媒性がある。ポルフィリンはスタッキング現象により、親水性の環境下では親水性側鎖基を外側に、疎水性の環境下では疎水性側鎖基を外側に、ミセル状態で溶解性を保つとされている。我々はポルフィリン誘導体に於ける水溶性の意義を確かめるために、炭素の数で疎水性を変えた12種類のGa-ポルフィリンを合成し、スタッキングの状況と腫瘍組織集積性、PDT効果との関連を検討した。図4にGa-ポルフィリンの化学構造とN2-pulsed laser spectro-fluorometerを用いた腫瘍組織集積性を示す。図5に疎水性基の異なる4種類のGa-ポルフィリン(C13以上になるとの水に溶解不能となる)の蛋白濃度と蛍光濃度の強弱から判定しうる、分子状態の相関図を示す。結論的に説明するとC6, C8では水溶性の為に蛋白濃度が低くなってもGa-ポルフィリンはスタッキング現象を殆ど起こさない。これに反してC10では蛋白濃度が低くなるとdimer状態になり、蛋白濃

度が血清の濃度に近い ($\log r = 0$) 状態では monomer に戻る。図 4 に示す如くこの様な状態の誘導体が最も強い腫瘍親和性を獲得している事がわかる。一方、炭素が更に増した C12 では血清に近い蛋白濃度でも dimer 状態であり、この様な

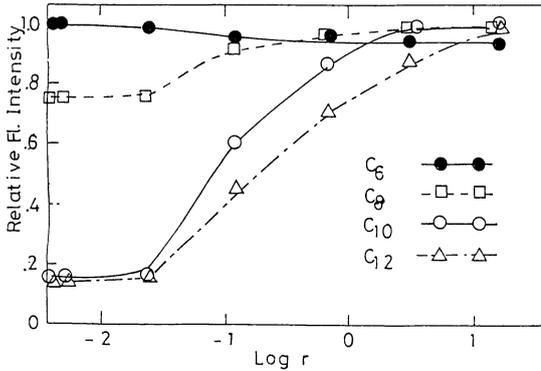


図 5 各種 Ga-ポルフィリンの in vitro PDT 効果
ハロゲンランプ (200 mw) 及び Hela 細胞を使用

状態になると腫瘍親和性は著しく低下してくる。図 6 には Hela 細胞を用いた前述の Ga-ポルフィリンの炭素数と PDT 効果 (% inhibition) の関係を示している。最も効果があるのは C10 Ga-ポルフィリンであり、腫瘍組織集積性と PDT 効果は密接な関係にある事が分かる。この様にポルフィリン誘導体は疎水性を増せば単純に腫瘍組織集積性がある様な関係にはなく、親水性を保持しながら、水溶液では dimer 構造をなし、血清程度の蛋白濃度では monomer 構造になる様な誘導体が望ましいと言える。この様な事実は最初から溶解性が悪く、リポゾームや特殊な溶解液が必要な光センシタイザーは腫瘍組織集積性も PDT 効果も十分ではなく将来は臨床の現場から消えて行くものと思われる。

4. 世界で開発されている 各種光センシタイザーの現況

表 1 に現在世界で臨床応用が既に開始されたか又は計画中の各種センシタイザーの内容をしめす。

癌治療剤としては Photofrin が日本を始め各国で臨床例を拡大しつつあるが入院期間をどう短縮出来るかが症例数を増加させる上で肝要であろう。ALA は軟膏の形で投与出来る皮膚癌を主にヨーロッパを中心に臨床例を増やしている。今後脳腫瘍の術中蛍光診断への使用など適応拡大がどこまで出来るかが課題となろう。NPe6 は早期肺癌を対象とした Phase II study が進行中であると公表されているが、適応をどこまで拡大出来るか期待される。世界で目下 PDT に関して注目が集まっているのは眼科に於ける加齢性黄斑症に対する応用である¹⁶⁾。既に QLT, Chiba 社の BPD-MA が臨床応用に突入し、その後 Pharmacia 社が SnEt 2, Alcon 社が Lu tex を更に国産では著者も開発に参加した光ケミカル研究所が ATX-S 10 (Na) で前臨床試験を開始ないし開始予定の状況になっている。表 1 に示す如く、これらのセンシタイザーの中には水に不溶であったり、毒性が心配な金属元素を使用していたりする

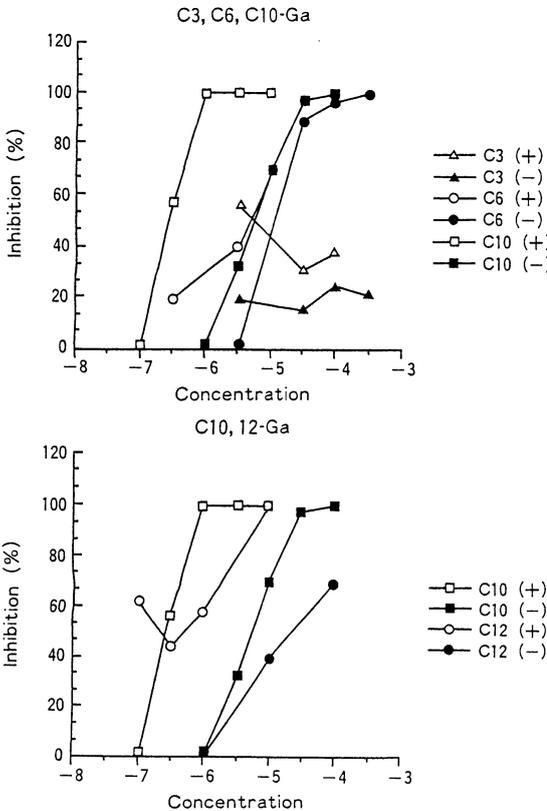


図 6 Hela 細胞を用いた Ga-ポルフィリンの炭素数と PDT 効果 (% inhibition) の関係

表 1 臨床応用が開始された，又は計画中の光センシタイザー

Photosensitizer	Photofrin	BPD-MA	ATX-S 10	NPe 6	SnEt 2	ZnPC	Foscan	ALA	Lu tex
Manufacture	QLT	QLT/ Ciba Vision	Photo- chemical	Meiji Seika	Pharmacia	Novartis	Scotia	Deprenyl	Alcon
Stage	Clinical	Clinical	Precli.	Ph.II	Ph.II	Precli.	Clinical	Clinical	Ph.II
Wavelength (nm)	630	690	670	664	660	~700	650	630	730
Clinical Dose (mg/kg)	2	0.25~0.5	—	~1	unknown	—	0.3	—	—
Precli. Dose (mg/kg)	25	4	10~20	5	1~2	0.5	0.5	50~100	unknown
Clearance* ¹ (hour)	>72	24	24	96	96	>96	9 (day)	24	24
Restraint* ² water solubility	4 weeks soluble	3~7 days insoluble (liposome)	~3 days soluble	~1 week soluble	~1 week insoluble	~1 week insoluble (liposome)	~4 week insoluble	2 week insoluble	3 days soluble

*¹ : Period estimated for the excretion of photosensitizer

*² : Period estimated for keeping patients under dark condition after PDT

誘導体も含まれているが，今後の臨床応用の成績でいずれ淘汰されよう。その他，様々な光センシタイザーが各国で合成検討されているがその評価に際しては既に述べたポルフィリン本来の性質を十分に兼ね備えた誘導体が望ましい。

5. ま と め

現在使用もしくは使用が予定されている光センシタイザーの現況について長年，多数のポルフィリン誘導体の合成・評価に携わってきた著者等の経験をもとに概説した。

腫瘍集積性ポルフィリンのキャリアー蛋白は予想していたよりもはるかに腫瘍組織に特異的な性質を示す事が明らかになり，今後，腫瘍蛍光診断はじめ進行癌の診断・治療，加齢性黄班症を始めとする血管新生を伴う疾患群に対する適応拡大が予想される。関連する装置の一層の発展を期待すると同時にこの方面に若い研究者の参加と活発な基礎研究の進展を望むものである。

文 献

1) Kato H, Okunaka T, Shimatani H : Photodynamic therapy for early stage bronchogenic carcinoma. J Clin Laser Med Surg

14 : 235-238, 1996
 2) Nakajima S, Hayashi H, Omote Y, Yamazaki K, Maeda T : The tumor localizing properties of porphyrin derivatives. J Photochem Photobiol B 7 : 189-198, 1990
 3) Nakajima S, Sakata I, Maeda T, Takemura T, Yamauchi Y, Koshimizu K : Detection and quantitative estimation of metalloporphyrins in vivo. J Photochem Photobiol B 8 : 409-417, 1991
 4) Nakajima S, Yamauchi H, Sakata I, Yamazaki K, Maeda, Takemura T : ¹¹¹In-labeled Mn-metalloporphyrin for tumor imaging: Nucl Med Biol 20 : 231-237, 1993
 5) Nakajima S, Nishibe S, Murakami N, Aburano T, Sakata I, Maruyama I, Inoue M, Takemura T : Therapeutic and imaging capacity of tumor-localizing radiosensitive Mn-porphyrin on SCCVII tumor-bearing C3H/He mice. Anticancer Drugs 8 : 386-390, 1997
 6) Nakajima S, Sakata I, Hirano T, Takemura T : Therapeutic effect of interstitial photodynamic therapy using ATX-S 10 (Na) and a diode laser on radio-resistant SCC VII tumors of C3H/He mice. Anticancer Drugs 9 : 539-543, 1998
 7) Policard A, Leuller A : Etude sur les aspects offerts par des tumeurs expérimentales examinees la lumière de woods. Compt Rend Soc Wood 91 : 1423-1424, 1924
 8) Dougherty TJ, Gomer CJ, Henderson BW, Jori J, Kessel D, Korbek M, Moan J, Peng Q :

- Review : Photodynamic therapy. *J Natl Cancer Inst* **90** : 889-905, 1998
- 9) Nakajima S, Hayashi H, Ohshima K, Yamazaki K, Kubo Y, Samejima Y, Kakiuchi Y, Shindou Y, Koshimizu K, Sakata I, Yamauchi Y : Tumor imaging [¹¹¹In] mono-DTPA-ethyleneglycol-Ga-deuteroporphyrin. *Photochem Photobiol* **46** : 763-788, 1987
- 10) Nakajima S, Moriyama T, Hayashi H, Sakata I, Nakae Y, Takemura T : Hemopexin as a carrier protein of tumor-localizing Ga-metalloporphyrin-ATN-2. *Cancer Lett* **149** : 221-226, 2000
- 11) Darabi A, Gross S, Watabe M, Malafa M, Watabe K : Differential gene expression in experimental hepatocellular carcinoma induced by woodchuck hepatitis B virus. *Cancer Lett* **95** : 151-159, 1995
- 12) Swerts JP, Soula C, Sagot Y, Guinaudy MJ, Guillemot JC, Ferrara P, Duprat AM, Cochard P : Hemopexin is synthesized in peripheral nerves but not in central nervous system and accumulates after axotomy. *J Biol Chem* **267** : 10596-10600, 1992
- 13) Zhu L, Hopes TJ, Hall J, Davies A, Stern M, Eberhard UM, Stern R, Parslow TG : Molecular cloning of a mammalian hyaluronidase reveals identity with hemopexin, a serum heme-binding protein. *J Biol Chem* **269** : 32092-32097, 1994
- 14) Lokeshwar VB, Lokeshwar BL, Pham HT, Block NL : Association of elevated levels of hyaluronidase, a matrix-degrading enzyme, with prostate cancer progression. *Cancer Res* **56** : 651-657, 1996
- 15) Murphy G, Knauper V : Relating matrix metallo-protease structure to function : Why the [hemopexin] domain? *Matrix Biol* **15** : 511-518, 1997
- 16) Obana A, Goht Y, Kaneda K, Nakajima S, Takemura T, Miki T : Selective occlusion of choroidal neovascularization by photodynamic therapy with a water-soluble photosensitizer, ATX-S 10. *Lasers Surg Med* **24** : 209-222, 1999