眼科領域における光化学療法 Photodynamic Therapy for Ocular Diseases

森 圭介, 米谷 新
埼玉医科大学眼科学教室

〒350-04 埼玉県入間郡毛呂山町毛呂本郷38
TEL 0492-76-1250 FAX 0492-95-8002

Keisuke MORI and Shin YONEYA
Department of Ophthalmology, Saitama Medical School
38 Morohongo, Moroyama-machi, Iruma-gun, Saitama-ken, 350-04 JAPAN

要 旨

加齢性黄斑変性における脈絡膜新生血管は失明の主要病因である。現在脈絡膜新生血管に対して認められている唯一の治療法は熱作用によるレーザー光凝固であるが、網膜全層の障害により治療による視力低下を引き起こしてしまう。一方、光化学療法は光感受性物質の集積した組織のみを選択的に障害しうる治療法である。第二世代光感受性物質の一つである mono-l-aspartyl chlorin e6 (NPe6) は、皮膚過敏性は低く、長波長域にその最大吸光波長を有し、水溶性で組織代謝が速く、光感受能が高いなどの優れた特性を持つ。我々はNPe6の眼科臨床への応用のため、その最大吸光波長を発振するダイオードレーザーとそのデリバリーシステムを開発した。加えて、実験的脈絡膜新生血管にNPe6を用いた光化学療法を施行し、脈絡膜新生血管の選択的閉塞を得ることに成功した。このことから、NPe6を用いた光化学療法は安全にかつ有効に加齢性黄斑変性を治療しうる可能性が示唆された。

キーワード：脈絡膜新生血管、加齢性黄斑変性、光化学療法、mono-l-aspartyl chlorin e6、ダイオードレーザー

Abstract

Choroidal neovascularization (CNV) is a leading cause of new blindness due to age-related macular degeneration. The currently available treatment for CNV is thermal laser photocoagulation, which causes full-thickness retinal damage and can lead to visual loss. Photodynamic therapy may offer selective targeting to tissues in which sensitizers accumulate without damaging surrounding tissues. One of the second generation sensitizer : mono-l-aspartyl chlorin e6 (NPe6) has advantages of low skin photosensitization, major absorption peak at far-red light, rapid tissue uptake/clearance with hydrophilic nature and high photosensitizing ability. We improved diode laser delivery system that emits maximum absorption peak of NPe6 for ophthalmological application. Then, we treated experimental CNV by photodynamic therapy with NPe6

and demonstrated selective occlusion of CNV. This encouraging result suggest that photodynamic therapy with NPe6 may be safe and beneficial for the treatment of age-related macular degeneration.

Key words : choroidal neovascularization, age-related macular degeneration, photodynamic therapy, mono-l-aspartyl chlorin e6, diode laser

I 眼科領域における光化学療法の臨床的背景

欧米の成人盲の原因の一位を占めており、社会的問題ともなっている疾患が加齢性黄斑変性症（AMD）であり¹⁾、これに糖尿病性網膜症が続く。我が国ではまだ糖尿病性網膜症による失明が多いが、近年AMDの罹病率は急激に増加してきており、我々が調査した統計によると、この10年で罹病率は数十倍以上にも達しており、急激に増加している事が日本眼科学会においても問題となっている。糖尿病網膜症に対しては、レーザー光凝固術、硝子体手術の普及により、相当進行した症例でも、適切な治療を行えば、かなり高率に失明を防止することが可能となってきた。一方、AMDでは、その発症原因は不明であり²⁾、社会および環境要因など広範な背景要因が検索されているが決め手となるものはない。唯一、眼底の加齢性変化が大きな発症要因として挙げられ、したがって老人性円板状黄斑変性症から加齢性黄斑変性症へと診断名が代った。治療法は糖尿病と同様レーザー光凝固³⁾と観血的治療があるが、病変部位が視力に直接関係する黄斑部であり、視力の予後は不良である。これから、高齢者が増加するに従い、AMDはさらに増加することは想像に難くない。日本だけでなく世界的規模でAMDの有効な治療法の開発が急務であることが理解される。

すでに述べたが、AMDが難治である理由は治療対象の脈絡膜新生血管が黄斑部網膜下に好んで発生する事が挙げられる。このため、熱凝固作用を利用したレーザー光凝固治療では、新生血管だけでなく黄斑部網膜の視細胞も同時に障害することになり、この治療の有効かつ視力を保全できるような適応症例は極めて限られていた。したがって、症例の多くは、視力低下を少しでも食い止める、といった消極的な治療の対象となり、視力が保存できる症例はごく限られている。このような状況のなかで、新生血管を観血的に切除する手術方法が開発された⁴⁾が、現在の所、その適応症例は視力予後の悪いものに限られている。しかし、手術成績の検討では、脈絡膜新生血管の除去はできても手術侵襲による網膜への障害が強く、この手段でも視力に対する改善効果は期待で

きない、との意見が多数を占めている。現時点では、滲出型の加齢性黄斑症に対しての評価できる唯一の治療法はレーザー光凝固だけであるとの見解が示されている¹⁾。理想的な加齢性黄斑症の治療は、視細胞を障害せずに脈絡膜新生血管を閉塞萎縮させることであるということが出来る。このような事情の中で期待されるのが、光化学物質を使用したレーザーによる選択的新生血管の閉塞である。この方法の有用性が確認され、臨床応用されるようになれば、画期的治療法となることが期待される。

II 加齢性黄斑変性（AMD）に対する光化学療法の実際

前項で記したように、従来の熱凝固効果を期待したレーザー治療では、病変部位だけでなく、光路およびその周囲にある組織が熱エネルギーの伝達により障害を受けるという問題があった（図1左）。そのため、脈絡膜新生血管に接する網膜は熱凝固による変性を来し、ほぼ絶対暗点となる。従って、新生血管が中心窩下にある場合は、レーザー治療により6段階以上の視力低下が引き起こされてしまう。

一方、光化学療法によれば、あらかじめ投与された光感受性物質の集積した部位のみを選択的に障害する^{5) 6)}という利点があり、中心窩下の脈絡膜新生血管の選択的閉塞に応用可能であることが示唆されている⁷⁾。この方法の原理は、脈絡膜新生血管に集積した光感受性物質をレーザー光で励起し、脈絡膜新生血管のみを選択的に障害させるという方法である（図1右）。この選択的治療を完遂するための条件として、脈絡膜新生血管に光感受性物質が集積する事、そしてその時期を同定する事、光感受性物質に毒性がなく体内から早期に排泄される事、組織透過性の点から励起光の波長は600～800nmが望ましい事、などの点が挙げられる。

眼科領域での光化学療法としては既に第一世代の光感受性物質であるヘマトポルフィリン誘導体の応用が悪性腫瘍に対して臨床的に⁸⁾、脈絡膜新生血管に対しては実験的に⁷⁾試みられている。600～800nmの波長域でのヘマトポルフィリン誘導体の光子吸収量は弱く、励起効率

図1 熱作用によるレーザー治療と光化学療法の原理

熱作用によるレーザー治療では熱エネルギーの周囲組織への伝達により障害されるのに対し、光化学療法では光感受性物質の集積した部位を選択的に攻撃しうる。

の悪いことがその欠点として指摘されている⁹⁾。また、ヘマトポルフィリン誘導体の他の問題点として、体内での代謝が遅く、光線過敏症などの全身合併症の発生が遅延することが指摘されている⁹⁾。そのためにヘマトポルフィリン誘導体を用いた光化学療法は広く臨床応用されるには至らなかった。これらのことから、全身合併症が少なく、長波長域にその最大吸収波長を有し、より効率よく標的組織を障害しうる第二世代の光感受性物質が開発された。そのうち、眼科領域で研究されている代表的なものとして、benzo-porphyrin derivative monoacid ring A¹⁰⁾、chloro-aluminum sulfonated phthalocyanine¹¹⁾、mono-l-aspartyl chlorin e6 (NPe 6, ME 2906)などが挙げられる。このうち、殺細胞作用の主体とされている一重項酸素^{12) 13)}を最も効率よく発生し、かつ、体内での代謝が最も速く、全身合併症の軽度なものがNPe 6である¹³⁾。このNPe 6は、水溶性であり、血中のアルブミンやリポ蛋白と結合しやすく¹⁴⁾、血液槽のある脳や感覚網膜には拡散しにくいこと、また、細胞内への移動は貧血や細胞吸水などの能動輸送を受けること¹⁵⁾がその特性として挙げられている。これらの特性から、NPe 6は感覚網膜を障害せずに、脈絡膜新生血管を選択的に治療しうることが期待される。

我々は、このNPe 6を用いた眼科領域への応用、特に脈絡膜新生血管の治療法の開発のための基礎実験を行ってきた。その詳細は既報^{16) 17) 18)}にゆずるが、以下にその概略を記す。

実験は以下の4段階にわけて行った。

＃1. 664nm半導体レーザーの眼科用治療装置の開発

NPe 6の最大吸収波長を発振する半導体レーザーを開発し、眼科専用のレーザーデリバリーシステムに搭載した。このデリバリーシステムは細隙灯顕微鏡を改良したものであり、眼底観察用にコンタクトレンズを使用する。この装置を用いると、眼底を直視下のもと治療を行うことができる。エイミング光として633nmのヘリウム・ネオンレーザーを搭載し、その照明強度はNPe 6を励起させないよう80 μ Wと低く設定した。また、眼底観察用の照明光は664nm近傍の光をフィルターを用いてカットし、やはり安全に治療が行えるようにした(図2)。加えて、レーザー光束内の光エネルギー分布が均一になるパーフォーカルシステムを採用し、光ムラによる治療効果のばらつきが生じないようにした(図3)。

＃2. 電子スピン共鳴法(ESR)による検討

上記のレーザー装置で効率よくNPe 6が励起される

比透過率

図2 Laser Delivery Systemの照明光の波長分布特性
照明光でNPe 6が励起されないよう664nmの
近傍の光を除去。

図3 レーザー光束内のエネルギー分布
均質なエネルギー分布を示すパーフォー
カルシステムを採用。

図4 電子スピン共鳴法 (ESR) による一重項酸素の検出
2, 2, 6, 6-tetramethyl-4-piperidone hydrochloride (TMP) をトラップ剤としたESR
スペクトル。照射直後から3本のピークを持つ一重項酸素に基づくESRスペクトルが検出。

か、またどのような活性酸素種が発生しているかを電子スピン共鳴法を用い、半定量的に検索した。その結果、一重項酸素、スーパーオキシド、水酸化ラジカルなどの各種活性酸素の波形が明瞭に検出された(図4、5)。その中で、特に殺細胞作用の主体とされている一重項酸素が効率良く発生している事が明らかとなった。

3. 正常眼での光化学療法の効果

正常有色家兎10眼・マカク属サル9眼に対し合計108ヵ所による光化学療法を行い、臨床的・組織学的に検索した。適正な条件設定の下では、脈絡膜浅層の血管の選択的閉塞が観察されたが、網膜感覚上皮はほぼ正常構造を

保持していた。一方、100mg/kgの大量のNPe 6を投与後、通常の蛍光灯の下で飼育したものででもレーザーを照射しなければ網脈絡膜に異常は観察されなかった。

4. 実験的脈絡膜新生血管の選択的治療

マカク属サル7眼に脈絡膜新生血管を作製し、合計18ヵ所に光化学療法を行った。NPe 6投与量・レーザー照射強度は上記の対照実験の結果、及びNPe 6の血中濃度をもとに算出し、それぞれ2、10mg/kg、7.5~225 J/cm²とした。その結果、条件設定を適正にする事で、感覚網膜・脈絡毛細管板を障害せず、脈絡膜新生血管を閉塞しうる事が臨床的、組織学的に明らかとなっ

図5 5, 5-dimethyl-1-pyrroline-N-oxide (DMPO) をトラップ剤としたESRスペクトル
照射直後(上段)にはスーパーオキシド、照射後90秒(中段)を経過するとOHラジカル
ルアダクトのESRスペクトルが検出。superoxide dismutase (SOD) を混和した場合
(下段)、中央にSOD由来の Cu^{2+} のシグナルのみ検出され、他の波形は消失。

た。

以上の基礎実験から、NPe 6 と664nm半導体レーザーを用いた光化学療法では、効率良く各種活性酸素を発生させる事により、脈絡膜新生血管を選択的に、かつ安全に閉塞させる事が証明された。これらの結果から、近い将来の臨床応用の可能性が示唆されたが、動物実験の結果をヒトに応用する場合に、特に照明条件、投与濃度が問題となる。脈絡膜新生血管を治療する場合には、網膜血管を閉塞させない安全域の設定が重要である。この点に関し、我々は循環血漿中の濃度とレーザー照射強度を乗じたものをPDT index ($\text{mg}/\text{ml} \cdot \text{J}/\text{cm}^2$)とし、その安全域を正常サル眼での実験結果、及び脈絡膜新生血管での実験結果から算出した。その結果、双方とも安全域はほぼ一致しており、再現性は高い事が示された。従って、網膜血管内皮細胞のフリーラジカルに対する耐性に関し、種差があるかもしれないが、基本的にはPDT indexは臨床応用を安全に行う上で役立つものと考えられる。

Ⅲ その他の眼科疾患での光化学療法の応用の可能性

第2の光化学療法の適応疾患として、網脈絡膜悪性腫瘍が挙げられる。その代表として脈絡膜悪性黒色腫がある。放置すれば生命に関わる重篤な疾患であるため、眼球摘出または近赤外の波長を有する半導体レーザーでの

治療が行われている。レーザーでの治療は視機能を保全できるので望ましい治療法であるが、一方、凝固が不十分であると再発し、生命を失うことにもなる。完璧な腫瘍細胞の凝固は、熱作用による治療では特に腫瘍が大きく厚い場合に限界がある。腫瘍細胞を光化学作用を利用して治療する試みは、すでに網膜芽細胞腫でヘマトポフィリンを使用して行われたとの報告がある。しかし、長く光化学作用が残存するため、患者を絶対暗室に一週間以上置いておく必要があり、不都合が多く一般に臨床応用されなかった。NPe 6 と可視光半導体レーザーによる治療が可能であれば眼科領域での悪性腫瘍の治療に威力を発揮することが期待される。

文 献

1. Kahn HA, Moorhead HB : Statistics on blindness in the model reporting area, 1969-1970, Department of Health, Education, and Welfare publication no. (NIH), 73-427, US Government Printing Office, 1973.
2. Ryan SJ : Retina vol. II, 175-200, CV Mosby Co, 1989.
3. de Juan E Jr, Machemer R : Vitreous surgery for hemorrhagic and fibrous complications of age-related macular degeneration. Am J Ophthalmol 105 : 25-29, 1988.

4. Schachar AP : Should we recommend vitreo us surgery for patients with choroidal neovascularization ? Arch Ophthalmol 112 : 459-461, 1994.
5. Manyak MJ, Russo A, Smith PD, et al : Photodynamic therapy. J Clin Oncol 6 : 380-391, 1988.
6. Roberts WG, Hasan T : Role of neovasculature and vascular permeability on the tumor retention of photodynamic agents. Cancer Res 52 : 924-930, 1992.
7. Thomas EL, Langhofer M : Closure of experimental subretinal neovascular vessels with dihematoporphyrin ether augmented argon green laser photocoagulation. Photochem Photobiol 46 : 881-886, 1987.
8. Dougherty TJ, Kaufmann J, Goldfarb A, et al : Photoradiation therapy for the treatment of malignant tumors. Cancer Res 38 : 2628-2635, 1978.
9. Dougherty TJ : Photoradiation therapy (PRT) of malignant tumors. CRC Crit Rev 2 : 83-116, 1984.
10. Miller JW, Walsh AW, Kramer M, et al : Photodynamic therapy of experimental choroidal neovascularization using lipoprotein-delivered benzoporphyrin. Arch Ophthalmol 113 : 810-818, 1995.
11. Panagopoulos JA, Svittra PD, Puliafito CA, et al : Photodynamic therapy for experimental intraocular melanoma using chloroaluminum sulfonated phthalocyanine. Arch Ophthalmol 107 : 886-890, 1989.
12. Weishaupt KR, Gomer CJ, Dougherty TJ : Identification of singlet oxygen as the cytotoxic agent in photoinactivation of a murine tumor. Cancer Res 36 : 2326-2329, 1976.
13. Grossweiner LI : The science of phototherapy. 27-49, 150-151, CRC Press, Boca Raton, 1994.
14. Spinelli P : Photodynamic therapy and biomedical lasers, 526-530, Elsevier Science Publishers, Amsterdam, 1992.
15. Roberts WG, Shiau F-Y, Nelson JS, et al : In vitro characterization of monoaspartyl chlorin e6 and diaspertyl chlorin e6 for photodynamic therapy. J Natl Cancer Inst 80 : 330-336, 1988.
16. 森圭介, 米谷新 : 水溶性光感受性物質 NPe 6 を用いた光化学療法の眼科応用の可能性. 第17回日本レーザー医学会大会大会論文集. 83-86, 1996.
17. Mori K, Ohta T, Katagiri A, et al : Photodynamic therapy (PDT) with combination of a new sensitizer : NPe6 and a diode laser emitting at 664nm. Invest Ophthalmol Vis Sci 37 : 695 (suppl), 1996.
18. Mori K, Katagiri A, Sano A, et al : Photodynamic therapy for choroidal neovascularization with a hydrophilic sensitizer : NPe6. Invest Ophthalmol Vis Sci 38 : 93 (suppl), 1997.
19. Ohnishi Y, Yamana Y, Minei M : Photoradiation therapy using argon laser and a hematoporphyrin derivative for retinoblastoma. A preliminary report. Jpn J Ophthalmol 30:409-419, 1986.