

- 16) 河合賢朗、武田元博、石田孝宣、大内憲明。粒径の異なるナノ粒子による腫瘍間質ドラッグデリバリーシステムの解析。第18回乳癌基礎研究会、2008年7月、福島。
- 17) 権田幸祐、武田元博、樋口秀男、大内憲明。*In vivo* ナノイメージングで観えてきた癌転移の仕組み。第125回バイオメカニクス研究会(日本生体医工学会専門別研究会)、(東北大)2008年10月、仙台。
- 18) 権田幸祐、渡邊朋信、武田元博、大内憲明、樋口秀男。量子ドットを用いた腫瘍細胞の膜伸縮運動の *in vivo* イメージング。ナノ学会第6回大会、2008年5月、福岡。
- 19) 叢莉蔓、小林芳男、武田元博、櫻井遊、甘利正和、大内憲明。シリカコーティング蛍光ナノビーズによるセンチネルリンパ節生検と分子画像診断。ナノ学会第6回大会、2008年5月、福岡。
- 20) 武田元博、小林芳男、小林正樹、櫻井遊、権田幸祐、樋口秀男、大内憲明。ナノヨウ化銀ビーズによるCT造影法の外科応用に関する基礎的検討。ナノ学会第6回大会、2008年5月、福岡。
- 21) 河合賢朗、武田元博、石田孝宣、大内憲明。蛍光ナノ粒子を用いた担がんマウスにおける腫瘍間質ナノドラッグデリバリーシステムの解析。ナノ学会第6回大会、2008年5月、福岡。(若手優秀発表賞受賞)
- 22) 日景充、亀井尚、武田元博、小林正樹、大内憲明。新規ナノ粒子をトレーサーとした鏡視下手術の基礎的検討。ナノ学会第6回大会、2008年5月、福岡。
- 23) 河合賢朗、樋口秀男、武田元博、石田孝宣、鈴木昭彦、甘利正和、宇佐美伸、櫻井遊、渡部剛、大内憲明。腫瘍間質におけるナノスケールでの分子挙動解析によるDDSの解明。第108回日本外科学会定期学術集会、2008年5月、長崎。
- 24) 武田元博、樋口秀男、大内憲明、機能性ナノ粒子の医学領域における展開。異分野融合ナノテクノロジー横浜コロキウム、2008年2月、横浜。
- 25) 武田元博、河野雅弘、佐藤恵美子、山田理恵、甘利正和、鈴木昭彦、石田孝宣、大内憲明。ヘマトポルフィリン誘導体計測によるがん診断の基礎的検討。第18回乳癌基礎研究会、2008年7月、福島。

II. 知的財産権の出願登録状況

(国内特許)

該当なし

(国外特許)

該当なし

II. 分担研究報告

高感度ナノ粒子によるナノDDSとがん標的外科治療に関する研究

(分担) 研究者 武田 元博 東北大学医学系研究科 准教授

(分担) 研究者 亀井 尚 東北大学病院 助教

(分担) 研究者 甘利 正和 東北大学病院 助教

(分担) 研究者 桜井 遊 東北大学医学系研究科 助教

(分担) 研究者 河合 賢朗 東北大学医学系研究科 医員

(分担) 研究者 仲田 栄子 東北大学保健学科 助教

研究要旨

機能性ナノ粒子を用いた分子イメージングによって革新的な医療を実現すべく、新規開発したナノ材料・高感度計測装置を用いた生体計測を中心とし、今年度は大きく以下3つのテーマについて研究を行った。

- ①. 高感度計測を可能とするナノサイズマーカーの開発：粒径 20, 40nm の超微細なナノ粒子のシリカコーティング蛍光ポリスチレンビーズの作製に成功した。同ビーズを用いたセンチネルリンパ節生検を、動物をモデルとして検討し、著明な造影時間の延長を認めた。またヨウ化銀ビーズを用いて担がんマウスの腫瘍の造影に成功し、24 時間以上の造影効果の持続を認めた。シリカコーティング金粒子の作製に成功した。更に 3 重構造のシリカコーティングガドリニウムビーズの作製に成功した。
- ②. 蛍光ナノ粒子をトレーサーとした内視鏡装置による消化器のセンチネルリンパ節検出に成功した。鏡視下手術はナノ粒子による DDS の可能性を探索する研究：蛍光内視鏡装置を独自に開発し、大型動物のセンチネルリンパ節検出に成功した。その中で従来から行われている色素法と比較して検出感度が優れていることを見出した。
- ③. ナノ粒子による DDS の可能性を探索する研究：腫瘍間質におけるナノ粒子の動態を粒径 20nm, 40nm, 100nm 毎に検討し、それぞれの間質のリンパ流と拡散の影響の相違を初めて明らかにした。
- ④. ヘマトポルフィリン誘導体によるがん診断法について検討を行い、がん患者のリンパ球における有意な取り込みの増大を認めた。
シリカコーティング技術は内部のナノ粒子の安定化のみならず、粒径の調節といった大きな役割も同時に果たし、ナノ材料作製に有用な技術と言える。内視鏡を用いた蛍光計測法は高感度な病巣計測を可能とし、今後切除範囲決定などの外科応用も期待される。以上のナノトレーサーは外科並びに放射線治療における病変可視化マーカーとして有用と考えられる。

A 研究目的

近年のがん診療は薬物療法や放射線療法そして外科治療を組み合わせることで最大の効果を発揮する、いわゆる集学的治療が主流であり、多くの診療科が協力して複

数の治療法を組み合わせることで一般化しつつあり、集学的治療が一般化するにつれ、がんの予後は向上しつつある。言うまでもなく放射線療法、化学療法並びに外科的切除はがん治療の 3 本の柱と

もいべき治療法である。外科的切除は腫瘍を物理的に除去する絶対的な治療法であり、以前は拡大手術によって完全に悪性腫瘍を取り去ることが理想と考えられた。しかし拡大手術による様々な障害への反省から、外科切除の際、臓器を温存し手術による障害を軽減するため、腫瘍周辺の最小限の正常組織を含めた腫瘍切除（部分切除）すなわち臓器温存、更には臓器の機能温存を目指した手術が近年様々な臓器に対して行われている。基本的に早期の悪性腫瘍に対する外科治療の目的は完全な切除であり、一般的に外科手術は腫瘍病巣に加え、安全域としてある程度正常組織を含めた切除によって、完全な腫瘍摘出を目指してきた。しかし、時として悪性腫瘍が肉眼で確認できない微細な浸潤によって周囲に拡がり、肉眼的に切除し得たと判断しても、後に病理診断で断端陽性と診断されることが起こり得る。当然肉眼・触診による切除範囲決定には精度的に限界があり、近年求められている医療の個別化を外科手術に適用し、臓器温存手術を行うためには、手間と時間がかかっても迅速病理診断が欠かせない。しかし迅速病理診断が可能な病院は一部の大病院のみである。外科手術において病理診断に匹敵するがんのイメージング法があれば手術時間の短縮と病理医の負担軽減を同時に達成することが可能である。そのためには腫瘍を超微細なレベルまで可視化する必要がある。ほとんどの腫瘍は体表より深部に存在しているため、腫瘍のマーキングにはX線やMRIおよび蛍光計測法が有力な方法である。我々はすでにX線やMRIのナノ

サイズレーザーを開発しており、ナノレベルおよびマクロレベルでの高感度計測を可能とする手法を開発してきた。従来の蛍光計測法は最も蛍光の強い量子ドットを用いた場合でも深部方向の計測限界が1cm程度であり、これが蛍光計測法の臨床応用を阻むひとつの要因であった。また一方で、抗がん剤を腫瘍に効率的に到達させることで抗腫瘍効果を高める必要性が指摘され、いまやドラッグデリバリーシステム（DDS）は薬効を得るための重要な研究分野となった。抗がん剤などの薬物動態を確実に知るためには従来のマクロレベルで全量を測る計測ではなく、1分子レベルの計測が最も正確であり、そのためには従来の医学的手法では行い得なかった超精密な*in vivo*蛍光計測法の開発が必要である。我々は*in vivo*で蛍光ナノ粒子を1粒子レベルで計測する手法を開発し薬剤のDDS解明に用いるべく研究を進めてきた。本研究では、特に社会的に緊急性の高いがん診断・治療の革新的技術開発を目指し、がんのナノ粒子DDSの*in vivo*におけるナノからマクロレベルの新規計測を行い、新たな診断・治療法の開発、医療応用を目的としている。

近年、特殊な構造・機能を持つナノ粒子が数多く作製され、様々な分野で応用が試みられている。特に医学・薬学分野では、これまで不可能であった診断・治療の実現が期待される。しかし多くのナノ粒子は、安全性が確立されておらず、体内動態も明らかにされていないのが実状である。ゆえに、本研究においては蛍光ナノ粒子を用いた生体内単分子イメージングを試み、乳がんをモデルとした、

センチネルリンパ節および、がん病変の可視化による新たな外科治療を開発するとともに、ナノ粒子の体内動態の解明や安全性の確立に向けた研究、深部蛍光トレーサー検出技術の開発も併せて行う。

ヘマトポルフィリンは腫瘍組織に集積することが知られ、従来がんの診断や治療に利用され、最近では、ヘマトポルフィリン誘導体はナノ粒子の機能性修飾分子としても期待される。我々はこれまでがん患者において末梢血リンパ球にヘマトポルフィリン誘導体が蓄積することを突き止めており、がんの診断に応用すべく検討を行った。

B 研究方法

上記目的のため、高感度ナノ粒子作製グループと共に、X線ナノマーカーとして既に開発したナノサイズヨウ化銀ビーズについて、体内動態を明確にし、腫瘍の造影効果を検証する。またそれに並行して、蛍光計測により病巣を可視化する上で不可欠な、生体深部に存在する蛍光色素を検出する技術の開発に取り組む。ナノ粒子安全性・体内動態検討グループ（武田、粕谷、小林芳、甘利、亀井、仲田）、高感度蛍光検出グループ（亀井、甘利、小林正、武田）、ナノ粒子DDSグループ（河合、権田、武田）がそれぞれ下記項目について研究を行った。

1. ナノサイズシリカコーティング蛍光ビーズの作成とリンパ輸送動態の解明（武田、亀井、桜井、甘利、小林正、小林芳、仲田）：粒径20, 40nmの蛍光ポリスチレンビーズにStöber法でシリカコーティングを施した。シリカ層形成にもつ

とも大きな影響を与えるのはシリカ源であるTetraethyl orthosilicate (TEOS)濃度である。本研究ではTEOS濃度を変え、シリカコーティングに最適なTEOS濃度を検討した。またコーティングした蛍光ナノ粒子を用いて、ラット鼠径部のセンチネルリンパ節を検出する検討を行った。ラットに麻酔を施し、下半身を除毛して足背にシリカコーティング蛍光ナノ粒子懸濁液を皮下注射して膝窩並びに鼠径部の蛍光観察を行い、センチネルリンパ節の検出率並びに蛍光造影持続時間の検討を行った。リンパ節については実験後、透過型電子顕微鏡 (TEM)で観察し、その局在から輸送様式を推測した。すなわち、リンパ節には貪食性細胞としてリンパ節内在性の樹状細胞と遊走性細胞であるマクロファージが存在するが、樹状細胞に取り込まれていればナノ粒子が直接リンパ管を通じて輸送されて樹状細胞に貪食されたと判断し、もしマクロファージに取り込まれていれば注射した皮下で取り込まれてマクロファージによってリンパ節に運ばれたと考える。

2. 蛍光計測を用いた内視鏡装置による病巣可視化と新しい外科手術の開発（武田、甘利、亀井、権田、小林正）：腫瘍の拡がりを正確に可視化するためには、生体に対し安全かつ検出可能なトレーサーと高感度な計測技術の2つが必要である。腫瘍のマーキングには従来色素や蛍光計測法が有力な方法のひとつである。しかしながら従来動物実験に使用されていた蛍光ナノ粒子は安全性確保のためのコーティングがなされておらず、医療応用には何らかの安定性を確保するためのコーテ

ィングが必要である。今回粒径約20nmの量子ドットを用い、ブタをモデルとして胃のセンチネルリンパ節の検出実験を行い、色素法との比較を行った。ラットをモデルとしたセンチネルリンパ節検出を試みコーティング蛍光ビーズの生体計測の有用性について検討した。さらに電顕にて組織像を確認し、輸送経路の特定を行った。

3. ナノ粒子によるDDSの可能性を探索する研究(河合、権田、武田)：ナノ粒子の腫瘍における動態を解明すべく、担がんマウスをモデルとして、20nm、40nmおよび100nmの蛍光ナノ粒子を静脈投与した後、蛍光1粒子イメージング装置を用いてそれぞれの粒子の挙動を1粒子レベルで計測し、その特徴を解析した。

4. ヘマトポルフィリン誘導体によるがん診断(武田、甘利、河合、権田)：がん患者と健康人から採血して分離したリンパ球をそれぞれヘマトポルフィリン誘導体で染色し、染色リンパ球にレーザー照射してヘマトポルフィリンから一重項酸素を発生させ、一重項酸素が基底状態に戻る際の発光を計測した。

倫理面への配慮

本研究は現在までのところ、動物実験による有効性、安全性の検証が主目的である。動物を用いた実験はすべて全身麻酔下に行っており苦痛を伴うものではない。また本研究における動物実験計画は本学動物実験委員会に実験計画書を提出し、認可されている。

C 研究結果

1. シリカコーティング蛍光ビーズを用いたセンチネルリンパ節生検の検討(武田、亀井、甘利、小林芳、仲田)：シリカコーティング層の生成にはシリカ源であるTEOS濃度が最も重要である。今回、TEOS濃度をそれぞれ0.00038、0.0015、0.009、0.02、0.2Mに変えてシリカコーティングに最適なTEOS濃度を探索した。その結果、TEOS濃度0.02Mで厚さ10nmのシリカ層を形成し、それ以下ではシリカは蛍光ナノ粒子を巻き込んで凝集し、それより高濃度ではシリカ粒子が単体で生成し、蛍光ナノ粒子表面にシリカ層が形成し難いことがわかった。銀ビーズの体内動態について、ラットにヨウ化銀ビーズを静脈注射直後、経時的にX線CTで撮像して造影効果の持続を確認した後、安楽死させ、各臓器を摘出して透過型電子顕微鏡でヨウ化銀粒子の分布を観察し、一部の個体は誘導結合プラズマ法で銀の元素定量を行った。その結果、投与直後は肺、肝、腎、脾臓とも血管内のヨウ化銀ビーズを確認できたが、その後は肝細胞にのみ取り込みが見られ、それ以外の臓器ではヨウ化銀ビーズを認めなかった。誘導結合プラズマ法については、投与後24時間までは脾臓と肝臓に銀が検出されたが、1週間後にはまったく検出されなくなった。また腎臓においてはシリカコーティングヨウ化銀ビーズが血流中に存在する時間以外には銀はほとんど検出されず、以上により体外への完全排泄が示唆された(2nd "Hot Topics in Molecular Imaging - TOPIM" meeting of the European Society for Molecular Imaging)。

新たなMRI造影剤として、ガドリニウムナノ粒子を作製した。ガドリニウムはそれ自体コロイドを形成し難いため、最初にStöber法によりシリカナノ粒子を作製し、ガドリニウムコーティングを施した後、更にシリカコーティングし、3重粒子とすることで初めて作製に成功した (Colloids and Surfaces A, 2007)。ガドリニウム内包シリカコーティングビーズはMRIで撮像し、水および昨年度に作製したシリカガドリニウムナノ粒子と比較して高い造影効果を示すことが確認できた。今回作製したシリカコーティング金コロイド粒子は、X線CTにて水に比較して増強効果を認め、培養細胞を用いた毒性試験を行った (*J. Nanosci. Nanotech.*, 2007)。

2. 蛍光内視鏡を用いた腫瘍可視化による新しい外科手術の開発 (武田、甘利、亀井、小林正) :

1) 鏡視下手術における蛍光検出法の開発 ; 鏡視下手術は主に腹腔、胸腔内の外科手術において低侵襲な手術方法として知られ、センチネルリンパ節生検とともに外科治療の中心になりつつある。センチネルリンパ節生検は、様々な悪性腫瘍の手術へ応用されており、リンパ節転移陰性症例の不要なリンパ節郭清を省略し得る手法として広く行われている。我々はこれまでセンチネルリンパ節生検における蛍光計測法の利用を提唱し、最適な波長と粒子サイズの検討を行い、蛍光波長は近赤外光、粒子サイズは40nmが妥当であることを発表してきた (Nakajima, *Cancer Science*, 2005)。今回、量子ドットを用い、よりヒトに近い大型動物であ

るブタをモデルとして量子ドットを用いた腹腔内センチネルリンパ節検出に成功した。量子ドット (蛍光波長700nm) は懸濁液を原液で200 μ lとパテントブルーバイオレット1%液200 μ lの混合液を胃漿膜下に注射し、633nmのレーザー光で光励起しつつ高感度CCDカメラに700nmを中心としたバンドパスフィルターを組み合わせた装置で画像計測した (図1)。更に多方向存在するセンチネルリンパ節の検出を可能とする多色での検出にも成功した。従来から行われる色素法との比較で、量子ドットは色素法を上回る検出率を示した。蛍光色素は色素と異なり肉眼的に視野を汚すことがなく、肉眼での手術手技を妨げることがないため極めて有用と考えられる。蛍光法はその検出限界が1cm程度とまだ実用的な深さの計測ができないことが最大の問題であり、より深い深度に存在する蛍光色素を検出し得る超音波蛍光断層撮影法と組み合わせた装置の実用化が期待される。これまで実態顕微鏡による断端観察法を検討してきたが、内視鏡はある程度の拡大観察も可能なことから鏡視下手術のみならず、通常の肉眼でも手術にも断端の観察など病巣検出に利用可能であることがわかったため実用性を考え、内視鏡観察での。

また、シリカコーティングヨウ化銀ビーズによる腫瘍の造影に初めて成功した。

3. ナノ粒子によるDDSの可能性を探索する研究 (河合、権田、武田) : 20nm、40nmおよび100nmの蛍光ナノ粒子をそれぞれ静脈投与した後、dorsal skin fold chamber法により露出した腫瘍を、蛍光1粒子イメージング装置を用いて、腫瘍血管

付近、腫瘍間質、腫瘍細胞間について、それぞれの粒子の動きを観察した。その結果、20nmの粒子は腫瘍血管付近、腫瘍間質、腫瘍細胞間のそれぞれの場所でリンパ流の影響を強く受け、一定の方向に移動するのに対し、100nmの粒子は特に腫瘍間質、腫瘍細胞間でリンパ流の影響をほとんど受けず、拡散運動を行うことが明らかになった (2nd “Hot Topics in Molecular Imaging – TOPIM” meeting of the European Society for Molecular Imaging)。

4. ヘマトポルフィリン誘導体によるがん診断 (武田、甘利、河合、権田) : 今回の検討で症例数が少なく、がん種はそろっていないものの、肺がん、腎がん、乳がんなどの症例で健康人に比べて有意なヘマトポルフィリン誘導体の取り込みの増大を認めた (Kohno, TJEM, 2008)。

D 考察

我々の研究の目的は、高機能ナノ粒子の開発と医療応用である。機能性ナノ粒子を用いた高感度計測法を確立するにあたって、ブレイクスルーとなる新しい基盤計測技術の開発はもちろんのこと、ナノ粒子の体内動態・排泄経路の明確化、安全性の確立も欠かすことはできない。本年は既に既存の蛍光ナノ粒子にシリカコーティングを施し、センチネルリンパ背生検における有用性を検討した。更に開発したナノ粒子の生体内動態、排泄経路、安全投与量のうち、シリカコーティング蛍光ナノ粒子はリンパ節への輸送様式を貪食された細胞から検討した。以下、個々の項目について考察した。

1. シリカコーティング蛍光ビーズを用

いたセンチネルリンパ節生検の検討 (武田、亀井、甘利、小林芳、仲田) : シリカコーティング蛍光ビーズがセンチネルリンパ節トレーサーとして有用であることを今回初めて示した。粒径40nmの蛍光ナノ粒子をシリカコーティングしたものは造影時間が2倍以上延長した。これは主にサイズの増大効果があるためと考えられる。コーティングしない粒子に比べて100分以上の造影時間延長を認めた。この結果はわずかな粒径の違いで滞留性が大きく変わることを示しており、サイズを調整する手段としてシリカコーティング技術は極めて有用と考えられる。また、シリカコーティングによって蛍光寿命が延長することも確認しており、内包する蛍光粒子保護の意味からも有用と言える。現在更に粒径を微調節する技術を確立し、リンパ節をはじめとする組織滞留性を調節する技術として今後の発展が期待される。シリカコーティング粒子は、これまでの研究でシリカコーティングヨウ化銀粒子の体内動態を検討しており、臓器としては肝臓並びに脾臓に蓄積し、腎臓には蓄積しないことがわかっている。更に腫瘍の造影実験にも成功し、従来の造影剤に比べ長時間の造影効果を有することがわかっている。この結果はナノ粒子の大きさの違いにより腫瘍間質の動態が大幅に異なる結果とも一致しており、昨年度の一定の大きさを持つナノ粒子が腫瘍間質において造影効果は投与後24時間以降も持続し、1週間以内に排泄されることが明らかになっている。また、誘導結合プラズマ法による定量計測では胆汁中に銀が検出され、尿中には銀が検出され

なかったことからシリカコーティングヨウ化銀ビーズの胆汁排泄が強く示唆された。更に、血管内で凝集等も起こさず、短期観察ではあるが血栓形成等の重大な障害も認められなかった。現在多くのナノ粒子は体内動態、排泄経路明らかにされていないが、シリカコーティングナノ粒子については体内動態、排泄経路の重要な部分が解明されつつある。したがってシリカコーティング技術は今後、ナノ粒子の臨床応用、またその用途を決める上で大きな役割を果たすものと期待される。

以上によりシリカコーティングヨウ化銀ビーズはその粒径により病変の造影効果を長時間維持したい場合に有用であり、外科手術や放射線治療など、治療において病変の領域を視覚化する際に実に有望な新規マーカーである。また、がんの場合 EPR (extended permeability and retention) 効果があるため、さらに長時間にわたって腫瘍に蓄積し、造影効果を維持することが期待される。

また、前年度でシリカコーティングヨウ化銀ビーズのCT値が従来の造影剤に比べて低いことが問題となっていたが、今年度の研究でこれまでのシリカコーティングヨウ化銀ナノ粒子の10倍程度の懸濁液に比べ10倍と従来の造影剤に匹敵するCT値が得られ、今後の臨床応用に向けて一つの大きな問題を解決したと言える。今後更に粒径の小さなシリカコーティングヨウ化銀ビーズの高濃度化を行う予定である。シリカコーティングを含め、ナノ粒子コーティング技術はナノテクノロジーの将来を決める重要な技術である

ことから、今回体内分布・動態が詳細に示された意義は大きい。

2. 蛍光内視鏡を用いた腫瘍可視化による新しい外科手術の開発(武田、甘利、亀井、小林正ら)：今回、臨床を想定した内視鏡を用いて胃の所属リンパ節の検出実験を行ない、ブタの胃所属リンパ節を100%検出することができたが、色素法に比べてやや優れた検出率を示すことが初めて明らかにされた。本方法で肉眼による色素法では識別が困難なリンパ節も蛍光検出できることができ、この結果により蛍光検出法は、センチネルリンパ節生検に有用だけでなく、蛍光色素でマーキングした腫瘍病変の検出・外科手術への応用も可能で、肉眼での観察に比べて高感度な病巣検出を可能にすると考えられ、我々が将来的に目指す腫瘍を完全に切除し得る精密な外科手術法の確立に大きく貢献しうる基盤技術になり得る。現在の検出装置は試作機であるため、今後更に改良を重ね、滅菌環境で使用し得る装置を作製していく予定である。

3. ナノ粒子によるDDSの可能性を探索する研究(河合、権田、武田)：今回初めてナノ粒子の腫瘍における運動はその粒径によって大きく異なることが詳細に示された。この知見は、機能性ナノ粒子のDDSを考える上で極めて有用であり、例えば、早く腫瘍細胞に到達させたい場合は粒径の小さな粒子、間質に長くとどめたい場合には粒径の比較的大きな粒子を選択することで目的とするDDSが選択可能なことを示している。

4. ヘマトポルフィリン誘導体によるがん診断(武田、甘利、河合、権田)：ヘマト

ポルフィリン誘導体は腫瘍組織に蓄積し、がん診断や光線力学療法に利用されてきた。光照射によって活性酸素を生成し、がん治療にも応用可能なことから修飾分子の有力な候補である。我々はがん患者のリンパ球にヘマトポルフィリン誘導体が蓄積することを見出し、リンパ球に蓄積したヘマトポルフィリン誘導体の計測を、がん診断に応用すべく検討を行ってきた。今回の検討によりがん患者の末梢血からがん診断が可能であることが示唆された。ただし、がん特異性はないため検診などに応用可能と思われる。今後はそれぞれのがんについて検出感度を確定するための検討を進める予定である。以上によりヘマトポルフィリン誘導体はがんの診断から治療まで幅広い応用が可能であり、ナノ粒子の修飾分子として有用であることが示唆された。

E 結論

シリカコーティング技術は蛍光ナノ粒子の滞留性を著しく向上させ、蛍光寿命の延長などの特性向上と相まって極めて有用な機能付与技術と言える。ナノ粒子のコーティング技術は機能を付与する上でも、ナノ粒子を保護し、生体適合性を得る上でも重要な技術であり、今後の更なる発展が期待される。昨年度の明らかにした生体内の排泄経路の特定と相まってナノ粒子の医療応用を推進する上で欠かせない技術となる。ナノ粒子の体内動態は医療を中心とした生体応用に不可欠な研究であり、今後の医療応用に向けて、大きな弾みになると考えられる。また、深部に存在する蛍光色素の検出を

可能とする技術、内視鏡観察技術の開発は、蛍光計測の医療応用を進める上で極めて重要な意義を持つ。また大型動物において鏡視下に腹腔内のセンチネルリンパ節を検出できた意義は大きい。

更にナノ粒子の生体に対する安全性確保はナノメディシンを円滑に実現する上で最も重要であり、慎重かつ的確に行なわなければならない。したがって引き続き体内動態を含めた検討を行う必要がある。

F 健康危険情報

現在までのところ、本研究は人間を対象としたものではないため、健康に対する害は生じない。

G 研究発表

1. 論文発表

1. Kobayashi M, Mizumoto T, Shibuya Y, Takeda M and Enomoto M. Fluorescence tomography in turbid media based on acousto-optic modulation imaging. *Applied Physics Letter* 2006; 89: 1811022.
2. Lima R, Wada S, Takeda M, Tsubota K, Yamaguchi T, *n vitro* confocal micro-PIV measurements of blood flow in a square microchannel: The effect of the haematocrit on instantaneous velocity profiles. *Journal of Biomechanics*, 40, 2752-2757, 2007
3. Kobayashi Y, Imai J, Nagao D, Takeda M, Ohuchi N, Kasuya A, Konno M, Preparation of multilayered

- silica-Gd-silica core-shell particles and their magnetic resonance images. *Colloids and Surfaces A*, 308 (1), 14-19, 2007
4. Kobayashi Y, Misawa K, Takeda M, Ohuchi N, Kasuya A, Konno M, Control of Shell Thickness in Silica-Coating of AgI Nanoparticles. *Advanced Materials Research* 29-30, 191-194, 2007
 5. Park YS, Kasuya A, Dmytruk A, Yasuto N, Takeda M, Ohuchi N, Sato Y, Tohji, K Uo M, Watari F. Concentrated colloids of silica-encapsulated gold nanoparticles: colloidal stability, cytotoxicity, and X-ray absorption. *J. Nanosci. Nanotech.* 7 (8), 2690-2695, 2007.
 6. Park YS, Dmytruk A, Dmitruk I, Noda Y, Kasuya A, Takeda M, Ohuchi N. Aqueous-phase synthesis of ultra-stable small CdSe nanoparticles. *J. Nanosci. Nanotech.* 7 (11), 3750-3753 2007
 7. Zhou X, Shao Z, Kobayashi Y, Wang X, Ohuchi N, Takeda M, Kasuya A, Photoluminescence of CdSe and CdSe/CdO·nH₂O Core/Shell Nanoparticles Prepared in Aqueous Solution. *Optical Materials*, 29, 1048-1054, 2007
 8. Takeda M, Tada H, Higuchi H, Kobayashi Y, Kobayashi M, Sakurai Y, Ishida T, Ohuchi N, *In vivo* single molecular imaging and sentinel node navigation by nano-technology for single molecular targeting drug delivery system and tailor made medicine. *Breast cancer*, 15(2), 145-152, 2008.
 9. Ishida T, Takeda M, Suzuki A, Amari M, Ohuchi N, Significance of irradiation in breast conserving treatment: comparison of local recurrence rates in irradiated and nonirradiated groups. *Int J Clin Oncol*, 13, 12-17, 2008
 10. Lima R, Wada S, Takeda M, Ishikawa T, Tsubota K, Imai Y, Yamaguchi T, n vitro blood flow in a rectangular PDMS microchannel: experimental observations using a confocal micro-PIV system. *Biomed Microdevices*, 10, 153-167, 2008
 11. Kobayashi Y, Shimizu N, Misawa K, Takeda M, Ohuchi N, Kasuya A, Konno M, Preparation of amine free silica coated AgI nanoparticles with modified Stöber method. *Surfaces Engineering*, 24 (4), 248-252, 2008
 12. Kandori T, Hayase T, Inoue K, Funamoto K, Takeno T, Ohta M, Takeda M, Shirai A, Frictional Characteristics of Erythrocytes on Coated Glass Plates Subject to Inclined Centrifugal Forces. *Journal of Biomedical Engineering*, 130 (5), 051007-1-8, 2008.
 13. Kohno M, Takeda M, Niwano Y, Saito R, Emoto N, Tada M, Kanazawa T, Ohuchi N and Yamada R, Early

- diagnosis of cancer by detecting the chemiluminescence of hematoporphyrins in peripheral blood lymphocytes. *Tohoku J. Exp. Med.*, 216 (1), 47-52, 2008.
14. Suzuki A, Kuriyama S, Kawai M, Amari M, Takeda M, Ishida T, Ohnuki K, Nishino Y, Tsuji I, Shibuya D, Ohuchi N, Age specific interval breast cancers in Japan: estimation of the proper sensitivity of screening using a population-based cancer registry. *Cancer Science*, 99 (11): 2264-2267, 2008.
 15. Suvitha A, Belosludov RV, Mizuseki H, Kawaoe Y, Takeda M, Kohno K, Ohuchi N, TD-DFT studies on hematoporphyrin and its dimers. *Materials Transactions*, 49 (11), 2416-2419, 2008
 16. Ishida T, Kiba T, Takeda M, Matsuyama K, Satoshi Teramukai S, Ishiwata R, Masuda N, Yuichi Takatsuka Y, Noguchi S, Ishioka C, Fukushima M, Ohuchi N. Phase II study of capecitabine and trastuzumab combination chemotherapy in patients with HER2 overexpressing metastatic breast cancers resistant to both anthracyclines and taxanes. *Cancer Chemother Pharmacol* (in press)
 17. 大内憲明、武田元博、石田孝宣、手術と放射線、山田章吾編「早期のがん治療法の選択 放射線治療」、金原出版株式会社、46-51、2006。
 18. 中島護雄、武田元博、大内憲明。蛍光ナノ粒子による癌センチネルリンパ節検出とナノ医療の展望。日本機械学会誌 2006年2月 小特集号「医療工学 -工学による医療の再編-」2006 ; 109 (1047) : 90-92。
 19. 桜井 遊、武田元博、小林芳男、中島護雄、亀井 尚、粕谷厚生、川添良幸、大内憲明、新規ナノサイズヨウ化銀ビーズを用いた造影効果と X 線センチネルリンパ節生検への応用。乳癌基礎研究 2006 ; 16 : 43-47。
 20. 武田元博。医工連携のための技術者再教育プロジェクトー医学からみたー。日本機械学会誌 2006年2月、小特集号「医療工学 -工学による医療の再編-」2006 ; 109 (1047) : 104-105。
 21. 樋口秀男、渡邊朋信、多田寛、武田元博、大内憲明。バイオナノイメージングとナノ医療。応用物理 2006 ; 75(6) : 695-698。河合賢朗、石田孝宣、武田元博、多田 寛、大内憲明、外科医に必要ながん化学療法の知識 B. がん化学療法の実際 7. 乳癌 「乳癌の集学的治療と化学療法」。外科治療、Vol.98、241-249、2008:増刊
 22. 武田元博、権田幸祐、樋口秀男、大内憲明、がん分子イメージングの新展開。癌と化学療法、Vol.35、No. 8、1277-1280、2008
 23. 武田元博、桜井 遊、叢 莉蔓、小林芳男、菅原旭浩、大内憲明、新規開発ナノサイズヨウ化銀ビーズを用いた X 線 CT 造影効果および体内動態の検討。乳癌基礎研究、Vol.17、57-60、2008

24. 武田元博、小林芳男、小林正樹、櫻井遊、甘利正和、石田孝宣、鈴木昭彦、大内憲明。機能性ナノ粒子による生体イメージングががん診療への応用ー。ナノメディシン ナノテクの医療応用、宇理須恒雄編、オーム社、pp. 64-74、2008
25. 武田元博、権田幸祐、大内憲明。機能性ナノ粒子の医学領域における展開。有機分散系の分散・凝集技術、川口春馬編、シーエムシー出版、pp. 252-261、2008
1. 学会発表
(国際会議)
1. Sakurai Y, Takeda M, Kasuya A, Kobayashi Y, Kamei t, Amari M, Cong L, Ohuchi N. Nano size silver iodide beads as novel contrast media for sentinel lymph node navigation surgery. The 9th International Symposium of Future Medical Engineering based on Bio-manotechnology, Sendai, January 7-9, 2007.
2. Cong L, Takeda M, Ohuchi N. Silica coated nano-particles for biomedical contrast imaging. The 9th International Symposium of Future Medical Engineering based on Bio-manotechnology, Sendai, January 7-9, 2007.
3. Takeda M, Tada H, Kawai M, Sakurai Y, Higuchi H, Ohuchi N, In vivo Single Molecular Imaging and Sentinel Node Navigation using Nano-biotechnology for Medical Application. The 3rd Tohoku-NUS Symposium on Nano-Biomedical Engineering in the East Asian-Pacific Rim Region, 10-11 Dec 2007, National University of Singapore
4. Kawai M, Takeda M, Higuchi H, Ohuchi N, Tumor Interstitial Nano-particle Delivery and Analysis in the Human Tumor Xenograft in Mice. The 3rd Tohoku-NUS Symposium on Nano-Biomedical Engineering in the East Asian-Pacific Rim Region, 10-11 Dec 2007, National University of Singapore
5. Hamanaka Y, Takeda M, Tada H, Kawai M, Sakurai Y, Amari M, Suzuki A, Ishida T, Ohuchi N, In vivo tracking of anti-cancer drugs and the active sites conjugated with quantum dots. The 3rd Tohoku-NUS Symposium on Nano-Biomedical Engineering in the East Asian-Pacific Rim Region, 10-11 Dec 2007, National University of Singapore
6. Sakurai Y, Takeda M, Cong L, Amari M, Kasuya A, Kobayashi Y, Kamei T, Ohuchi N, In vivo Distribution of Silver Iodide Beads in Cancerous Legions. The 3rd Tohoku-NUS Symposium on Nano-Biomedical Engineering in the East Asian-Pacific Rim Region, 10-11 Dec 2007, National University of Singapore

7. Kawai, M., Higuchi, H., Gonda, K., Takeda, M., and Ohuchi, N. In vivo imaging of vascular permeability using nano-objects in mice tumor. 2nd "Hot Topics in Molecular Imaging - TOPIM" meeting of the European Society for Molecular Imaging. February 2008 Grenoble, France.
8. Ohuchi, N., Takeda, M., Kawai, M., Tada, H. Sakurai, Y., Gonda, K., and Higuchi, H. Novel imaging techniques with functional nano-objects for cancer diagnosis. 2nd "Hot Topics in Molecular Imaging - TOPIM" meeting of the European Society for Molecular Imaging, February 2008 Grenoble, France.
9. Ohuchi N, Takeda M, Kawai M, Tada H, Sakurai Y, Gonda K, Higuchi H. Novel imaging techniques with functional nano-objects for cancer diagnosis. Hot Topics in Molecular Imaging 2008 (TOPIM' 08), European Society for Molecular Imaging, Les Houches, France, February 4-8, 2008.
10. Kawai M, Higuchi H, Gonda K, Takeda M, Ohuchi N. In vivo imaging of vascular permeability using nano-objects in mice tumor. Hot Topics in Molecular Imaging 2008 (TOPIM' 08), European Society for Molecular Imaging, Les Houches, France, February 4-8, 2008.
11. Ohuchi N, Takeda M, Kawai M, Tada H, Sakurai Y, Gonda K, Higuchi H. Molecular imaging with functional nano-objects for cancer diagnosis. The 5th International Symposium on Nano-Biomedical Engineering Education and Research Centre. March, 27-28, 2008, Matsushima, Japan
12. Ishida T, Kiba T, Takeda M, Matsuyama K, Teramukai S, Masuda N, Takatsuka Y, Noguchi S, Fukushima M, Ohuchi N. Phase II study of Capecitabine and Trastuzumab combination chemotherapy in patients with HER2 overexpressing metastatic breast cancers after failure of both Anthracyclines and Taxanes. The 44th American Society of Clinical Oncology (ASCO) Annual Meeting, May 30 - June 3, 2008, Chicago
13. Suzuki T, Moriya T, Hayashi S, Ohuchi N, Sasano H. Intratumoral concentration of sex steroids in ductal carcinoma in situ (DCIS) of human breast. *Breast Cancer*, 15, Supplement 1, 10-10, 2008, The 26th Congress of the International Association for Breast Cancer Research, September 22-24, 2008, Kurashiki, Japan
14. Nakano T, Tse GM, Tan PH, Kozuka Y, Kanomata N, Ishida T, Ishida K, Watanabe M, Tamaki K, Ohuchi N, Sasano H, Moriya T. Triple negative subtype of ductal carcinoma in situ

- in Asian women. *Breast Cancer*, 15, Supplement 1, 19-19, 2008, The 26th Congress of the International Association for Breast Cancer Research, September 22-24, 2008, Kurashiki, Japan
15. Kozuka Y, Moriya T, Akiyama F, Kurosumi M, Tse GM, Tan PH, Kanomata N, Ohuchi N, Kurebayashi J, Sasano H. *Breast Cancer*, 15, Supplement 1, 19-20, 2008, The 26th Congress of the International Association for Breast Cancer Research, September 22-24, 2008, Kurashiki, Japan
 16. Kawai M, Takeda m, Ishida T, Suzuki A, amari M, Ohuchi n. *Breast Cancer*, 15, Supplement 1, 33-33, 2008, The 26th Congress of the International Association for Breast Cancer Research, September 22-24, 2008, Kurashiki, Japan
 17. Takeda M, Sakurai Y, Kobayashi Y, Cong L, Hikage M, Amari M, Ishida T, Gonda K, Ohuchi N. *Breast Cancer*, 15, Supplement 1, 37-37, 2008, The 26th Congress of the International Association for Breast Cancer Research, September 22-24, 2008, Kurashiki, Japan
 18. Harada N, Yamada T, Ishida T, Takeda Suzuki A, Amari M, Moriya T, Ohuchi N. *Breast Cancer*, 15, Supplement 1, 36-36, 2008, The 26th Congress of the International Association for Breast Cancer Research, September 22-24, 2008, Kurashiki, Japan
 19. Noriaki Ohuchi. Plenary lecture: Drug resistance as a target for cancer chemotherapy by Fujita N. The 26th Congress of the International Association for Breast Cancer Research, September 22-24, 2008, Kurashiki, Japan (Chairman)
 20. Gonda, K., Takeda, M., Kawai, M., Sakurai Y, Higuchi H., Ohuchi, N. Imaging of cancer metastasis in living tumor with quantum dots. The 7th International Symposium on Nano-Biomedical Engineering, October 2008, National Cheng Kung University, Tainan
 21. Takeda M, Tada H, Kawai, M, Sakurai Y, Cong L, Gonda K, Higuchi H, Ohuchi N. Bio-imaging by functional nano-particles of nano to macro scale. The 13th International Conferencenon Biomedical Engineering, December 3-6. 2008, Singapore
 22. Kawai, M, Takeda M, Ohuchi N. The feature of the interstitial nano drug delivery system with fluorescent nanocrystals of different sizes in the human tumor xenograft in mice. The 13th International Conferencenon Biomedical Engineering, December 3-6. 2008, Singapore
 23. Cong L, Takeda M, Watanabe M, Kobayashi Y, Kobayashi M, Ohuchi N. Silica-coated fluorescent

nano-Particles for sentinel lymph node biopsy and mapping. Tohoku-NUS student joint symposium. December 9-10, 2008, Singapore.

(国内会議)

1. 桜井 遊、武田元博、小林芳男、中島護雄、亀井 尚、粕谷厚生、川添良幸、大内憲明。新規ナノサイズヨウ化銀ビーズを用いた造影効果と体内動態の検討。第106回日本外科学会定期学術集会、東京、2006年3月。
2. 武田元博、中島護雄、小林芳男、小林正樹、桜井遊、亀井尚、叢莉蔓、甘利正和、粕谷厚生、石田孝宣、鈴木昭彦、大内憲明。機能性ナノ粒子を用いたセンチネルリンパ節イメージング第65回日本癌学会学術総会、横浜、2006年9月
3. 桜井 遊、武田元博、小林芳男、中島護雄、亀井 尚、粕谷厚生、川添良幸、大内憲明。新規ナノサイズヨウ化銀ビーズを用いたセンチネルリンパ節の造影効果と体内動態の検討。第14回日本乳癌学会学術集会、金沢、2006年7月。
4. 清水直樹、小林芳男、武田元博、大内憲明、今野幹男。X線造影用AgI/SiO₂コア-シェル型複合粒子の合成。第8回化学工学会学生発表会、一関、2006年3月。
5. 水本喬、武田元博、榎本幹、小林正樹。音響光学効果を利用した生体計測のための超音波タグ蛍光イメージング法。第61回応用物理学会東北支部学術講演会、2006年12月、仙台。
6. 武田元博、権田幸祐、桜井 遊、河合賢朗、石田孝宣、大内憲明。機能性ナノ粒子による生体イメージングの臨床検査・外科への応用第55回日本臨床検査医学会 学術集会、シンポジウム10: 医学領域におけるナノ粒子展開をめぐる話題「機能性ナノ粒子による生体イメージングの臨床検査への応用」、2008年11月、名古屋。
7. 武田元博、樋口秀男、小林正樹、小林芳男、大内憲明。機能性ナノ粒子によるナノからマクロレベルの生体イメージング。2008年(平成20年)春季応用物理学関係連合講演会 ナノテクの難病研究・医療への応用、2008年3月、千葉。
8. 権田幸祐、渡邊朋信、武田元博、樋口秀男、大内憲明。In vivoイメージングで観えてきた癌転移の仕組み、第31回日本分子生物学会・第81回日本生化学会合同大会、2008年12月、神戸。
9. 権田幸祐、渡邊朋信、武田元博、大内憲明、樋口秀男。がん細胞の膜のダイナミクスは転移の進行にともない劇的に変化する。2009年生体運動合同班会議、東京大学、2009年1月、東京。
10. 湊真理絵、小林芳男、武田元博、粕谷厚生、大内憲明、AgI/SiO₂複合粒子コロイドの調製法の開発。化学工学会第73年会 2008年3月、浜松。
11. 河合賢朗、武田元博、石田孝宣、大内憲明。粒径の異なるナノ粒子による腫瘍間質ドラッグデリバリーシステムの解析。第18回乳癌基礎研究会、2008年7月、福島。
12. 権田幸祐、武田元博、樋口秀男、大内

- 憲明。In vivoナノイメージングで観えてきた癌転移の仕組み。第125回バイオメカニクス研究会（日本生体医工学会専門別研究会）、(東北大) 2008年10月、仙台
13. 権田幸祐、渡邊朋信、武田元博、大内憲明、樋口秀男。量子ドットを用いた腫瘍細胞の膜伸縮運動の*in vivo*イメージング。ナノ学会第6回大会、2008年5月、福岡。
 14. 叢莉蔓、小林芳男、武田元博、櫻井遊、甘利正和、大内憲明。シリカコーティング蛍光ナノビーズによるセンチネルリンパ節生検と分子画像診断。ナノ学会第6回大会、2008年5月、福岡。
 15. 武田元博、小林芳男、小林正樹、櫻井遊、権田幸祐、樋口秀男、大内憲明。ナノヨウ化銀ビーズによるCT造影法の外科応用に関する基礎的検討。ナノ学会第6回大会、2008年5月、福岡。
 16. 河合賢朗、武田元博、石田孝宣、大内憲明。蛍光ナノ粒子を用いた担がんマウスにおける腫瘍間質ナノドラッグデリバリーシステムの解析。ナノ学会第6回大会、2008年5月、福岡。(若手優秀発表賞受賞)
 17. 日景充、亀井尚、武田元博、小林正樹、大内憲明。新規ナノ粒子をトレーサーとした鏡視下手術の基礎的検討。ナノ学会第6回大会、2008年5月、福岡。
 18. 河合賢朗、樋口秀男、武田元博、石田孝宣、鈴木昭彦、甘利正和、宇佐美伸、櫻井遊、渡部剛、大内憲明。腫瘍間質におけるナノスケールでの分子挙動解析によるDDSの解明。第108回日本外科学会定期学術集会、2008年5月、長崎。
 19. 武田元博、樋口秀男、大内憲明、機能性ナノ粒子の医学領域における展開。異分野融合ナノテクノロジー横浜コロキウム、2008年2月、横浜。
 20. 武田元博、河野雅弘、佐藤恵美子、山田理恵、甘利正和、鈴木昭彦、石田孝宣、大内憲明。ヘマトポルフィリン誘導体計測によるがん診断の基礎的検討。第18回乳癌基礎研究会、2008年7月、福島。
- II. 知的財産権の出願登録状況
(国内特許)；該当なし
(国外特許)；該当なし

量子力学計算による医療用新物質探索と物性予測に関する研究

分担研究者 川添 良幸 東北大学金属材料研究所 教授

分担研究者 水関 博志 東北大学金属材料研究所 准教授

研究要旨

我々は Density Functional Theory/Time Dependent Density Functional Theory (DFT/TDDFT, 密度汎関数理論、時間依存密度汎関数理論) を用いて、ヘマトポルフィリンオリゴマーの安定な構造を見出し、さらに PDT 活性を生み出すダイマーおよびオリゴマー構造を探索した。3 種類あるヘマトポルフィリン同士を繋ぐ結合のうち、C-C 結合をもつ構造が一番安定であることが分かった。予想されたエネルギー変化量 ($\Delta G = -13.9$ kcal/mol) によるとエステルからエーテルへの構造変化は熱力学的に期待出来るものであった。時間依存密度汎関数理論計算は Q バンド吸収の最大値は大きく変化しない、かつ、低い振幅強度を持つことを示していた。そのため、ダイマーは多い投薬量のときのみ PDT 活性を持つことが明らかになった。

A. 研究目的

いまだ研究段階にあるが、光線力学療法 (Photodynamic therapy (PDT)) は腫瘍学や眼科学などの医療分野において異なるタイプの患部、腫瘍に対する非侵襲的治療方法として注目を集めている。ヘマトポルフィリンは最も使われている光線力学治療薬 (PDT 薬剤) であるが、PDT 活性を示す正確な異性体構造とヘマトポルフィリン同士の結合様式との関係はいまだに議論がなされている。実験結果からはヘマトポルフィリンの結合形式は複数あり、相互に変換可能であることが明らかになり、その構造の決定が急がれている。我々は Density Functional Theory/Time Dependent Density

Functional Theory (DFT/TDDFT, 密度汎関数理論、時間依存密度汎関数理論) を用いて、ヘマトポルフィリンダイマーの安定な構造を見出し、さらに PDT 活性を生み出すダイマーおよびオリゴマー構造を探索することを目的とする。

B. 研究方法 (計算方法)

予備的な計算として異なる汎関数を用いてヘマトポルフィリンモノマーの最適化を行い、類似のポルフィリン単結晶の実験値と比較することにより、このような系では PBEPBE が実験結果を再現するより良い汎関数であることを確認した。そのため、構造最適化と振動数解析、TDDFT 計算は 6-31G(d) 基底で一般勾配化法を取

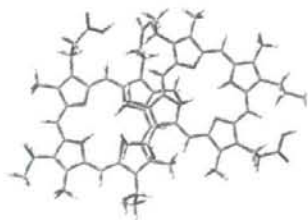
り入れたPBEPBE汎関数を用いた。に計算した。エネルギー的に安定状態であることは振動数解析から確認した。計算した全ての系で負の振動数は見られなかった。シングレット状態では制限法、トリプレットでは非制限法を適用した。吸収スペクトルは時間依存密度汎関数理論計算により基底状態からの垂直励起エネルギーから評価した。計算機は東北大学・金属材料研究所・計算材料学センターのスーパーコンピューティングシステムを、計算プログラムとしては非経験的分子軌道計算プログラムGaussian03を用いた。

(倫理面への配慮)

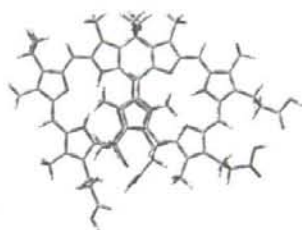
該当なし

C. 研究結果

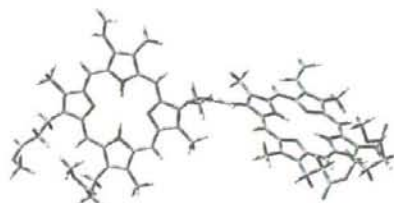
ヘマトポルフィリンモノマーは様々なpHにより3つの異なる結合様式を取ることができる。実験的にはエーテル結合 $-C-O-C-$ 、エステル結合 $-CO-O-C-$ 、および、 $-C-C-$ 結合をもつヘマトポルフィリンダイマーが知られている。



Ester Linked



Ether Linked



C-C Linked

Figure 1. Three types of linkages

それらの異性体の最適化後のシングレット基底状態の構造をFigure 1に示す。

C-C結合をもつ異性体は一部直線的な構造をしているが、他の2つは折り畳まれた構造をしている。さらにエーテル結合では2つのヘマトポルフィリン環の間に $\pi-\pi$ 相互作用が見られた。C-C結合のものが一番安定で、エーテル結合ダイマーはエステル結合ダイマーよりも13.3kcal/mol安定であった。予測した自由エネルギー変化($\Delta G = -13.9$ kcal/mol)は、室温でエーテルからエステルへの構造変化は水溶液溶媒中では熱力学的にあり得ることを示している。これはすでにアルカリ性水溶液で実験的に確認されている。さらに、3つの結合様式で振動数解析を行い、ヘシアン行列の固有値が全て正であり、対応する振動数は実数であることを確認した。これはこれらの構造

が安定構造（少なくとも局所的に安定構造）であることを示している。

TDDFTを用いてヘマトポルフィリンのモノマーとダイマーの吸収スペクトルを計算した。モノマーの計算値 λ_{\max} は実験データとよく一致していた。強く共役した環があるために、ポルフィリンライクな系では400nm付近に強い吸収を示す。これはB band領域と呼ばれ、さらにQ band領域と呼ばれる500から800nmの間に弱いピークが見られる。孤立系におけるこれらの化合物のスピンを含むシングレット遷移を計算した。振動強度と遷移の性質は、620nm付近のピークに関して遷移に寄与する軌道の割合を求めた。

最適な性能を出すために光線感作物質がもつべき基本的な性質の一つがシングレットトリプレットエネルギーギャップ (0.98eVよりも大きいか等しい必要がある) である。ダイマーのシングレットトリプレットエネルギーギャップ (ΔE) を求めた。これらのダイマーの値は1.52eVから1.69eVの間にあり、0.90eVよりも大きな値であった。これより、これらのダイマーはトリプレットからシングレット分子性酸素への変換が可能である。

D. 考察

ヘマトポルフィリン二量体の系統的な計算を行い、最も安定な異性体はC-C結合構造を有するものであることが明らかになった。エステル結合構造からエーテル結合構造への構造変化は熱力学的に可能であることが期待された。一重項-三重項のエネルギーギャップから全てのダイマー異性体はPDTの光学活性を示すことが

分かった。エーテル結合構造とC-C結合構造を持つより大きなオリゴマーでは3次元構造になることが明らかになった。

E. 結論および今後の研究計画

6量体までのヘマトポルフィリンオリゴマーに関する計算を行い、小さいオリゴマーよりも高い活性を有する大きなヘマトポルフィリンオリゴマーの可能性を調べている。3量体ではエステル結合、エーテル結合は直線状の分子構造をしているが、-C-C-結合では折り畳まれた分子構造をしている。4量体ではエーテル結合の物がポルフィリン環間の π - π 結合により安定であり、5量体、6量体ではエステル結合はヘリカル構造を持ち、エーテル結合、-C-C-結合は2つの平行な線上にポルフィリンが乗っている構造であり、ポルフィリン環間の π - π 結合は存在しない。これらに関しては求めた構造が最安定な構造であるかを様々な初期構造から計算を行い確認中である。これらの構造からは-C-C-結合のオリゴマーは電荷移動によりシングレット酸素を発生させ、エーテル結合およびエステル結合はエネルギー移動により同様の作用を起こすと推測される。

これらのオリゴマーに関しては半経験的計算手法であるZINDO法を用いてスペクトルを解析している。エーテル結合のものは、他の異性体に比べて実験のスペクトルに近い結果が得られている。今後はESRスペクトルなどの他の構造決定手法に関する情報も計算する予定である。

F. 研究発表

1. 論文発表