ヒト悪性黒色腫由来培養細胞浮遊液系での光増感反応による 活性酸素の動態

三好憲雄、福田 優、石黒和守*、上田恵一*、久保田 守**、渡部正勝**
福井医科大学病理I、同皮膚科*、基礎生物学研究所大型スペクトログラフ**

COMPARISONS OF ACTIVE OXYGEN PRODUCED BY PHOTODYNAMIC THERAPY IN HUMAN MALIGNANT
MELANOMA CELLS

N.Miyoshi¹, K.Ishiguro², K.Ueda², M.Kubota³, M.Watanabe³ and M.Fukuda¹

¹Department of Pathology, ²Department of Dermatology, Fukui Medical School, ³Big-Spectrograph,
National Institute of Basic Biology, Japan

We investigated the sensitizing efficacy (yield of active oxygen production) of pheophorbide derivative (PH-1126), phthalocyanine derivatives (Al-Pc) and hematoporphyrin oligomer(HpO) by spin trapping method of electron spin resonance in cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) solution or human malignant melanoma floating cells(HMF). In the results, (1) Type I reaction was predominant in 0.1mM-CTAB solution. (2) In 10mM-CTAB solution, Type I and Type II reactions included. (3) Type II reaction was predominant in HMF cell suspension. It was suggested that the formation of the sensitizers incorporated in HMF cells must be monomer form.

Key words: Photosensitizer, Monomer- and Aggregate- Form, Active Oxygen

緒言

近年、光力学的治療(PDT)が癌治療に応用されつつあるが、その作用機序は明確ではない。光増感反応の中間体として種々の活性酸素が重要な役割を演じていることが報告されている¹⁾。そこで我々は今回、ヒト悪性黒色腫培養細胞に

おけるPDTによる活性酸素の発生について比較検討したので報告する。

材料および方法

I. 培養細胞

培養細胞はヒト悪性黒色腫由来の浮遊細胞 (HMF-cells) (弘前大学医学部第二病理学、工藤教授より提供) を用いた。

II. 溶媒

溶媒として0.1mM cethylmethylammonium bromide(CTAB)を会合体のモデルとして、10mM CTABを単量体のモデルとして用いた。

III. 光増感剤

光増感剤としてフェオフォルバイド誘導体であるPheophorbide Hamari 1126(PH-1126)、フタロサイアニン誘導体であるAluminum Phthalocyanine tetrasulfonate(Al-Pc)、およびヘマトポルフィリン誘導体であるHematoporphyrin Oligomer(HpO)の三種類を使用した。

IV. 光源

基礎生物学研究所の大型スペクトログラフを用い種々の波長で照射した。(355, 370, 385, 400, 415, 415, 600, 635, 650, 660, 670, 685nm: intensity=7.1X 10¹⁴ photons/s cm²)

V. スピントラップ法によるESRスペクトルの測定

トラップ剤として188mM-DMPOおよび100mM-TMPDを用い、日本電子製REX-3XR型にて測定した。(測定条件: Field=3460±50G, Field Modulation=1X0.1, Receiver Gain=2X100, 100KHz, Power=13dB, 10.3mW, Time Constant=0.01sec, Microwave Frequency=9.80GHz)

結果と考察

(1) PH-1126の吸収波長と励起一重項酸素に対するOHラジカルの生成量の比を図1に示す。カーブ1は10mM-CTABのものであるが、400nmでは励起一重項酸素の方が多いが、650nmではOHラジカルの方が多い。カーブ2は0.1mM-CTABのものである

が、10mM-CTABの場合とは逆に400nmではOHラジカルの方が多いが、650nmでは励起一重項酸素の方が多い。カーブ3はHMF cellのものであるが、400nm、650nm共にOHラジカルの方が多い。

図1

図2

図3

(2) Al-Pcの吸収波長と励起一重項酸素に対するOHラジカルの生成量の比を図1に示す。カーブ1は10mM-CTABのものであるが、400nmではOHラジカルの方が多いが、670nmでは励起一重項酸素の方が多い。カーブ2は0.1mM-CTABのものであるが、400nm、670nm共にOHラジカルの方が多い。カーブ3はHMF cellのものであるが、400nmではほぼ等量であり、670nmでは励起一重項酸素の方が多い。

(3) HpOの吸収波長と励起一重項酸素に対するOHラジカルの生成量の比を図1に示す。カーブ1は10mM-CTABのものであるが、400nmでは励起一重項酸素の方が多いが、635nmではOHラジカルの方が多い。カーブ2は0.1mM-CTABのものであるが、400nm、635nm共にOHラジカルの方が多い。カーブ3はHMF cellのものであるが、400nmではOHラジカルの方が多いが、670nmでは励起一重項酸素の方が多い。

(4) 以上の結果よりスーパーオキシドやOHラジカルによるType1反応および励起一重項酸素によるType2反応のいずれが優勢であるか表1にまとめた。10mM-CTABの場合、Type1反応およびType2反応が混在しており、照射波長により変化することが推測された。0.1mM-CTABの場合、ほぼType1反応が優勢であった。HMF cellの場合、ほぼType2反応が優勢であり光増感剤が単量体の形で取り込まれていることが考えられた。

文献

- (1) Grossweiner, L.I. et al., Type I and Type II Mechanism in the Photosensitized of Phosphatidylcholine Liposomes by Hematoporphyrin, Photochem. Photobiol., 36, 159-167(1982)

表 1

Predominant Photosensitization Type (I, II)
in Various Conditions

Solutions	10mM-CTAB		0.1mM-CTAB		HMF cells	
	Solet	Q	Solet	Q	Solet	Q
PH-1126	II	I	I	II	II	II
Al-Pc	I	II	I	I	II=I	II
HpO	II	I	I	I	I	II