

医療分野研究成果展開事業/産学共創基礎基盤研究プログラム（産学共創）

平成 27 年度成果報告書（公開）

研究代表者 （所属機関・氏名）	群馬大学 大学院理工学府分子科学部門 飛田 成史
参加機関	秋田県立大学
研究開発課題	金属錯体を発光プローブとするヒトの低酸素病態イメージングプロジェクト

1. 研究開発の目的

金属錯体（イリジウム錯体）のりん光が酸素によって顕著に消光されることを利用して、がんなどの低酸素組織をイメージングし、その酸素レベルを定量・画像化するための最適発光プローブと計測技術を開発することを目的とする。

2. 研究開発の概要

以下の4つの実施項目を研究の柱として、低酸素組織イメージング用最適発光プローブの開発、in vivo 低酸素組織イメージング技術の確立を目指して研究を行った。

- 1) 近赤外発光酸素プローブの開発
- 2) プローブの細胞・組織内動態の解明
- 3) 細胞・組織内酸素レベル定量法の確立
- 4) 低酸素組織イメージング技術の開発と応用

3. 研究開発の成果（平成 27 年度）

（1）近赤外発光プローブの開発【群馬大学】

りん光極大波長が近赤外域（679 nm）にあり、脱気下でのりん光寿命（18.7 ns）が非常に長く、酸素感受性の高いイリジウム錯体 PPZ3DMMD の細胞毒性を低減することを目的として、PPZ3AEMD（図 1）を合成したところ、IC₅₀（半数致死濃度）が 2 μM から 3 μM に増加し、細胞毒性を低下させることができた。

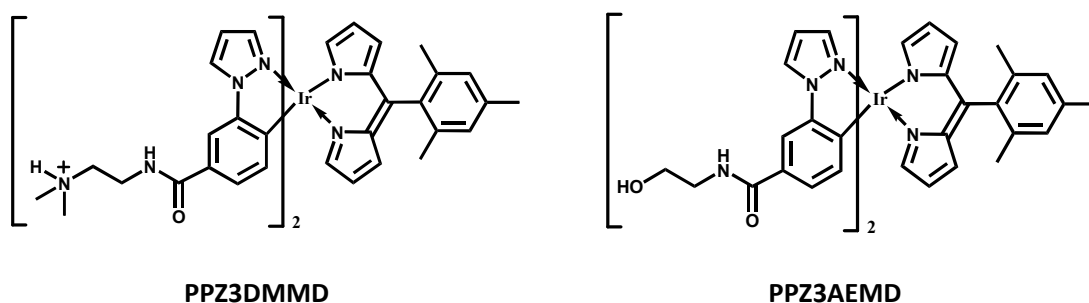


図 1 イリジウム錯体 PPZ3DMMD、PPZ3AEMD の構造式

(2) 細胞・組織内酸素レベル定量法の確立【群馬大学】

イリジウム錯体 BTPDM1 を取り込んだ HT29 単層細胞上に薄い円形ガラスプレートを落し、エッジ付近に生じた酸素濃度勾配をゲート ICCD カメラを用いて測定した。あらかじめ同じ HT29 細胞を用いてりん光寿命と培養器内の酸素分圧の関係を求めておくことにより、寿命分布から培養細胞内の酸素分圧分布を求めることができた。

(3) プロブの細胞・組織内動態の解明【群馬大学】

細胞内に取り込まれたイリジウム錯体のりん光減衰が double exponential decay になる原因について明らかにするため、イリジウム錯体の配位子の一部をクロロメチル化した化合物 BTQbpyDCM (図 2) を合成した。クロロメチル基はタンパクのシステイン残基と反応してタンパクに固定化されることが知られている。BTQbpyDCM とその類似体 BTQbpyDM の細胞内挙動、りん光減衰を比較した結果、りん光寿命の長寿命成分は膜タンパクと相互作用しているプロブに起因していることが明らかになった。

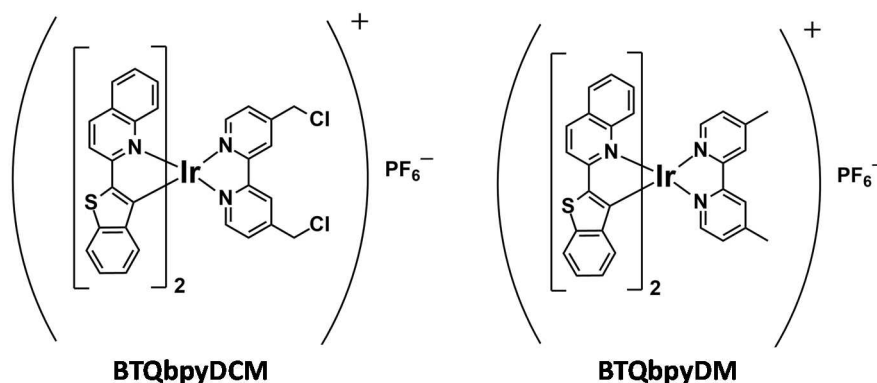


図 2 イリジウム錯体 BTQbpyDCM、BTQbpyDM の構造式

(4) 新規イリジウム錯体改良体のイメージング能の評価と細胞・組織内動態の検証【秋田県立大学】

研究代表グループで新たに作成した BTPDM1 の長波長改良体である BTQ20H について担がんマウスでそのイメージング能を検証した。BTPDM1 はオリジナル BTP の高輝度改良体で細胞、組織への取り込み量が高他のイリジウム錯体と比較して 10 倍程度高い。そこで図 3 に示すように SCC-7 を表皮に投与し浅部腫瘍を持つ担がんマウスを作成し、BTQ20H を 25, 250 nmol、BTPDM1 25 nmol を投与し調べたところ、BTQ20H は 250 nmol で腫瘍をイメージングできることが明らかとなった。またマウス腫瘍から抽出液を作製して、イリジウム含量を ICP-MS で測定したところ、BTPDM 1 と比較して低いことが示された。

