

(様式4)

平成26年度研究実績報告書 (研究助成)

平成 27 年 4 月 16 日

公益財団法人 長岡技術科学大学技術開発教育研究振興会理事長 殿

所属機関 米子工業高等専門学校
専攻・学年 物質工学専攻2年
氏名 野々村 拓也



1. 研究課題名

光線力学療法用光増感剤の合成と評価

2. 研究成果

◆昨年度の研究：副作用の少ない新規光増感剤として、糖質包含型8-methoxypsoralen (8-MOP)誘導体を合成し、新規光増感剤は従来の光増感剤より水溶性が高く、一重項酸素発生能が弱いことを明らかとした

本研究は、癌治療法の一つである光線力学療法における副作用を軽減するために、この療法で臨床的に使用されている8-methoxypsoralen (8-MOP)の低い水溶性と癌細胞選択性を向上させることを目的とする。昨年度までの研究では、8-MOPの水溶性と癌細胞選択性の向上のために、8-MOPへの糖質の導入を検討し、糖質としてD-グルコースかD-ガラクトースをそれぞれ包含した2種類の新規光増感剤を合成してきた。また、目的とする水溶性の向上を確認するための評価試験や、薬剤の治療効率を評価するための一重項酸素発生能の評価試験など、新規光増感剤の性能評価を行った。このことより、糖質包含型8-MOP誘導体は、従来の光増感剤である8-MOPより水溶性が高く、一重項酸素発生能が弱いことが明らかとなった。

◆本年度の研究：糖質包含型8-MOP誘導体の生物学的な性能評価(細胞毒性と細胞内取り込み量の評価)

本年度は、前年度まで行うことが出来なかった、新規光増感剤の生物学的な性能評価を行った。生物学的な評価としては、試料の細胞毒性と細胞内の取り込み量を評価する試験を行った。細胞毒性の評価は試料の治療効率を評価するために、細胞内取り込み量の評価は目的としている癌細胞選択性を評価するために行った。

◆細胞毒性評価による成果：グルコース包含型8-MOP誘導体は、DLD-1細胞株において8-MOPと同様の細胞毒性を示すことを明らかとした

細胞毒性の評価は、次の操作によって行った。まず、細胞を、光増感剤を含む培地中で、通常酸素もしくは低酸素条件下で一定期間培養した。次に、生理食塩水による洗浄と培地交換によって細胞外の光増感剤を取り除いた。そして、光増感剤が活性化する365 nmの光を照射し、一定期間培養した後、アラマーブルーもしくはクリスタルバイオレットによって細胞生存率を評価した。この操作を、14細胞株(マウス線維肉腫細胞由来の QRsP-11 細胞、ヒト膀胱癌由来の PA NC-1 細胞株、ヒト結腸癌由来の Colo320 細胞株、ヒト結腸直腸腺癌由来の WiDr細胞株、ヒト直腸腺癌由来の DLD-1 細胞株、ヒト線維肉腫細胞由来の HT1080 細胞株、ヒト肉腫由来の Saos2 細胞株、ヒトスキルス胃癌由来の OCUM-2M 細胞株、ヒト子宮頸部類上皮癌由来の HeLa229 細胞株、ヒト胎児腎細胞由来の HEK293 細胞株、ラット小腸上皮由来の IEC-6 細胞株、マウス胎児繊維芽細胞由来の BALB/3T3 細胞株、マウス線維芽細胞の NIH/3T3-3-4 細胞株、マウス黒色腫由来のB16/BL6 細胞株)によって行った。

この結果、DLD-1細胞株では 97 μMの 8-MOP を含む培地とグルコース包含型8-MOP誘導体を含む培地中で低酸素条件下で培養した群で、細胞生存率の減少が確認された(P<0.01)。この細胞生存率の減少を示した両光増感剤による減少の量を比較したところ、有意な差を示さなかった(P>0.05)。よって、DLD-1 細胞株においては、グルコース包含型 8-MOP 誘導体は、8-MOPと同等の毒性を示すことが明らかとなった。

◆細胞内取り込み量の評価による成果：グルコース包含型8-MOP誘導体は、DLD-1とHeLa229細胞株において8-MOPと同様な細胞取り込み量を示すことを明らかとした

細胞内取り込み量の評価は、次の操作によって行った。まず、細胞毒性の評価と同様に、細胞を、光増感剤を含む培地中で、通常酸素もしくは低酸素条件下で一定期間培養した。次に、生理食塩水による洗浄と培地交換を行い、細胞外の光増感剤を取り除いた。そして、光増感剤由来の波長の蛍光強度を測定し、細胞内に取り込まれている光増感剤の量を評価した。この操作を、DLD-1とHeLa229細胞株を用いて行った。

この結果、両細胞株では、通常酸素と低酸素条件の両酸素条件で、97 μMの8-MOPを含む培地中とグルコース包含型8-MOP誘導体を含む培地中で培養した群で、蛍光強度が有意に上昇した。この上昇した蛍光強度は、各光増感剤と酸素条件の違いによって有意な差を示さなかった(P>0.05)。このことより、両細胞株は、酸素条件に関係なく、8-MOPとグルコース包含型 8-MOP 誘導体を多く取り込むことが明らかとなった。

3. 助成金使用内訳 (助成額 200,000円)

備品費	0円
消耗品費	135,393円
旅費	48,175円
その他の経費	16,432円