T2R2 東京工業大学リサーチリポジトリ
Tokyo Tech Research Repository

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	細胞内酸素濃度イメージングのためのリン光性白金ポルフィリン化合物の合成
Title(English)	
著者(和文)	尾台俊亮
Author(English)	Shunsuke Odai
出典(和文)	学位:博士(工学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第11162号, 授与年月日:2019年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:蒲池 利章,中村 聡,三原 久和,和地 正明,朝倉 則行
Citation(English)	Degree:Doctor (Engineering), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第11162号, Conferred date:2019/3/26, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	要約
Type(English)	Outline

Powered by T2R2 (Tokyo Institute Research Repository)

酸素は好気性生物にとって非常に重要な分子であり、その動態を調べることは様々な生体内反応の理解につながる。当研究室では、リン光性色素と共焦点レーザー顕微鏡を用いた高解像度の細胞内酸素濃度イメージング法を開発した。この測定ではリン光寿命を酸素濃度の指標に用いており、低侵襲で継時的な測定が可能なほか、色素濃度に依存しない測定が可能であるという利点を有する。しかし、細胞内では色素と生体成分が複雑に相互作用するため、これらの相互作用すべてを評価し、正確な酸素濃度を見積もることは困難である。また、生体成分との相互作用のために、血清存在下では色素が細胞に取り込まれず、現在の細胞内酸素濃度イメージングでは血清飢餓の影響を無視することができない。

本研究ではこれらの課題を解決するために、生体成分との相互作用を抑制可能な新たな色素の開発を試みた。一つは、白金ポルフィリンの周囲に嵩高い修飾を行うことで、立体障害により白金ポルフィリンと生体成分の相互作用を抑制することを目指し、デンドリマーを利用した色素を開発した。もう一つは、白金ポルフィリンをナノ粒子の内部に修飾することで、生体成分の白金ポルフィリンへの接近を阻害することを目指し、メソポーラスシリカナノ粒子を利用した色素を開発した。

2 章・3 章では、デンドリマー構造を利用した色素（デンドリマーポルフィリン）の設計・合成について述べ、それらの酸素消光特性、生体成分との相互作用を分光学的に評価した。そして、細胞内酸素濃度イメージングにおける有用性を評価した。デンドリマーポルフィリンには、世代数や表面官能基が異なるものを計 6 種類合成した。合成したデンドリマーポルフィリンの吸収スペクトル・発光スペクトル・リン光寿命を測定した結果、周囲のデンドロンにより白

金ポルフィリン周囲の極性や白金ポルフィリンとアミノ酸などの培地中の小分子との相互作用が変化していることが分かった。また、PtTCPP と比較して、デンドリマーポルフィリンでは生体成分による分光学特性の変化が抑制されており、設計通りデンドリマー構造を利用することで白金ポルフィリンと生体成分の相互作用を抑制できた。また、様々な気相酸素濃度雰囲気下で発光スペクトルを測定した結果、デンドリマーポルフィリンは白金ポルフィリンが有する酸素応答性を保持していることが分かった。

合成したデンドリマーポルフィリンを用いた細胞実験の結果、分子表面電荷が中性のデンドリマーポルフィリンは、生体適合性が高い一方で、従来の PtTCPP よりも細胞取り込み能が低いことが分かった。分子表面電荷がカチオン性のデンドリマーポルフィリンでは、そのカチオン性の高さから暗所毒性が高かったが、細胞取り込み能は高く、低濃度で染色することで細胞障害のない染色が可能であった。酸素応答性および生体成分との相互作用の観点で特に優れた性質を示した PtTCPP-LYS^{4}NH$_2$ および PtTCPP-LYS^2-γGLU(OH)NH$_2$ を用いて細胞内酸素濃度イメージングを行った。その結果、これらのデンドリマーポルフィリンは血清存在下においても細胞内に蓄積され、血清飢餓の影響を受けない細胞内酸素濃度イメージングが可能であることが分かった。

4 章では、メソポーラスシリカナノ粒子の細孔内に白金ポルフィリンを修飾した PtP@MSN-PEG-NH$_2$ の調製について述べ、それらの酸素消光特性、生体成分との相互作用、細胞内酸素濃度イメージングにおける有用性を評価した。PtP@MSN-PEG-NH$_2$ の分光学特性を評価した結果、白金ポルフィリン由来の吸光・発光特性および酸素応答性を示した。PtTCPP との比較から、細孔内部で白金ポルフィリンが会合体形成やシリカ表面に接着している可能性が示唆された

が、酸素消光速度は培地中の PtTCPP と同程度であることが分かった。生体成分存在下で分光学特性は、発光強度が若干の増加したものの、デンドリマーポルフィリンよりもその変化は小さく、MSNs を利用することによって白金ポルフィリンと生体成分との相互作用抑制に成功した。また、細胞内酸素濃度イメージングに PtP@MSN-PEG-NH_2 を利用した結果、気相酸素濃度に依存して細胞内のリン光寿命が変化しており、PtP@MSN-PEG-NH_2 を用いた細胞内酸素濃度イメージングに成功したと言える。しかし、PtP@MSN-PEG-NH_2 のリン光寿命から細胞内の酸素濃度の絶対値を算出するには至らなかった。これは、MSNs の細孔内に移動可能な細胞内の小分子が白金ポルフィリンと相互作用し、リン光寿命が変化しているためである。

以上本論文をまとめると、新たに合成した色素を用いることで、血清飢餓の影響を受けない酸素濃度イメージングが可能となった。また、タンパク質等の巨大な生体成分との相互作用による分光学特性変化の少ない測定が可能であった。