《技術報告》

“ポルフィリン誘導体” ^{99m}Tc-STA-R12の有用性

中島　進*　秀毛　範至**　油野　民雄**　石川　幸男**
佐藤　順一**　阪田　功***　竹村　健****

要旨　ポルフィリン誘導体の癌組織集積性のメカニズムが明らかとなり再び注目を浴びてきている．われわれはすでにMn金属ポルフィリンを用いた腫瘍シンチ剤^{111}In-ATN10の優れた腫瘍描出能を報告したが，今回は新たに合成した4種類の誘導体(STA-R12, STA-R21, STA-R101, ATN-12)の腫瘍描出能を検討し，光化学反応を利用して合成されたSTA-R12が最も優れていることを見いだした．CDF_1マウス移植コロン26腫瘍を用いた実験では本剤静注後，腫瘍部の放射能は2時間後まで増加を示し腫瘍部分に選択的に取り込まれることが明らかとなった．これに反して，腫瘍以外の各臓器の取り込みは経時的に減少した．STA-R12の腫瘍および肝臓以外の組織からの早い排泄は本誘導体が^{99m}Tc標識イメージング剤として有用であることを示唆している．

(核医学 **31**: 1379–1383, 1994)

I. はじめに

ポルフィリン誘導体が腫瘍組織に集積することは古くから知られていた[1]．最近，ポルフィリン誘導体の腫瘍組織集積性が，この誘導体のもつ特異な物理化学的性質，すなわち水にも油にも溶ける両親媒性と豊富なπ電子による蛋白質への親和性によるものであることが明らかになってきた[2,3]．近年，多くの研究者によりポルフィリンの癌組織集積性を癌の診断，治療に応用しようとする試みがなされている[4]．われわれは現在まで約700種のポルフィリン誘導体を合成し，化学構造と腫瘍組織集積性の関係を検討してきた[5,6]．

ポルフィリンを用いた腫瘍シンチ剤開発の試みはHambrightやFosterらによって試みられているが実用化には至っていない[7,8]．われわれはすでにMn金属ポルフィリンであるATN-10を合成，^{111}Inでラベルし，その優れた腫瘍画像診断能を報告してきた．現在この誘導体は臨床応用をめざして検討が行われている[9]．本研究においては，さらに新規な方法にて合成された4種類の誘導体について腫瘍診断剤としての可能性を検討したので，その結果を報告する．

* 旭川医科大学附属病院手術部
** 同　放射線部
*** 東洋薄荷工業
**** 北海道大学電子科学研究所
受付：6年6月22日
最終稿受付：6年9月19日
別刷請求先：旭川市西神楽4線5号　(〒078)
旭川医科大学附属病院手術部
中島　進

II. 材料と方法

1. 化合物

新しく阪田らの方法[10]によりプロトポルフィリンより，①STA-R12 (13,17-Bispropanoyl aspartic acid-3-ethenyl-8-[N,N′,N″,N‴-tetrakis (carboxylmethyl)-diethylenetriaminnoacethyloxy]methyl-2,7,12,18-tetramethyl-porphyrinato]-manganese (III))を合成した．②STA-R21は①のアスパラギン酸側鎖基がCOOH基に変わったもので③のSTA-RN-101は①がDTPAとエステル結合しているのに対してアミド結合をなし，さらに④のATN-12はATN-10[9]のCOOH側鎖基がアスパラギン酸基

に変わったものである．4種類の誘導体の化学構造式をFig. 1に示す．

2. 各誘導体の ^{99m}Tc 標識

アスコルビン酸35 mgを脱酸素水100 m*l* に溶解し，アスコルビン酸溶液とした．また，$SnCl_2$ 190 mgを脱酸素水，100 m*l* に溶解し，$SnCl_2$ 溶液とした．さらに脱酸素酢酸溶液(pH 5.3)を準備した．各誘導体(25 mM)に0.2 M酢酸溶液(18 m*l*)を加え，氷冷下にアスコルビン酸溶液(1 m*l*)および$SnCl_2$溶液(1 m*l*)を加え，標識に供するまで凍結保存した．動物実験を行う前に凍結各種誘導体含有溶液を溶かし，[Mo-99]-[Tc-99m]ジェネレータ (Nihon Medi-Physics Co., Ltd.) から得られた[Tc-99m]sodium pertechnetate (0.3 m*l*) を30秒間混合攪拌し，各誘導体の^{99m}Tc標識体を得た．標識体の放射化学的純度を測定するために，シリカゲル-TLC (支持体: シリカゲル60W. 展開溶媒; 生理食塩水 : 酢酸 = 100 : 1) およびセルロース-TLC (支持体: セルロース，展開溶媒; 酢酸 : メタノール : 5 M 尿素 = 1 : 1 : 1) を用いた．これらを用いてDTPA-^{99m}Tc，^{99m}Tc-Sn等の放射化学的異物を定量し，標識率を算定した．なお，標識率は90% 以上であった．

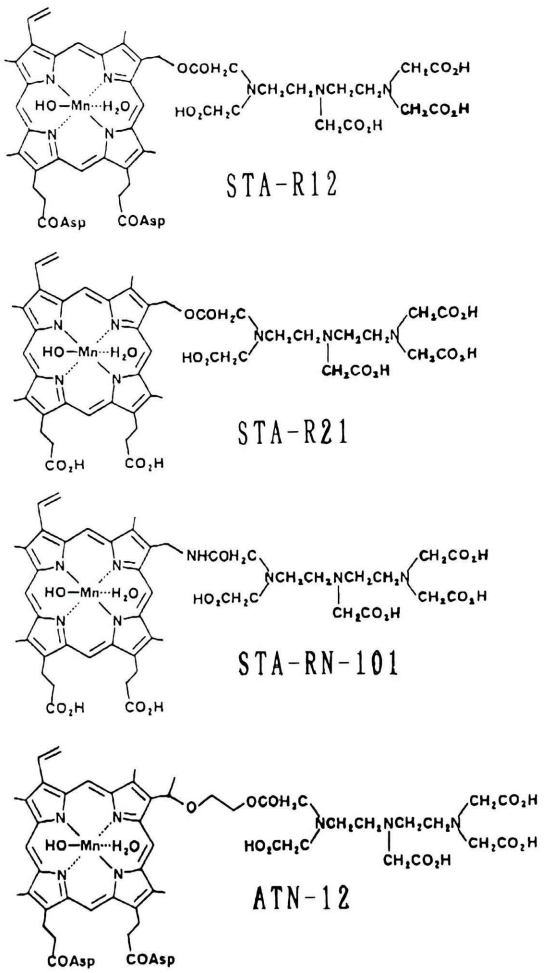

Fig. 1 Chemical structure of four different kind of porphyrin derivatives.

3. 腫瘍イメージングおよび体内分布の検討

4種類のポルフィリン誘導体の特性を知る目的で動物腫瘍として，colon 26腫瘍をCDF_1マウスに移植し，^{99m}Tcを標識した各種誘導体0.2 m*l* (1.5 mg/kg, 20 MBq) を静注し，坦癌マウスのイメージを日立γ-カメラRC-135-Eおよび日立核医学画像処理装置RP-200にて得，また動態についても画像より解析した．すなわち，マウス (各群 n = 3) をペントバルビツール腹腔内投与により麻酔し，投与後1分間毎のデータを記録した．R.O.I. として腫瘍，肝，肺，心，大腿部を選択し，腫瘍と各部位の比および各誘導体の体内動態を検討した．

Table 1 Tumor/organ count ratios of four porphyrin derivatives examined in this study

	STA-R12		STA-R21		STAR-RN-101		ATN-12	
	3 hr	6 hr	3 hr	6 hr	3 hr	6 hr	3 hr	6 hr
Tumor/Liver	0.324	0.285	0.295	0.266	0.262	0.185	0.205	0.248
Tumor/Heart	1.651	1.763	1.309	1.605	1.433	1.927	1.226	1.526
Tumor/Lung	5.136	3.892	1.730	2.385	1.882	2.272	1.620	2.116

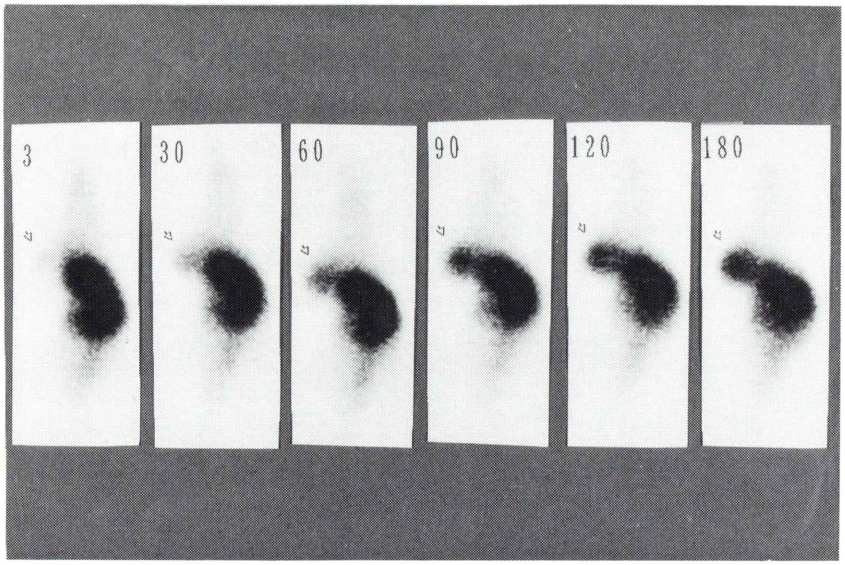

Fig. 2 Scintigrams 3, 30, 60, 90, 120 and 180 minutes after intravenous ^{99m}Tc-STA-R12 injection in CDF_1 mouse with colon-26 cancer.

III. 結　果

Table 1 は各種誘導体の静注後 3 時間，6 時間における腫瘍と各臓器のカウントの比を示している．最も優れた値を示したのは STA-R12 で，STAR-RN-101 の腫瘍／心を除き他の誘導体よりもいずれも高い腫瘍／臓器(比) を示した．そこで以後この誘導体を中心に検討を行った．Fig. 2 は STA-R12 の静注後 3 分後から 30 分毎に撮影したシンチグラムを示す．30 分までは腫瘍部 (矢印) に集積は見られないが，1 時間を過ぎた頃より腫瘍が描写されはじめ，180 分ではより明瞭となった．Fig. 3 は腫瘍および肝臓，心臓部における放射能の変化を示す．肝臓については，投与直後より，その取り込みは腫瘍に比較して高いが，心臓と同様に時間の経過とともに急速に放射能は減少した．これに反して，腫瘍では投与後急速に放射能が取り込まれ，120 分ほどで最大値を示し，以降，徐々に低下した．この結果は ^{99m}Tc のような半減期の短いアイソトープのキャリアーとしての STA-R12 の有用性を示唆するものと思われる．

IV. 考　察

ポルフィリン誘導体が腫瘍組織に集積することは古くから知られていた．最近になりそのメカニズムが明らかとなってきた．すなわち，ポルフィリンは分子量が 1000 と小さいが，両親媒性と豊富なπ電子を持つため，アルブミンや Low density Lipoprotein (LDL) 等の脂質蛋白に容易に結合する．一方，癌組織においては LDL リセプター活性等が亢進しておりポルフィリンと結合したリポ蛋白を積極的に細胞内に取り込むことになる．さらに，癌組織においてはリンパ組織が未形成もしくは欠如しており，このためポルフィリンを容易に排除できない．このようにポルフィリンの腫瘍組織集積性はこの誘導体が有する物理化学的な特性と癌組織が有する構造上の弱点に由来することが明らかとなってきた[2,3]．

腫瘍組織集積性物質を腫瘍シンチグラム剤に応用しようとする試みが，これまで多くの研究者によって行われてきた．特にモノクロナール抗体を用いた方法は注目を浴びている．しかし，腫瘍組織への集積性，HAMA 等の問題点から，未だ臨

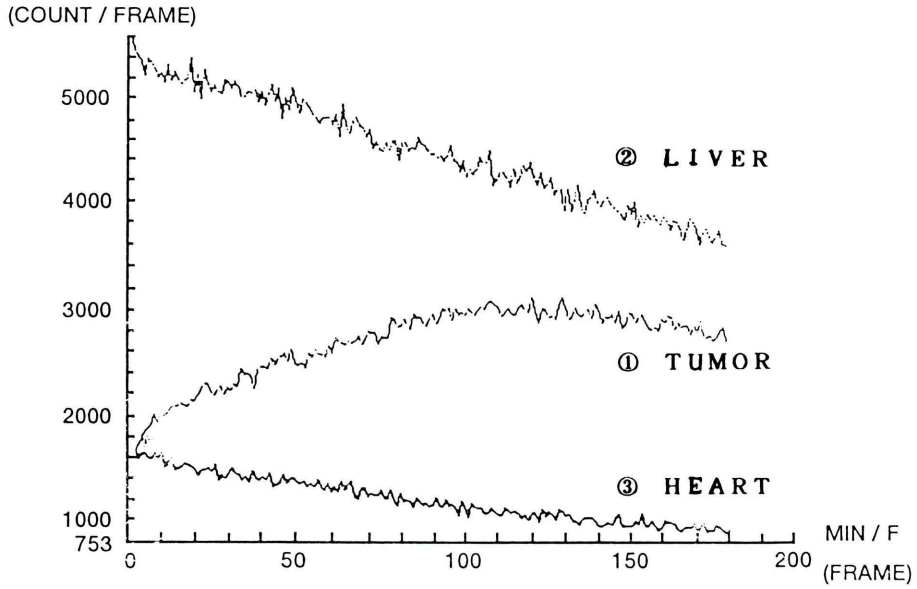

Fig. 3 Clearance curve of ^{99m}Tc-STA-R12 in tumor, liver and heart. Vertical axis: count number per frame. Horizontal axis: time (min)

床応用はなされていない．ポルフィリンをシンチ剤に応用する試みは Hambright, Foster らをはじめとする研究者によってなされてきた[7,8]．しかし腫瘍集積性があまり高くないこと，ポルフィリン環内にアイソトープが結合することによる精製の困難さ等の理由から実用化されていない．われわれはすでに Mn-ポルフィリンの側鎖基に DTPA を結合させた腫瘍シンチ剤 ^{111}In-ATN-10 を報告した[9]．本剤は Mn 誘導体をポルフィリン骨格内に結合させることにより腫瘍集積性を変化させずにポルフィリンに見られる光毒性をなくし，さらに金属キレート剤である DTPA を側鎖基につけることにより容易に ^{111}In, ^{99m}Tc を標識することが可能である．すでに報告したごとく，^{111}In-ATN-10 は現在臨床で使用されている ^{67}Ga-citrate よりも優れた腫瘍画像を示し[9]．また，^{99m}Tc-ATN-10 は最近注目を集めている ^{99m}Tc-MIBI よりも優れた性質を示すデータが得られている (未発表データ)．現在本剤は臨床応用のための毒性テストを施行中である．

今回検討した誘導体のうち，ATN-12 を除く 3 種類の誘導体は ATN-10 とは異なり，光化学の方法を用いて，ポルフィリン骨格の R_2 側鎖基を変えた構造を用いている．この方法の導入により，より多種類の化合物をポルフィリンに結合することができ，応用範囲がさらに広がる可能性が期待される．今回検討した誘導体の中で，^{99m}Tc-STA-R12 は，投与後 2 時間で肝臓等の上腹部を除く他の部位に存在する腫瘍が描出できることが明らかとなった．臨床応用のために現在，さらに詳細に検討中である．

V. 結　語

1) ^{99m}Tc 腫瘍シンチグラム剤として，新たに 4 種類のポルフィリン誘導体を合成した．

2) 高い腫瘍／臓器 (比) と優れた腫瘍画像が ^{99m}Tc-STA-R12 で得られ，本剤が新しい腫瘍シンチグラム剤として有望であることが示唆された．

3) 臨床応用のためにさらに詳細な検討が必要である．

文　献

1) Policard A: Etsudes sur les aspects offers par des tumeurs experimentales examinees a la luminere des Woods. Compt Rend Soc Biol **91**: 1432, 1924
2) 中島　進，林　秀雄，竹村　健，阪田　功: ポルフィリン誘導体の腫瘍集積性のメカニズムと新しい癌診断，治療法への応用．ポルフィリン **1** (3,4): 223–228, 1992
3) 中島　進，林　秀雄，前田富與，久保良彦，竹村　健，阪田　功，他: ポルフィリン誘導体の腫瘍集積性とLDLリセプター．オンコロジア **24** (6): 73–80, 1991
4) Hayata Y, Kato H, Konaka C, Ono J, Takizawa N: Hematoporphyrin derivatives and laser photoradiation in the treatment of lung cancer. Chest **81**: 267–277, 1982
5) Nakajima S, Hayashi H, Omote Y, Hirata S, Koshimizu K, Sakata I, et al: The tumor-localizing properties of porphyrin derivatives. J Photochem Photobiol **7**: 189–198, 1990
6) Nakajima S, Yamauchi H, Yamazaki K, Hayashi H, Samejima N, Sakata I: Tumor imaging ^{111}In-mono-DTPA-ethyleneglycol-Ga-deuteroporphyrin. Photochem Photobiol **46**: 783–788, 1987
7) Hambright P, Fawwaz RA, Valk P: The distribution of various water-soluble radioactive metalloporphyrins in tumor bearing mice. Bioinorg Chem **5**: 87–92, 1975
8) Foster N, Woo DV, Kaltovich F, Emrich J, Ljungquist C: Delineation of a transplanted malignant melanoma with ^{111}In-labeled porphyrin. J Nucl Med **26**: 756–760, 1985
9) Nakajima S, Yamauchi Y, Sakata I, Hayashi H, Yamazaki K, Takemura T, et al: ^{111}In-labeled Mn-Metalloporphyrin for Tumor Imaging. Nucl Med Biol **20**: 231–237, 1993
10) 阪田　功，中島　進，竹村　健: 新しい光感受性物質の合成と評価．日本レーザー医学会誌 **14** (4): 31–38, 1993

Summary

Usefulness of Newly Developed ^{99m}Tc-Labeled STA-R12 for Tumor Imaging

Susumu NAKAJIMA*, Noriyuki SHUKE**, Tamio ABURANO**, Satio ISHIKAWA**, Juniti SATO**, Isao SAKATA*** and Takeshi TAKEMURA****

**Division of Surgical Operation, **Department of Radiation, Asahikawa Medical College*
****Toyo Hakka Kogyo*
*****Institute of Electronic Science of Hokkaido University*

We synthesized four new tumor imaging agents, ^{99m}Tc-labeled metalloporphyrins (^{99m}Tc-STA-R12, -STA-R21, -STA-RN101 and -ATN-12) for the tumor imaging.

We compared the differences of tumor imaging potency among these agents in CDF_1 mice implanted with colon 26 tumor. Tumor images with these agents were obtained by using digital γ-camera (RC135-E, Hitachi, Tokyo) and the biodistributions were analyzed by computerlized medical radionuclide imageanalyser (RP-200, Hitachi, Tokyo). The highest tumor organ ratio and the excellent tumor image were obtained by ^{99m}Tc-STA-R12 (13,17-Bispropanyl aspartic acid-3-ethenyl-8-[N,N′,N″,N‴-tetrakis (carboxylmethyl-2,7,12,18-tetramethyl-porphyrinato]-manganese(III).

The maximum concentration of ^{99m}Tc-STA-R12 in tumor tissue was observed at around 120 minutes after i.v. injection. On the contrary, the uptake rates of other organs and tissues such as liver, brain, muscle, lung, bone and blood continuously decreased. The rapid accumulation of STA-R12 in cancer tissue and the clearance from other tissue suggested a potential usefulness of this compound for tumor imaging agent.

Key words: STA-R12, Mn-metalloporphyrin, Tumor-imaging agent.