

審査の結果の要旨

氏名 横井 孝紀

近年、高濃度のビタミン C を点滴で投与するガン治療法（高濃度ビタミン C 療法）が報告され、非常に注目を集めている。しかし、投与されたビタミン C が、“どの臓器に分布しやすく、抗ガン作用が得られるか”については未解明である。

蛍光消光作用を持つニトロキシドラジカルと色素を結合させた FN プローブは、ビタミン C 検出用蛍光プローブの有力な候補と考えられている。しかし、この蛍光プローブを用いて生体内でイメージングを行うためには、①励起光・蛍光の波長が生体組織透過性が高い 650 nm 以上であること、②ニトロキシドラジカルは様々な酸化還元物質との反応から保護されながらもビタミン C とは効率良く反応すること等が必要である。これらの条件を唯一満たす蛍光プローブとしては、ケイ素フタロシアニンに TEMPO ラジカルを結合させた R2c が挙げられるが、リポソームによりラジカルが過度に保護されているため、感度・反応速度の観点から改善が必要であった。そこで本研究では、R2c を基盤とする高感度な蛍光プローブの開発を行っている。具体的には、①R2c への親水性置換基の導入（第 3 章）、②R2c と牛血清アルブミン（Bovine serum albumin、BSA）の複合化（第 4 章）により、高感度化を達成し、投与されたビタミン C の生体内分布を解明することに成功している。本論文は、以下の全 6 章で構成されている。

第 1 章では、ビタミン C の生体内機能、及び高濃度ビタミン C 療法のメカニズム等を説明するとともに、ビタミン C 検出の有力な候補とされる FN プローブについての概観を述べている。特に、ビタミン C の蛍光バイオイメージングを行うために必要な波長・ラジカル保護の両条件を唯一満たしている R2c に焦点を当てて説明を行っている。

第 2 章では、本研究の議論に必要なフタロシアニンの電子状態等に関する基礎理論について述べている。また、R2c が有するユニークな蛍光消光作用のスピリン交換について説明し、ビタミン C 添加による蛍光強度時間変化を解析する速度論についても述べている。

第3章では、R2cへの親水性置換基スルホ基導入による高感度な新規蛍光プローブ R2cS₁の開発について述べている。R2cとR2cS₁、それぞれをリポソームに取り込ませ、これらのビタミンCとの反応性を蛍光測定により調べている。リポソーマルR2cのビタミンC検出限界はmMオーダーであったが、リポソーマルR2cS₁を用いることで、50 μMのビタミンCでも検出できるようになった。この高感度化は、親水性置換基を有するR2cS₁が、疎水性R2cよりも、リポソーム外側の親水性領域付近に分布したことで説明される。これより、R2cに親水性置換基を導入することで、検出限界を10倍以上向上することに成功している。

第4章では、R2cとBSAの複合化について述べている。リポソームは、R2cのラジカルを様々な酸化還元物質から過度に保護するため、R2cのビタミンCの検出感度も低下させてしまう。そこで、適度な保護と高感度を両立させた新規蛍光プローブ開発のため、BSAとR2cの複合化を行っている。様々な測定により、R2cがBSAダイマーと複合化したR2c@(BSA)₂を形成していることを明らかにしている。また、嵩高い置換基を有するR2cは、2つのBSAが接する界面にできる大きな疎水性空間に取り込まれたことを計算から提案している。

さらに、R2c@(BSA)₂とビタミンCの反応を蛍光測定により調べ、1 μMのビタミンCでも検出可能であることを明らかとした。これより、BSAとR2cを複合化することで、検出限界を100倍以上向上することに成功している。

この高感度な蛍光プローブR2c@(BSA)₂を用いて、マウス中ビタミンCの蛍光バイオイメージングに初めて成功し、活性なビタミンCが、心臓、肺、胆のう、肝臓付近に到達しやすいことを明らかとしている。

第5章では、軸配位子を持たない亜鉛フタロシアニン(ZnPc)とBSAとの複合化を調べている。その結果、ZnPcもBSAモノマーとは複合化せず、BSAダイマーと選択的に複合化((ZnPc)_n@(BSA)₂)することを明らかとしている。

第6章では、本論文の結論が述べられている。

このように本論文では、高感度なビタミンC検出用蛍光プローブR2cS₁、R2c@(BSA)₂の開発に成功している。特に、R2c@(BSA)₂においては、BSAダイマーと複合化することにより、ラジカルを保護しつつ高感度な蛍光プローブを開発している。これを用いることで、マウス中に投与されたビタミンCのイメージングに初めて成功し、活性なビタミンCの生体内分布が明らかとした。本研究は、高濃度ビタミンC療法の発展や新規蛍光プローブの設計において有用な知見になり得る。

よって本論文は博士(工学)の学位請求論文として合格と認められる。