

フタロサイアニンとチタン-サファイア・レーザーを用いた光力学的抗腫瘍効果について

平田昭夫¹⁾, 久住治男¹⁾, 三原信也¹⁾, 打林忠雄¹⁾, 三好憲雄²⁾

¹⁾ 金沢大学医学部泌尿器科, ²⁾ 福井医科大学第一病理

Photodynamic therapy with phthalocyanine and titanium-sapphire laser in tumor transplanted nude mice

Akio Hirata¹⁾, Haruo Hisazumi¹⁾, Shinya Mihara¹⁾, Tadao Uchibayashi¹⁾ and Norio Miyoshi²⁾

¹⁾ Department of Urology, School of Medicine, Kanazawa University,

²⁾ The first Department of Pathology, Fukui Medical School

Recently, sulphonated aluminum chloro phthalocyanine (AIPC) has attracted a great deal of attention as a new photosensitizer in photodynamic therapy (PDT). Tissue concentrations and photodynamic effects of AIPC and hematoporphyrin derivative (HpD), that has been using clinically in PDT, were determined in nude mice transplanted bladder tumors. Photodynamic effect with AIPC and light (light emission at 675nm from the titanium-sapphire laser) were compared with that of HpD and laser light at 630nm. According to the tissue distribution of AIPC and HpD at various times after administration, the ratios of tumoral concentration to muscular concentration of AIPC were higher than those of HpD, and skin concentration of AIPC at 24 to 168 hr after administration was lower than that of HpD. These results suggest that more selectively AIPC localizes in malignant tumor than HpD, and there is a possibility of reducing skin photosensitivity with AIPC as compared with HpD. The regression of tumor volume after PDT was higher with AIPC than with HpD.

These results suggest that AIPC may be promising photosensitizer for PDT in respect of the selective tumor destruction and the reducing skin photosensitivity.

1 はじめに

光感受性物質とレーザー光を用いた光力学的治療 (PDT) は各種悪性腫瘍の治療に応用されている。光感受性物質としては、以前より腫瘍組織に親和性の高いと言われているヘマトポルフィリン誘導体 (HpD) が現在臨床的に使用されている。しかし HpD は、① 組織内深達性の比較的大きい 600nm 以上の波長域において吸光度が小さいこと ② 皮膚における残留性が比較的高いことにより、3～4 週にわたり皮膚光過敏症発生のおそれがあるといった欠点がある。このため HpD に代わる光感受性物質としてフタロサイアニンの検討を行なった。なお今回フタロサイアニンの最大光吸収波長である 675nm 近傍の波長のレーザー光を高出力で発振できる、チタン・サファイアレーザーを用いてフタロサイア

ニンの光力学的抗腫瘍効果の検討を行ない、HpD あるいはフタロサイアニンとアルゴン色素レーザーにおける効果との比較検討した。

2 材料および方法

フタロサイアニンは、図 1 の 4 つの isoindole units の中心元素としてアルミニウムの結合した sulphonated aluminum chloro phthalocyanine (AIPC) を使用し、住友製薬㈱より提供を受けた。HpD は Oncology Research and Development Inc. (USA) 製の Photofrin I を使用した。

吸光スペクトルの測定には島津製作所製の吸光光度計 UV-190 型を、蛍光スペクトルの測定には日立製作所製の分光蛍光光度計 850 型を使用した。

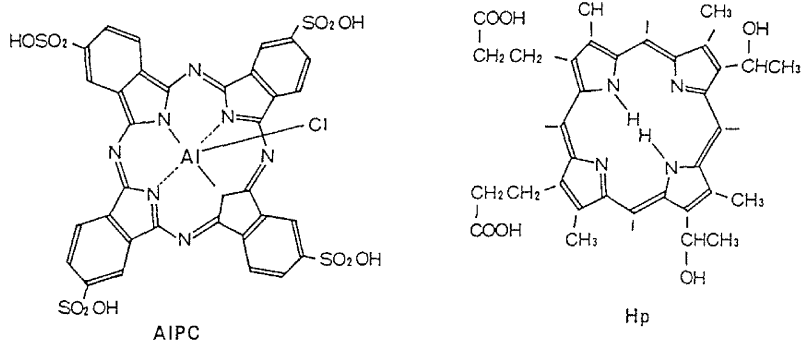


図1 AIPC および HpD の化学構造式

当教室で樹立したヒト膀胱癌由来培養株, KK-47細胞をヌードマウス (BALB/c, nu/nu) 背部皮下に移植し作製した腫瘍を用い, 腫瘍集積性および光力学的抗腫瘍効果を検討した。

レーザー装置は Spectra-Physics 社製のアルゴン・色素レーザー (171-07型と375-03型, 色素としてはローダミン B および DCM を使用) およびチタン・サファイアレーザー (3900型) を用いた。

3 結果および考察

(1) フタロサイアニンの特徴

図2のようにAIPC と HpD の10 $\mu\text{g/ml}$ 濃度溶

液における光吸収スペクトルの比較では, HpD は臨床用 PDT に使用されるレーザー光の波長 630 nm では最小の光吸収ピークに一致するのに対し, 400 nm 近傍に最大の光吸収ピークが認められる。350 nm ~ 400 nm の光吸収が HpD の皮膚光過敏症の重要な要因とされている。それに対し AIPC の光吸収スペクトルでは紫外線波長領域で比較的光吸収が少なく, 675 nm 付近に大きな光吸収ピークが認められる。光の組織深達性はその波長に依存し, 長波長ほど組織深達性が大きいと言われている。光吸収スペクトルに基づく AIPC を用いた PDT において皮膚の光過敏症の軽減および, 675 nm と長波長のレーザー

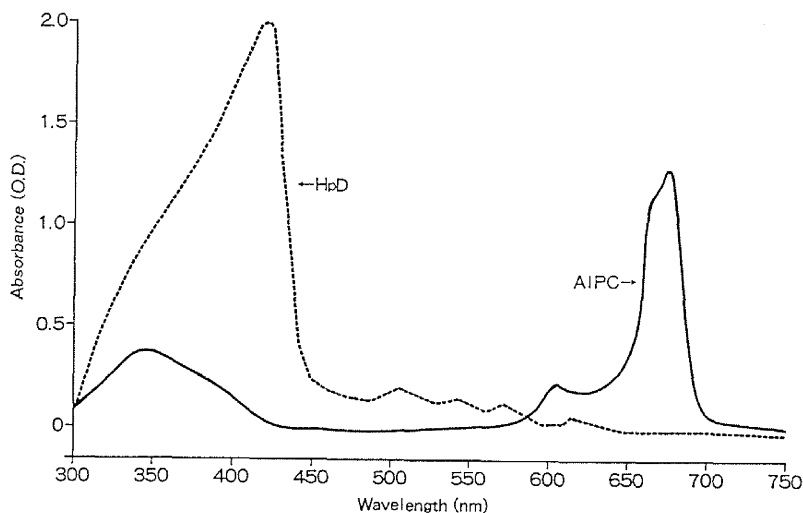


図2 AIPC および HpD のリン酸緩衝液中での光吸収スペクトル

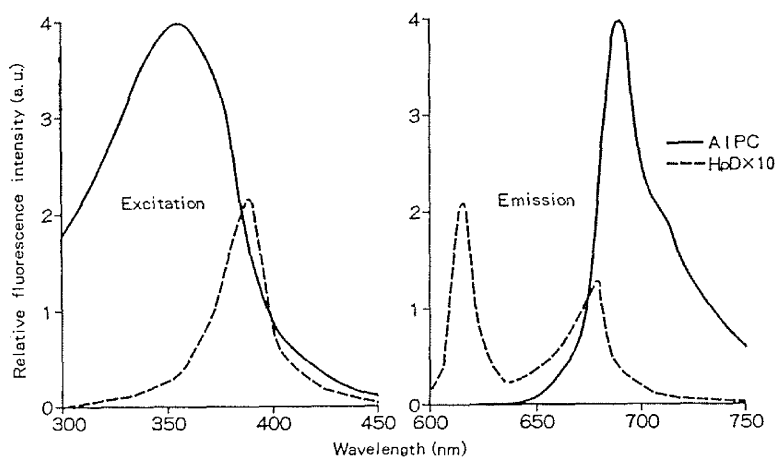


図3 AIPC および HpD のリン酸緩衝液中での蛍光発光スペクトル

光にての PDT で、大きな抗腫瘍効果が期待される。また AIPC はリン酸緩衝液中では、図 3 のように 675nm に最大蛍光発光ピークを有する。それに対し HpD も蛍光発光物質であるが、AIPC および HpD 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の溶液では AIPC のほうが約 20 倍の強い蛍光発光を示す。

(2) フタロサイアニンの腫瘍集積性について

腫瘍移植ヌードマウスに AIPC あるいは HpD 10 mg/kg を腹腔内投与後 3, 24, 48, 96 および 168 時間後にマウスを屠殺し、腫瘍、周囲筋肉組織

および皮膚を摘出した。AIPC の抽出方法は各組織より湿重量 200 mg を切離後細切し、0.1 N の水酸化ナトリウム水溶液 5 ml を加えてホモジネイトする。50℃ の恒温槽にて 4 時間放置後、遠心を行ない、上清を分離し 610nm で励起した時の 675nm の蛍光強度を測定した。おのおのの

表 1 AIPC 投与後の腫瘍移植ヌードマウスの腫瘍、筋肉、皮膚内の AIPC の経時的濃度

	3 時間後	24 時間後	48 時間後	96 時間後	168 時間後
腫瘍	12.6 $\pm$ 2.0	7.6 $\pm$ 1.6	6.5 $\pm$ 0.6	6.1 $\pm$ 1.0	4.4 $\pm$ 0.7
筋肉	6.2 $\pm$ 0.8	3.9 $\pm$ 1.1	2.3 $\pm$ 0.5	1.6 $\pm$ 0.4	1.4 $\pm$ 0.2
皮膚	18.3 $\pm$ 2.5	9.2 $\pm$ 1.5	4.6 $\pm$ 0.9	2.8 $\pm$ 1.0	2.1 $\pm$ 0.8

¹AIPC の濃度は $\mu\text{g}/\text{g}$ で表示されている。

²Standard error は 5 匹のマウスより計算されている。

表 2 HpD 投与後の腫瘍移植ヌードマウスの腫瘍、筋肉、皮膚内の HpD の経時的濃度

	3 時間後	24 時間後	48 時間後	96 時間後	168 時間後
腫瘍	1.0 $\pm$ 0.3	2.4 $\pm$ 0.8	2.0 $\pm$ 1.1	1.6 $\pm$ 0.7	0.9 $\pm$ 0.7
筋肉	0.7 $\pm$ 0.3	1.3 $\pm$ 0.4	0.9 $\pm$ 0.5	0.7 $\pm$ 0.4	0.3 $\pm$ 0.2
皮膚	0.9 $\pm$ 0.2	1.4 $\pm$ 0.3	1.2 $\pm$ 0.9	0.7 $\pm$ 0.7	0.6 $\pm$ 0.4

¹HpD の濃度は $\mu\text{g}/\text{g}$ で表示されている。

²Standard error は 5 匹のマウスより計算されている。

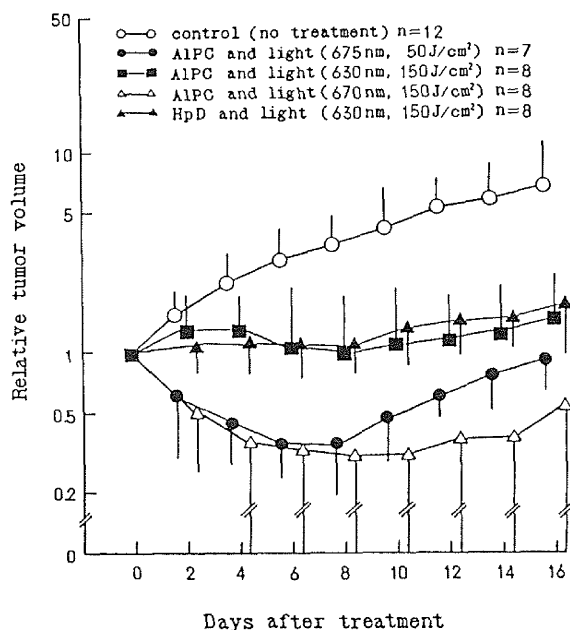


図 4 AIPC および HpD と各種波長のレーザー光による光力学的抗腫瘍効果

組織内濃度を標準曲線より算定した。またHpDの組織からの抽出は、各組織より湿重量200mgを切離後細切し、0.15Mの酢酸5mlを加えてホモジネイトする。ついで、これに酢酸エチルと酢酸の混合液を加えたものからポルフィリンを1.5Nの塩酸で抽出し、400nmで励起したときの630nmの蛍光強度を測定した。HpDの組織内濃度は標準曲線より算定した。その結果は表1にAIPC 10mg/kg投与したときの経時的な濃度、表2はHpD 10mg/kg投与したときの組織内濃度である。AIPCの腫瘍／筋肉比では投与48,96時間でそれぞれ2.83, 3.81であったのに対し、HpDでは2.22, 2.29であり周囲組織に比しての腫瘍集積性についてはAIPCのほうが良好であった。また投与24時間と168時間における濃度の比較を皮膚についてみると、AIPCの168時間値／24時間値は0.23であるのに対し、HpDでは0.43となりAIPCの方が皮膚からの排出が良好であった。以上投与後の組織内濃度の結果からは投与48時間におけるAIPCの周囲組織に対する腫瘍集積性は優れており、しかも皮膚からの排出がHpDよりも速いといえる。

(3) フタロサイアニンとチタン・サファイアレーザーを用いた光力学的抗腫瘍効果について

前述のごとくKK-47細胞を背部皮下に移植したヌードマウスを用いて、AIPCおよびHpD投与後の光力学的抗腫瘍効果について検討した。AIPCあるいはHpDを10mg/kg腹腔内投与48時間後に、レーザー光を照射した。波長630nmのレーザー光はローダミンBを用いたアルゴン・色素レーザーより、670nmのレーザー光はDCMを用いたアルゴン・色素レーザーより、675nmのレーザー光はチタン・サファイアレーザーより発振されたものである。すべてのレーザー光の光強度は150 mW/cm²で、630nmと670nmのレーザー光の総エネルギー量は150 J/cm²、675nmのレーザー光の総エネルギー量は50 J/cm²を移植腫瘍に照射した。照射後の腫瘍体積を（腫瘍の長径×短径×高さ）× $\pi/6$ で算出し、照射後よ

り1日おきに算定した。図4はその結果である。AIPCとHpDの光力学的抗腫瘍効果の比較では、150 J/cm²の照射でAIPC投与後の670nmのレーザー光照射でHpD投与後の630nmのレーザー光照射より大きな抗腫瘍効果が得られた。光感受性物質の同量投与では適正なレーザー光を用いれば、AIPCを用いた場合のほうが、同じ光エネルギーでより大きな抗腫瘍効果が得られた。次にDCMを用いたアルゴン・色素レーザーでは波長を長波長に変化させた場合、最大670nmまでであり、AIPCの最大吸収波長である675nmのレーザー光は発振不可能であった。そこでチタン・サファイアレーザーを用い675nmのレーザー光を照射した。675nmのレーザー光のエネルギー量は50 J/cm²であり、670nmのレーザー光のエネルギー量150 J/cm²の1/3である。675nmのレーザー光の場合1/3のエネルギー量で、670nmのレーザー光照射に比較し、やや劣るものの腫瘍増殖抑制効果が認められた。このことはAIPCを用いる場合、675nmのレーザー光を用いれば少ないエネルギー量、すなわち短時間で光力学的抗腫瘍効果が期待できると推察された。

AIPCは光過敏症の軽減および光力学的抗腫瘍効果の観点から今後PDTにて大いに期待される。