

癌光力学療法におけるポルフィリン系光増感剤

鈴木巳喜男^{a)}，広瀬美香^{a)}，甲斐茂男^{a)}，堀 松浩^{a)}，林 尊宏^{a)}

岐阜紀要 (1990) 39 : 29-43

要約：近年，癌の光力学療法 (PDT) が注目され，精力的な研究が広範に進められている。現在，PDT の臨床試験に用いられている光増感剤としては，ヘマトポルフィリン誘導体 (Hpd) が挙げられる。しかしながら，この Hpd は，高い組織透過性を有する 600nm 以上の可視光に対して弱い吸収を示すにとどまり，さらに Hpd 中の活性成分が腫瘍組織に取り込まれる割合は，正常組織に比べてけた外れに大きいわけではない。したがって，より効果的な PDT を実施するにあたり，適用される光増感剤としては，組織透過性の高い赤色光領域に強い吸収を持ち，腫瘍組織に対して高い選択性および親和性を具備するものが望まれる。このような理由で，最近，多種多様な新しい光増感剤が登場してきた。なかでも，メソ置換ポルフィリン，クロリン誘導体，バクテリオクロリンおよびフタロシアニンが，PDT における第二世代光増感剤として注目を集めている。

索引用語：癌光力学療法，光増感剤，ヘマトポルフィリン誘導体，メソ置換ポルフィリン，クロリン誘導体，バクテリオクロリン，フタロシアニン (文80)

Porphyrin Analogs as Photosensitizers in a Photodynamic Cancer Therapy

MIKIO SUZUKI^{a)}，MIKA HIROSE^{a)}，SHIGEO KAI^{a)}，MATSUHIRO HORI^{a)}，
and TAKAHIRO HAYASHI^{a)}

Ann. Proc. Gifu Pharm. Univ. (1990) 39 : 29-43

Abstract : There is currently worldwide activity in the development of a photodynamic therapy (PDT) for cancer. The sensitizer currently used in clinical trials of PDT for cancer consists of a mixture of hematoporphyrin derivatives (Hpd). Hpd, however, absorbs only weakly above 600nm where light exhibits the deepest penetration into tissues. Furthermore, the uptake by the tumour of the active component in Hpd is only marginally higher than that by most normal tissues. Thus it has been evident for some time that the effectiveness of PDT could be enhanced by the use of photosensitizers that absorb more strongly towards the red end of the light spectrum and are more selectively retained by neoplastic tissues. For these reasons, several new classes of photosensitizers for PDT have been suggested over the past few years. Among them, substituted porphyrins,

a) 岐阜薬科大学一般化学研究室
岐阜市三田洞東 5 丁目6-1
Department of General Chemistry
Gifu Pharmaceutical University
6-1, Mitahora-higashi 5 chome, Gifu 502

Received February 28, 1990
The Annual Proceedings of Gifu
Pharmaceutical University
ISSN 0434-0094, CODEN : GYDKA 9

chlorin analogs, bacteriochlorins, and phthalocyanines have received increasing attention as a second-generation photosensitizer in PDT.

Keyphrases : photodynamic cancer therapy (PDT), photosensitizer, hematoporphyrin derivative (Hpd), *meso*-substituted porphyrin, chlorin analog, bacteriochlorin, phthalocyanine (Ref 80)

近年、可視光・酸素・光増感剤を組み合わせた癌の光力学療法 (photodynamic therapy : PDT) が注目され、光増感剤としてのヘマトポルフィリン誘導体 (Hpd) を用いた PDT については、基礎的な研究段階から臨床的な検討へと進展し、現在、Phase III における試験が続けられている。¹⁾

本稿では、光増感剤として Hpd を用いた癌の PDT について、今日の臨床的な応用に至るまでの歴史的な経緯を概観するとともに、Hpd に代わるいわゆる第二世代ポルフィリン系光増感剤について最近の研究動向を総説する。

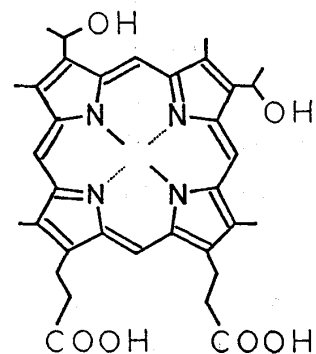
1. Hpd を用いた癌光力学療法の歴史

今世紀の初め、Raab はエオシンで染色したゾウリムシが可視光下で死滅することを見いだした。²⁾ この種の光障害は多くの生物系で知られるようになり、光力学作用 (photodynamic action) と呼ばれ、酸素の存在下、色素増感により惹起される光障害として定義される。換言すれば、色素増感光酸素酸化による生体構成物質の分解反応ということができる。

色素としては、ローズベンガル、メチレンブルー、エオシンなどの合成色素や、フラビン、ポルフィリン、テトラピロール色素などの天然色素がある。細菌や原生動物のような下等動物から、昆虫、ヒトの皮膚に至る広い範囲で光力学作用がみられる。核酸、タンパク質、脂質などの多くの生体物質が分解を受け、たとえば核酸ではグアニン残基が、タンパク質ではトリプトファン、ヒスチジン、チロシン、システイン残基が分解されやすい。光力学作用については多くの総説^{3~6)} があり、それらを参照してほしい。

さて、Hpd による癌の光力学療法 (PDT) の歴史は1940年代に始まり、1942年、Auler ら⁷⁾ は、ポルフィリンがラット正常細胞に比べて腫瘍組織に多く取り込まれ、赤い蛍光を強く放出することを報告した。これを契機に、腫瘍親和性を持つポルフィリン系物質の研究が進められた。

1948年、Figue ら⁸⁾ はマウスの実験腫瘍を用いて、ヘマトポルフィリン (Hp) が高い腫瘍親和性を示すことを見いだした。1955年、Rasmussen-Taxdal ら⁹⁾ は Hp を大量に静脈注射後、ヒトのリンパや癌組織に存在する Hp の蛍光を確認した。1960年、Lipson ら¹⁰⁾ は Hp を酢酸と硫酸で処理してより高い腫瘍親和性をもつヘマトポルフィリン誘導体 (Hpd) を調製した。さらに、この Hpd を静脈注射した後、ヒトの腫瘍部位に Hpd が蓄積している状態を蛍光によって確認した。¹¹⁾ これ以後、腫瘍の局在診断に Hpd が利用されることとなった。^{12~14)} その腫瘍診断の原理を Fig. 1 に示す。(van den Bergh の総説¹⁵⁾ より引用) すなわち、生体内に導入された Hpd が数時間後に腫瘍部位に局在し (c), 407nm の紫外光照射により、Hpd が 690nm の赤色蛍光を放つ (e) ことから、これを検出して、腫瘍の局在診



Hp

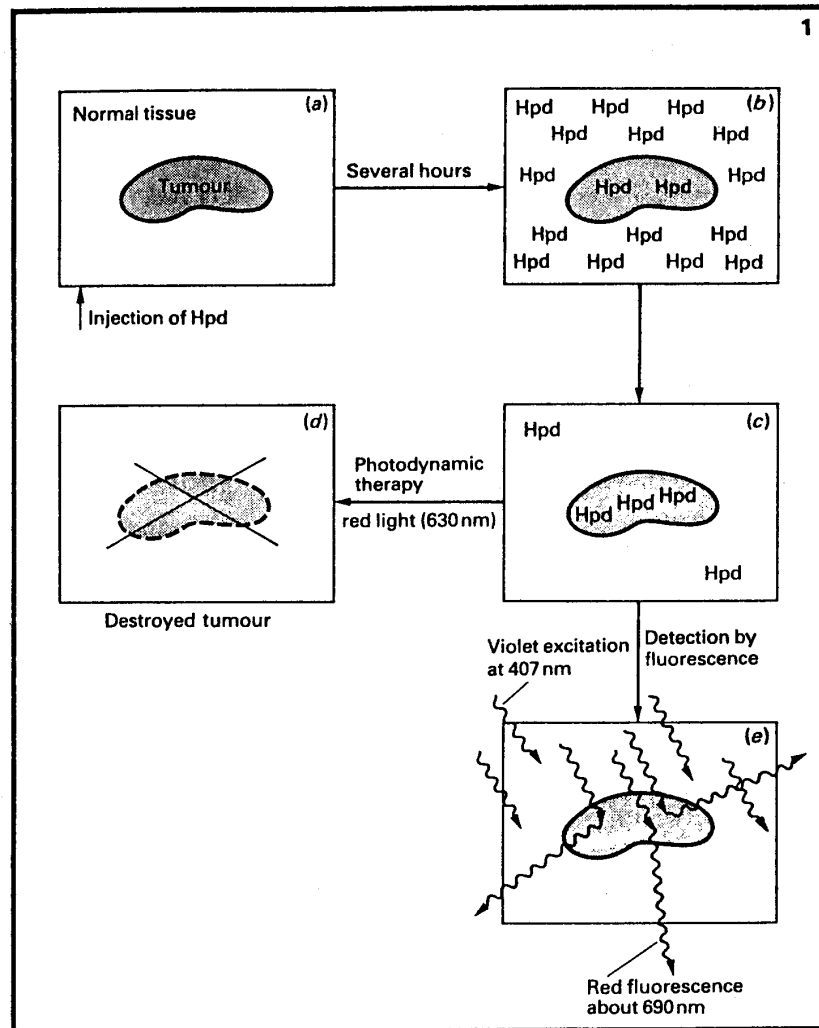


Fig. 1 Schematic diagram representing the photodynamic therapy and detection of a tumour by laser induced fluorescence following intravenous injection of Hpd.

断を行うというものである。この方法は、非常に小さい初期の段階にある腫瘍を診断できるという長所をもつ。一方、Hpdが蓄積した腫瘍組織(c)に赤色光を照射すれば、Hpdの光力学作用によって腫瘍組織を破壊し(d)、癌を治療できる。このように、Hpdによる腫瘍診断に端を発して、1970年代からHpdによる癌のPDTが本格的に研究されるようになった。

1972年、Diamondら¹⁶⁾はHpを腹腔内投与24時間後に、水銀アーク灯(白色光)で照射することにより、ラット移植腫瘍を治療した。次いで1975年、Kellyら¹⁷⁾は免疫抑制マウスにヒト膀胱癌を移植後、Hpdと白色光を組み合わせたPDTにより、腫瘍を治療した。さらに翌年、この結果を臨床的に応用し、PDTがヒト膀胱癌の診断と治療に利用できることを示した。¹⁸⁾一方、1975年、Doughertyら¹⁹⁾はラット移植腫瘍を用いて、PDTにおける照射光の波長を組織透過性という観点から検討し、600nmより長波長の赤色光を用いれば、PDTが深在性のヒト癌に適用できる可能性を示唆した。このPDTにおける照射光の組織透過性は、現在、光増感剤の腫瘍親和性とならんでPDTの有効性を左右する重要な因子となっており、この報告は照射方法にはじめて言及した点で注目される。1979

年, Doughertyら²⁰⁾は Hpd を用いた乳癌皮膚転移巣の治療を行い, このとき 630nm 波長のアルゴン・ダイレーザーによる光照射法を導入し, 以後, レーザー技術を用いた単一光線照射法によって癌の PDT をさらに効果的に実施できるようになった。我国においては, やっとこの頃になって PDT による癌治療が導入され, 東京医科大学の早田教授らにより各種の癌臨床研究が始められた。²¹⁾

1980年代になると, Hpd を用いた PDT は, 体表に存在する癌, たとえば乳癌や皮膚癌などを初めとして, 内視鏡で観察可能な食道癌, 胃癌, 肺癌などを, 外科的侵襲を加えずに, 蛍光発色によりその局在を確認したうえで光照射治療する新しい療法として注目され, 臨床的に広く応用されることとなった。その概要については, 総説^{22, 23)}や成書²⁴⁾を参照してほしい。さらに, 最新の臨床的応用の成果については成書^{25, 26)}に詳しい。

なお, PDT における腫瘍破壊の機構については, これまで活性酸素によることが示唆されてきたが, なかでも一重項酸素 (1O_2) が関与する type II 機構によることが一般的となっている。Weishaupt ら²⁷⁾は, 1O_2 の消光剤である 1,3-diphenylisobenzofuran の存在下にマウス腫瘍細胞の PDT を検討し (*in vitro*), この場合殺細胞効果が認められないと報告している。また, Parker²⁸⁾はマウス腫瘍の PDT において (*in vivo*), 1O_2 に由来する特徴的な 1270cm^{-1} の発光スペクトルの直接測定に成功している。その他, PDT における殺細胞機構の論議については, 総説^{29, 30)}に詳しいのでそれらに譲ることとする。

2. 光増感剤としての Hpd の問題点

前項で述べてきたように, Hpd を用いた PDT が, 癌の新しい治療法として将来有望であることには変わらないが, 全く問題点がないわけではない。それは, ① Hpd が単一物質ではないこと, したがって, 確実な用量-作用相関が期待できないこと, ② 組織透過性の高い赤色光の吸収強度が小さいこと, である。以下, 各項に分けて問題点を述べる。

① Hpd は単一物質ではない。

Lipson ら¹⁰⁾はヘマトポルフィリン (Hp) を酢酸と硫酸で処理し, 得られるアセチル化物をアルカリに溶解してヘマトポルフィリン誘導体 (Hpd) を調製した。このようにして調製された Hpd は, HPLC 分析において少なくとも15種類の主なピークを示す。Hp, hydroxyethylvinyldeuteroporphyrin および protoporphyrin (PP) の3物質が長い間その成分とされ, これらはいずれも *in vitro* において光力学作用を示すことが認められている。しかしながら, 臨床レベルでの PDT において実際に腫瘍親和性を示す活性成分は, Hpd 中の "aggregated fraction" であることが分かってきた。^{22, 23)} この Hpd の活性成分は DHE と名付けられ, Dougherty ら³¹⁾は Hp がエーテル結合により二量化した dihematoporphyrin ether (ether linked DHE) がその化学構造であるとしたが, 一方 Kessel³²⁾はエステル結合による二量体 dihematoporphyrin ester (ester linked DHE) であるとした。このことは現在に至っても結論が出されていないが, いずれにしても Hpd の有効成分が DHE であることが一般的となっている。なお, DHE (二量体) という名称が付けられているが, 実際には Hp 6個ぐらいまでのオリゴマーが混在している。現在, 臨床で盛んに使用されている Hpd は, "Photofrin II" という商品名で知られ, Hpd 中の有効成分 "aggregated fraction" を濃縮したものである。

一方, DHE を化学的に合成して, Hpd の有効成分を同定しようとする試みがある。たとえば, Scourides ら³³⁾は (ether linked DHE) を合成し, HPLC における挙動, *in vivo* における腫瘍親和性などについて, 合成品と Hpd とを比較検討したところ, 両者は非常によく似ているとの結論を得た。さらに興味深いことは, *in vitro* における光力学作用を比較すると, 合成品の方が優れているという点である。

このように、化学的に構造の確かな DHE を供給していくことができれば、Hpd の腫瘍組織への結合メカニズムを解明できるとともに、より優れた光増感剤の発見にもつながるものと思われる。

② Hpd は組織透過性の高い赤色光の吸収強度が小さい。

PDT は、厚みが薄くて局在性の固形腫瘍の治療に適用可能であり、口腔、気管支、膀胱などの粘膜に発生した癌そして乳癌、皮膚癌の治療法として期待される。³⁴⁾ Hpd は Fig. 2 (Bonnett ら³⁵⁾ の総説より引用) に示すように、400nm 付近の強い Soret 吸収帯および 500-630nm に弱い Q 帯と呼ばれる 4 つの吸収帯 (I~IV) を持つ。現在、PDT に用いられている照射光の波長は 630nm であり、Q 帯のなかでも最も弱い吸収帯 I を標的としている。一方、Fig. 2 に示した組織透過曲線 (Tissue transmittance curve - · - · -) より明らかなように、630nm の赤色光の組織透過性は中程度であり、このような理由で Hpd を用いた PDT は表在性の癌への適用に限定される。

3. Hpd に代わるポルフィリン系光増感剤の要件

前項で述べたように、現在 PDT に用いられている Hpd は複雑な混合物であり、活性成分が完全に同定されておらず、さらに成分の組成が調製法・保存法によって一定でないため、用量-作用相関が確立できない点が、臨床的に応用するうえで問題となっている。また、PDT に用いる照射光 (630nm) 領域において、Hpd の吸光度が小さく、効率的な PDT を実施するうえで障害となっている。

かかる観点から、Hpd に代わるいわゆる第二世代ポルフィリン系光増感剤として具備すべき要件は以下のとおりとなろう。³⁵⁾

- ① 暗所において毒性を示さないこと。
- ② 腫瘍組織に対して特に親和性が高く、かつ正常組織から速やかに代謝・排泄されること。(現在、PDT を受ける患者は、Hpd 投与後 3-4 週間は太陽光はもちろんのこと強い室内照明からも遮蔽されなければならない)

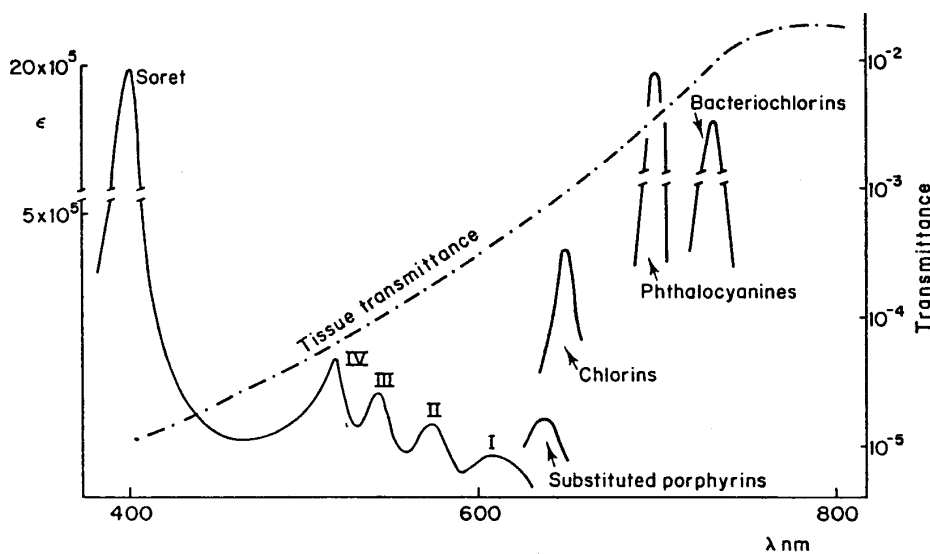


Fig. 2 Diagrammatic representation of the absorption spectrum of Hpd, and of the modifications caused by various structural changes, in relation to the transmittance of 1cm of human tissue.

- ③ 混合物であっても一定の成分組成を持つが、理想としては化学的に純粋で単一であること。
- ④ 高い三重項量子収率を持ち、一重項酸素 (1O_2) を生成するのに要する三重項エネルギーが 94kJ/mol 以上であること。⁴⁾
- ⑤ 最も高い組織透過性を持つ可視光は $700\text{--}800\text{nm}$ の赤色光であるため、³⁶⁾ この領域に強い吸収を持つこと。

この最後の要件 ⑤ は、Fig. 2³⁵⁾ に示すように、ヒト組織透過性は $700\text{--}800\text{nm}$ の赤色光が最も高く、一方、Hpd の吸収帯 I は 625nm 付近に弱い強度を示すにとどまり、PDT の治療効率を低下させる原因となっている。したがって、ポルフィリン類の吸収帯 I を red shift させ、しかも bathochromic shift させるためには、以下のようなポルフィリン類の化学的修飾が考えられる。(Fig. 3 参照)

(a) 置換様式を変えること。

たとえば、porphyrin の meso 位に phenyl 基を導入した meso-tetraphenylporphyrin (TPP) においては、吸収帯 I がいく分赤色移動し、吸光度もわずかに大きくなっている (Fig. 2 の substituted porphyrin 参照)。

(b) porphyrin を還元した形の chlorin あるいは bacteriochlorin への変換。

このような変換は、Fig. 2 に示すように、吸収帯 I を劇的に変化させることができる。特に、bacteriochlorin では 700nm 以上に強い吸収を持つようになる。

(c) 大幅な構造の変換。

たとえば、porphyrin 環 meso 位の methine carbon を窒素原子で置換した phthalocyanine (PC) ある

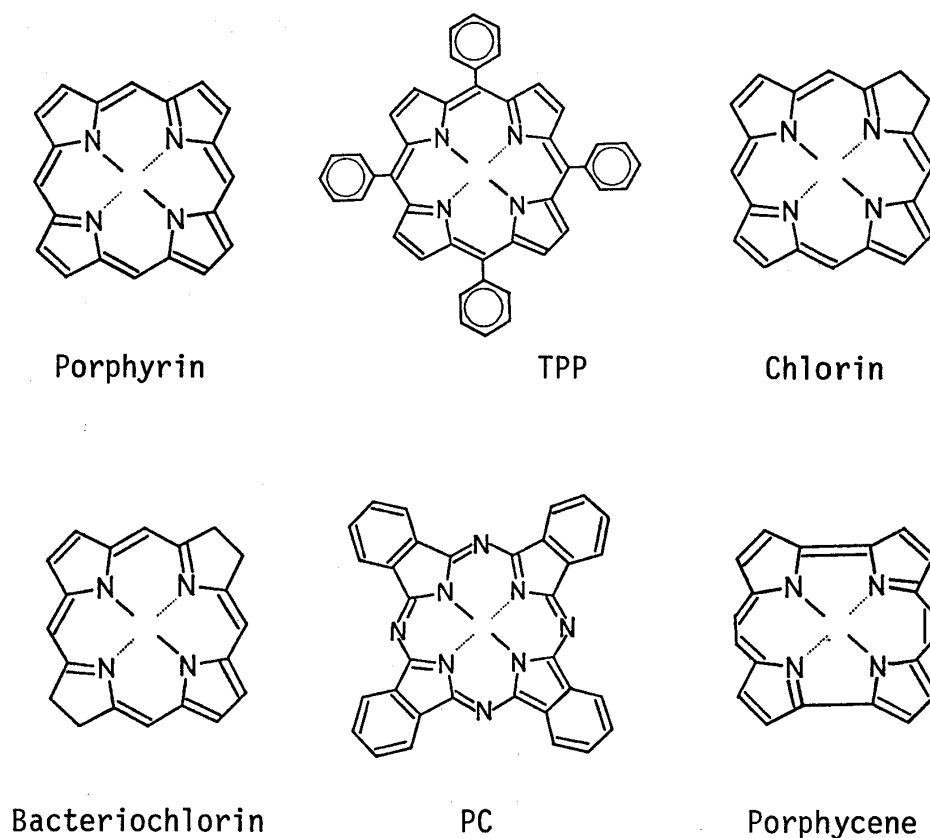


Fig. 3 Parent molecules of porphyrin analogs currently under evaluation as second-generation photosensitizers for PDT.

いは naphthalocyanine は，PDT の有望な光増感剤として期待できる。さらに，porphycene は porphyrin と異性体関係にあり，その検討も興味深いところである。

以上述べたポルフィリンの化学修飾による第二世代ポルフィリン系光増感剤の最近の研究動向については，次項で詳しく述べることにする。

4. 第二世代ポルフィリン系光増感剤

① meso-Tetraarylporphyrin

ポルフィリンの meso 位に置換 phenyl 基を導入すると，吸収極大位置はいくぶん赤色移動するだけであるが，これら meso-tetraarylporphyrin 類は化学反応によって容易に，かつ化学的に単一物質として供給できるので，PDT における応用を検討する上で長所となり得る。このクラスの合成ポルフィリンは，たとえば meso-tetraphenylporphyrinsulfonate (TPPS) は腫瘍組織に対して親和性が高く，正常組織に比べて 4 倍以上の濃度まで蓄積することが知られている。³⁷⁾ これをもとに，TPPS を腫瘍組織に放射性同位体を運搬する carrier として利用し，癌の局在診断や治療に応用する試みがあった。たとえば，⁵⁷Co-TPPS 錯体や ³⁵S あるいは ³H でラベルした TPPS の腫瘍親和性が検討されたが満足すべき結果は得られていない。一方，¹⁴C でラベルした TPPS が腫瘍組織に強く取り込まれるとの報告もある。³⁸⁾ meso-tetraarylporphyrin 類の PDT における光増感剤としての本格的な利用は，1986 年の Berenbaum らの研究³⁹⁾ に始まる。彼らは，meso-tetra(hydroxyphenyl)porphyrin の 3 種の位置異性体 (o-, m- および p-THPP) を合成し，m-THPP および p-THPP が皮膚に対する光障害が少なく，PDT における作用深達度が，Hpd では 2 mm 程度であるのに対して，4～9 mm に達することを見出し，PDT における第二世代光増感剤の有力な候補であることを示した。次いで Bonnett ら⁴⁰⁾ は 蛍光スペクトルや閃光照射法などの手法を用いて，o-, m- および p-THPP について，三重項量子収率や一重項酸素生成量子収率などの光物理学的性質を比較検討し，三種の異性体間においてこれらの物性に有意な差が見られないことより，m- および p-THPP の顕著な光増感作用が，これらの物性以外の他の因子によるものと考察した。一方，Kessel ら⁴¹⁾ は，1～4 個のスルホン酸基を導入した TPP (TPPS 1～4；TPPS 2 においては，スルホン酸基を持つフェニル基が隣接した TPPS 2/A および対角関係にある TPPS 2/O の異性体が存在する) について光力学作用およびこれら色素の *in vitro* における結合部位を検討した。その結果，TPPS 2/A が最も優れた光増感剤であること，また，TPPS 1 および TPPS 2/A は疎水性であり，血漿リポ蛋白と結合することにより腫瘍組織内に取り込まれ，一方，TPPS 2/O および TPPS 3～4 は親水性が強く，血清アルブミンと結合するため腫瘍組織の間質成分に蓄積するものと考察した。また，Oenbrink ら⁴²⁾ は meso 位に各種置換基を有するポルフィリンにおいて，それらの細胞への取り込みと疎水性 (octanol と水との間の分配係数に基づく) との間に強い相関があるとし，このような知見が PDT における光増感剤の開発に大きく寄与するだろうと述べている。

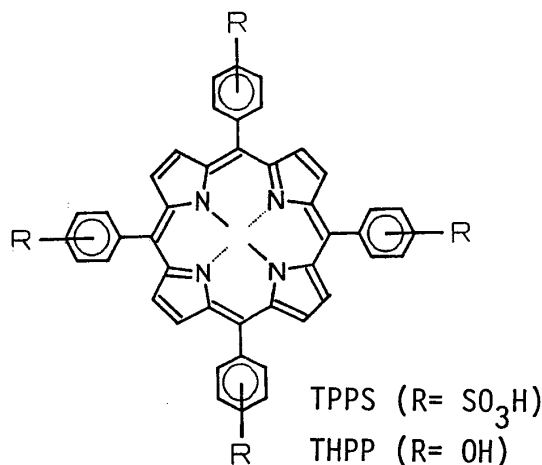


Fig. 4 meso-Tetrasubstituted porphyrins

② Chlorin analogs

ポルフィリンのピロール環二重結合の1つを還元した形の dihydroporphyrin は chlorin と呼ばれ、置換様式に基づき各種の chlorin analogs が知られている。以下、chlorin analogs を分類し、それぞれの光増感剤としての最近の研究について述べることにする。(Fig.5 参照)

Pheophorbide a (PPa): 古くから牧畜の盛んな欧米諸国では、しばしば家畜に日光過敏症がみられ、その原因物質としてクロロフィルの分解物が疑われていたが、Clare⁴³⁾はこの原因物質が pheophorbide a (PPa)であることを初めて明らかにした。また、我国では1977年秋に、東京を中心にして、クロレラ錠の喫食者から多くの光線過敏性皮膚炎患者を出したが、このような光障害も PPa の光力学作用によるものとされている。⁴⁴⁾ この PPa は664nm に強い吸収を示し、PDT への応用が期待される場所であるが、PPa による光障害の機構を含め癌の診断および治療への応用について、東北大学の木村教授らが精力的に検討しており、その詳細については総説⁴⁵⁾を参照されたい。

一方、PPa はクロロフィル a の酸触媒加水分解によって得られるが、Segelman ら⁴⁶⁾は鉍酸の代わりに陽イオン交換樹脂を用いる高純度(>98%)の PPa 調製法を確立し、PPa がヒト膀胱癌由来の株細胞に対して光細胞毒性を示すことを報告した。これまでも動物癌に対する光細胞毒性については報告があるが、⁴⁷⁾ヒト癌においては初めての例として興味がある。

なお、ごく最近の PPa の光力学作用に関する研究については、たとえば、Kuwabaraら⁴⁸⁾は赤血球の溶血が $^1\text{O}_2$ によることを ESR スペクトルによって証明し、また、Kessel ら⁴⁹⁾は PPa の各種エステル L1210 に対する取り込みを検討し、PPa phytyl ester (pheophytin) が L1210 に最も高い親和性を示すことより、pheophytin が PDT における有効な光増感剤となり得ることを示唆した。

Aspartyl chlorin e6 (NPe6): 前項の PPa をアルカリ分解すると chlorin e6 に誘導できる。この chlorin e6 は 660nm に強い吸収を示し、その *in vivo* における光力学作用に関する検討もあるが、⁵⁰⁾Oseroff ら⁵¹⁾は、chlorin e6 を用いて興味ある試みを行っている。彼らは monoclonal antibody chlorin e6 conjugates を調製し、ヒト T-cell leukemia 細胞に対する光力学作用を 630-670nm の赤色光照射下に検討した。その結果、この conjugates の $^1\text{O}_2$ 生成量子収率は chlorin e6 とほぼ同じであるのに対して、chlorin e6 の1/100量で同程度の殺細胞効果が見られた。このように、モノクローナル抗体を用いることにより腫瘍親和性を高められれば、光増感剤の低用量化、ひいては皮膚あるいは正常組織への光障害を軽減できるので、PDT における新しいアプローチとも言えよう。

一方、chlorin e6 を aspartyl 化して aspartyl chlorin e6 (NPe6) が得られる。⁵²⁾ Aizawa ら⁵³⁾はマウス移植腫瘍を用いて NPe6 の腫瘍親和性を検討し、静注72時間後において、NPe6 が正常組織に比べて10倍以上の割合で腫瘍組織に局在することを明らかにした。時を同じくして Nelson ら⁵⁴⁾は NPe6 を投与後 664nm の赤色光照射により、マウス移植腫瘍を治療した。さらに、Roberts ら⁵⁵⁾は Hpd におけるような光毒性(皮膚障害)が NPe6 ではほとんどみられないこと、および Hpd の細胞レベルでの局在部位が cytoplasm であるのに対して、NPe6 は lysosome であると報告している。

Purpurin: Purpurin は、chlorin 骨格に exocyclic 5員環を導入した合成ポルフィリン類であり、置換様式によって一様ではないが、組織透過性の高い 650-715nm の赤色領域に強い吸収を持つ。⁵⁶⁾ その PDT における光増感剤としての応用については、Morgan らが精力的に検討している。すなわち、ラットの移植腫瘍を用いて PDT を実施し、腫瘍の壊死を組織学的に観察することができた。⁵⁷⁾ また、Sn, Zn などとの金属錯体を合成し、PDT 30日後に組織学的観察を行い、purpurin では治癒率が50%であるのに対して、metallopurpurin では70%の治癒率を示した。^{58, 59)}さらに、metallopurpurin の方が正常組織に対する光障害が少ないことも分かった。⁶⁰⁾

Benzoporphyrin : protoporphyrin (PP) に DMAC を反応させて得られる Diels-Alder 付加体を，塩基により異性化すると benzoporphyrin に誘導できる。⁶¹⁾ この benzoporphyrin は 692nm に強い吸収をもち，*in vitro* において Hp より高い光細胞毒性を示し，⁶²⁾ さらに血漿リポ蛋白への親和性が高いため，その光毒性は細胞膜に関係す

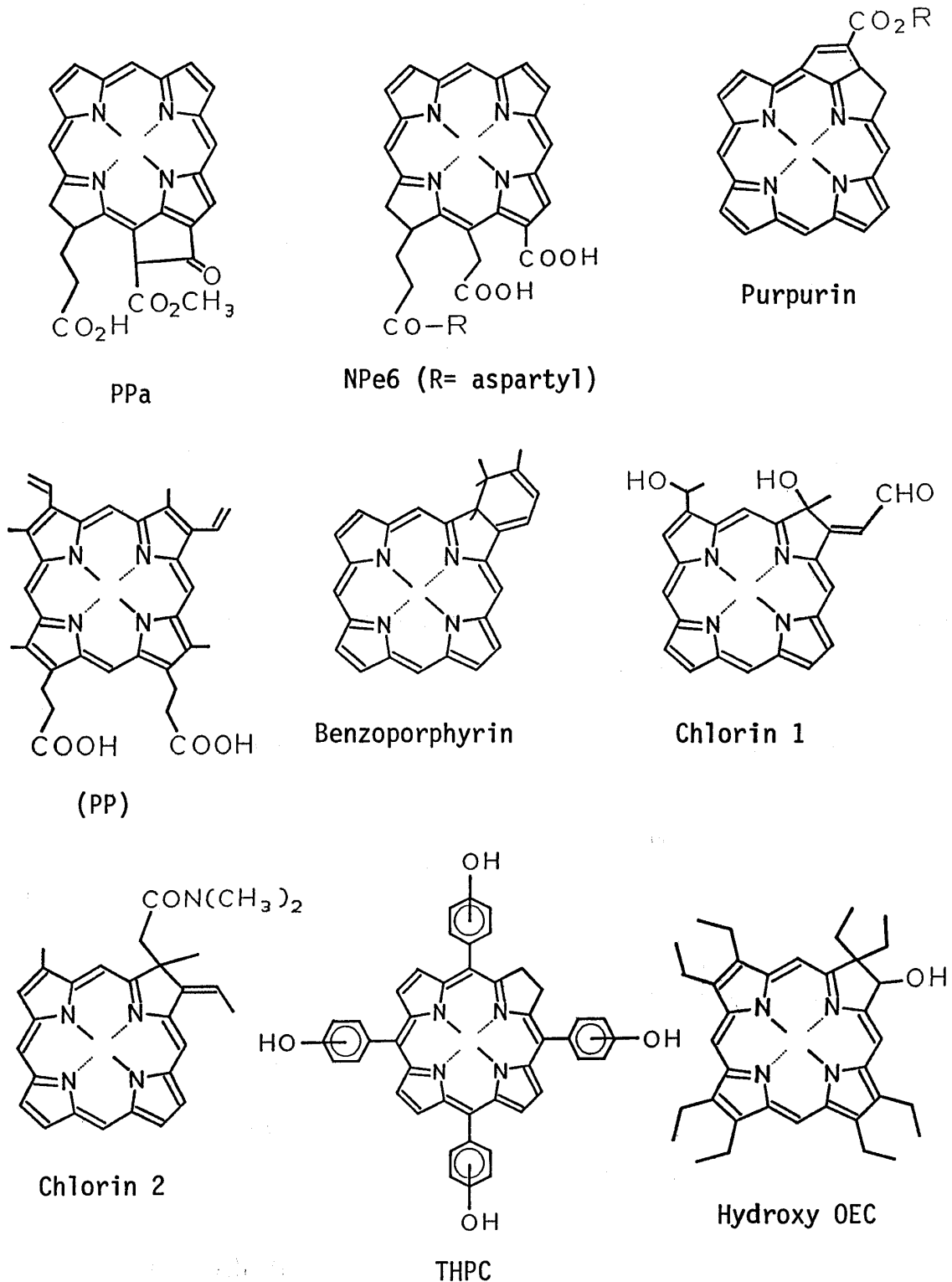


Fig. 5 Structural diagrams of chlorin analogs

ると考えられている。⁶³⁾

Chlorin 1 : Hp を部分脱水して得られる hydroxyethylvinyldeuteroporphyrin を酸素存在下に光照射すると, $^1\text{O}_2$ の Diels-Alder 付加体の生成, さらに開裂を経て chlorin 1 に誘導できる。chlorin 1 は 660nm に吸収を示し, 閃光照射法によって, TPP と同程度の効率で $^1\text{O}_2$ を生成することが明らかとなった。⁶⁴⁾

Chlorin 2 : PP から誘導される chlorin 2 は 660nm に吸収をもち,⁶⁵⁾ $^1\text{O}_2$ 生成量子収率などの光物理学的性質が明らかにされている。⁶⁶⁾ なお, PDT への応用については未検討である。

meso-Tetra(hydroxyphenyl)chlorin (THPC) : *o*-, *m*- および *p*-THPP を di-imide で還元すると, 対応する meso-tetra(hydroxyphenyl)chlorin 類 (*o*-, *m*- および *p*-THPC) がそれぞれ47%, 37%, および64%収率で得られる。これらは, 第3項で考察したポルフィリン類の吸収帯 I を赤色移動するための化学修飾のうち [(a)置換様式を変える] と [(b)還元する] とを混合した形のものであり, いずれも 651nm 付近に吸収をもつ。マウスの移植腫瘍を用いて, 652-653nm のレーザー光照射下に PDT を行い, 腫瘍組織の壊死の深さを比較したところ, *m*-THPC が最も強い光毒性を示した。⁶⁷⁾ 今後, THPC 類を用いる PDT は, 腫瘍親和性などの検討を経て, 臨床的な応用へと発展していくだろう。

Hydroxyoctaethylchlorin (hydroxy OEC) : octaethylporphyrin (OEP) から誘導される hydroxy OEC は 642 nm に吸収をもつ。³⁵⁾ この hydroxy 基を, たとえば cysteinyl 基などのような極性基と置換して両親媒性をもたせることにより, 腫瘍親和性を高めることができると考えられ, PDT における光増感剤の合成中間体としての利用が可能である。なお, hydroxy OEC 自身の光細胞毒性についてはまだ検討されていない。

③ Bacteriochlorin

chlorin のピロール環二重結合をさらに還元した形の tetrahydroporphyrin は bacteriochlorin の名で知られ, 吸収帯 I は chlorin 類に比べてさらに赤色移動している。したがって, PDT の光増感剤として期待され, なによりもレーザー光照射装置として, 安価で手軽なダイオード・レーザーが使用できるという長所をもつ。しかしながら, 酸化に対して不安定であり, これまで PDT の検討に供せられた bacteriochlorin 類としては, Fig. 6 に示すよう

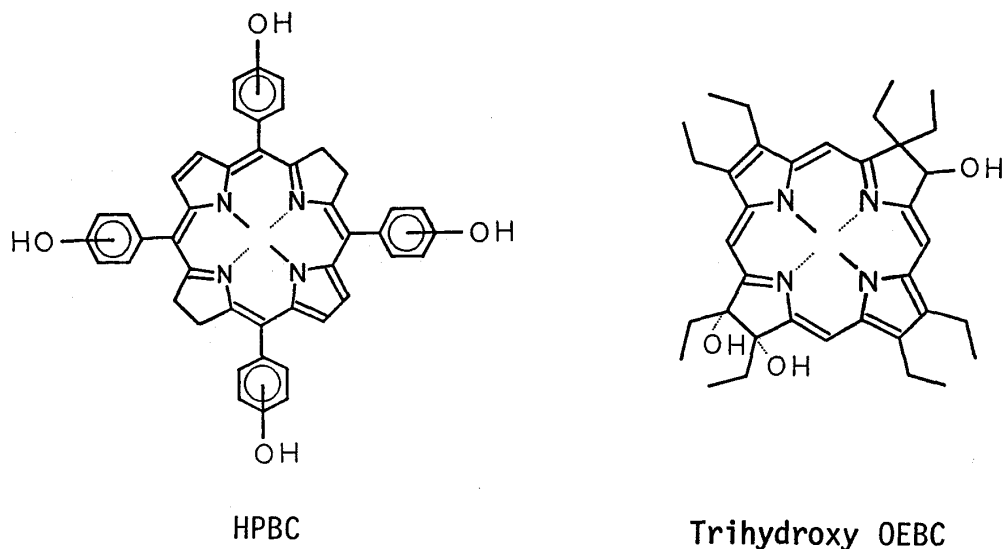


Fig. 6 Structural diagrams of bacteriochlorin analogs

に *meso*-tetra(*m*-hydroxyphenyl)bacteriochlorin (*m*-HPBC) および trihydroxyoctaethylbacteriochlorin (trihydroxy OEBC) が挙げられる。*m*-THPBC は *m*-HPP の di-imide 還元により26%収率で得られ、735nm に強い吸収をもつ。⁶⁷⁾ 一方, trihydroxy OEBC は OEP を原料として合成され、711nm に吸収を示す。両者のマウス移植腫瘍に対する光毒性を比較すると、*m*-HPBC の方が優ることが示されている。³⁵⁾

④ Phthalocyanine (PC) および Naphthalocyanine (NC)

phthalocyanine (PC) および naphthalocyanine (NC) は、Fig. 7 に示すように、porphyrin の methine bridge を窒素原子で置換した *meso*-tetraazaporphyrin 誘導体であり、特に PC は、レドックス反応の触媒、半導体、光電セルの光吸収体、あるいはインクや塗料の顔料などとして用途が多岐にわたるため、これまでおびただしい数の研究論文が発表され、PC 誘導体の合成および物性については多くの知見が蓄積されてきた。

PC および NC は各種金属イオンと安定な錯体 (M-PC および M-NC) を生成し、M-PC は 670nm 付近に強い Q 吸収帯をもつ。一方、M-NC はさらに 100nm ほど赤色移動した 740-780nm に吸収を示し、両者はいずれも Hp の 100 倍ほど大きい吸光係数をもつ。⁶⁸⁾ さらに、PC は高い三重項エネルギー (110-126 kJ/mol) をもち、⁶⁹⁾ PC 類による光力学作用は ¹O₂ 生成を伴う Type II 機構によることが一般的となっている。PC 誘導体の *in vivo* における光力学作用については多くの報告があり、1985年頃までの研究成果は総説⁷⁰⁾ に詳しい。

さて、PC 類の PDT については、これまで水溶性の sulfonated M-PC 類 (M-PCS ; R=SO₃H) が主に用いられ、M-PC を発煙硫酸でスルホン化することにより得られる。⁷¹⁾ この方法によると、1~4 個のスルホン酸基が導入された M-PC 類 (M-PCS 1~4 ; M-PCS 2 には、スルホン酸基をもつ二つのベンゼン環が互いに隣接した M-PCS 2/A および対角関係にある M-PCS 2/O の異性体が存在する) が混合物として得られるが、これらは HPLC により分離できる。⁷²⁾

これら M-PCS 類におけるスルホン酸基の数が、光力学作用に及ぼす影響については詳細に検討されている。*in vitro* においては、Ga- および Al-PCS のなかで、Ga-PCS 1~2 および Al-PCS 1~2 が高い光細胞毒性を示し、^{73,74)} Zn-PCS においても同様の結果が得られている。また、Zn-, Al- および Ga-PCS 2 の光毒性を比較すると、Zn-PCS 2 が最も活性があり、その効果は Hpd の 36倍であることが分かった。⁷⁵⁾ 一方、Al 錯体におい

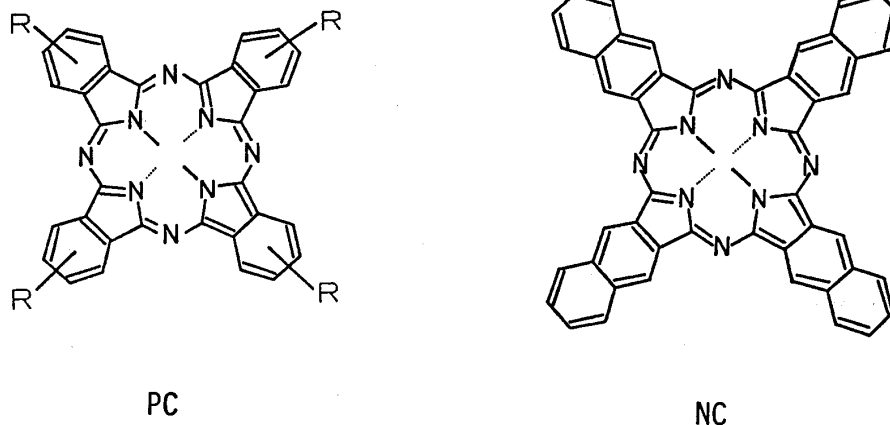


Fig. 7 Structural diagrams of *meso*-tetraazaporphyrins

では A1-PCS2 が最も高い細胞透過性を示し、⁷⁴⁾ Ga-PCS2 の異性体間では、Ga-PCS 2/Aの方が活性が高く、これは PC 環の片側にスルホン酸基が局在しているため両親媒性が大きく、細胞膜を通過しやすいためと考えられている。⁷³⁾ 以上述べたように、*in vitro* においては、光毒性がスルホン酸基の数や中心金属イオンの種類に依存する、いわゆる構造活性相関がみられる。

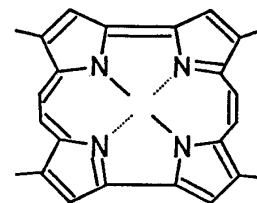
一方、*in vivo* においては、Selman ら⁷⁶⁾ は A1-PCS3~4 を用いてラット移植腫瘍の PDT を行い、腫瘍組織の著しい溶血性壊死を認め、同時に組織内の血流障害を観察した。しかしながら、スルホン酸基3~4個をもつA1-PCS は細胞透過性が低く、PDT 効果が小さいはずである。このように *in vivo* では、*in vitro* におけるような構造活性相関がみられない。これまでも述べたように、PDT の効果が $^1\text{O}_2$ による Type II 機構に従うとすれば、腫瘍内部には低酸素組織があるので、PDT の有効性には限界があると考えられるが、Selman らの知見は、PDT における腫瘍致死効果が血流障害による細胞壊死によることを示唆し、これがもっと重要な治療機序かも知れない。PDT における今後の大きな課題となる。

なお最近、alkoxy 基を置換した PC 類が合成され、750nm 付近に吸収を示すことなど、それらの光物理学的性質が報告されている。⁷⁷⁾

一方、NC 類の PDT については報告がないが、組織透過性の高い 750nm 領域に吸収を持つことから、ダイオード・レーザーが利用できるなど長所が多く、その検討には興味もたれる。

⑤ Porphycene

porphycene は特異な構造をもつ porphyrin の異性体であり、赤色領域における吸収位置は Hp と変わらないが、吸光度が著しく大きい(Hp の50倍程度)ことから、⁷⁸⁾ PDT への応用が期待される。Aramendia ら⁷⁹⁾ は porphycene の光物理学的性質について検討し、たとえば $^1\text{O}_2$ 生成収率が高いこと、あるいは光酸化に対して安定であることなどにより、PDT への応用の可能性を示唆した。また最近、Toporowicz ら⁸⁰⁾ は Pd, Pt などを導入した metalloporphycene 類を合成し、Q吸収帯が赤色移動することなどを含めて、それらの光物理学的性質について報告している。



Porphycene

以上本稿では、ヘマトポルフィリン誘導体 (Hpd) を用いた癌光力学療法 (PDT) が今日の臨床的応用に至るまでの経緯、Hpd の問題点および PDT における光増感剤の設計概念、さらに新たに登場してきたポルフィリン系光増感剤の研究動向について述べた。今後、これらが淘汰され、より優れた光増感剤が誕生することになるだろう。

引用文献

- 1) T. J. Dougherty, "Photosensitizing Compounds ; Their Chemistry, Biology and Clinical Use," Wiley, Chichester (Ciba Foundation Symposium 146), 1989, p. 1.
- 2) O. Raab, *Z. Biol.*, **39**, 524 (1900).
- 3) J. D. Spikes and B. W. Glad, *Photochem. Photobiol.*, **3**, 471 (1964).
- 4) C. S. Foote, "Free Radicals in Biology," Vol. 2, ed. by W. A. Pryor, Academic Press, New York, 1976, p. 85.

- 5) T. Ito, "Photochemical and Photobiological Reviews," Vol. IV, ed. by K. C. Smith, Plenum Press, New York, 1983, p. 141.
- 6) J. D. Spikes, "The Science of Photobiology," 2nd ed., ed. by K. C. Smith, Plenum Press, New York, 1989, p. 79.
- 7) H. Auler and G. Banzer, *Z. Krebsforsch.*, **53**, 65 (1942).
- 8) F. H. J. Figge and G. S. Weiland, *Anat. Rec.*, **100**, 659 (1948).
- 9) D. S. Rassmussen-Taxdal, G. E. Ward, and F. H. J. Figge, *Cancer*, **8**, 78 (1958).
- 10) R. L. Lipson and E. J. Baldes, *Arch. Dermat.*, **82**, 508 (1960).
- 11) R. L. Lipson, E. J. Baldes, and A. M. Olsen, *J. Natl. Cancer Inst.*, **26**, 1 (1961).
- 12) H. B. Gregorie, E. O. Horger, J. L. Ward, J. F. Green, T. Richards, H. C. Robertson, and T. B. Stevenson, *Ann. Surg.*, **167**, 820 (1968).
- 13) D. A. Cortese, J. H. Kinsey, L. B. Woolner, W. S. Payne, D. R. Sanderson, and R. S. Fontana, *Mayo Clin. Proc.*, **54**, 635 (1979).
- 14) A. E. Profio, D. R. Doiron, and E. G. King, *Med. Phys.*, **6**, 523 (1979).
- 15) H. van den Bergh, *Chem. Brit.*, 430 (1986).
- 16) I. Diamond, S. G. Granelli, A. F. McDonagh, S. Nielsen, C. B. Wilson, and R. Janick, *Lancet*, **2**, 1175 (1972).
- 17) J. F. Kelly, M. E. Snell, and M. C. Berenbaum, *Br. J. Cancer*, **31**, 237 (1975).
- 18) L. F. Kelly and M. E. Snell, *J. Urol.*, **115**, 150 (1976).
- 19) T. J. Dougherty, G. B. Grindey, R. Fiel, K. R. Weishaupt, and D. G. Boyle, *J. Natl. Cancer Inst.*, **55**, 115 (1975).
- 20) T. J. Dougherty, G. Lawrence, J. Kaufman, D. G. Boyle, K. R. Weishaupt, and A. Goldfarb, *J. Natl. Cancer Inst.*, **62**, 231 (1979).
- 21) "Lasers and Hematoporphyrin Derivative in Cancer," ed. by Y. Hayata and T. J. Dougherty, Igakushoin, Tokyo, 1983.
- 22) J. Moan, *Photochem. Photobiol.*, **43**, 681 (1986).
- 23) T. J. Dougherty, *Photochem. Photobiol.*, **45**, 879 (1987).
- 24) "Porphyrin Photosensitization," ed. by D. Kessel and T. J. Dougherty, Plenum Press, New York, 1983.
- 25) "Light in Biology and Medicine," Vol. 1, ed. by R. H. Douglas, J. Moan, and F. Dall'Acqua, Plenum Press, New York, 1988, p. 105-142.
- 26) "Photosensitizing Compounds: Their Chemistry, Biology and Clinical Use," Wiley, Chichester (Ciba Foundation Symposium 146), 1989.
- 27) K. R. Weishaupt, C. J. Gomer, and T. J. Dougherty, *Cancer Res.*, **36**, 2326 (1976).
- 28) J. G. Parker, *Lasers Surg. Med.*, **6**, 258 (1986).
- 29) J. D. Spikes, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **244**, 496 (1975).
- 30) G. Jori and J. D. Spikes, "Topics in Photomedicine," ed. by K. C. Smith, Plenum Press, New York,

- 1984, p. 183.
- 31) T. J. Dougherty, W. R. Potter, and K. R. Weishaupt, "Porphyrin Localization and Treatment of Tumors," ed. by D. R. Doiron and C. J. Gomer, Alan R. Liss, New York, 1984, p. 301.
 - 32) D. Kessel, *Photochem. Photobiol.*, **44**, 193 (1986).
 - 33) P. A. Scourides, R. M. Böhmer, A. H. Kaye, and G. Morstyn, *Cancer Res.*, **47**, 3439 (1987).
 - 34) G. Jori, *Photobiochem. Photobiophys.*, Suppl., 373 (1987).
 - 35) R. Bonnett and M. Berenbaum, "Photosensitizing Compounds: Their Chemistry, Biology and Clinical Use," Wiley, Chichester (Ciba Foundation Symposium 146), 1989, p. 40.
 - 36) S. Wan, J. A. Parrish, R. R. Anderson, and M. Madden, *Photochem. Photobiol.*, **34**, 679 (1981).
 - 37) J. Winkelman, *Cancer Res.*, **22**, 589 (1962).
 - 38) J. Winkelman, G. Slater, and J. Grossman, *Cancer Res.*, **27**, 2060 (1967).
 - 39) M. C. Berenbaum, S. L. Akasnde, R. Bonnett, H. Kaur, S. Ioannou, R. D. White, and U.-J. Winfield, *Br. J. Cancer*, **54**, 717 (1986).
 - 40) R. Bonnett, D. J. McGarvey, A. Harriman, E. J. Land, T. G. Truscott, and U.-J. Winfield, *Photochem. Photobiol.*, **48**, 271 (1988).
 - 41) D. Kessel, P. Thompson, K. Saatio, and K. D. Nantwi, *Photochem. Photobiol.*, **45**, 787 (1987).
 - 42) G. Oenbrink, P. Jürgenlimke, and D. Gabel, *Photochem. Photobiol.*, **48**, 451 (1988).
 - 43) N. T. Clare, *Adv. Vet. Sci.*, **2**, 182 (1955).
 - 44) 岩尾裕之, 細貝裕太郎共編, "食品衛生栄養便覧(衛生編)," 中央法規出版, 東京, 1981, p. 11.
 - 45) 木村修一, 蛋白質 核酸 酵素, **33**, 2803 (1988).
 - 46) A. B. Segelman, I. K. Hagen, S. A. Chernomorsky, S.-Y. Lee, I. K. Gadi, K. Weadock, and G. H. Sigel, Jr., *Proc. SPIE-Int. Soc. Opt. Eng.*, **847**, 15 (1987).
 - 47) Y. Nakatani, G. Ourisson, and J. P. Beck, *Chem. Pharm. Bull.*, **29**, 2261 (1981).
 - 48) M. Kuwabara, T. Yamamoto, O. Inanami, and F. Sato, *Photochem. Photobiol.*, **49**, 37 (1989).
 - 49) D. Kessel and K. Smith, *Photochem. Photobiol.*, **49**, 157 (1989).
 - 50) K. Iwai, Y. Ichihara, and S. Kimura, *Photomed. Photobiol.*, **10**, 247 (1988).
 - 51) A. R. Oseroff, D. Ohuoha, T. Hassan, J. C. Bommer, and M. L. Yahmush, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **83**, 8744 (1986).
 - 52) J. C. Bommer and B. F. Burnham, *Eur. Pat. Appl.* EP 168,831; *Chem. Abstr.*, **105**, 133666e (1986).
 - 53) K. Aizawa, T. Okunaka, T. Ohtani, H. Kawabe, Y. Yasunaka, S. O'hata, N. Ohtomo, K. Nishimiya, C. Konaka, H. Kato, Y. Hayata, and T. Saito, *Photochem. Photobiol.*, **46**, 789 (1987).
 - 54) J. S. Nelson, W. G. Roberts, and M. W. Berns, *Cancer Res.*, **47**, 4681 (1987).
 - 55) W. G. Roberts, F.-Y. Shiau, J. S. Nelson, K. M. Smith, and M. W. Berns, *J. Natl. Cancer Inst.*, **80**, 330 (1988).
 - 56) A. R. Morgan and N. C. Ternel, *J. Org. Chem.*, **51**, 1347 (1986).
 - 57) A. R. Morgan, G. M. Garbo, M. Kreimer-Birnbaum, R. W. Keck, K. Chaudhuri, and S. H. Selman, *Cancer Res.*, **47**, 496 (1987).

- 58) A. R. Morgan, M. Kreimer-Birnbaum, G. M. Garbo, R. W. Keck, and S. H. Selman, *Proc. SPIE-Int. Soc. Opt. Eng.*, **847**, 29 (1987).
- 59) A. R. Morgan, G. M. Garbo, R. W. Keck, and S. H. Selman, *Cancer Res.*, **48**, 194 (1988).
- 60) A. R. Morgan, A. Rampersaud, G. M. Garbo, R. W. Keck, and S. H. Selman, *J. Med. Chem.*, **32**, 904 (1989).
- 61) V. S. Pangka, A. R. Morgan, and D. Dolphin, *J. Org. Chem.*, **51**, 1094 (1986).
- 62) A. M. Richter, B. Kelly, J. Chow, D. J. Liu, G. H. N. Towers, D. Dolphin, and J. G. Levy, *J. Natl. Cancer Inst.*, **79**, 1327 (1987).
- 63) D. Kessel, *Photochem. Photobiol.*, **49**, 579 (1989).
- 64) D. Brault C. Vever-Bizet, M. Rougee, and R. Bensasson, *Photochem. Photobiol.*, **47**, 151 (1988).
- 65) F.-P. Montforts and G. Zimmermann, *Angew. Chem.*, **98**, 458 (1986).
- 66) G. Schermann, A. Völcker, K. Seikel, R. Schmidt, H.-D. Brauer, and F.-P. Montforts, *Photochem. Photobiol.*, **51**, 45 (1990).
- 67) R. Bonnett, R. D. White, U.-J. Winfield, and M. C. Berenbaum, *Biochem. J.*, **261**, 277 (1989).
- 68) J. R. Darwent, P. Douglas, A. Harriman, G. Porter, and M.-C. Richoux, *Coord. Chem. Rev.*, **44**, 83 (1982).
- 69) J. R. Wagner, H. Ali, R. Langlois, N. Brasseur, and J. E. van Lier, *Photochem. Photobiol.*, **45**, 587 (1987).
- 70) J. D. Spikes, *Photochem. Photobiol.*, **43**, 691 (1986).
- 71) R. P. Linstead and F. T. Weiss, *J. Chem. Soc.*, 2975 (1950).
- 72) H. Ali, R. Langlois, J. R. Wagner, N. Brasseur, B. Paquette, and J. E. van Lier, *Photochem. Photobiol.*, **47**, 713 (1988).
- 73) N. Brasseur, H. Ali, R. Langlois, and J. E. van Lier, *Photochem. Photobiol.*, **46**, 739 (1987).
- 74) B. Paquette, H. Ali, R. Langlois, and J. E. van Lier, *Photochem. Photobiol.*, **47**, 215 (1988).
- 75) N. Brasseur, H. Ali, R. Langlois, and J. E. van Lier, *Photochem. Photobiol.*, **47**, 705 (1988).
- 76) S. H. Selman, M. Kreimer-Birnbaum, K. Chaudhuri, G. M. Garbo, D. A. Seaman, R. W. Keck, E. Ben-Hur, and I. Rosenthal, *J. Urol.*, **136**, 141 (1986).
- 77) W. E. Ford, B. D. Rihter, M. E. Kenney, and M. A. J. Rodgers, *Photochem. Photobiol.*, **50**, 277 (1989).
- 78) E. Vogel, M. Balci, K. Pramod, P. Koch, J. Lex, and O. Ermer, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **26**, 928 (1987).
- 79) P. F. Aramendia, R. W. Redmond, S. Nonell, W. Schuster, S. E. Braslavsky, K. Schaffner, and E. Vogel, *Photochem. Photobiol.*, **44**, 555 (1986).
- 80) M. Toporowicz, H. Ofir, H. Levanon, E. Vogel, M. Köcher, K. Pramod, and R. W. Fessenden, *Photochem. Photobiol.*, **50**, 37 (1989).