hematoporphyrin誘導体, 同誘導体 polymer および
AlCl tetra sulphonated phthalocyanine のヒト膀胱
癌由来培養細胞取り込みと光殺細胞効果

Cellular uptake and photodynamic cell killing
ability of hematoporphyrin derivative, its
polymerized form and AlCl tetrasulphonated
phthalocyanine

国見一人, *三好憲雄, 天野俊康, 内藤克輔, 久住治男

Kazuto Kunimi, *Norio Miyoshi, Toshiyasu
Amano, Katsusuke Naito, Haruo Hisazumi

金沢大学泌尿器科, *福井医科大学第一病理

Recently some investigations have focussed on phthalocyanines as promising photosensitizers in photodynamic therapy. In the present study, cellular uptake and photodynamic cell killing ability of AlCl tetrasulphonated phthalocyanine(PC) were compared with those of hematoporphyrin derivative(HpD) and its polymerized form(HpD polymer; MW:12000). KK-47 bladder cancer cells were incubated with each of the dyes dissolved in growth medium for different times. The dye uptakes were qualified by measuring the fluorescence intensities of the dye-incorporating cells. The results indicated that the uptake of HpD polymer was the highest. Survival of the cells incubated with each dye for 1 hr, followed by argon-dye laser irradiation(0.1mW/sqcm) was evaluated by using a colony forming assay. The data showed that 1) photodynamic cell killing ability of the dyes increased with increasing laser irradiation time and 2) PC was the most effective photosensitizer among three dyes.

光力学的癌治療効果の向上をめざし、腫瘍内取り込みに優れる、または治療用レーザー励起光の波長域に強い吸収帯を有する新しい光感受性物質の利用、開発が望まれている。Hematoporphyrin 誘導体 (HpD) の polymerized form を多く含有する同誘導体ポリマー (HpD polymer), AlCl₄ tetrasulphonated phthalocyanine (PC) を用い、蛍光発光スペクトルよりヒト膀胱癌由来培養細胞 (KK-47 細胞) 取り込みを観察した。また、10 μ M 濃度の各薬剤を含む培養液を用いて KK-47 細胞を 1 時間培養後、argon-dye laser を照射し、コロニー形成能より光殺細胞効果を比較した。

(1) KK-47 細胞取り込み

各薬剤取り込み細胞浮遊液の蛍光発光スペクトルを経時的に観察した。HpD 取り込み細胞では最大発光ピーク 615 nm から 632 nm へと経時的移行を示したのに対し、HpD polymer および PC 取り込み細胞ではそれぞれ 635 および 685 nm に認められた最大発光ピークの経時的移行は認められなかった。

これより、HpD と HpD polymer および PC 間で細胞取り込みにおける細胞内局在もしくは各薬剤の分子結合状態に差があるものと考えられた。

既知の各薬剤濃度に対する最大発光ピークの蛍光強度を plot 作成した標準曲線を用い、KK-47 細胞取り込み量を求めた。培養 4 時間で培養液中 HpD の 0.55% が、polymer の 3.4% がそれぞれ取

り込まれ、ほぼ平衡状態に達し、polymer では HpD に比し、約 6 倍取り込み効率に優れていた。PC は培養 24 時間で 0.23% が取り込まれたものの平衡状態に達せず緩徐な取り込み曲線を示した。

(2) 光殺細胞効果

各薬剤を 10 μ M 濃度になるよう培養液で調整した後、KK-47 細胞とともに培養した。培養 1 時間後に薬剤を含まない培養液に交換し、argon-dye laser (wavelength; 630 nm, out put power; 0.1 mW/sqcm) を照射し、コロニー形成能より、各薬剤の argon-dye laser による光殺細胞効果を比較した。Fig. に示すごとく、照射時間の延長につれていずれの薬剤においても光殺細胞効果の増強が認められ、PC, HpD polymer, HpD の順に有意に強いことが示された。

(3) まとめ

1. HpD polymer は HpD に比し、KK-47 細胞取り込み効率が約 6 倍高く、腫瘍親和性の優位性が推察された。

2. 各薬剤取り込み細胞の蛍光発光スペクトルの観察により、各薬剤で細胞取り込み動態が異なることが示唆された。

3. argon-dye laser 照射による各薬剤の光殺細胞効果は、PC, HpD polymer, HpD の順に有意に強く、PC は優れた光感受性物質であることが示唆された。

Survival of KK-47 cells incorporating HpD, HpD polymer and Phthalocyanine after laser irradiation