

4P081

イリジウム錯体のりん光を用いた低酸素がん腫瘍イメージング： 配位子の構造が細胞内動態に及ぼす影響

(群馬大院・工¹, 群馬大学 ATEC², 秋田県立大・生物資源科学³, 群馬大⁴) ○市川 和貴¹,
吉原 利忠¹, 小林 敦², 穂坂 正博³, 竹内 利行⁴, 飛田 成史¹

【序】がん組織は無秩序な細胞の増殖や分裂のために、血管構造が不規則な形状となり、正常組織よりも低酸素状態にあることが知られている¹⁾。がん組織を高感度かつ非侵襲的に検出するには、酸素濃度に依存して発光強度及び発光寿命が顕著に変化するりん光が有用であると考えられる。そこで、我々は、皮膚への透過性の良い赤色りん光を示す C-cis,N-trans,bis[2-(2'-benzothienyl)-pyridinato -N,C^{3'}]iridium(acetylacetonate)(BTP)を用い、低酸素状態にあるがん腫瘍を可視化することに成功した²⁾。しかし生体への投与を考慮すると、イリジウム錯体の細胞膜透過性を向上させることにより、より低濃度でのイメージングを可能にする必要がある。

本研究では、BTP の発光特性にほとんど関与しない補助配位子であるアセチルアセトン配位子に代えて、スクシニルアセトン、末端にアミノ基を有する配位子、末端に N,N-ジメチルアミノ基を有する配位子、末端にアセトキシメチル基を有する配位子をそれぞれ配位させた BTPSA, BTPNH₂, BTPDM, BTPAM を合成し、BTP の補助配位子の化学構造が細胞膜透過性および細胞内動態に及ぼす影響を解明することを目的とする。

Fig. 1 に BTP, BTPSA, BTPNH₂, BTPDM, BTPAM の構造式を示す。

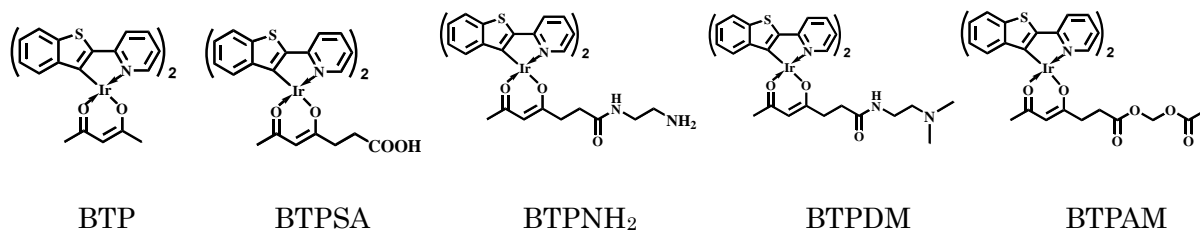


Fig. 1 各イリジウム錯体の構造式

【実験】りん光顕微画像は、倒立型リサーチ顕微鏡 IX71(OLYMPUS), Evolve 512 (PHOTOMETRICS)で観察を行った。

マウス扁平上皮がん(SCC-7)由来細胞を移植したヌードマウスの BTPNH₂, BTPDM における光イメージング画像は、マウスの尾静脈より生理食塩水:DMSO(9:1)に溶かした BTPNH₂, BTPDM を 250nmol 投与し 2 時間後、*in vivo* イメージングシステム(Maestro2)で観察を行った。

【結果と考察】BTP, BTPSA, BTPNH₂, BTPDM, BTPAM の THF 中、脱気条件下における吸収・りん光特性の測定を行った。BTP の吸収スペクトルの極大波長は 487 nm, りん光スペクトルの極大波長は 615 nm, りん光量子収率は 0.3, りん光寿命は 5.7 μs であり, BTPSA, BTPNH₂, BTPDM, BTPAM もほぼ等しい値となった。このことから BTPSA, BTPNH₂, BTPDM, BTPAM は BTP の吸収・りん光特性を保持していることが分かる。

Fig. 2 に HeLa 細胞の培養液に最終濃度 5μM になるように BTP, BTPSA, BTPAM を添加してから 2 時間後のりん光顕微画像を示す。BTP に比べ、BTPSA, BTPAM のりん光強度が低いこ

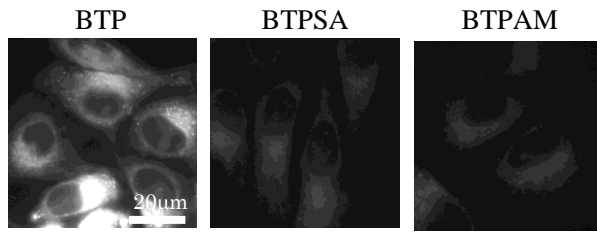


Fig. 2 BTP, BTPSA, BTPAM 添加 2h 後のりん光顕微画像

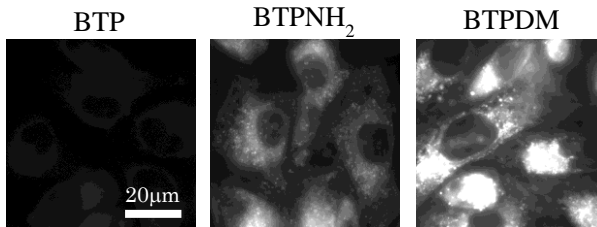


Fig. 3 BTP, BTPNH₂, BTPDM 添加 2h 後のりん光顕微画像

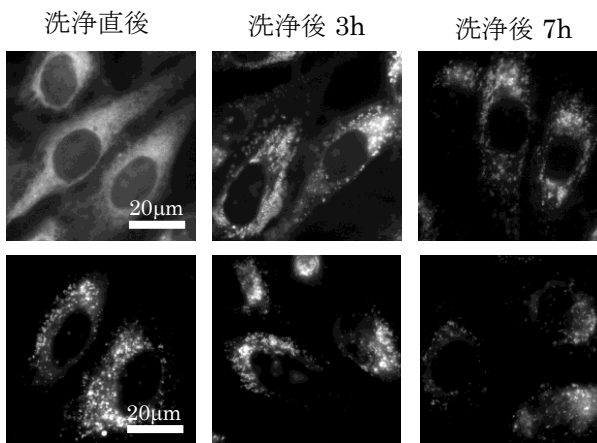


Fig. 4 BTPNH₂, BTPDM の細胞内局在の経時変化

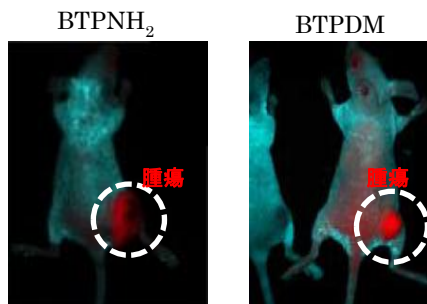


Fig. 5 BTPNH₂, BTPDM を投与した担がんマウスの光イメージング画像

とから BTPSA, BTPAM は BTP に比べ細胞内に取り込まれにくいことが分かる。Fig. 3 に HeLa 細胞の培養液に最終濃度 5 μ M になるように BTP, BTPNH₂, BTPDM を添加してから 2 時間後のりん光顕微画像を示す。BTP に比べ BTPNH₂, BTPDM のりん光強度が著しく高いことから、BTPNH₂, BTPDM は BTP に比べ細胞内に取り込まれ易いことが分かる。

Fig. 4 に HeLa 細胞の培養液に最終濃度 5 μ M になるように BTPNH₂, BTPDM を添加し、1 時間培養後、シャーレ内を洗浄した直後および洗浄後 Ir 錯体非存在下で 3 時間、7 時間培養後のりん光顕微画像を示す（上段: BTPNH₂, 下段: BTPDM）。BTPNH₂ において、洗浄直後の画像は小胞体を選択的に局在する ER-tracker と酷似した画像が得られ、洗浄後 7 時間の画像はリソソームを選択的に局在する Lyso-tracker と酷似した画像が得られることから、BTPNH₂ は小胞体からリソソームに局在が移動していることが分かる。また、BTPDM において、洗浄直後の画像は Lyso-tracker と酷似した画像が得られ、その後局在の変化がほとんど見られないことから、BTPDM は主にリソソームに局在することが分かる。

Fig. 5 にマウス扁平上皮がん(SCC-7)由来細胞を移植したヌードマウスの BTPNH₂, BTPDM における光イメージング画像を示す。BTPNH₂, BTPDM 共に低酸素状態にあるがん腫瘍をイメージングすることが可能であることが分かる。

- 1) M. Höckel, P. Vaupel, *J. Natl. Cancer Inst.*, **2001**, 93, 266.
- 2) S. Zhang, M. Hosaka, T. Yoshihara, K. Negishi, Y. Iida, S. Tobita, T. Takeuchi, *Cancer Res.*, **2010**, 70, 4490.