

令和 5 年 6 月 12 日現在

機関番号：13901

研究種目：国際共同研究加速基金(国際共同研究強化(B))

研究期間：2019～2022

課題番号：19KK0138

研究課題名(和文)ヘテロ元素置換ポルフィリンの光線力学的療法による癌治療への利用

研究課題名(英文)Application of heteroatom-embedded porphyrins to photodynamic therapy

研究代表者

忍久保 洋(Shinokubo, Hiroshi)

名古屋大学・工学研究科・教授

研究者番号：50281100

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,100,000円

研究成果の概要(和文)：光線力学療法(Photodynamic Therapy = PDT)とは、光励起による一重項酸素発生に基づく癌治療であり、低侵襲癌治療法として注目される。本研究では、ヘテロ元素を含む新規ポルフィリン誘導体を用いて高活性PDT光増感剤を開発することを目的として研究を行った。その結果、糖鎖を導入した新規ジアザポルフィリン誘導体を合成したところ、高い親水性を示し、ヒトの乳がん細胞(MDA-MB-231)を用いた生物学的実験により低濃度(50 nm)で優れたPDT活性を示すことが明らかにすることができた。光照射時間についても検討し、1分間という短い照射時間でも効果を示すことを見い出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

光線力学療法(Photodynamic Therapy = PDT)とは、光増感による一重項酸素発生を利用する癌治療法である。正常な組織への影響が少ない低侵襲な癌治療法として実用化が進められている。本研究では、糖を導入したジアザポルフィリン色素が低濃度でヒトの乳がん細胞に対して優れたPDT活性を示すことを見い出した。この結果は、ヘテロ原子を含有するポルフィリン誘導体の光線力学療法における可能性を示すものである。

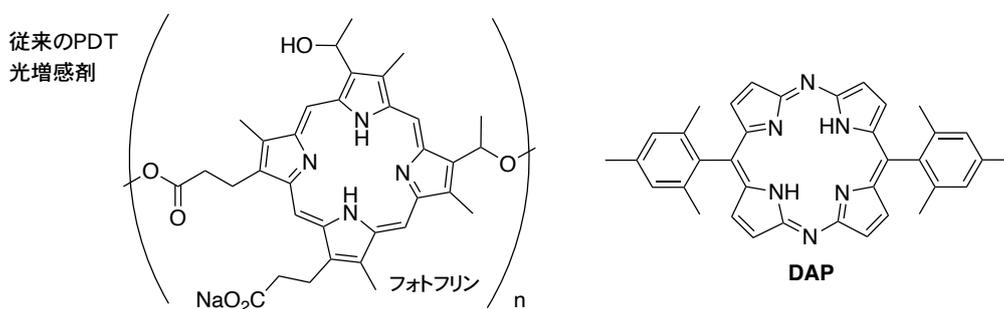
研究成果の概要(英文)：Photodynamic therapy (PDT) is a non-invasive cancer treatment that employs photosensitizers and light to generate singlet oxygen. In this research, we elucidated that 5, 15-diazaporphyrin appended with D-mannose moieties was sufficiently soluble in water and exhibited the strong PDT activity toward human breast adenocarcinoma at a nanomolar level with short light irradiation time.

研究分野：構造有機化学

キーワード：ジアザポルフィリン ヘテロ元素 光線力学的療法 がん 色素 一重項酸素

1. 研究開始当初の背景

光線力学療法(Photodynamic Therapy = PDT)とは、光増感による一重項酸素発生を利用する癌治療法である。正常な組織への影響が少ない低侵襲な癌治療法として実用化が進められている。PDT では、ポルフィリンやフタロシアンを光増感剤として癌細胞内に注入し、これを光照射することで反応性の高い一重項酸素を発生させる。その結果、生じた一重項酸素が癌細胞を攻撃し死滅させる。PDT 光増感剤には、光非照射下では無毒である一方、生体内へのヘムの吸収がない近赤外領域での光吸収と高い一重項酸素発生効率求められる。しかし、PDT の光増感剤として従来用いられてきたフォトフリンは近赤外領域の光をほとんど吸収しない。このため、光過敏症などの副作用を引き起こすことが問題となっている。このため、深部癌に PDT を適用するとともに光過敏症という副作用を抑えるためには、近赤外領域に強い吸収をもつ光増感剤の開発が喫緊の課題となっている。我々は、これまでフランスおよび韓国の研究者と PDT 増感剤に関する共同研究を行い、ヘテロ原子置換ポルフィリンであるジアザポルフィリン誘導体(DAP)が PDT 用の増感剤として有望であることを見いだしている(Kim, Gary-Bobo, Richeter, Shinokubo *et al. Chem. Commun.* **2018**, *54*, 13829–13832)。そこで、この国際共同研究をさらに発展させ強力に推進することにより、さらに有用な増感剤の開発を目指し、本研究を着想した。



2. 研究の目的

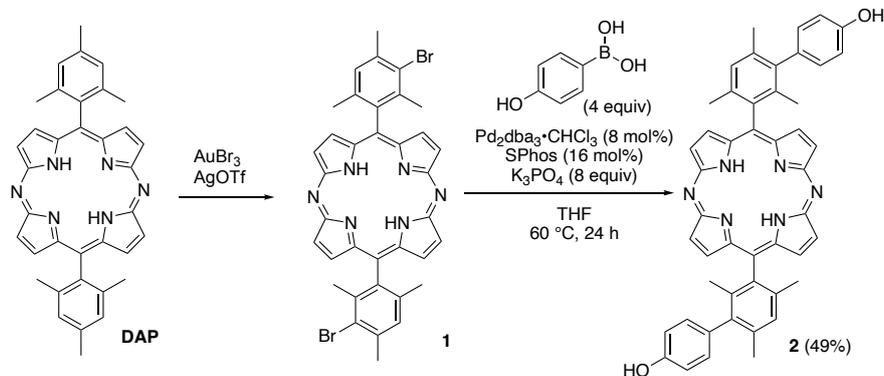
本研究では、ヘテロ元素を含む新規ポルフィリン誘導体を用いて高活性近赤外 PDT 光増感剤を開発することを目的として研究を行った。特に、これまでの研究から有望であることが明らかになっている DAP 誘導体を親水性化するとともに、がん細胞への高選択的取り込みを可能とするため置換基として D-マンノースを導入することとした。さらに、ジアザポルフィリン以外のヘテロ原子置換ポルフィリンについても合成を行い、PDT 活性を評価することを目指した。

3. 研究の方法

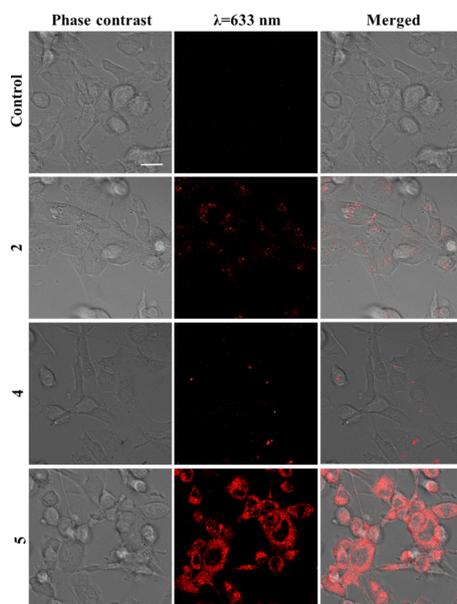
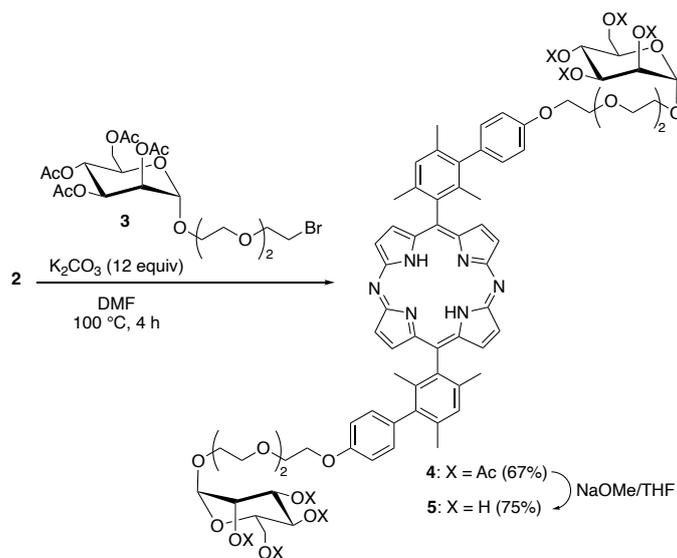
研究目的を達成するため、日本-韓国-フランスの三国間で国際共同研究を行うこととした。日本チームでヘテロ元素を含む新規ポルフィリン誘導体を合成し、基礎的な光物性測定を行うことにより、望ましい吸光特性を有しているかなどの観点から、生物学的実験の候補となる化合物をいくつか絞りこむ。次に、韓国チームでは、日本チームにより合成された化合物のより詳細な光物性測定を高時間分解測定により行い、三重項励起状態への項間交差の効率を決定する。また、近赤外発光測定を用いて一重項酸素からの発光を観測・定量することにより、一重項酸素発生効率を決定する。これにより、生物学的実験の結果を解釈する上で重要なデータを取得する。次にフランスチームでは、ヒトの乳がん細胞を用いた *in vitro* での PDT 実験により化合物をスクリーニングし、有望な化合物の構造を絞り込むこととした。さらに、上記の研究計画を実効的なものとするため、日本側から若手研究者が調製した化合物を携えてフランスへ出向いて共同研究を実施する計画とした。

4. 研究成果

優れた PDT 活性を示すことが明らかになっている DAP は水溶性が不十分であり、がん細胞への導入効率の低下を招いていた。そこで、DAP に対して糖鎖を導入し親水性を高めることを計画した。この目的のため我々が開発した DAP の置換基に対する位置選択的臭素化反応を用いることとした(Shinokubo *et al. Dalton Trans.* **2020**, *49*, 14786–14789)。金塩を作用させることにより DAP を臭素化し、それに対してヒドロキシフェニルボロン酸を鈴木-宮浦クロスカップリングさせることによりフェノール基をもつジアザポルフィリン **2** を合成した。



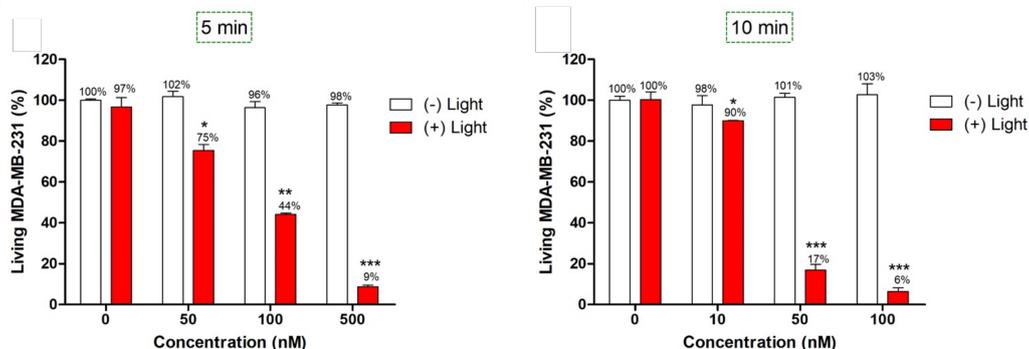
次に、**2** に対して糖誘導体 **3** を求核置換反応により導入して化合物 **4** を得たのち、アセチル基を脱保護することにより目的とする D-マンノース側鎖を導入したジアザポルフィリン **5** を合成することに成功した。



得られたジアザポルフィリン **4** および **5** は十分な親水性を示した。光吸収特性も良好であったため、ジアザポルフィリン **2,4** および **5** について生物学的実験を行うこととした。まず、化合物自体の毒性について調査したところ、いずれの化合物も暗所ではヒトの乳がん細胞(MDA-MB-231)に対して毒性を示さないことが分かった。次に、それぞれの化合物の細胞膜透過性を共焦点顕微鏡によりジアザポルフィリンの蛍光を観察することにより評価した。その結果、化合物 **2** および **4** はほとんど膜透過性を示さないのに対して、化合物 **5** は高い細胞内移行性を示した。過剰の D-マンノースの共存下では化合物 **5** の細胞内への導入効率が大幅に低下することから、がん細胞表面のマンノース受容体が細胞内移行において重要な役割を果たしていることが

明らかとなった。

次に、ジアザポルフィリン **2, 4** および **5** のヒトの乳がん細胞(MDA-MB-231)に対する PDT 活性を評価した。光励起波長は 650 nm とした。その結果、**2** および **4** はほとんど PDT 活性を示さない一方で、**5** は 50 nM という低濃度においても顕著な PDT 活性を示すことが明らかになった。レーザー照射時間については、10 分では十分に効果が得られるが、1 分という短時間の照射でも 500 nM では十分な PDT 活性を示すことを見いだした。なお、この実験については日本からフランスへ研究協力者が赴いて実施した。



以上から、D-マンノース側鎖を導入したジアザポルフィリン誘導体がヒトの乳がん細胞 (MDA-MB-231) に対して顕著な PDT 活性を示すことを明らかにした (*Org. Biomol. Chem.* **2022**, *20*, 8217–8222)。論文はその注目される内容から当該学術雑誌のカバーピクチャーを飾ることとなった。今後は他のヘテロ原子含有ポルフィリンについても D-マンノース側鎖を導入し、PDT 活性を評価していく予定である。特に、オキサポルフィリン誘導体については韓国チームとの共同研究により、二重蛍光性を示すなど特異な光学特性を持つことを明らかにすることができた (*Angew. Chem. Int. Ed.* **2021**, *60*, 2915–2919)。この化合物についてもイメージング蛍光色素への展開を見据えて、細胞内導入に取り組む予定である。

なお、本研究の遂行、特に国際的な共同研究については、Covid-19 のパンデミックの影響を大きく受けた。このため、補助事業期間を延長して研究を行った。最終的には予定していたフランスに赴いての研究討論を行うことができ、今後につながる成果が得られたものと考えている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計12件（うち査読付論文 12件 / うち国際共著 5件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Yagi Atsumi, Okada Naoya, Fukui Norihito, Tanaka Hisaaki, Hatakeyama Takuji, Shinokubo Hiroshi	4. 巻 51
2. 論文標題 Nitrogen Extrusion of Diazacorrphycenes to Azacorroles and Synthesis of Two Types of Copper 10-Azacorrole Complexes	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Chemistry Letters	6. 最初と最後の頁 321 ~ 324
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1246/cl.210777	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Takiguchi Asahi, Tanaka Hiroki, Maeda Hiromitsu, Shinokubo Hiroshi	4. 巻 95
2. 論文標題 Diverse Crystal Structures of Ion Pairs Consisting of Oxaporphyrinium Cations and Pentacyanocyclopentadienide	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Bulletin of the Chemical Society of Japan	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1246/bcsj.20220026	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Takiguchi Asahi, Sakakibara Erika, Sugimoto Hiroshi, Shoji Osami, Shinokubo Hiroshi	4. 巻 61
2. 論文標題 A Heme Acquisition Protein Reconstructed with a Cobalt 5 Oxaporphyrinium Cation and Its Growth Inhibition Activity Toward Multidrug Resistant Pseudomonas aeruginosa	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Angewandte Chemie International Edition	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/anie.202112456	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Hanida Kensuke, Kim Jinseok, Fukui Norihito, Tsutsui Yusuke, Seki Shu, Kim Dongho, Shinokubo Hiroshi	4. 巻 60
2. 論文標題 Antiaromatic 1,5 Diazasindacenes	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Angewandte Chemie International Edition	6. 最初と最後の頁 20765 ~ 20770
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/anie.202109003	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Takiguchi Asahi、Shinokubo Hiroshi	4. 巻 51
2. 論文標題 Synthesis and Tautomerization of 5-Azaporphyrinium Cations	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Chemistry Letters	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1246/cl.220122	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Takiguchi Asahi、Inai Naoto、Kang Seongsoo、Hagai Masaya、Lee Seokwon、Yanai Takeshi、Kim Dongho、Shinokubo Hiroshi	4. 巻 58
2. 論文標題 5-Thiaporphyrinium cation: effect of sulphur incorporation on excited state dynamics	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Chemical Communications	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/D2CC00522K	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Takiguchi Asahi、Kang Seongsoo、Fukui Norihito、Kim Dongho、Shinokubo Hiroshi	4. 巻 60
2. 論文標題 Dual Emission of a Free Base 5 Oxaporphyrinium Cation from its cis and trans NH Tautomers	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Angewandte Chemie International Edition	6. 最初と最後の頁 2915 ~ 2919
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/anie.202013542	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Longevial Jean-Francois、Miyagawa Kazuya、Shinokubo Hiroshi	4. 巻 49
2. 論文標題 Site-selective halogenation on meso-mesityl substituents of 10,20-dimesityl-5,15-diazaporphyrins with an AuX3/AgOTf combination	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Dalton Transactions	6. 最初と最後の頁 14786 ~ 14789
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/D0DT02727H	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yagi Atsumi, Shinokubo Hiroshi	4. 巻 26
2. 論文標題 meso Diazacorrphycenes: Neighboring Effect of Two Nitrogen Atoms	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Chemistry A European Journal	6. 最初と最後の頁 8210 ~ 8213
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/chem.202002053	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yamashita Daisuke, Omori Hiroto, Fukui Norihito, Shinokubo Hiroshi	4. 巻 24
2. 論文標題 Synthesis and properties of 5-aza-15-thiaporphyrins	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Porphyrins and Phthalocyanines	6. 最初と最後の頁 84 ~ 89
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1142/S108842461950069X	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Chia Wen Xi, Nishijo Mayu, Kang Seongsoo, Oh Juwon, Nishimura Tsubasa, Omori Hiroto, Longevial Jean Francois, Miyake Yoshihiro, Kim Dongho, Shinokubo Hiroshi	4. 巻 26
2. 論文標題 Site Selective N Methylation of 5,15 Diazaporphyrins: Reactive Cationic Porphyrinoids that Provide Isoporphyrin Analogues	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Chemistry European Journal	6. 最初と最後の頁 2754 ~ 2760
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/chem.201905402	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Ali Lamiaa M. A., Miyagawa Kazuya, Fukui Norihito, Onofre Melanie, El Cheikh Khaled, Morere Alain, Clement Sebastien, Gary-Bobo Magali, Richeter Sebastien, Shinokubo Hiroshi	4. 巻 20
2. 論文標題 D-Mannose-appended 5,15-diazaporphyrin for photodynamic therapy	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Organic and Biomolecular Chemistry	6. 最初と最後の頁 8217 ~ 8222
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/D20B01410F	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計15件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 4件）

1. 発表者名 櫻井 貴浩, 西村 翼, 三宅 由寛, 忍久保 洋
2. 発表標題 テトラプロモジピリンを基盤とする 位修飾ジアザポルフィリンの合成
3. 学会等名 第31回基礎有機化学討論会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 瀧口 あさひ, 榊原 えりか, 杉本 宏, 荘司 長三, 忍久保 洋
2. 発表標題 オキサポルフィリニウムカチオンの構造・物性と生物活性
3. 学会等名 第31回基礎有機化学討論会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 瀧口 あさひ, Seongssoo Kang, 福井 識人, Dongho Kim, 忍久保 洋
2. 発表標題 Facile Synthesis of Bilindione and Optical Property of 5-Oxaporphyrinium Cation
3. 学会等名 11th International Conference on Porphyrins and Phthalocyanines (ICPP-11) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 八木 篤実, 忍久保 洋
2. 発表標題 Synthesis and Property of 14,15-Diazacorrphycene Palladium Complex
3. 学会等名 11th International Conference on Porphyrins and Phthalocyanines (ICPP-11) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 宮川 和弥, 福井 識人, 忍久保 洋
2. 発表標題 Redox-Induced Reversible [2+2] Cycloaddition of Etheno-Fused Diporphyrin
3. 学会等名 11th International Conference on Porphyrins and Phthalocyanines (ICPP-11) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 櫻井 貴浩, 三宅 由寛, 忍久保 洋
2. 発表標題 外周部に金属配位したテトラピリジルジアザポルフィリンパラジウム錯体の合成と物性
3. 学会等名 日本化学会第102春季年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Asahi Takiguchi, Seongsoo Kang, Norihito Fukui, Dongho Kim, Hiroshi Shinokubo
2. 発表標題 ピリンジオンの簡易合成法と5-オキサポルフィリニウムカチオンの光学特性
3. 学会等名 日本化学会第101春季年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Shuheii Akahori, Hiroshi Shinokubo, Yoshihiro Miyake
2. 発表標題 アザインドール骨格をもつオクタアザ[8]サーキュレンの合成とそのプロトン化挙動
3. 学会等名 日本化学会第101春季年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Kensuke Hanida, Norihito Fukui, Hiroshi Shinokubo
2. 発表標題 ジアザ-s-インダセンの合成と物性
3. 学会等名 若手オンラインシンポジウム
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Asahi Takiguchi, Norihito Fukui, Hiroshi Shinokubo
2. 発表標題 Synthesis and Properties of 5-Oxaporphyrinium Cation and Its Application
3. 学会等名 GTR年次報告会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Atsumi Yagi, Hiroshi Shinokubo
2. 発表標題 Synthesis and Property of 14,15-Diazacorrphycene Metal Complex
3. 学会等名 GTR年次報告会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 八木 篤実
2. 発表標題 ジアザコルフィセンの合成と物性
3. 学会等名 第46回有機典型元素化学討論会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 忍久保 洋
2. 発表標題 ヘテロ元素含有ポルフィリンの合成とその機能探索
3. 学会等名 第46回有機典型元素化学討論会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 八木 篤実、忍久保 洋
2. 発表標題 14,15-ジアザコルフィセンパラジウム錯体の合成と物性
3. 学会等名 日本化学会第100春季年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Hiroshi Shinokubo
2. 発表標題 Fusion of Porphyrin Chemistry and Organic Chemistry
3. 学会等名 Commemorative symposium in Kyoto on the retirement of Prof. Atsuhiro Osuka（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>忍久保研究室ホームページ http://www.chembio.nagoya-u.ac.jp/labhp/organic1/index.html 忍久保研究室ホームページ http://www.chembio.nagoya-u.ac.jp/labhp/organic1/index.html Dongho Kim Group https://www.fpieslab.com/ Institut Charles Gerhardt Montpellier https://www.icgm.fr/sebastien-richeter Institut des Biomol&#233;cules Max Mousseron https://ibmm.umontpellier.fr/spip.php?page=pageperso&id_user=366&lang=fr 有機合成で拓く新しい分子の世界 http://www.chembio.nagoya-u.ac.jp/labhp/organic1/research.html Sebastien Richeter https://www.icgm.fr/sebastien-richeter</p>
--

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	三宅 由寛 (Miyake Yoshihiro) (00347270)	兵庫県立大学・理学研究科・教授 (24506)	
研究分担者	Shin Jiyoung (Shin Jiyoung) (30622295)	名古屋大学・工学研究科(国際)・教授 (13901)	
研究分担者	福井 識人 (Fukui Norihito) (70823277)	名古屋大学・工学研究科・講師 (13901)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関