原著

ORIGINAL ARTICLE

ポルフィリンP(V)錯体による光誘起電子移動および一重項酸素生成を介するヒト血清アルブミンの光損傷

平川 和貴¹, 江原 由美子¹, 平野 達², 瀬川 浩司³¹静岡大学工学部²浜松医科大学光子医学研究センター³東京大学先端科学技術研究センター

(平成20年8月23日受理, 平成20年11月18日掲載決定)

Photo-damage of Human Serum Albumin by Porphyrin P(V) Complex Through Electron Transfer and Singlet Oxygen Generation

Kazutaka Hirakawa¹, Yumiko Ebara¹, Toru Hirano², Hiroshi Segawa³¹Faculty of Engineering, Shizuoka University, Hamamatsu, Japan²Photon Medical Research Center, Hamamatsu University School of Medicine, Hamamatsu, Japan³Research Center for Advanced Science and Technology, The University of Tokyo, Meguro-ku, Japan

(Received August 23, 2008, Accepted November 18, 2008)

要 旨

光線力学的療法に用いる光感受性物質として、ポルフィリン誘導体は重要である。ポルフィリンの作用機構は主に一重項酸素生成であるが、光化学的生体分子損傷におけるもう一つの主要な機構である光誘起電子移動の利用可能性について検討した。本研究では、励起状態で強い酸化力をもつポルフィリンP(V)錯体の一つであるジエチレングリコキシP(V)テトラフェニルポルフィリン(DEP(V)TPP)を使用し、光増感反応による生体分子損傷性を評価した。水溶性タンパク質のヒト血清アルブミン(HSA)とDEP(V)TPPをリン酸緩衝液中で混合すると、およそ1:2の比でHSAにDEP(V)TPPが結合することが示された。光照射により、DEP(V)TPPの光増感反応が起こり、HSAのトリプトファン残基の酸化分解が引き起こされた。その機構には、一重項酸素生成の他、光誘起電子移動によるアミノ酸残基からの電子引き抜きが関与することが示唆された。光誘起電子移動は、酸素を必要としないため、低酸素濃度のがん細胞内でも活性を維持できる可能性が考えられる。

キーワード: ポルフィリンP(V)錯体, 光誘起電子移動, 一重項酸素 ($^1\text{O}_2$), ヒト血清アルブミン(HSA), 光線力学的療法(PDT)

Abstract

The biomacromolecules damage through photosensitized reaction is important process of photodynamic therapy. In this study, the photosensitized reaction of diethyleneglycoxyP(V)tetraphenylporphyrin (DEP(V)TPP), a cationic porphyrin, was examined. The study of near-infrared emission measurements demonstrated the photosensitized singlet oxygen ($^1\text{O}_2$) generation by DEP(V)TPP (quantum yield: 0.41 in ethanol). The UV-Vis absorption and circular dichroism spectra measurements showed that DEP(V)TPP forms 2:1 binding complex with human serum albumin (HSA). The fluorescence quenching of DEP(V)TPP by HSA showed the

electron transfer (ET) from amino acid residue of HSA to photoexcited DEP(V)TPP. These results suggest that DEP(V)TPP has ability to damage protein through dual mechanisms, $^1\text{O}_2$ generation and ET. Photoexcited DEP(V)TPP decreased the fluorescence intensity of the tryptophan moiety of HSA, indicating the decomposition of amino acid of HSA. The tryptophan oxidation by photoexcited DEP(V)TPP was partially inhibited by sodium azide, a strong quencher of $^1\text{O}_2$, but a high concentration of sodium azide could not completely inhibit this amino acid oxidation. These findings suggest the partial contribution of ET to protein photodamage by DEP(V)TPP. Since the ET mechanism does not absolutely require oxygen, DEP(V)TPP can act in the condition of lower oxygen concentration. In conclusion, DEP(V)TPP binds to HSA and induces photo-oxidation of amino acid via both mechanisms, oxygen-independent ET and $^1\text{O}_2$ generation.

Key word : porphyrin P(V) complex, photo-induced electron transfer, singlet oxygen ($^1\text{O}_2$), human serum albumin (HSA), photodynamic therapy (PDT)

1. はじめに

光による生体分子の損傷には、光の直接的な作用の他、光感受性物質の励起を介した光増感反応も重要である。その機構として、励起状態の光感受性物質による生体分子からの電子引き抜き(光誘起電子移動)による酸化反応(Type I反応)と活性酸素の生成を介する機構(Type II反応)が主要である¹⁾。光増感反応による活性酸素生成には、主に二通りあり、特に生成しやすい活性酸素種が一重項酸素($^1\text{O}_2$)である。 $^1\text{O}_2$ は、励起状態の光感受性物質(主に励起三重項状態)から基底状態の酸素(三重項酸素, $^3\text{O}_2$)へのエネルギー移動で生成する。この反応は、比較的小さいエネルギーでも起こり、赤色光のような低エネルギーの光子によっても $^1\text{O}_2$ は生成可能である。 $^1\text{O}_2$ は、 $^3\text{O}_2$ よりも物質を酸化する能力が高く、光化学反応で生成する重要な活性酸素である。光増感反応で生成する他の活性酸素は、酸素分子の還元によるスーパーオキシドであり、水素イオンとの反応等により、過酸化水素やヒドロキシルラジカルの生成につながる。酸素の還元には比較的大きなエネルギーが必要であり、紫外線による光増感反応では、一部の光感受性物質により生成される。

光増感反応による生体分子損傷の医学分野における重要な応用の一つが光線力学的療法(Photodynamic therapy; PDT)である²⁻⁴⁾。PDTは、非侵襲的であり、臓器機能の温存が可能であるなどの利点がある。また、光照射下でのみ毒性が発現する原理のため、光線過敏症以外に重篤な副作用がないことも重要である。現在行われているPDTの主なメカニズムは光増感反応で生成した $^1\text{O}_2$ による生体分子の損傷である。PDTでは、組織をよく透過する赤色光の利用が重要であるが、 $^1\text{O}_2$ は、赤色光によっても十分生成可能である。しかし、 $^1\text{O}_2$ の生成は、がん細胞内の酸素濃度に依存する。PDTの効果向上のためには、低酸素濃度で生体分子損傷の活性を維持することが一つの課題であると考えられている。生体分子の光損傷機構には、上記のType I反応も重要であり、この機構は、酸素に直接依存しない。しかし、生体分子からの電子引き抜きには、励起状態の光感受性物質に比較的高い酸化力が必要とされ、紫外線～青色光のエネルギーが必要とな

る場合が多い¹⁾。PDTでは、現在、ポルフィリン誘導体が臨床で使用され、研究もされている⁵⁾。ポルフィリンは、赤色光を吸収する光感受性物質であるが、その多くは、励起状態においてさほど強い酸化力を示さない。著者らは、酸素に依存しないType I反応について検討してきたが、これまでに赤色光を吸収するポルフィリン類の光感受性物質でも、酸化還元電位を制御することにより、Type I反応が可能なることをDNA損傷の研究から明らかにしてきた^{6,7)}。本研究では、光励起状態の酸化力が他のポルフィリンに比べて高いポルフィリンP(V)錯体を用い、 $^1\text{O}_2$ 生成と酸素に依存しない電子移動反応による二つの作用機構を検討した。

2. 対象と方法

2.1 試薬

ポルフィリンP(V)錯体は、既報に従い、テトラフェニルポルフィリンへのリンの導入で合成した⁸⁻¹⁰⁾。はじめに合成したP(V)テトラフェニルポルフィリンジクロロ体のエチレングリコールによる処理で、ジエチレングリコキシP(V)テトラフェニルポルフィリン(DEP(V)TPP)を得た。Fig.1にDEP(V)TPPの化学構造を示す。また、次の各試薬を購入し、使用した。0.1 M リン酸緩衝液(pH 7.6)(ナカライテスク(株))、重水(99 %、アクロス(株))、エタノール、アジ化ナトリウム、トリプトファン(和光純薬工業株)、

Fig.1 Structure of DEP(V)TPP.

ヒト血清アルブミン (Human Serum Albumin; HSA, シグマ)。

2.2 一重項酸素の検出

$^1\text{O}_2$ は、数 μs の緩和時間で $^3\text{O}_2$ へ失活するが、この過程で1270 nm付近に極大をもつ近赤外線を放出する¹¹⁾。この近赤外線の検出が、現在、直接的かつ有効な $^1\text{O}_2$ 検出法である。石英キュベットに収めたサンプル溶液をNd:YAGレーザー (Tempest-30, ニューウェーブリサーチ (株))の3倍波 (波長: 355 nm, パルス繰返し: 30 Hz, 出力: 40 mW, パルス幅: 5 ns)で励起し、得られる発光を分光器 (250is, Chromex, Albuquerque, NM, USA)と高感度近赤外光検出器 (NIR-II, 浜松ホトニクス (株))で分光検出した^{12,13)}。分光器の手にシリコンフィルタと1270 nm透過フィルタ (透過幅の半値幅: 5 nm)を置いた。シリコンフィルタは厚さ3 mmで、1 μm より長波長の光を透過させるためのものである。また、試料やレンズ、フィルタ等から発生する蛍光と区別するため、検出にはレーザー照射から遅延時間5 μs 、時間幅50 μs のゲートを設け、検出器は熱雑音を低下させるために-80℃に冷却した。 $^1\text{O}_2$ 生成量子収率 (Φ_Δ)は、メチレンブルー ($\Phi_\Delta=0.52$)¹⁴⁾の光増感反応で生成した $^1\text{O}_2$ 発光との比較で求めた。

2.3 吸収および蛍光スペクトルの測定

DEP (V) TPPとHSAの相互作用の評価および光増感反応の解析のため、以下の装置を用いて測定を行った。吸収スペクトル測定は、吸光分光光度計 (UV-1650PC, 島津製作所 (株))を使用して行った。測定温度は、ペルチェ式温度コントローラーを用いて、25~45℃とした。蛍光スペクトル測定は、分光蛍光光度計 (F-4500, 日立製作所 (株))を使用して行った。円偏光二色性 (circular dichroism; CD) スペクトル測定では、J-720 W1型円二色性分散計 (日本分光 (株))を用いた。

2.4 光増感反応の評価

1.5 mLマイクロチューブにDEP (V) TPPとHSAを含む10 mMリン酸緩衝液 (pH 7.6) または重水溶液を調製した。この試料に発光ダイオード (極大波長: 470 nm, 1 mW cm^{-2} , ISL-150X150-BB (CCS (株)))を用いて光照射を行った。光源の強度は、デジタル照度計 (LM-332, アズワン (株))で測定し、調整した。HSAの蛍光スペクトル測定により、光増感反応によるHSAアミノ酸残基の酸化損傷を評価した。

3. 結果

3.1 DEP (V) TPPの光化学的物性

DEP (V) TPPの吸収および蛍光スペクトルをFig. 2に示す。550~600 nm付近に第一励起状態 (S_1)への電子遷移に対応するQ帯が観測され、420 nm付近には第二励起状態 (S_1)への遷移によるSoret帯が見られる。蛍光スペクトルでは、600~700 nm付近に第一励起状態から基底状態への遷移による S_1 蛍光が観測された。ポルフィリンは、第二励起状態から基底状態への直接的な遷移による蛍光 (S_2 蛍光)を

Fig.2 Absorption and fluorescence spectra of DEP(V)TPP. The sample solution contained 5 μM DEP(V)TPP in 10 mM sodium phosphate buffer (pH 7.6) plus 2.5 % ethanol. Excitation wavelength was 400 nm.

発することが知られているが、440 nm 付近にDEP (V) TPPの S_2 蛍光が観測された。DEP (V) TPPの基底状態での還元電位 (E_{red})は、飽和カロメル電極 (saturated calomel electrode; SCE) に対して測定したとき、約-0.5 Vであり¹⁵⁾、励起状態における還元電位 (Red^*)を次の式で見積もることができる。

$$\text{Red}^* = E_{\text{red}} + E^* \quad (1)$$

ここで、 E^* は、DEPP (V) TPPの励起状態 (S_1 または S_2)のエネルギーであり、一電子励起するために必要な電位差とその値が等しくなる。その値は、蛍光極大波長から計算でき、DEP (V) TPPの S_1 および S_2 では、それぞれ2.0 Vおよび2.8 Vである。従って、式(1)を用い、 Red^* は、 S_1 および S_2 においてそれぞれ、+1.5 Vおよび+2.3 Vと計算された。一方、アミノ酸の一電子酸化における酸化還元電位は、周囲の環境によって影響されるが、比較的酸化されやすいトリプトファンとチロシンで、それぞれ、+1.0および+1.6 V程度である。DEP (V) TPPの励起状態において、電子移動反応でタンパク質のトリプトファン残基であれば酸化可能であることが示された。 S_2 励起状態からは、チロシンをはじめ、さらに酸化されにくいアミノ酸の酸化も可能である。

DEP (V) TPPの光増感反応による $^1\text{O}_2$ 生成は、近赤外線スペクトルの測定で検討した。Fig.3に示すように、1270 nm付近に $^1\text{O}_2$ に由来する発光が観測された。メチレンブルーの光増感反応で生成した $^1\text{O}_2$ の発光強度との比較で、DEP (V) TPPのエタノール中における Φ_Δ は、0.41と見積もられた。以上から、DEP (V) TPPは、光励起状態において電子移動反応と $^1\text{O}_2$ 生成の二通りの機構で生体分子損傷を引き起こせる可能性が示唆された。

3.2 DEP (V) TPPとHSAの相互作用

Fig. 4にHSA との相互作用によるDEP (V) TPP の吸収ス

Fig.3 Near-infrared emission spectra from $^1\text{O}_2$. The sample solution contained DEP(V)TPP or methylene blue in ethanol. The excitation wavelength was 355 nm. The absorbance of these photosensitizers was adjusted to 0.05 at excitation wavelength.

Fig.5 CD spectra of DEP(V)TPP in the absence or presence of HSA. The sample solution contained $5\ \mu\text{M}$ DEP(V)TPP and indicated concentration of HSA in 10 mM sodium phosphate buffer (pH 7.6) plus 2.5 % ethanol.

Fig.4 Absorption spectra of DEP(V)TPP binding to HSA. The sample solution contained $5\ \mu\text{M}$ DEP(V)TPP and indicated concentration of HSA in 10 mM sodium phosphate buffer (pH 7.6) plus 2.5 % ethanol. The inset indicates the relationship between the absorbance of DEP(V)TPP at 450 nm and the concentration of HSA.

Fig.6 Absorption and fluorescence spectra of HSA. The sample solution contained $20\ \mu\text{M}$ HSA in 10 mM sodium phosphate buffer (pH 7.6). The excitation wavelength was 298 nm.

ペクトル変化を示す。HSAを添加するとDEP(V)TPPの吸収スペクトルの長波長シフトと濃色効果が観測された。Fig.4に示しているDEP(V)TPPの吸収帯の領域には、HSAの吸収がないため、HSAとの相互作用により生じたDEP(V)TPPの吸収スペクトル変化である。HSAには、有機分子を結合できるサイトがいくつか存在するが¹⁶⁾、吸光度の変化から、およそDEP(V)TPP : HSA = 2 : 1での相互作用が示された。そのとき結合定数は、 $4.0 \times 10^5\ \text{M}^{-1}$ (25 °C)であり、比較的強く結合していることが示唆された。結合定数は、温度上昇とともに小さくなったことから、HSAへの結合により、DEP(V)TPPのエネルギー的な安定化が明らかとなった。Fig.5に示すように、HSAに結合したDEP(V)TPPのCDスペクトル測定では、正のピークが観測された。正のピークは、左円偏光に対する吸光度が右円偏光に対する吸光度よりも大きいことを示

しており、物質にキラリティーがある場合の指標となる。この結果は、DEP(V)TPPがHSAの特定のサイトに結合することでキラリティーが生じたことを示している。観測された正のピークは、さほど大きくないことから、大部分のDEP(V)TPPはランダムにHSAに結合していることが考えられる。

また、 $5\ \mu\text{M}$ HSAにより $5\ \mu\text{M}$ DEP(V)TPPの S_2 蛍光の強度が38 %減少したが(図には示していない)、HSAから励起状態DEP(V)TPPへの電子移動による消光で説明できる。 S_2 蛍光が消光された場合にも S_1 蛍光は、ほとんど消光されなかった。この結果は、HSAから S_2 状態DEP(V)TPPへの電子移動(S_2 蛍光の消光)とHSAからの逆電子移動によるDEP(V)TPPの S_1 状態の生成で説明できる。 S_2 蛍光は、寿命数 ps程度で起こる高速の過程であり¹⁷⁾、 S_2 蛍光の消光には、DEP(V)TPPとHSAの近接が必要である。

Fig.7 Photo-decomposition of HSA in the presence of DEP(V)TPP. The sample solution containing $5 \mu\text{M}$ DEP(V)TPP, $10 \mu\text{M}$ HSA, and 2.5 % ethanol in H_2O or D_2O was irradiated with LED (470 nm, 1 mW cm^{-2}). The fluorescence intensity of sample was measured at 298-nm excitation.

Fig.8 Effect of sodium azide on the decomposition of HSA photosensitized by DEP(V)TPP. The sample solution containing $5 \mu\text{M}$ DEP(V)TPP, $10 \mu\text{M}$ HSA, and indicated concentration of sodium azide (NaN_3) in 10 mM sodium phosphate buffer (pH 7.6) plus 2.5 % ethanol was irradiated with LED (470 nm, 1 mW cm^{-2}). The fluorescence intensity of sample was measured at 298-nm excitation.

3.3 DEP(V)TPPの光増感反応によるHSAの酸化

HSAの吸収および蛍光スペクトルをFig.6に示す。280 nm付近の吸収帯は、トリプトファン、チロシン残基に由来する。波長298 nmの励起では、トリプトファン残基を選択的に励起できる¹⁶⁾。298 nm励起で観測される波長350 nm付近の蛍光は、トリプトファン残基に由来する。トリプトファンは、アミノ酸残基の中でも特に酸化を受けやすく、光増感反応によるタンパク質酸化分解のターゲットとして利用できる。この波長350 nm付近の蛍光強度からトリプトファンの光損傷(酸化分解)を評価した。2.5 %エタノールを含むリン酸緩衝液(pH 7.6)にDEP(V)TPPとHSAを混合し、DEP(V)TPPの光増感反応を行ったところ光照射時間に依存し、HSAのトリプトファン残基に由来する蛍光強度が減少し、トリプトファンの酸化分解が示された。また、フリーのトリプトファンとDEP(V)TPPを同様の溶液中で混合し、光照射を行った場合にも

トリプトファンの蛍光強度の減少が観測され、確かに、光増感反応でトリプトファンが酸化分解されることが示された。

3.4 DEP(V)TPPによるHSA光酸化分解の機構

トリプトファン残基の酸化分解機構を溶媒効果と $^1\text{O}_2$ 消去剤の効果から検討した。Fig.7に、DEP(V)TPPの光増感反応を受けたHSA蛍光強度における光照射時間依存性を示す。 $^1\text{O}_2$ の寿命が延長する重水中¹⁸⁾では、比較的長い光照射時間のとき、わずかにHSAの酸化分解が促進されたように見えるが、顕著な効果は認められなかった。光感受性物質がターゲット分子に結合しており、近傍で $^1\text{O}_2$ が発生する場合や $^1\text{O}_2$ 生成以外に主要なメカニズムがある場合には、重水の効果が見られない場合もある。

一方、Fig.8に示すように、 $^1\text{O}_2$ 消去剤のアジ化ナトリウム添加により、HSAの蛍光強度の減少がある程度抑制された。アジ化ナトリウムは、 $^1\text{O}_2$ に対する強力な物理消光剤であり、 $^1\text{O}_2$ をすみやかに基底状態の $^3\text{O}_2$ へ失活させる。このことからHSAの酸化分解に $^1\text{O}_2$ の関与が示唆された。しかし、比較的少量にアジ化ナトリウムを使用した場合にもその抑制効果は部分的であった。この結果は、 $^1\text{O}_2$ 以外の機構も酸化分解に関与していることを示している。

4. 考察

DEP(V)TPPは、光励起状態から $^1\text{O}_2$ を比較的高い収率で生成した。ポルフィリンP(V)錯体は、励起三重項状態への項間交差収率が比較的高いことが知られており、励起三重項状態から酸素分子へのエネルギーによる $^1\text{O}_2$ 生成であると考えられる。さらに、励起状態における一電子還元/酸化還元電位の値から、エネルギー的にDNAの塩基⁷⁾やタンパク質のアミノ酸残基から電子引き抜きが可能である。特に、アミノ酸の中でも酸化されやすいトリプトファンを十分に酸化分解することが可能である。従って、 $^1\text{O}_2$ 生成と電子移動反応、すなわち、Type II反応の他、Type I反応でも光増感反応により、生体分子を損傷可能であると考えられる。Fig.9にDEP(V)TPPによるHSAの光酸化損傷機構を提案する。

本研究では、光増感反応で損傷を受ける生体分子ターゲットのモデルとして、水溶性タンパク質のHSAを用いた。吸収スペクトルおよびCDスペクトルからDEP(V)TPPとHSAの相互作用が示され、一つのHSAに平均二つのDEP(V)TPPが結合することが示された。Type IおよびType II反応のいずれの場合もターゲットと光感受性物質の相互作用が重要である。電子引き抜きには、励起状態の光感受性物質と電子供与体となる生体分子の近接が必要である。また、 $^1\text{O}_2$ も水溶液中では水分子によりすみやかに失活させられるため¹⁶⁾、ターゲット近傍での発生が望まれる。DEP(V)TPPの光励起状態(第二励起状態)において、 S_2 蛍光が消光された。この消光は、HSAからの電子移動で説明できる。一般に、非常に短寿命である第二励起状態から発せられる S_2 蛍光が消光されるためには、高速の電子移動が起こる必要がある¹⁷⁾。電子移動促進の

Fig.9 Proposed mechanism of HSA photo-oxidation by DEP(V)TPP.

因子として、DEP(V)TPPとHSAが結合し、強く相互作用していることが考えられる。

DEP(V)TPPの光照射により、HSAのトリプトファン残基の蛍光強度が減少していったことから、トリプトファンの酸化分解が示された。 $^1\text{O}_2$ の寿命が延びる重水を用いた溶媒効果と $^1\text{O}_2$ 消去剤の効果の検討から、 $^1\text{O}_2$ の関与は、部分的に認められたが、主要な機構ではないと考えられた。上記の考察から、HSAの酸化分解への電子移動の関与が示唆された。

PDTにおいて、 $^1\text{O}_2$ による生体分子の損傷は重要であると考えられている。現在、臨床で使用されているポルフィリン系光感受性物質は、いずれも $^1\text{O}_2$ 生成を介した光毒性が主要な機構である。 $^1\text{O}_2$ は可視光線など比較的低エネルギーの小さい光でも生成可能である。PDTでは、組織をよく透過する赤色の可視光線が重要であるが、そのエネルギーでも $^1\text{O}_2$ は生成可能なため、主要な機構になっていると考えられる。しかし、一方で、酸素がないと実現しない機構でもある。細胞内の酸素濃度は、数 μM 程度と比較的低く、さらにがん細胞内の酸素濃度は、正常細胞よりも低いとされている¹⁹⁾。PDTの効果を決める要素の一つが細胞内での酸素の供給であり、酸素濃度が低いことが、PDT効果を制限する原因の一つと考えられている。そこで、酸素を必要としないType I機構の有効性が考えられる。一般に、Type I機構には、比較的多くのエネルギーが必要であり、可視光線では困難であった。しかし、光感受性物質の酸化還元電位を調整し、光感受性物質の安定性を失わないで、一電子還元/酸化還元電位を下げた分子を用いることで実現可能と考えられる。ポルフィリンのP(V)錯体は、可視光線を吸収する光感受性物質の中では、一電子還元/酸化還元電位が他のポルフィリンに比べ、低いことを特徴としている¹⁵⁾。今回の実験では、Type I機構によるタンパク質の光酸化損傷が可能であることが支持された。

5. 結論

ポルフィリンP(V)錯体の一種であるDEP(V)TPPは、光増感反応による $^1\text{O}_2$ 生成の他、酸素に依存しない電子移動反応の二つの機構で生体分子を光損傷できることが

示された。このことは、酸素濃度の低いがん細胞内でも、ポルフィリンP(V)錯体を光感受性物質に用いると活性をある程度維持できる可能性が考えられる。

謝辞

CDスペクトル測定においてご指導頂いた田中康隆准教授(静岡大学)に御礼申し上げます。本研究は、文部科学省科学研究費補助金、財団法人愛知県がん研究振興会第32回がんその他の悪性新生物研究助成金ならびに財団法人浜松科学技術研究振興会村田基金により行われたものであり、研究助成に感謝申し上げます。

参考文献

- 1) 平川和貴：光化学反応と生体分子の損傷。光化学，38：180-187，2007。
- 2) Dolmans DE., Fukumura D., Jain, RK.: Photodynamic therapy for cancer. Nat Rev Cancer, 3: 380-387, 2003.
- 3) Moan J., Peng Q.: An outline of the hundred-year history of PDT. Anticancer Res, 23: 3591-3600, 2003.
- 4) 平川和貴：光線力学的療法：光増感反応の医学への応用。光化学，34：211-213，2003。
- 5) Lang K., Mosinger J., Wagnerová DM.: Photophysical properties of porphyrinoid sensitizers non-covalently bound to host molecules, models for photodynamic therapy. Coord Chem Rev, 248: 321-350, 2004.
- 6) 瀬川浩司，平川和貴，新井永範：金属を含まないポルフィリン誘導体とその分子組織体による光化学的触媒反応の可能性。触媒，49：350-355，2007。
- 7) Hirakawa K., Kawanishi S., Hirano T., et. al.: Guanine-specific DNA oxidation photosensitized by the tetraphenylporphyrin phosphorus(V) complex via singlet oxygen generation and electron transfer. J Photochem Photobiol B: Biol, 87: 209-217, 2007.
- 8) Marrese CA., Carrano CJ.: Synthesis, characterization, and electrochemistry of (5,10,15,20-tetraphenylporphyrinato) dichlorophosphorus (V) chloride. Inorg Chem, 22: 1858-1862, 1983.
- 9) Kunitomo K., Segawa H., Shimidzu T.: Selective synthesis of unsymmetrical dialkoxyporphyrin(V)tetraphenylporphyrine derivatives by stepwise substitution of axial position. Tetrahedron Lett, 33: 6327-6330, 1992.
- 10) Hirakawa K., Segawa H.: Excitation energy transfer and photo-induced electron transfer in axial bispyrenyl phosphorus porphyrin derivatives: factors governing the competition between energy and electron transfer processes under the existence of intramolecular π - π interaction. J Photochem Photobiol A: Chem, 123: 67-76, 1999.
- 11) DeRosa MC., Crutchley RJ.: Photosensitized singlet oxygen and its applications. Coord Chem Rev, 233-234: 351-371, 2002.
- 12) Hirano T., Kohno E., Ito T., et al.: Detection of singlet oxygen derived from photodynamic therapy *in vitro* and *in vivo*. Photomedicine and Photobiology, 24: 29-30, 2002.
- 13) Hirakawa K., Hirano T.: The microenvironment of DNA switches the activity of singlet oxygen generation photosensitized by berberine and palmatine. Photochem Photobiol, 84: 202-208, 2008.
- 14) Usui Y., Kamaogawa K.: A standard system to determine the quantum yield of singlet oxygen formation in aqueous solution. Photochem Photobiol, 19: 245-247, 1974.

- 15) Takeuchi Y., Hirakawa K., Susumu K., et al.: Electrochemical determination of charge transfer direction of center-to-edge phosphorus(V) porphyrin arrays. *Electrochemistry*, 7: 449-451, 2004.
- 16) Zhao B., Xie J., Zhao J.: Binding of hypocrellin B to human serum albumin and photo-induced interactions. *Biochim Biophys Acta*, 1722: 124-130, 2005.
- 17) Tokumaru K.: Photochemical and photophysical behaviour of porphyrins and phthalocyanines irradiated with violet or ultraviolet light. *J Porphyrins Phthalocyanines*, 5: 77-86, 2001.
- 18) Baier J., Fuß T., Pöllmann C., et al.: Theoretical and experimental analysis of the luminescence signal of singlet oxygen for different photosensitizers. *J Photochem Photobiol B: Biol*, 87: 163-173, 2007.
- 19) Peskin BS., Carter MJ.: Chronic cellular hypoxia as the prime cause of cancer: What is the de-oxygenating role of adulterated and improper ratios of polyunsaturated fatty acids when incorporated into cell membranes?. *Medical Hypotheses*, 70: 298-304, 2008.

著者紹介

平川 和貴 (Kazutaka Hirakawa)

2000年東京大学大学院総合文化研究科博士課程修了。2000年三重大学医学部助手。2004年4月より静岡大学工学部助教授(現在：准教授)，現在に至る。

江原 由美子 (Yumiko Ebara)

2008年静岡大学大学院工学研究科修士課程修了。

平野 達 (Toru Hirano)

1966年 芝浦工業大学電子工学科卒業。日本科学工業(株)，キャノン(株)を経て1974年より浜松ホトニクス(株)に勤務。1999年4月より浜松医科大学光量子医学研究センターに勤務(客員教授)。現在に至る。

瀬川 浩司 (Hiroshi Segawa)

1989年京都大学大学院工学研究科博士課程修了。1995年東京大学大学院総合文化研究科助教授，2006年4月より東京大学先端科学技術研究センター教授，現在に至る。