

氏名	藤城 零		
学位の種類	博士 (理学)		
学位記番号	総博甲第 1 3 3 号		
学位授与年月日	平成 3 1 年 3 月 2 2 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項		
文部科学省報告番号	甲第 6 3 9 号		
専攻名	総合理工学専攻		
学位論文題目	ポルフィリノイドの光線力学的活性と光細胞毒性 (The photodynamic activity and photocytotoxicity of porphyrinoids)		
論文審査委員	主査	島根大学准教授	池上 崇久
		島根大学教授	廣光 一郎
		島根大学教授	小俣 光司
		島根大学教授	山口 勲
		島根大学准教授	笹井 亮
		島根大学講師	鈴木 優章

論文内容の要旨

Porphyrinoid とは、20 個の C 原子と 4 個の N 原子で構成される Porphyrin 環や Porphyrin 環に類似した分子骨格を有する化合物群を示す名称である。現在、Porphyrinoid に関する研究分野は、様々な学術誌や学会で発表されており、非常に活発に研究が行われている。Porphyrinoid は、Porphyrin、Corrole、Chlorin などの天然物に由来する化合物と Phthalocyanine や Porphyrazine などの人工的に合成された化合物の 2 つに大別される。そのどちらの化合物も非常に魅力的な性質を持つため、現在でも、多くの科学者によって研究されている。

本研究では、Porphyrinoid を光線力学的治療 (Photo Dynamic Therapy, PDT) の光増感剤として用いることを目的とした。PDT とは、がん細胞に選択的に蓄積する性質を持つ光増感剤とレーザー光の照射によって、がんを死滅させる治療法である。これまでのがん治療では、皮膚の切開や臓器の摘出といったがん組織を取り除くための外科的手術やがん細胞だけでなく正常細胞も死滅させてしまう抗がん剤を用いた投薬治療が行われてきている。しかしながら、PDT では、光増感剤の事前投与とレーザー光の局所照射によって、がん病巣を選択的に治療することができる。そのため、患者への負担の小さな治療 (低侵襲治療) である PDT は、現在でも熱心に研究され、更なる発展を期待される分野である。現在、臨床現場における PDT では、主に、Photofrin®、Laserphyrin®、Visdyne®といった Porphyrin 誘導体由来の光増感剤が使用されている。しかし、Porphyrin 誘導体由来の光増感剤は、生体透過率の高い近赤外領域 (650 - 900 nm) の吸光度が本質的に小さいため、生体の奥深くに位置するがん細胞内では、光増感剤の励起に必要な光を十分に吸収できない。そのため、PDT は、主に、表皮がんの治療に使用されている。

そこで、本研究では、元来、近赤外領域に大きな吸収帯を持った Phthalocyanine や、共役二量化され、近赤外領域に大きな吸収帯を有する Subphthalocyanine 二量体などを利用して、生体の奥深くでも機能することが可能な新規な光増感剤の合成とその PDT 活性について研究を行ったので、その結果を報告する。

1章の「カチオン性 Phthalocyanine の合成と PDT 活性」では、近赤外領域に大きな吸収帯を有しているが、水系溶媒への溶解性を持たず、溶液中で容易に会合体を形成する性質を持った Phthalocyanine に、嵩高い親水性置換基である N-methyl-(4-methylpyridinium-3-yloxy) 基を8個導入した8価カチオン性 Phthalocyanine Ga 錯体と Zn 錯体の合成を行った。カチオン性の Ga 錯体と Zn 錯体は、ともに、水やリン酸緩衝液 (PBS) といった水系溶媒に溶解し、Ga 錯体に関しては、PBS 中において、 6.0×10^{-5} M まで単量体として存在し、高い非会合性を示した。また、Ga 錯体と Zn 錯体は、光の照射によって、細胞への酸化的ダメージを有する一重項酸素 (1O_2) を水系溶媒中で発生することが観測された。ヒト喉頭がん細胞である human HEP2 細胞に対する細胞毒性の結果、Zn 錯体では、光細胞毒性を発現することが確認された。この結果から、Zn 錯体は生体内で機能する PDT の光増感剤として、大いに期待が持てることが分かった。

2章の「Subphthalocyanine 多量体の合成と一重項酸素発生能」では、Phthalocyanine の環縮小型の類縁体で、円錐型に歪んだ構造を持った Subphthalocyanine を PDT の光増感剤として用いた。この化合物を用いることで、 1O_2 の発生能を低下させてしまう会合体の形成しにくい光増感剤の合成が可能になると考えた。しかし、Subphthalocyanine は、生体透過率の高い近赤外領域に吸収帯を有していない。そこで、本章では、Subphthalocyanine 環同士を共通のベンゼン環によって連結することで、共役系を拡張し、近赤外領域に吸収帯を有する Subphthalocyanine の二量体とその三量体の合成を行った。得られた二量体と三量体は、 $CHCl_3$ 、 CH_2Cl_2 、toluene 等の一般的な有機溶媒に溶解するだけでなく、水と混和な極性溶媒である MeOH や DMSO に対しても溶解性を示した。また、toluene 中において、Subphthalocyanine 二量体と三量体の吸収帯の極大波長が、近赤外領域である 709 nm と 777 nm に観測された。Subphthalocyanine 二量体と三量体は、Toluene 中だけでなく、DMSO 中においても、光の照射を受けて、 1O_2 を発生することが確認され、生体内で PDT の光増感剤として機能することが期待できる結果を示した。しかしながら、human HEP2 細胞に対する細胞毒性の結果、Subphthalocyanine 二量体と三量体は、ともに、暗所細胞毒性だけでなく、光細胞毒性も有していないことが明らかとなった。

3章の「長方形の分子構造を有する Porphyrinoid 誘導体の合成と一重項酸素発生能」では、光増感剤の効率的な光の捕集方法として、二光子吸収現象を利用することに着目した。二光子吸収現象では、分子の励起に必要な遷移エネルギーの半分のエネルギーで励起することが可能である。そのため、近赤外領域の光を使用した二光子吸収現象では、300 ~ 450 nm 付近に吸収帯を持ち、これまで PDT の光増感剤として応用することが難しいとされてきた分子も使用可能となる。また、二光子吸収現象は、集光レーザーの焦点付近でしか生じないため、空間選択的な治療が可能となる。その結果、がん細胞付近の正常細胞へのダメージを減らし、PDT の治療効果を高めることや、生体深部のがん組織の治療も効率的に行えるため、PDT の適応する幅を広めることも可能となる。本章では、二光子吸収特性を持つ分子の特徴である長方形の分子骨格を有する化合物の合成を行った。目的化合物として、二重縮環で連結された Porphyrin 二量体、三重縮環で連結された Porphyrin 二量体、および、2つの Phthalocyanine 環が縮環した環拡張型 Phthalocyanine、2つの Corrole 環が連結した Corrole 二量体の合成を行い、それらの PDT 活性についての検討を行った。合成された長方形の分子骨格を有する Porphyrinoid 誘導体はすべて、近赤外領域と 300 ~ 450 nm 付近にも吸収帯を有していることが確認されたが、本研究では、二光子吸収現象に関する測定を行うことができなかった。

しかしながら、Toluene 中において、二重縮環 Porphyrin 二量体、三重縮環 Porphyrin 二量体、Corrole 二量体は、光の照射を受けて、 $^1\text{O}_2$ を発生することが確認され、二光子吸収現象を利用した PDT の光増感剤として機能することに期待が持てる結果が得られた。

本研究では、水溶性の Phthalocyanine、Subphthalocyanine 多量体、Porphyrinoid を連結した共役二量体を PDT のための新規な光増感剤として応用することを目的として研究を行った。合成した Porphyrinoid 誘導体の多くは、光の照射を受けて、 $^1\text{O}_2$ を発生することが確認され、PDT の光増感剤として応用するための機能を有していることが確認された。しかしながら、*in vitro* な環境において、高い $^1\text{O}_2$ の発生能を有している化合物であっても、がん細胞に対する光細胞毒性を示さないことや、「生体の窓」領域に大きな吸収帯を有していても、 $^1\text{O}_2$ を発生しない分子が存在することも明らかとなった。本研究を通して、PDT の新規光増感剤の分子設計を行う際には、細胞に取り込まれやすい適度な親水性と疎水性を併せ持った分子の合成や、PDT の光増感剤として最適な波長範囲に吸収帯を持つ分子の合成が求められるといった知見を得た。

論文審査結果の要旨

本論文は、水溶性の Phthalocyanine や、近赤外領域に吸収帯を有した Subphthalocyanine 多量体、Porphyrinoid 共役二量体を、光線力学的治療 (Photo Dynamic Therapy, PDT) の光増感剤として用いることを目的に研究を行い、その成果をまとめたものである。

概略紹介として、研究の背景や目的について記述し、PDT の原理や利点が簡潔に説明されている。また、臨床治療の現場で使用されている光増感剤の欠点を指摘し、新規な PDT の光増感剤に求められる要素についても記述されている。

第 1 章の「カチオン性 Phthalocyanine の合成と PDT 活性」では、近赤外領域の大きな吸収帯を有する Phthalocyanine を生体に適応する水溶性へと変換した 8 価カチオン性 Phthalocyanine Ga 錯体と Zn 錯体の合成を行い、それらの PDT 活性の検討を行っていた。合成されたカチオン性錯体は、水やリン酸緩衝液 (PBS) への溶解性を示した。また、PDT の効率を低下させる会合体を形成する濃度の特定も行った。Ga 錯体と Zn 錯体が、光の照射によって、細胞へのダメージを有する一重項酸素 ($^1\text{O}_2$) を発生することを観測した。ヒト喉頭がん細胞である human HEp2 細胞に対する細胞毒性の結果、Zn 錯体は、光細胞毒性を発現し、PDT の光増感剤として、生体内で機能することに大いに期待が持てる結果を示している。

第 2 章の「Subphthalocyanine 多量体の合成と一重項酸素発生能」では、円錐型に歪んだ構造を有する Subphthalocyanine を利用して、新規な光増感剤の合成を行っていた。Subphthalocyanine 環同士の連結により、PDT の光増感剤に望ましい近赤外領域に吸収帯を持った Subphthalocyanine 二量体と三量体を合成し、極性溶媒である DMSO 中において、光の照射を伴う $^1\text{O}_2$ の発生が確認され、PDT の光増感剤として応用可能な結果を示した。Subphthalocyanine 誘導体を利用した PDT に関する研究はあまり進んでいないため、本研究で得られた結果は、Subphthalocyanine 誘導体を用いた PDT の研究を進めるにおいて、非常に意味のある結果であると判断できる。

第 3 章の「長方形の分子構造を有する Porphyrinoid 誘導体の合成と一重項酸素発生能」では、光増感剤による効率的な光の捕集方法として、二光子吸収現象を利用することに着目し、二光子吸収特性を有する分子の特徴である長方形の骨格を持った化合物の合成を行った。合

成された二重縮環 Porphyrin 二量体、三重縮環 Porphyrin 二量体、Corrole 二量体は、近赤外領域の光を使用した二光子吸収において標的となる 300 - 450 nm 付近に吸収帯を持つことが確認された。また、単光子吸収ではあるが、Porphyrin 二量体と Corrole 二量体は、光の照射を受けて、 $^1\text{O}_2$ を発生し、PDT の光増感剤に求められる機能を持つことが明らかとなり、Porphyrinoid を利用した新規な光増感剤の発展に有益な結果を示した。

各章で得られた結果に基づいて、本論文の総括と今後の展望についても記載されている。

第 1 章の「カチオン性 Phthalocyanine の合成と PDT 活性」でまとめられた成果は、生体化学分野で評価の高い学術雑誌である Journal of Inorganic Biochemistry (直近 5 年間のインパクトファクター値 : 3.26) に掲載されており、藤城 零氏は、筆頭著者である。以上のことから、本論文の水準は高く、審査委員会では、藤城 零氏の研究は、博士 (理学) の学位に十分値するものと判断した。