



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	がん光免疫療法における新規薬剤の理論的設計に資する基礎的研究〔論文内容及び審査の要旨〕
Author(s)	後藤, 悠人
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(薬科学)
Dissertation Number	甲第16291号
Issue Date	2025-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/95328
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Yuto_Goto_abstract.pdf, 論文内容の要旨



学 位 論 文 内 容 の 要 旨

博士の専攻分野の名称 博士(薬科学) 氏 名 後藤 悠人

学 位 論 文 題 名

がん光免疫療法における新規薬剤の理論的設計に資する基礎的研究

がんは日本における死因第一位の疾患で、その罹患者数は増加の一途をたどっており、より効果的な治療法が求められている。光免疫療法 (Photoimmunotherapy; PIT) は、光感受性化合物 IR700 を抗体に結合した薬剤 (抗体-IR700) と近赤外光を用いる治療法であり、薬剤が標的がん細胞に結合し、かつ、光が照射された場合に細胞傷害性を示す。PIT では IR700 が光照射により励起され、水溶性の軸配位子が切断されることで物性が不溶性に変化し、凝集体を形成することで細胞膜に物理的な損傷を与え、細胞を殺傷する。

PIT に用いられる波長 690 nm の近赤外光は可視光に比べて生体透過性が高いものの、組織における透過深度は 1 cm 程度である。そのため、体表面の腫瘍は体外からの照射で治療可能であるが、大きい腫瘍にはディフューザーを挿入することで内部から照射が行われる。しかし、血管や神経の走行によりディフューザーの挿入が不可能な腫瘍は治療できない。よって、体外からの照射で全ての腫瘍を治療することができれば、PIT の適用拡大に繋がると考えられる。

そのためのアプローチとして、吸収波長の長波長化と軸配位子切断における反応効率の向上の二つを考えた。生体透過性がより高い長波長の光を利用することで、腫瘍のより深部での光感受性化合物の励起が可能である。一方、反応効率を高めることで、組織の透過により減衰した光であっても細胞の殺傷に十分な光化学反応を起こせる可能性がある。そこで本研究では、より効果的な治療の達成を目指し、長波長の光で活性化される光感受性化合物、および、より高効率で光化学反応を起こす光感受性化合物の開発を行った。

フタロシアニン化合物は、 α 位への電子供与性置換基の導入によって HOMO が不安定化し、吸収波長が長波長化することが報告されている。そこで、IR700 のフタロシアニン環の α 位に ethoxy 基を導入した新規化合物 KA800 を開発した。KA800 の極大吸収波長は 774 nm であり、長波長化に成功した。KA800 を抗体と結合させて作製した Ab-KA800 は、*in vitro* での細胞障害性を示したが、*in vivo* では治療効果を示さなかった。Ab-IR700 を用いた PIT では、主に凝集体形成による膜傷害で細胞を殺傷する一方で、励起した IR700 が酸素と反応して生成する一重項酸素 ($^1\text{O}_2$) を介した細胞障害性を示す可能性も報告されている。そこで、Ab-KA800 の細胞障害メカニズムを検討したところ、凝集体形成による膜傷害と比較して $^1\text{O}_2$ の寄与が大きいことが示された。 $^1\text{O}_2$ は生体内で抗酸化物質やタンパク質によってクエンチされる。*In vivo* における組織間隙は生体分子が高密度で存在する夾雑環境であることから、*in vitro* の細胞障害性が認められた一方で *in vivo* の治療効果は認められなかった可能性がある。凝集体形成の起点である軸配位子切断反応に関して検討したところ、KA800 の軸配位子切断効率は IR700 より低く、このために Ab-KA800 は凝集体形成による膜傷害を誘発しなかったと考えられる。したがって、*in vivo* における治療効果には、凝集体形成による膜傷害を誘発するため、より高い効率で軸配位子切断を起こす分子設計が必須である。

より反応効率が高い光感受性化合物を理論的に設計するためには、反応メカニズムの解明が必要である。そこで、IR700 の軸配位子切断の反応過程に関する検討を行った。これまでの検討から IR700 の軸配位子切断は、次の反応メカニズムで進行すると推定されている。すなわち、励起一重項状態に励起した IR700 が項間交差により三重項状態に遷移した後、電子を受け取ってアニオンラジカル体 ($\text{IR700}^{\cdot-}$) を生成し、プロトン化および水酸化物イオンの配位を受けることで軸配位子が切断される。この中で三重項状態への項間交差および $\text{IR700}^{\cdot-}$ の関与する過程に着目した。まず、IR700 の項間交差量子収率 (Φ_{ISC}) を蛍光相関分光法により測定したところ、 Φ_{ISC} は 0.019 であった。すなわち、IR700 は三重項状態への遷移効率が低く、 Φ_{ISC} を向上させることで反応効率が上昇する可能性が見出された。次に、電子スピン共鳴法により測定を行ったところ、軸配位子切断が進行する条件下で $\text{IR700}^{\cdot-}$ のシグナルが得られた。また、光照射により $\text{IR700}^{\cdot-}$ が生成した後、酸素への暴露により $\text{IR700}^{\cdot-}$ をクエンチすることで、軸配位子切断反応が進行しなくなることが明らかになった。よって軸配位子切断が $\text{IR700}^{\cdot-}$ の生成を経て進行することが示された。

IR700 の検討を踏まえ、KA800 の軸配位子切断効率が低い要因を検討した。三重項状態への遷移効率の指標 $^1\text{O}_2$ 生成量を測定したところ、KA800 の $^1\text{O}_2$ 生成量は IR700 より少なかった。また、電子の受容効率に関して、軸配位子切断において化合物は励起状態で HOMO に電子を受け取ることから、HOMO の準位の指標として酸化電位を測定した。その結果、KA800 の酸化電位は IR700 より負にシフトしていた。以上より、KA800 は三重項状態への遷移効率および電子の受容効率が低いため、軸配位子切断の反応効率が IR700 と比較して低下したと考えられる。

これらの結果を基に、より反応性の高い光感受性化合物の開発を行った。反応メカニズムに関する検討から、電子の受容効率を高めることで軸配位子切断効率が向上する可能性がある。そこで IR700 のフタロシアニン環の β 位に電子求引性基として Cl 原子を 8 つ導入した化合物 YG700 を合成した。YG700 の酸化電位は IR700 より正にシフトしており、励起状態における電子の受容効率が高いことが示唆された。また、IR700 と比較して一重項酸素の生成効率が高いことから三重項状態への遷移効率も高いと考えられる。軸配位子の切断による溶液の吸光度の減少を指標として検討したところ、YG700 は IR700 より高い軸配位子反応効率を示した。

YG700 を抗体と結合させて作製した Ab-YG700 は、光照射により細胞死を起こしたが、予想に反して、その細胞障害性は Ab-IR700 より低かった。YG700 の蛍光量子収率は抗体とのコンジュゲートにより低下したことから、YG700 と抗体の相互作用が示唆された。Cl 原子の導入により YG700 の疎水性は IR700 より増大していることから、YG700 は抗体と疎水的に相互作用していると考えられる。 π - π 相互作用により励起一重項状態から基底状態への無輻射遷移の速度定数が増加することで、軸配位子切断の効率が低下し、細胞障害性が減少した可能性がある。そこで、疎水性を緩和するため、導入する Cl 原子を 4 つとした化合物 Cl_4SiPc を合成した。 Cl_4SiPc の疎水性は YG700 より小さいことが確認され、また、 Cl_4SiPc の軸配位子切断効率は YG700 より高いことが示された。したがって、その親水性と高い軸配位子切断効率から、 Cl_4SiPc は新規薬剤の光感受性化合物として有望である。

以上、本研究成果は、PIT の光感受性化合物の理論的な設計において重要な要素を解明し、また、新規薬剤として有望な化合物の開発に成功したことで、がん光免疫療法のさらなる発展に寄与するものである。