

論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士 (医学)	氏名	宍道 紘一郎
学位授与の条件	学位規則第 4 条第①・2 項該当		
論文題目 Molecular characteristics of the photosensitizer TONS504: Comparison of its singlet oxygen quantum yields and photodynamic antimicrobial effect with those of methylene blue (光増感剤 TONS504 の分子的特徴: メチレンブルーとの一重項酸素生成量および光線力学的抗微生物効果の比較研究)			
論文審査担当者			
主 査 教授	酒井 規雄	印	
審査委員 教授	大毛 宏喜		
審査委員 教授	渡邊 朋信		
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>光線力学的抗微生物化学療法 (photodynamic antimicrobial chemotherapy : PACT) とは、光増感剤を光励起することで生じる一重項酸素 (1O_2) の酸化ストレスを利用した感染症治療法である。PACT は広い抗微生物スペクトラムを持ち、薬剤耐性を生じない利点がある。</p> <p>光感受性物質 TONS504 は分子量 1116 の水溶性カチオン性クロリン誘導体であり、吸収極大波長は 665 nm である。TONS504 を用いた PACT はグラム陽性菌 (<i>Staphylococcus aureus</i>)、グラム陰性菌 (<i>Pseudomonas aeruginosa</i>)、真菌 (<i>Fusarium solani</i>、<i>Aspergillus fumigatus</i>、<i>Candida albicans</i>)、ウイルス (herpes simplex virus type 1)、<i>Acanthamoeba</i> などの角膜炎起因微生物に <i>in vitro</i> で抗微生物効果があり、動物モデルでも <i>Acanthamoeba</i> 角膜炎に治療効果があることが分かっている。メチレンブルー (分子量 374) は TONS504 と近似した励起波長 (吸収極大: 663 nm) を持つ水溶性カチオン性物質であり、同剤を用いた PACT は歯周病治療に臨床応用されている。本研究は、既存の光増感剤であるメチレンブルーと TONS504 を比較することで、TONS504 の優位性を示すとともに、TONS504 の分子的特徴を解明することを目的とした。</p> <p>それぞれの光増感剤に光照射 (パルス照射、波長: 664 nm、パルス幅: 5 ナノ秒、平均出力: 8 mW、繰り返し: 500 Hz、積算時間: 100 秒) を行い、生成された 1O_2 の発するりん光 (観測波長: 1275 nm) の発光強度を測定することで 1O_2 生成量を求めた。さらに光増感剤の会合による 1O_2 生成量への影響を評価するために、PBS と界面活性剤 (1% TritonX-100) 含有 PBS (PBS/TX100) を溶媒に用いたときの吸収曲線を得た。</p> <p>次いで <i>Staphylococcus aureus</i>、<i>Pseudomonas aeruginosa</i>、<i>Candida albicans</i> に対する抗微生物効果を発揮する TONS504 もしくはメチレンブルー溶液の最小濃度を求めた。それぞれの微生物の PBS 希釈液に TONS504 もしくはメチレンブルー溶液を混合し、光照射 (持続照射、平均出力: 55 mW、照射時間: 9 分) を行った。その後、混合液を寒天培地に播種、暗所培養し、形成されたコロニー数を測定した。コロニー数が 300 CFU 以下にまで減少した最小濃度を、TONS504 とメチレンブルーで比較した。</p> <p>結果は以下のごとくまとめられる。PBS 中で TONS504 の 1O_2 生成量はメチレンブルーの 1O_2 生成量の約 0.7 倍であったが、PBS/TX100 中で TONS504 の 1O_2 生成量はメチレンブルーの 1O_2 生成量の約 2.1 倍だった。</p> <p>TONS504 は PBS 中で濃度が上昇することに伴いソーレー帯のピークが短波長へ変移した。PBS 中で TONS504 は疎水性のクロリン環に影響されて水溶液中でミセルを形成し、会合しやすい性質を持つと思われる。同現象は PBS/TX100 中では生じず、</p>			

界面活性剤によって TONS504 の会合が抑制されることが分かった。一方で、メチレンブルーは PBS 中でも濃度によるピークの変移は生じず、界面活性剤添加による吸収曲線の形状に大きな変化はなかった。会合の有無を原因として TONS504 は PBS 中と PBS/TX100 中で TONS504 の $^1\text{O}_2$ 生成量が大きく変化すると考察した。

TONS504 の有効最小濃度をメチレンブルーのそれと比べると、*S. aureus* に対して 1/100、*P. aeruginosa* に対して同濃度、*C. albicans* に対して 1/10 だった。微生物周囲では分子が会合しにくいため、非会合状態での $^1\text{O}_2$ 生成量の差が抗微生物効果に反映される。そのため、 $^1\text{O}_2$ 生成量が多い TONS504 の方が *S. aureus* と *C. albicans* に対して低濃度で抗微生物効果を示したと推察される。一方で、*P. aeruginosa* などのグラム陰性菌の外膜には分子取り込み経路が二つあり、分子量が 374 と小さいメチレンブルーは両経路を通過できる一方、TONS504 は一経路しか通過できないと推測される。そのため細胞内に到達可能な分子数がメチレンブルーの方が多く、 $^1\text{O}_2$ 生成量の差を相殺した可能性がある。

本研究は TONS504 の分子的特徴の解明に取り組んだ初めての研究である。界面活性剤を TONS504 溶液に添加することで抗微生物効果が増強されることを示し、TONS504 を用いた PACT の臨床応用へ道を開いた。

よって審査委員会全員は、本論文が著者に博士（医学）の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。