

氏 名（本 籍）	廣 原 志 保	（大阪府）
学 位 の 種 類	博 士（理学）	
学 位 記 番 号	博課第256号	
学位授与年月日	平成17年 3 月24日	
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当	
	人間文化研究科	
論 文 題 目	光線力学療法用光増感剤としての糖連結ポルフィリン誘導体の合成と機能評価	
論文審査委員	（委員長） 教授 矢 野 重 信	助教授 加 藤 昌 子
	教授 小 城 勝 相	教授 覚 知 豊 次
		（北海道大学）

## 論文内容の要旨

近年、医学治療が飛躍的な進歩を遂げているが、ガンの治療法は十分に開発されていない。このガン治療法の一つに光線力学療法（PDT）という治療法がある。PDT は光増感剤を利用して光照射により近傍に存在する酸素分子にエネルギーを渡し一重項酸素（ $^1\text{O}_2$ ）を発生させ、この $^1\text{O}_2$ によりガン部位を壊死させる治療法である。近年、Photofrin®などのポルフィリン誘導体が PDT 薬剤として臨床応用されているが、腫瘍集積が低いことや薬剤の排出時間が長いなどの問題点があるため、より優れた薬剤の開発が切望されている。

本研究では糖分子の生理活性に着目し、糖分子を有するテトラフェニルポルフィリン（TPP）およびテトラフェニルクロリン誘導体（TPC）の合成および物性を調べた。連結する糖分子として、自然界に存在する D-グルコース、D-ガラクトース、D-キシロース、D-アラビノースを用いた。合成した薬剤について、子宮頸部ガンの HeLa 細胞による薬剤の取り込み量の測定、および取り込み量の高い薬剤についての光毒性の評価を行った。さらに薬剤の疎水性パラメーターや、細胞内および溶液中での光化学特性を調べ、光毒性との関係を調査し、糖分子の効果を検討した。

本論文は 6 つの章から構成されている。

第 1 章では光線力学療法について概観するとともに本研究の目的について述べている。第 2 章と第 4 章で、糖連結ポルフィリンならびにクロリン誘導体の合成とその物性についてまとめた。従来、糖連結ポルフィリン誘導体は糖連結ベンズアルデヒドとピロールから Lindsey 法により合成されてき

たが、この合成法ではフェニル基のメタ位に糖が連結した TPP の合成は困難であった。そこで新たに Lindsey 法の改良法として、亜鉛イオンのテンプレート効果を用いることで環化効率を向上させ、糖連結亜鉛ポルフィリン誘導体を高収率で得た。糖連結フリーベースポルフィリン誘導体はこの亜鉛ポルフィリン誘導体を 4 M HCl で処理することで容易に得ることができた。この改良によりメタ置換ポルフィリンの収率を飛躍的に向上させることに成功した。得られた糖連結ポルフィリン誘導体のアセチル基をナトリウムメトキシドで除去し、目的の光増感剤を得た。これによりメタ位に糖分子が連結したポルフィリンの PDT への実用的合成法を開拓した。一方、糖連結クロリン誘導体は、アセチル保護されたポルフィリン誘導体を Whitlock 法を用いたジイミド還元後、保護基を除去し、逆相 TLC を用いてポルフィリンやバクテリオクロリン成分をほとんど含まない純粋な糖連結クロリン誘導体を得た。

第 3 章と第 5 章では、合成した糖連結ポルフィリンおよびクロリン誘導体の HeLa 細胞を用いた *in vitro* 評価、および薬剤の疎水性評価、血清アルブミンとの結合挙動、さらに溶液・細胞内での光化学特性についてそれぞれまとめた。*in vitro* での実験として、まず HeLa 細胞による薬剤の取り込み量を調べた。薬剤取り込み量は連結した糖によって変化し、とくに五炭糖類が高い薬剤取り込み量を示した。またクロリン誘導体はポルフィリン誘導体と同等か、より高い取り込み量を示した。クロリン誘導体の HeLa 細胞に対する光毒性はポルフィリン誘導体よりも非常に高く、非常に低い濃度で高い薬効を示し、暗所毒性も見られないことから PDT として理想的な性質を有していることが明らかとなった。光毒性においても連結した糖によって変化した。光毒性と取り込み量との間には明確な相関が見られなかった。この理由を調べるために、薬剤の疎水性評価、血清との結合挙動および溶液や細胞内での光化学特性を調査した。分配係数の測定から薬剤の疎水性は連結した糖に依存し、五炭糖類は六炭糖類より、またクロリン誘導体はポルフィリン誘導体より高い疎水性を示すことを明らかにした。血清アルブミンと薬剤の結合挙動も連結した糖により変化し、五炭糖類が六炭糖類よりアルブミンと高い親和力を示した。また、その結合数は薬剤の疎水性パラメーターと良い相関が見られた。細胞内の薬剤分布を共焦点顕微鏡を用いて観察したところ、五炭糖類は取り込み量が多いにもかかわらず六炭糖類ほど発光していなかった。このことは細胞内において五炭糖類の薬剤が失活しやすい状態になっていることを示唆している。この失活過程として会合体形成が考えられ、水溶液系での電子吸収スペクトルの解析からも会合体形成を支持する結果が得られた。

以上のことから本研究では、糖分子の導入により薬剤の疎水性パラメーターや薬剤取り込み量等の性質を制御することができることを明らかにした。また従来、薬効の違いは薬剤の取り込み量の差異に由来するものと説明されてきたが、その細胞内での会合挙動も光毒性に大きな影響を与えることを明らかにした。

## 論文審査の結果の要旨

近年、医学治療が飛躍的な進歩を遂げているが、ガンの治療法は十分に開発されていない。このガン治療法の一つに光線力学療法（PDT）という治療法がある。PDT は光増感剤を利用して光照射により近傍に存在する酸素分子にエネルギーを渡し一重項酸素（ $^1\text{O}_2$ ）を発生させ、この $^1\text{O}_2$ によりガン部位を壊死させる治療法である。近年、Photofrin®などのポルフィリン誘導体が PDT 薬剤として臨床応用されているが、腫瘍集積が低いことや薬剤の排出時間が長いなどの問題点があるため、より優れた薬剤の開発が切望されている。

申請者は糖分子の生理活性に着目し、糖分子を有するテトラフェニルポルフィリン（TPP）およびテトラフェニルクロリン誘導体（TPC）の合成および物性を調べた。連結する糖分子として、自然界に存在する D-グルコース、D-ガラクトース、D-キシロース、D-アラビノースを用いた。合成した薬剤について、子宮頸部ガンの HeLa 細胞による薬剤の取り込み量の測定、および取り込み量の高い薬剤についての光毒性の評価を行った。さらに薬剤の疎水性パラメーターや、細胞内および溶液中での光化学特性を調べ、光毒性との関係を調査し、糖分子の効果を検討している。

本論文は 6 つの章から構成されている。

第 1 章では光線力学療法について概観するとともに本研究の目的について述べている。第 2 章と第 4 章で、糖連結ポルフィリンならびにクロリン誘導体の合成とその物性についてまとめた。従来、糖連結ポルフィリン誘導体は糖連結ベンズアルデヒドとピロールから Lindsey 法により合成されてきたが、この合成法ではフェニル基のメタ位に糖が連結した TPP の合成は困難であった。そこで新たに Lindsey 法の改良法として、亜鉛イオンのテンプレート効果を用いることで環化効率を向上させ、糖連結亜鉛ポルフィリン誘導体を高収率で得た。糖連結フリーベースポルフィリン誘導体はこの亜鉛ポルフィリン誘導体を 4 M HCl で処理することで容易に得ることができた。この改良によりメタ置換ポルフィリンの収率を飛躍的に向上させることに成功した。得られた糖連結ポルフィリン誘導体のアセチル基をナトリウムメトキシドで除去し、目的の光増感剤を得た。これによりメタ位に糖分子が連結したポルフィリンの PDT への実用的合成法を開拓した。一方、糖連結クロリン誘導体は、アセチル保護されたポルフィリン誘導体を Whitlock 法を用いたジイミド還元後、保護基を除去し、逆相 TLC を用いてポルフィリンやバクテリオクロリン成分をほとんど含まない純粋な糖連結クロリン誘導体を得ている。

第 3 章と第 5 章では、合成した糖連結ポルフィリンおよびクロリン誘導体の HeLa 細胞を用いた *in vitro* 評価、および薬剤の疎水性評価、血清アルブミンとの結合挙動、さらに溶液・細胞内での光

化学特性についてそれぞれまとめた。*in vitro*での実験として、まず HeLa 細胞による薬剤の取り込み量を調べた。薬剤取り込み量は連結した糖によって変化し、とくに五炭糖類が高い薬剤取り込み量を示した。またクロリン誘導体はポルフィリン誘導体と同等か、より高い取り込み量を示した。クロリン誘導体の HeLa 細胞に対する光毒性はポルフィリン誘導体よりも非常に高く、非常に低い濃度で高い薬効を示し、暗所毒性も見られないことから PDT として理想的な性質を有していることを明らかにした。光毒性においても連結した糖によって変化したが、光毒性と取り込み量との間には明確な相関が見られなかった。この理由を調べるために、薬剤の疎水性評価、血清との結合挙動および溶液や細胞内での光化学特性を調査した。分配係数の測定から薬剤の疎水性は連結した糖に依存し、五炭糖類は六炭糖類より、またクロリン誘導体はポルフィリン誘導体より高い疎水性を示すことを明らかにした。血清アルブミンと薬剤の結合挙動も連結した糖により変化し、五炭糖類が六炭糖類よりアルブミンと高い親和力を示した。また、その結合数は薬剤の疎水性パラメーターと良い相関が見られた。細胞内の薬剤分布を共焦点顕微鏡を用いて観察したところ、五炭糖類は取り込み量が多いにもかかわらず六炭糖類ほど発光していなかった。このことは細胞内において五炭糖類の薬剤が失活しやすい状態になっていることを示唆している。この失活過程として会合体形成が考えられ、水溶液系での電子吸収スペクトルの解析からも会合体形成を支持する結果を得た。

以上、申請者は、糖分子の導入により薬剤の疎水性パラメーターや薬剤取り込み量等の性質を制御することができることを明らかにした。また、薬剤の細胞内での会合挙動も光毒性に大きな影響を与えることを明らかにした。その結果、糖および中心金属の種類によって活性及び毒性が大きく影響を受けることを示した。今後、PDT 効果の詳細なメカニズムを解明する必要があるが、申請者の得た結果は、この種の化合物の分子設計・機能化に対して、有機化学・医学及び薬学系の研究者に重要な示唆を与えるものとみなされる。すなわち、糖質の種類、糖質の水酸基部分の保護・脱保護ならびに亜鉛（II）イオンの有無に依存する活性の差異が見い出され、今後の PDT 用光増感剤の設計において有用な知見を得たものである。第 2 章の一部、第 3 章、第 4 章の一部は、それぞれすでに、国際的学術雑誌に論文として発表されており、第 3 章、第 4 章、第 5 章の残りの内容も現在投稿中である。よって、本論文は、奈良女子大学博士（理学）の学位を授与するに十分な内容を有しているものと判断される。

本審査委員会は、平成17年1月31日、論文提出者 廣原志保に対して、最終試験として提出論文の内容及び関連領域についての口述試験を実施した結果、博士（理学）の学位を授与するに十分な学力を有するものと認め、これを合格と判定した。