

氏 名	益 子 信 郎
授 与 学 位	工 学 博 士
学位授与年月日	昭和 62 年 3 月 25 日
学位授与の根拠法規	学位規則第 5 条第 1 項
研究科, 専攻の名称	東北大学大学院工学研究科 (博士課程) 電子工学専攻
学 位 論 文 題 目	レーザー光励起生体色素の光化学効果に関する基礎的研究
指 導 教 官	東北大学教授 稲場 文男
論 文 審 査 委 員	東北大学教授 稲場 文男 東北大学教授 松尾 正之 東北大学教授 沢田 康次 東北大学助教授 伊藤 弘昌

論 文 内 容 要 旨

第 1 章 総 論

癌などの悪性腫瘍の治療法として、腫瘍細胞に特異的に親和性のある有機色素とレーザー光照射を組み合わせた光化学治療法 (Photodynamic therapy : 以下 PDT と略す) が近年開発されてきた。この方法は、癌の診断や治療において従来にない新しい簡便な手法を提供するものであると同時に、活性酸素による酸素毒性の問題とも関連して各方面から広く関心が持たれるようになってきた。

PDT は現在ある程度臨床的に優れた成果をあげているが、今後の課題として、基礎的にはこの治療法をより効率的に、あるいは有効に行うにはどのような対策が必要であるかの検討が残されている。

本研究はこの様な観点から、PDT に有効な新しい有機色素の開発、検討を行うと共に、より深い腫瘍を選択的に破壊することの出来る新しい励起方法の開発を目的として、実験的検討および理論的検討を行うものである。

第 2 章 励起一重項酸素分子の分光学的特性および癌の光化学治療に関する基礎的考察

PDT とその作用メカニズムについて概観し、励起一重項酸素分子 (1O_2) がその主な役割を担っていると考えられていることを示した。従って、光化学効果の作用メカニズムの検討や PDT 用の

新しい光増感色素開発のためには、 $^1\text{O}_2$ の定量的な分光学的検出が重要であることを述べた。次に、生体組織に対する透過性の優れた波長 $1.064\ \mu\text{m}$ の Q スイッチ Nd : YAG レーザー光の 2 光子吸収過程による PDT 用色素の新しい励起法を提案し、本論文の目的の一つとした。

第 3 章 ローズ・ベンガル、アクリジン・オレンジおよびプロフラビン硫酸塩による光増感系からの励起一重項酸素分子の分光学的検出

本章では、光増感色素系において発生する $^1\text{O}_2$ を分光学的に検出するための近赤外発光測定系を開発し、すでに励起一重項酸素分子の生成が認められているローズ・ベンガル、アクリジン・オレンジ、プロフラビン硫酸塩などの有機色素の光増感系について、Ar レーザー光励起による $^1\text{O}_2$ の検出を行った。その結果、 $^1\text{O}_2$ の遷移に対応する波長 $1.27\ \mu\text{m}$ 付近の近赤外発光スペクトルが観測され、その発光強度は溶液濃度および励起光強度に比例して増加し、レーザー光の励起波長に対して溶液の吸収スペクトル分布と類似して発光強度が変化することが明らかになった。これらのことから、PDT の作用メカニズムの検討や PDT に有効な新しい色素を開発する場合の指標として、波長 $1.27\ \mu\text{m}$ 付近の近赤外発光の分光測定による $^1\text{O}_2$ の直接的検出が有効であることが明示された。

第 4 章 ヘマトポルフィリン・フリーベース、ヘマトポルフィリン二塩酸塩およびフェオフォーバイド a による光増感系からの励起一重項酸素分子の分光学的検出

現在 PDT に実用されているポルフィリン系色素の一種であるヘマトポルフィリン・フリーベースおよびヘマトポルフィリン二塩酸塩、さらにフェオフォーバイド a の 3 種類の色素増感溶液系からの $^1\text{O}_2$ の分光学的検出を行い、それらの特性の測定を行った。その結果ヘマトポルフィリン・フリ

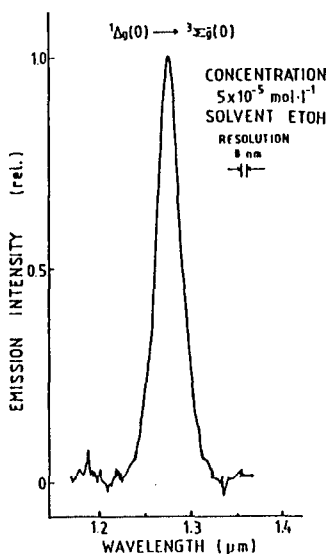


Fig. 1

Table 1

増感色素	励起波長 (nm)	モル吸光係数 ($\text{l} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$)	発光強度 (rel.)
ヘマトポルフィリン・フリーベース	514.5	5.0×10^3	1.0
ヘマトポルフィリン二塩酸塩	514.5	4.5×10^3	1.2
フェオフォーバイド a	514.4	1.0×10^4	2.4
ローズ・ベンガル	514.5	2.5×10^4	3.5
アクリジン・オレンジ	488.0	3.4×10^4	1.8
プロフラビン硫酸塩	457.9	8.8×10^4	1.9

溶媒：エタノール

濃度： $5.0 \times 10^{-5}\ \text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$

ベース、ヘマトポルフィリン二塩酸塩の増感系からも波長 1.27 μm 付近の近赤外発光が観測され、PDTによる癌細胞破壊には $^1\text{O}_2$ が関与していることが明らかになった。

新たに試みたフェオフォーバイド a のエタノール溶液に Ar レーザー光を照射した場合に測定された近赤外発光スペクトルを Fig. 1 に示す。ヘマトポルフィリン二塩酸塩などと同様に $^1\text{O}_2$ の $^1\Delta_g(o) \rightarrow ^3\Sigma_g(o)$ の遷移に対応する波長 1.27 μm の発光ピークが明瞭に検出され、フェオフォーバイド a も光励起によって $^1\text{O}_2$ を生成する有機色素であることが分光学的に初めて確認された。

Table 1 に各種色素のエタノール溶液における $^1\text{O}_2$ の生成量を、Ar レーザー光励起による近赤外発光強度の比較に基づいて、検討した結果を示す。フェオフォーバイド a は、ローズ・ベンガルに次いで強い発光強度を示しており、 $^1\text{O}_2$ の生成量の多いことがわかる。このことは、フェオフォーバイド a はヘマトポルフィリン二塩酸塩よりも腫瘍細胞を破壊できる可能性を持っており、光化学治療法用色素として有望なものであることを示唆するものと言える。

第 5 章 Q スイッチ Nd:YAG レーザー光励起によるヘマトポルフィリン二塩酸塩の光化学効果の実験

ヘマトポルフィリン二塩酸塩を生体組織の透過性が優れている Q スイッチ Nd:YAG レーザーからの波長 1.064 μm の基本波で励起することを試み、その蛍光特性の測定を行った。その結果、基本波励起によっても可視域に蛍光が観測され、ヘマトポルフィリン二塩酸塩が 2 光子吸収過程により励起されることが実証された。この結果に基づいて、次に TE-2 培養食道癌細胞にヘマトポルフィリン二塩酸塩を取り込ませて、2 光子吸収による癌細胞破壊の実験的検討を試みた。これより、2 光子吸収過程によってヘマトポルフィリン二塩酸塩が励起されて、癌細胞を不活性化する光化学効果を生じることが初めて確認された。

第 6 章 Q スイッチ Nd:YAG レーザー光励起によるフェオフォーバイド a 溶液の光化学効果の実験

第 4 章における分光学的測定によって PDT 用の新しい色素として有効性が示されたフェオフォーバイド a を増感色素として用いて、第 5 章と同様の分光学的実験および *in vitro* な実験を行った。Fig. 2 にフェオフォーバイド a のエタノール溶液の分光学的な測定結果を示す。吸収スペクトルは実線で示すように、680 nm 付近に特徴的な吸収ピークが認められる。Q スイッチ Nd:YAG レーザーの基本波で励起した場合も、SH 液で励起した場合と同様に 685 nm 付近にピークを持つ蛍光スペク

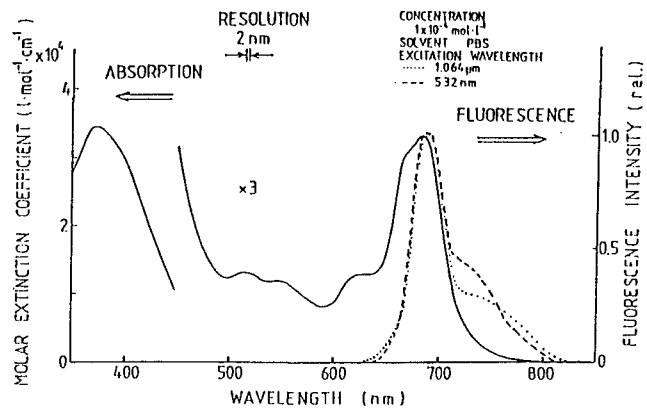


Fig. 2

トルが認められ、波長 1.064 μm の基本波の 2 光子吸収過程により励起されることが確認された。また、フェオフォーバインド a を取り込んだ TE-2 培養食道癌細胞に対し、基本波の照射エネルギー密度を変えて照射し、生存率を測定した結果を Fig. 3 に示す。照射時間が長くなるに従って生存率は減少し、その減少の割合すなわち光化学効果は、照射エネルギー密度の増加に伴って大きくなることが認められた。この様な 2 光子吸収過程による励起法は、癌の光化学治療法に新しい可能性を示すと同時に、さらに進んだレーザー光の新しい医学応用への道を示すものと言える。

第 7 章 レーザー光励起による有機色素の光化学効果の解析

生体細胞に取り込まれた色素による光化学効果の反応過程を、基本的なレート方程式に基づいた反応速度論的解析を行った。このモデルには連続光励起、パルス光励起、さらに 2 光子吸収過程による励起について適用できるものであり、それぞれの励起法について数値解析により光化学効果の特性を明らかにし、比較検討を行った。

第 8 章 結 論

第 1 章から第 7 章までの研究結果を総括し、考察を加えて結論とした。

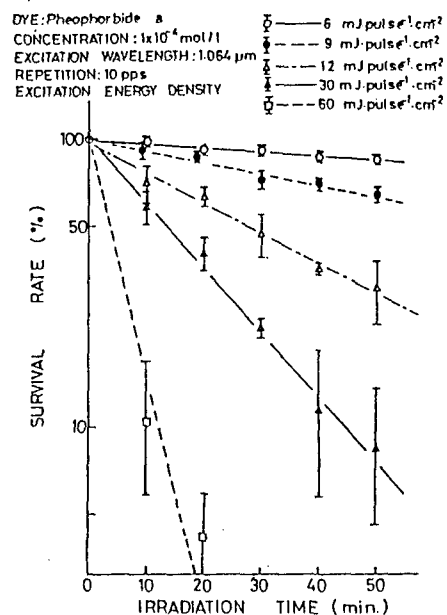


Fig. 3

審査結果の要旨

腫瘍細胞に特異的な親和性を有する生体色素とレーザー光照射を組み合わせた癌の光化学的診断・治療法は近年急速に進展し、特に手術困難な老人や体力が乏しい患者に対して効果的な治療が可能というその長所は広く注目されている。これに伴って、癌細胞のみを選択的に効率良く破壊できる新しい色素やより深部の病巣を治療できる新たなレーザー光励起法の研究開発が強く要望されている。

本研究はこのような課題に取り組んだもので、著者は数種類の色素の分光学的な光増感特性を定量的に比較、検討して、新しい色素の検索に有用な手法を明らかにすると共に、組織透過性の優れたNd:YAGレーザーを用いる独自の励起法を考案し、培養癌細胞を使用した *in vitro* な実験によりその有効性を明らかにした。本論文はそれらの成果をとりまとめたもので、全編8章よりなる。

第1章は総論である。第2章では、光増感色素から発生した励起一重項酸素分子による基質の急激な酸化・壊死が悪性腫瘍に対する光化学効果において本質的であることを述べ、レーザー光を用いる本診断・治療法の基礎的機構を明らかにして、そのために用いられる色素のもつべき条件を具体的に論じている。

第3章では、励起一重項酸素分子の最も信頼できる検出法である分光学的方法に着目し、その発生が化学的に知られている数種の色素溶液にArレーザー光を照射して、近赤外発光スペクトルの測定、比較を行い、本方法の有用性を実証している。

第4章では、現在癌の光化学的治療に実用されているヘマトポルフィリン系の2種類の色素と新しい色素であるフェオフォアバイドaについて分光学的特性を詳しく測定し、フェオフォアバイドaは前者よりも顕著な光化学作用のあることを予測している。これは新しい知見である。

第5章および第6章では、上記3種類の生体色素をとり込んだ培養癌細胞に、波長1.064 μm のNd:YAGレーザー光を照射して、その2光子励起によって光化学効果を発生させることを新たに考案し、細胞生存率の色素濃度やレーザー光強度への依存性の綿密な測定によって、この方法の有効性を確認すると共に、フェオフォアバイドaの優位性をも明示している。これらは見るべき成果である。

第7章は上述の光化学効果における反応過程の理論的解析をまとめたものである。

第8章は結論である。

以上要するに本論文は、レーザー光励起生体色素の腫瘍細胞への光化学効果に関する分光学的研究を行い、幾つかの重要な知見を得たものであって、レーザー生体工学ならびに光エレクトロニクスの発展に寄与するところが少なくない。

よって、本論文は工学博士の学位論文として合格と認める。