



Title	癌の光物理化学的治療法の基礎的研究
Author(s)	竹村, 健
Citation	電子科学研究, 3, 15-19
Issue Date	1996-01
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/24336
Type	departmental bulletin paper
File Information	3_P15-19.pdf



癌の光物理化学的治療法の基礎的研究

有機電子材料研究分野 竹 村 健

癌の光線力学的治療法は癌腫瘍に集積性のある光増感化合物 M (殆どの場合ポルフィリン誘導体である) を静脈注射等によりあらかじめ投与しておき、M の集積性が最大となるある一定時間の後、腫瘍部分にレーザー照射をする事によって光化学反応を引き起こさせその反応により癌腫瘍を消滅させる。これはある種のポルフィリン誘導体が(1)腫瘍集積性があること、(2)光照射によって効率よく一重項酸素を生成する能力があることに基づいている。また最近の展開としては(1)の条件を利用してポルフィリンを腫瘍集積性のための先導剤として用いる癌治療、診断のための薬剤の開発が試みられている。それらの概略を以下に紹介する。

1. 概 説

まづ最初に癌の光線力学的治療法 Photodynamic Therapy (PDT) についてそのアウトラインを述べる。図 1 にイラスト的にその機構を示す。癌腫瘍に集積性のある光増感化合物 M を静脈注射等によりあらかじめ投与しておき、M の集積性が最大となるある一定時間の後、腫瘍部分にレーザー光等の照射をする。その時、その腫瘍部分では図 1b に示すような反応が起こり癌腫瘍を消滅させる；ここでは、腫瘍内に取り込まれた光増感化合物 M に光を照射する事によって、腫瘍組織内の溶存酸素 ($^3\text{O}_2$) から一重項酸素 ($^1\text{O}_2^*$) を

生成する。この一重項酸素は非常に反応性に富んでいて、その周囲の腫瘍組織を破壊する。このような機構によって癌治療を行うものである。癌治療効果が効率よく行えるためには、光増感化合物 M が選択的に腫瘍組織に集積されること、光増感化合物 M が光照射によって一重項酸素を十分に生産できること、即ち(1)腫瘍親和性があること、(2)光化学反応性に富んでいる事が重要である^[1,2]。

癌の光線力学的治療法 (PDT) の歴史は古く、また最近でも 20 年近く盛んな研究が行われて種々の色素類を含む化合物が検討されてきているが、上述の条件(1)の腫瘍集積性を満たす可能性の高い化合物としては殆どがポルフィリン誘導体である。従ってここでは対象化合物としてポルフィリン類に限って議論を進める。

前述の二つの条件のうちで(1)の親和性があり、(2)の光化学反応性においては、逆に、非常に弱いか無いものは PDT 以外の治療法や診断薬への利用が期待される。図 2 に中島、阪田等によって開発されてきた癌治療、診断のための主な化合物を示す^[3-5]。

図 2 および以後の本文中においてポルフィリン類の構造式を簡略化のためにその特徴だけを捉えた略式構造式で示す場合がしばしばなので図 2 にまずその約束を示しておく (最下段、左側はポルフィン、右側はクロリン)。次に各薬剤について簡単に説明する。上段の ATX-70, ATX-S 10 は光化学反応性に富んでいて

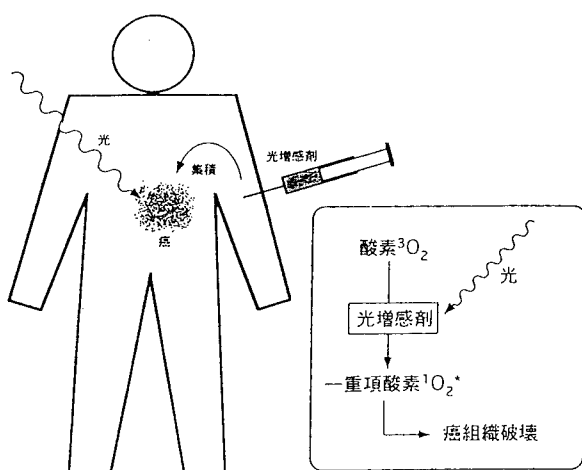


図 1 癌の光線力学的治療法の概略

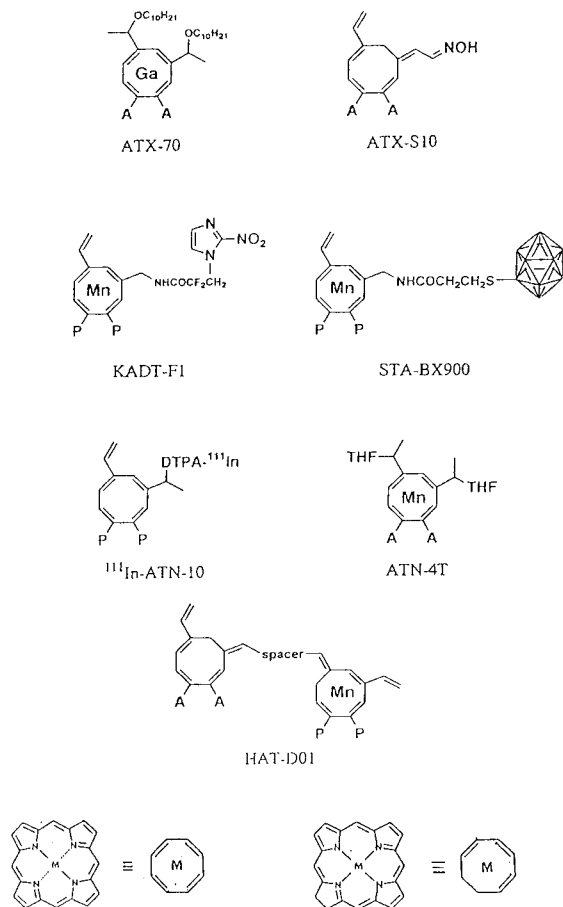


図2 癌治療および診断のためのポルフィリン誘導体の分子構造

光増感剤として開発されたものである。二段目の KADT-F 1, STA-BX 900 はそれぞれ放射線増感剤, 中性子治療増感剤であり, ポルフィリンの役目は先導剤としてだけである。三段目の ^{111}In -ATN-10, ATN-4 T はそれぞれラジオセンシタイザー診断薬, 核磁気共鳴増感診断薬であり, その中において Mn-クロールンは光化学反応性は全くなく単に腫瘍集積性のための先導剤として用いられている。四番段目の HAT-D 01 は蛍光腫瘍診断薬として開発された化合物であり, 無光化学反応性の Mn-クロールンと光化学反応性に富んだ蛍光性のクロールンからなっている。また上述における光化学反応性に富んだ化合物は三重項寿命が相当に長いこと (ms 程度), 一方光化学反応性の無い化合物の三重項寿命は著しく短いこと (μs もしくはそれ以下) をこれからの議論を助けるためにおさえてお

ていただきたい。

2. 光物理化学的反応性

次に光化学反応性について考えてみよう。イラスト的に示した図 1 b の光物理化学的作用の主な反応過程をより詳細な模式図として示したのが図 3 である。通常, 光励起された光増感色素の一重項状態 $^1\text{M}^*$ の寿命は 10^{-7} – 10^{-9} 秒 (s) 程度であり, 一方励起三重項状態 $^3\text{M}^*$ の寿命は酸素分子のようなクエンチャー (失活物質) のない場合には 10^{-1} – 10^{-4} s 程度である。このような $^1\text{M}^*$ と $^3\text{M}^*$ の寿命の非常に大きな違いから (寿命が長いほど, 反応する機会が増える) 光化学反応は $^3\text{M}^*$ 状態を経て進む場合が多い。これまでに報告されている光物理化学的療法の殆どが $^3\text{M}^*$ を経る機構と考えられている。生体組織におよぼす光化学的作用は紫外線 (<360 nm) 照射によるピリミジンダイマー生成や (皮膚癌の主要原因と考えられている), ソラレンの場合における DNA との直接的反応等を除いて, 殆どが酸化反応が主要なものである。その光酸化反応は機構の違いから Type I と Type II に大別されている。Type I は光励起された光増感色素 M の最低三重項状態 $^3\text{M}^*$ から直接的に生体組織と反応してラジカルまたはラジカルイオンを生成し, それと溶存酸素とが反応して傷害を与える機構である。一方, Type II は光増感色素の最低三重項状態 $^3\text{M}^*$ から組織中の溶存酸素 $^3\text{O}_2$ へのエネルギー移動により一重項酸素 $^1\text{O}_2^*$ (活性酸素) を生成し, この一重項酸素が生体組織と反応して傷害を与える機構である。Type I あるいは Type II のいずれの機構にしても光誘起による反応は増感色素の最低三重項状態を経て進行する。それ故, 光増感作用の効率は増感色素の最低三重項状態の寿命

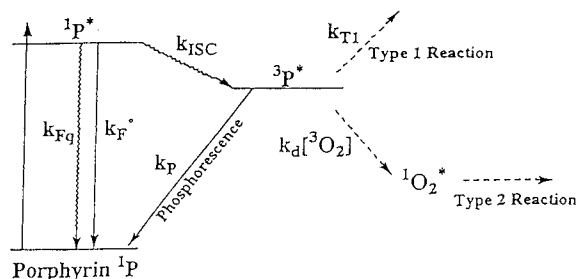


図3 PDTにおける光物理化学反応の主要なスキーム。

に大きく関係することが期待される。

3. りん光寿命の重要性

図3に従うと一重項酸素の生成収率 ϕ_2 は

$$\phi_2 = A k_d[{}^3\text{O}_2] / (k_p + k_d[{}^3\text{O}_2]) \quad (1)$$

と書ける。ここで、 k_p は色素の三重項状態 ${}^3\text{M}^*$ から基底状態 M_0 へのりん光を含む失活の速度定数、 $k_d[{}^3\text{O}_2]$ は ${}^3\text{M}^*$ からエネルギー移動により一重項酸素を生成する速度であり、 $[{}^3\text{O}_2]$ は溶存酸素濃度を表す。 $k_d[{}^3\text{O}_2]$ の値は我々の実験結果によれば生体組織中で約 10^3 s^{-1} 程度であるので $k_d[{}^3\text{O}_2]$ の値が(a) 10^5 s^{-1} の場合；(b) 10^3 s^{-1} の場合とを考えてみよう。議論を助けるために Eq (1) に基づいた簡単な計算結果を表1に示す。 $[{}^3\text{O}_2]$ の値は生体組織中では 10^{-4} M 程度であり case (a) では $k_d = 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ となり、この値は水、アルコールのような流動性溶液中の拡散の速度定数に相当する。この場合には生成される一重項酸素の量子収率は $k_p < 10^5 \text{ s}^{-1}$ (りん光寿命 $\tau_p (=1/k_p) > 10 \text{ ms}$) ならば k_p によらずに1に近い値である。即ち収率は殆ど増感色素の三重項寿命に依存しない。一方、case (b) においては、例えば、 $k_p < 10^2 \text{ s}^{-1}$ ($\tau_p > 10 \text{ ms}$) では寿命によらず $\phi_2 = 1$ となる。 $k_p = 10^3 \text{ s}^{-1}$ ならば $\phi_2 = 0.5$ となり、 $k_p = 10^6 \text{ s}^{-1}$ ならば $\phi_2 = 10^{-3}$ となる。このように ϕ_2 は $k_p > 10^3 \text{ s}^{-1}$ の場合においては (多くのポルフィリン類がこの範囲に入る) k_p の値に大きく依存する。概略すれば、光増感色素の三重項状態の寿命が一桁短くなれば一重項酸素の収率はまた一桁落ちることになる。このように k_p の値、即ち光増感色素 M の三重項状態の寿命 $\tau_p = (1/k_p)$ が一重項酸素生成、即ち PDT 効果に重大にかかわっていることが理解される。

図4に生体組織内に取り込まれた増感色素の模式的な位置関係を示す。生体組織内に取り込まれた増感色素は短い時間範囲内では、組織内に固定されていると見做せる。もし、励起三重項状態 ${}^3\text{M}^*$ の寿命を 1 ms とすると (ポルフィリン類の多くは $0.1 \text{ s} - 1 \mu\text{s}$ の寿命

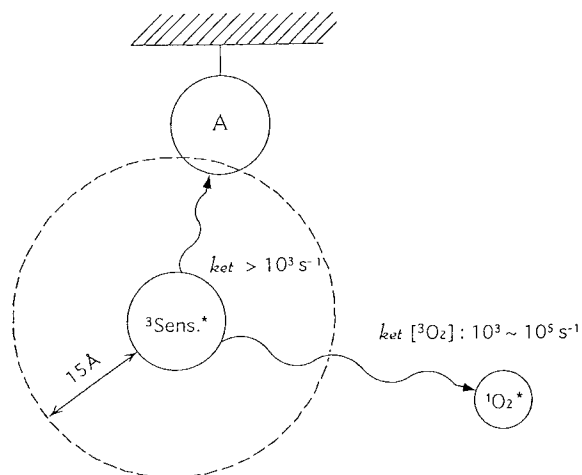


図4 生体組織内に取り込まれた増感色素の模式的な位置関係
: A, 攻撃されるべき組織; ${}^3\text{Sens}^*$, 増感色素の励起三重項状態

を持つ), Type I 反応が起こるためには ${}^3\text{M}^*$ の寿命の逆数 $1/\tau_p = 10^3 \text{ s}^{-1}$ より速くラジカル反応が進行しなくてはならない。このような反応が 10^3 s^{-1} より速く進行するためには増感色素と生体組織内反応基質とが 10 A より短い距離に位置していることが必要である。即ち Type I が顕著に起こるためには ${}^3\text{M}^*$ と基質 A との電子移動反応やラジカル反応が起こる電子的条件を満たした組み合わせに、更に増感色素 M が A のすぐ近傍にあることが必要となる。この事は増感色素と基質とが特異的親和性を持つか、あるいは色素濃度が異常に高い場合に限られる事を意味する。

それに対して Type II 反応においては ${}^3\text{M}^*$ の寿命の間に溶存酸素 ${}^3\text{O}_2$ が衝突してくれば良い。その衝突の速度は通常の酸素状態の生体組織中では少なくとも 10^3 s^{-1} より大きいので一重項酸素の発生は高い。このように ${}^3\text{M}^*$ のエネルギーは ${}^1\text{O}_2^*$ の生成に使用されるので、上述した Type I 反応の確率はますます小さくなる。その ${}^1\text{O}_2^*$ の発生の収率は増感色素の三重項寿命に依存しており、前のセクションでやや詳しく取り扱った。しばしば一重項酸素説の証拠として一重項酸素を確認することが重要と言われているが、増感色素の三重項状態が酸素により消光されているならば (殆どの場合に当てはまるが) 一重項酸素の発生は調べるまでもなく、その有効性はともかくとして一重項酸素は生成している。

生成された ${}^1\text{O}_2^*$ はその寿命の間に約 $0.1 \mu\text{m}$ 移動出

表1 拡散衝突速度 k_d の関数としての一重項酸素収率のりん光寿命依存性

$k_d[{}^3\text{O}_2]$	k_p	10^8 s^{-1} (10ns)	10^6 s^{-1} (1μs)	10^4 s^{-1} (0.1ms)	10^3 s^{-1} (1ms)	10^2 s^{-1} (10ms)
10^5 s^{-1}	10^{-3}	0.1	1	1	1	1
10^3 s^{-1}	10^{-5}	10^{-3}	0.1	0.5	1	1

来る。また二重結合等を持つ多くの有機化合物と相当に大きな速度で反応する。これは Type I の場合と反応可能な体積として比較すると 10^3 倍程度空間的に広い領域で反応出来る事を意味する。このように光増感反応の光毒性は一重項酸素による Type II の反応が殆どであると考えて良い。しかし、一方では $^1O_2^*$ の寿命中の移動距離はたかだか $0.1 \mu\text{m}$ であるので特異的な腫瘍組織破壊を与えるためには増感色素がダメージをあたえるべき場所の近くに取り込まれていなくてはならない。

図5に *in vitro* 実験における mouse p 388 leukemia cell についての PDT 効果を示す。leukemia cell の成長阻止率が照射した場合と照射なしの場合のそれぞれについて光増感色素の濃度の関数として図示してある。著しい PDT 効果が最小濃度で Ga-DP (Ga-ポルフィリン) について見られ、それよりやや高濃度で Zn-DP (Zn-ポルフィリン)、ついで P-II (ホトフリン) となっている。Mn-DP (Mn-ポルフィリン) については PDT 効果は認められない。表2にこれらポルフィリンのりん光寿命を示す。表2からの予測は図5の結果と一致する。P-II, Zn-DP, Ga-DP の順に三重項寿命が長くなるのに伴って PDT 効果も大きくなっている。それに対して寿命の短い Mn-DP においては殆んど PDT 効果は見られない。

光物理化学的作用に基いて増感色素を光物理化学的

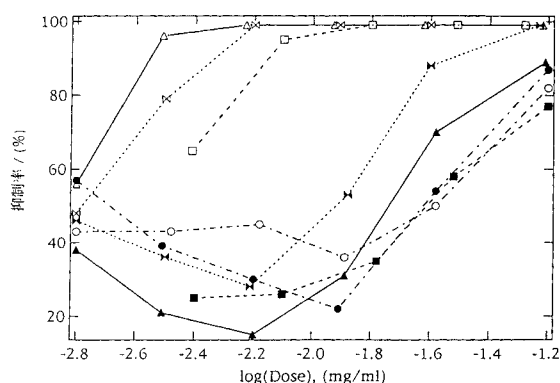


図5 *in vivo* 実験における mouse p 388 leukemia cell についての PDT 効果 : leukemia cell の成長阻止率を照射した場合と照射なしの場合のそれぞれについて光増感色素の濃度の関数として図示 : Ga-C₁₀P (△ ▲), Zn-C₁₀P (× ■), Mn-C₁₀P (○ ●), フォトフリン-II PII (□ ■)。白ぬきは照射, 黒ぬりは照射なしの場合

表2 ポルフィリン(M-C₁₀P, M=Ga, Zn, Mn), フォトフリン-II (PII) のりん光寿命 種々のポルフィリン類の発光特性

化合物	吸収 (nm)	けい光 (nm)	りん光寿命		
			りん光 (nm)	室温濾紙 (ms)	77K 溶媒 (ms)
Ga-DP	570	575	715	57	200
Zn-DP	580	585	710	26	70
Mn-DP	570	(575)	(710)	<0.001	<0.001
PII	620	625	735	9	

治療薬や診断薬として利用する方法が現在活発に研究されている。これまでに報告されている研究発表や論文において治療薬と診断薬に同一物質を用いている場合が多い。しかし治療薬と診断薬では根本的に異り、前者では光化学作用の大きい化合物、後者では光化学作用の小さいものが選ばなければならない。即ち図5からも知れるように治療薬としては三重項寿命の長いもの、また診断薬としてはその寿命の短いものが適していることになる。更に付加えるならば、前述の定量的考察から明らかな様に流動性溶液中における増感色素の PDT 効果の検討は実際の生きた組織における PDT についての直接的情報を与えないことがいえる。これは流動的溶液中と生体組織中では酸素の移動速度に大きな違いがあることに対応している。

4. PDT におけるパルス波の意義^[6]

最近我々は、PDT における腫瘍破壊効果は薬剤濃度 C と励起光の強度 I_0 およびその波長における薬剤の分子吸光係数 ϵ の積

$$Y = I_0 \cdot C \cdot \epsilon \quad (2)$$

で決まり、腫瘍損傷においてしきい値が薬剤および光強度の両方に存在することを理論的、実験的に明らかにし、*in vivo* PDT において necrosis の最大深達度が CW レーザーを用いるよりパルスレーザーを用いた方が相当に大きいということを報告してきている^[6]。

ここでは紙面の都合上その一部分についてふれる。

図6は 6 mj, 3 mj, 1 mj パルスレーザーと 200 mW の CW レーザー ($2 \times 10^{-4} \text{mj}/\mu\text{s}$ に相当) 光をある物質(肉片)に照射した場合の表面からの深さ pmm における光強度 I_0 を図示したものである。ここで、この物質における光強度の減衰は

$$I_0 = I_0^0 a A 10^{-\alpha p} \quad (3)$$

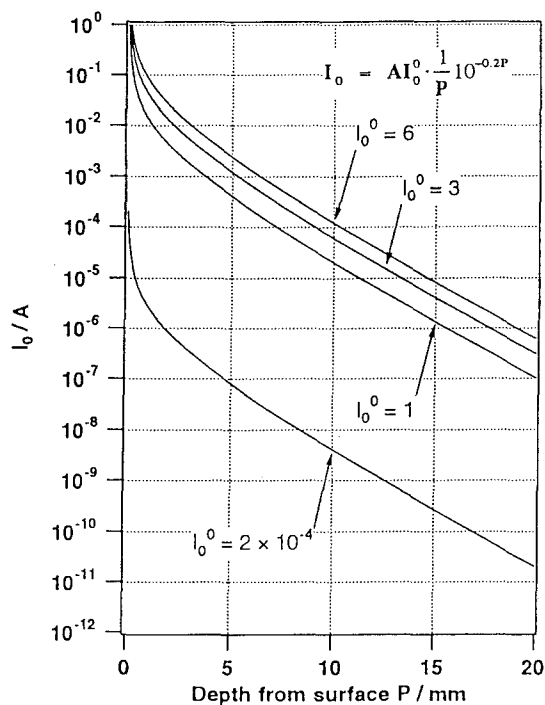


図6 PDTにおける治療効果深達度の励起光強度依存性

と仮定した。ここで I_0^0 は照射光強度, $a (= 1/p)$ は逆散乱光による build-up factor, A は定数, a はこの物質の全 attenuation coefficient で $\alpha = 0.5$ とした。ここで, 励起光強度のしきい値が, 例えば図6において $I_0/A = 10^{-6}$ であるとすれば 200 mW CW レーザーでは深達度数 mm, 1-10 mj パルスレーザーでは拾数 mm の深達度となる。さらに結論的にいえば, 薬剤および光励起用レーザーの適当な選択により, PDT により 2 cm 程度までも深部の治療も可能なことを示唆している。この事は従来までの光線力学的治療法がやや表層的な癌治療であったものが相当の深部迄の治療に適することを意味する。

【参考文献】

- [1] Takemura, T., S. Nakajima and I. Sakata: Critical importance of photosensitizer in photodynamic therapy of tumor. *Photochem. Photobiol.* 50, 339-344 (1989)
- [2] Takemura, T., N. Ohta, S. Nakajima and I. Sakata: The mechanism of photosensitization in photodynamic therapy: phosphorescence behavior of porphyrin derivatives in saline solution containing human serum albumin. *Photochem. Photobiol.* 54, 683-688. (1991).
- [3] Nakajima, I. Sakata, T. Takemura, et al: Detection and quantitative estimation of metalloporphyrins in vivo. *J. Photochem. Photobiol. B.8*, 409-417. (1991).
- [4] Nakajima, S., I. Sakata, T. Takemura, et al: ^{111}In -labeled Mn-metallporphyrin for Tumor Imaging. *Nucl. Med. Biol.* 20, 231-237. (1993).
- [5] Takemura, T., S. Nakajima and I. Sakata: Tumor-localizing fluorescent diagnostic agents without phototoxicity. *Photochem. Photobiol.* 59, 366-370 (1994).
- [6] Takemura, T., S. Nakajima and I. Sakata: The mechanism of Photodynamic Therapy (PDT): Investigation of Sensitizer Dose and Light Dose-rate Effects. proceedings of 5th International Photodynamic Association Biennial Meeting, Amelia Island, Florida, SPIE Vol. 2371 351-354 (1994).