

平成 21 年 5 月 14 日現在

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2006～2008

課題番号：18790924

研究課題名 (和文) ポルフィリン誘導薬剤搬送システム型医療のための基礎研究

研究課題名 (英文) 「Basic Studies for Porphyrin Induced DDS Type Cancer Therapy」

研究代表者

寅松 千枝 (TORAMATSU CHIE)

順天堂大学・医学研究科・助教

研究者番号:90421825

研究成果の概要：

次の三つの課題に分けて取り組み、具体的成果を挙げた。

- (1) 各種ポルフィリン化合物の体内挙動を観察するための動物用 PET 装置の開発と性能評価。
- (2) ポルフィリンの癌組織集積性に関する基礎的な実験研究
- (3) 新しいポルフィリン誘導体の開発、新しい物理的診療・治療手段の開発

一連の研究による成果は、ポルフィリン誘導 DDS 型癌医療開発の基礎を築くものであり、次に計画している臨床研究の強い基盤を形成するものとなった。(1)では、本研究の基盤となる動物用マイクロ PET の導入を行い、所定の性能を発揮するに至った。(2)に関しては、ラット正常胃粘膜より樹立した培養細胞系と、その腫瘍細胞の対を用い、細胞レベルの実験を中心に研究を進めた。ポルフィリンの癌集積性の機序は臓器に関らず癌組織内の高 NO 濃度に由来する事を示し、広範に癌診断に適応させる可能性を示した。また、<sup>59</sup>Fe-ポルフィリンの集積について、NO や赤血球分化を誘導するサイトカイン erythropoietin (EPO)による集積促進の可能性、その集積時間への影響などを明らかにした。(3)については、ポルフィリン PET 用薬剤とポルフィリン誘導体を用いた Mn 増感剤を製作し、その有効性について放射線医学総合研究所・分子イメージング研究センターの 7T-MRI 装置を用い、細胞実験とマウス実験を行った。そして Mn ポルフィリンの MRI 緩和能の測定を行い、その有用性を示し、造影効果のある濃度を確認した。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	1,600,000	0	1,600,000
2007年度	1,300,000	0	1,300,000
2008年度	500,000	150,000	500,000
総計	3,400,000	150,000	3,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・放射線科学

キーワード：(1) PET、(2) MRI、(3) PDT

## 1. 研究開始当初の背景

生体中の腫瘍部の蛍光現象が最初に観察さ

れたのは 1924 のことである。1940年代になると蛍光の発光体がポルフィリン誘導体であることが判り、その腫瘍親和性を利用して蛍光による診断が試みられた。そのうちに癌の蛍光診断では、体内のポルフィリンばかりで

なく体外から増感材としてポルフィリンが注入されるようになった。1960年には内視鏡による診断法が開発され、さらに、腫瘍に集積したポルフィリン誘導体を光線で照射する癌治療の可能性が発見された。この治療法は、今日、PDT(Photo-Dynamic Therapy)と呼ばれている。食道癌・胃癌などの患者にポルフィリンを注射すると腫瘍部が発光する。この部位に胃カメラで赤色光を照射してやると、ポルフィリンが三重項状態に励起し活性酸素を発生するので、それによって腫瘍組織を壊死させることができる。この時患者に注入されたポルフィリンは腫瘍部に集積するが、同時に正常部位にも沈積するので、その部分が代謝によって排出されるまでの48～72時間患者を暗室に閉じ込めることになる。これは、患者に大変な苦痛を与えることになるので、PDTが普及しない原因の一つになっているそうである。しかし、最近になって、この問題はポルフィリンの前駆体であるアミノレブリン酸を用いることで解決する道が見つかっている。また、「レザフィリン」という新薬が開発された。ポルフィリン誘導体の腫瘍集積機序は、1990年代に始った筑波大松井医師のグループの研究によって解明された。この意欲的な研究を通じて、新しい治療法開発の知見やヒントも、また、癌の形成・成長機序の解明に結びつく知見も、着実に蓄積しつつある。悪性腫瘍の治療には、外科療法、化学療法、放射線療法の3つの療法が主流をなしている。ポルフィリン光線療法がこれらの療法と並んで普及する日は遠くない。既に、治療用の薬剤「レザフィリン」が医薬品として承認され、光ファイバーの技術を活用し、食道癌や胃癌のように光が届く表層癌に対しては筑波大学が、また、肺癌に対して東京医科大学が治療に取り組んでいる。癌治療の高度化には、患者の負担を少なくし、治療後のQOL(Quality of life)を高く保つことが重要な要素である。上記3つの療法のうち、放射線療法は、放射線総合医学研究所の10年にわたる努力によって革新的な重イオン線療法が開発され、注目を集めている。外科手術の苦しみや、抗癌剤の副作用に悩まされる治療に比べると患者に優しい療法である。炭素ビームを用いた重粒子線治療は、10年をかけた臨床

試験の成果が評価され高度先進医療として認知された。ポルフィリン光線療法も患者に優しい治療法として注目される。放射線照射に弱い管腔臓器とその近接臓器に対する適用など、放射線療法と相補的な役割が期待でき、さらに高価な加速器の建設・維持を必要としないことから次世代を担う治療法として期待できる。ただし光には放射線のような生体透過力がないので、光ファイバーでレーザー光を送れる臓器に限られる。その点でも放射線医療との相補性を活かすことが必要である。

## 2. 研究の目的

ポルフィリン誘導体の腫瘍集積性は、蛍光発光を通じて調べている限り表面だけで内部に浸透しているか否か判らない。また深層部における沈着の状況を知ることはできない。ポルフィリンは、腫瘍部に集積するが正常部にも集まる。しかし、正常部は代謝によってポルフィリンを排出する。そこでPDT治療は、正常部からのポルフィリン排出を待って光照射を行なっている。したがって、ポルフィリン沈着に関する時間・空間的構造の実測が必要である。ポルフィリンは抗体と違って腫瘍の種類に対する選択性が無いことが、重要な点であるが、その確認も必要である。腫瘍の部位や年齢に依る違いが無いかの調査も必要である。生体内におけるポルフィリンの時間的空間的分布・腫瘍集積性を確認する為にはPETやMRIによるイメージング法が適している。これまでのポルフィリンの腫瘍集積性の細胞レベルにおける結果によれば、その集積性は全ての癌細胞に共通で、腫瘍の種類に依らない。これを実験的に確認することは重要である。腫瘍の種類に依存しないのであれば、ポルフィリンPET診断法は、癌の検診に適していることになるからである。PETの癌診断への応用は、フルオロデオキシグルコース(FDG)を用いたFDG-PET法が普及しつつあるが、これはブドウ糖の代謝を指標としたもので、癌の種類に対する依存性があり、その効率が問われる。ポルフィリンPET法と優劣を比較することが必要である。

### 3. 研究の方法

本研究の方法をより具体的にまとめると次の三つの課題に分けられる。

- ①、新しい可能性を持つ、ポルフィリン誘導型PET診断法の開発。
- ②、ポルフィリンの癌集積性に関し、DDS型癌診断・治療法の展開に結びつく基礎的な実験研究
- ③、高感度で被曝の少ない更に新しい物理的治療手段の開発。

課題①、②に取り組むため、まずプロトタイプの小動物用PETの導入を行った。そしてポルフィリンの癌集積性を利用したPET観察法の有効性を確認するための準備として、放射性の鉄<sup>59</sup>Feのポルフィリン錯体を用いたガンマ線計測法を蛍光観察法と併用して基礎的なデータを収集した。

実験には、ラット正常胃粘膜より樹立した培養細胞系RGM1とRGM1をparent cell-lineとして発癌物質MNNGに暴露することで樹立したmutant cell-line RGK1（腫瘍）の二つの細胞培養系を試料とした。そして<sup>59</sup>Fe-ポルフィリンの集積について、集積時間、NOや赤血球分化による集積促進の可能性などを調べた。また、分画実験による細胞核への集積を調べた。

課題③、については、ポルフィリン誘導体を用いたMRI増感剤の作成を行った。そして放射線医学総合研究所分子イメージングセンターに設置されている7テスラ動物用MRI装置を使用してテストを行った。今後、レザフィリンに<sup>52</sup>-Feを付加した薬剤を開発する必要がある。

### 4. 研究成果

①については、本研究の基盤となる動物用PETの導入と、またhuman-brain用に開発したPET スキャナーの性能評価を行い、所定の性能を確認するに至った。②に関しては、ラット正常胃粘膜より樹立した培養細胞系と、そ

の腫瘍細胞の対を用い、細胞レベルの実験を中心に研究を進めた。ポルフィリンの癌集積性の機序は臓器に関らず癌組織内の高NO濃度に由来する事を示し、広範に癌診断に適応させる可能性を示した。また、<sup>59</sup>Fe-ポルフィリンの集積について、NOや赤血球分化を誘導するサイトカイン erythropoietin (EPO)による集積促進の可能性、その集積時間への影響などを明らかにした。③については、ポルフィリンPET用薬剤とポルフィリン誘導体を用いたMn増感剤を製作し、その有効性について放医研の7T-MRI装置を用いて細胞実験と、マウス実験を行った。そしてMnポルフィリンのMRI緩和能の測定を行い、その有用性を示し、造影効果のある濃度を確認した。この結果、癌化した細胞では正常細胞と比較してポルフィリンの取り込み量が優位に多いこと、また、癌特異性ポルフィリン集積にはNO、EPOによる促進効果も明らかにすることができた。

### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 2件)

- 1、Preliminary study on potential of the jPET-D4 human brain scanner for small animal imaging  
Annals of Nuclear Medicine  
2009 23、183-190  
T Yamaya, E Yoshida, C Toramatsu, M Nishimura, YShimada N Inadama, K Shibuya, F Nishikido, H Murayama
- 2、Noninvasive and quantitative assessment of the function of multidrug resistance-associated protein 1 in the living brain.  
Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism  
2009 29、504-511  
Okamura T, Kikuchi T, Okada M, Toramatsu C, Fukushi K, Takei M, Irie T.

[学会発表] (計 3件)

1、PET装置校正と画像診断の定量性の向上  
医学物理学会  
(2008年4月5日) パシフィコ横浜

2、小動物用PET装置の特性評価  
日本核医学会  
(2007年11月5日) 東北大学

3、放射能のトレーサビリティとPETの定量化  
日本応用物理学会  
(2007年3月30日) 青山学院大学

[図書] (計 0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0件)

○取得状況 (計 0件)

[その他]

## 6. 研究組織

(1) 研究代表者

寅松 千枝 (TORAMATSU CHIE)  
順天堂大学・医学研究科・助教  
研究者番号：90421825

(2) 研究分担者

(3) 連携研究者