

近赤外りん光を示すイリジウム錯体を用いた 低酸素がん腫瘍イメージング

(群馬大院工¹⁾・秋田県立大・生物資源科学部²⁾ 群馬大³⁾)

○大堀優佳¹⁾・吉原利忠¹⁾・穂坂正博²⁾・竹内利行³⁾・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、室温で高いりん光量子収率を示し、可視光領域の中で皮膚への透過性の良い赤色りん光を示すイリジウム錯体を用いたがん腫瘍の可視化を行った²⁾。また、当研究室において近赤外光領域にりん光を示す新しいイリジウム錯体(BTPHSA, Fig. 1)が開発され、生体深部にあるがん腫瘍の可視化に成功した²⁾。

本研究では、新たにBTPHNH₂及びBTPHDMを開発し、それらの溶液及び脂質二分子膜中における光物理特性、また、細胞内挙動を明らかにすることを目的とした。

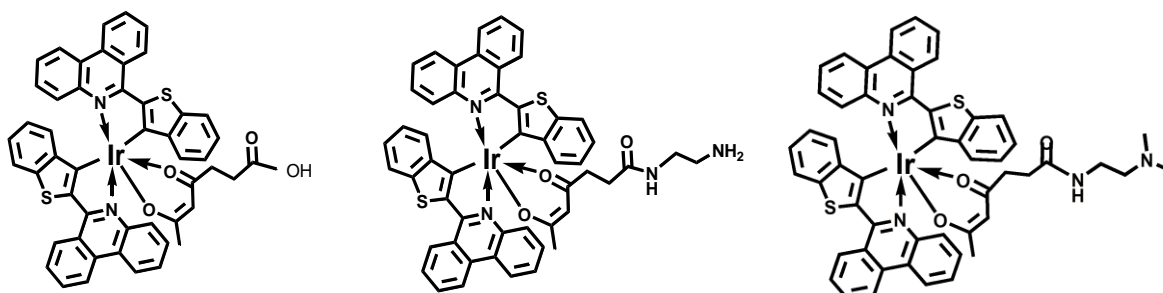


Fig. 1 BTPHSA, BTPHNH₂, BTPHDM の構造式

【結果と考察】

Fig. 2 に BTPHSA のテトラヒドロフラン(THF)中におけるりん光スペクトルを示す。BTPHSA は THF 溶液中において、近赤外光領域である 720nm にりん光極大波長を示した。さらに、空気飽和下に比べ Ar 置換下においてりん光強度が著しく増加したことから、酸素応答性があることが分かった。また、BTPHNH₂ 及び BTPHDM についても同様の結果が得られた。

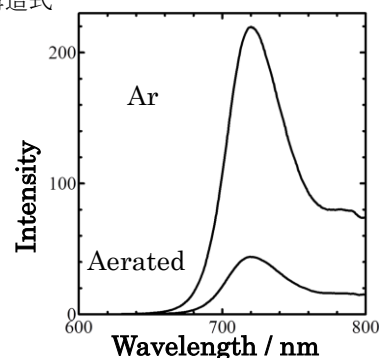


Fig. 2 BTPHSA の THF 中におけるりん光スペクトル

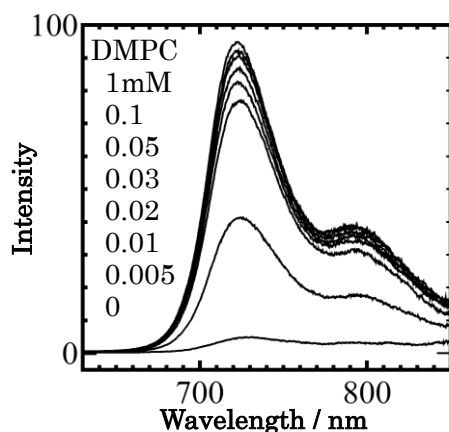


Fig. 3 各濃度の DMPC 膜中における BTPHSA のりん光スペクトル

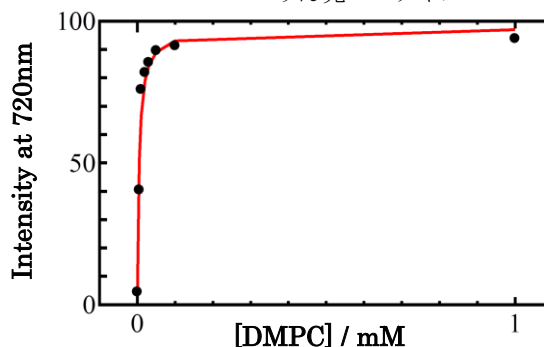


Fig. 4 DMPC 膜濃度に対してモニター波長 720nm での BTPHSA のりん光強度変化

各濃度の DMPC 膜中における BTPHSA のりん光スペクトルを **Fig. 3**, DMPC 膜濃度に対してモニター波長 720nm での BTPHSA のりん光強度変化を **Fig. 4** に示す。DMPC 濃度が増加すると、りん光強度も増加することから、DMPC 膜にイリジウム錯体を取り込まれていることが分かる。**Fig. 4** のプロットを、式(1)を用いて解析することにより、分配係数(K_p)を算出し、また、1mM DMPC 膜に対する分配率を算出した。その結果を Table 1 に示す。BTPHSA と比較して、BTPHSA の方が膜に取り込まれることが分かる。また、各イリジウム錯体は膜に対して 98% 以上取り込まれている。

$$I = \frac{I_w + K_p \gamma_L [\text{DMPC}] I_L}{1 + K_p \gamma_L [\text{DMPC}]} \dots (1)$$

I : りん光強度, K_p : 分配係数
 γ : 部分モル体積, W: 水, L: 膜(DMPC)

Table 1 分配係数及び 1mM DMPC 膜に対する分配率

Ir錯体	分配係数 K_p	分配率 (%)
BTPHSA	3.0×10^5	99.5
BTPH NH_2	0.9×10^5	98.3

Fig. 5 に各イリジウム錯体溶液を HeLa 細胞に添加し(最終濃度 : BTPHSA ; 5 μM , BTPH NH_2 , BTPHDM ; 2 μM), 2 時間後に洗浄し、蛍光顕微鏡を用いて観察した顕微画像を示す。すべてのイリジウム錯体において、細胞からのりん光が観測されているため、細胞内に取り込まれていることが分かる。オルガネラ選択性を持つ蛍光プローブ分子との比較実験により、BTPHSA は、主に小胞体に局在しているのに対して、BTPH NH_2 及び BTPHDM は小胞体に加えてリソソームに局在していることが明らかとなった。

BTPH NH_2 及び BTPHDM を担がんマウスの尾静脈より 250nmol 投与し、in vivo イメージングシステムで観察したところ、BTPHSA と同様に腫瘍部からりん光が観測された。

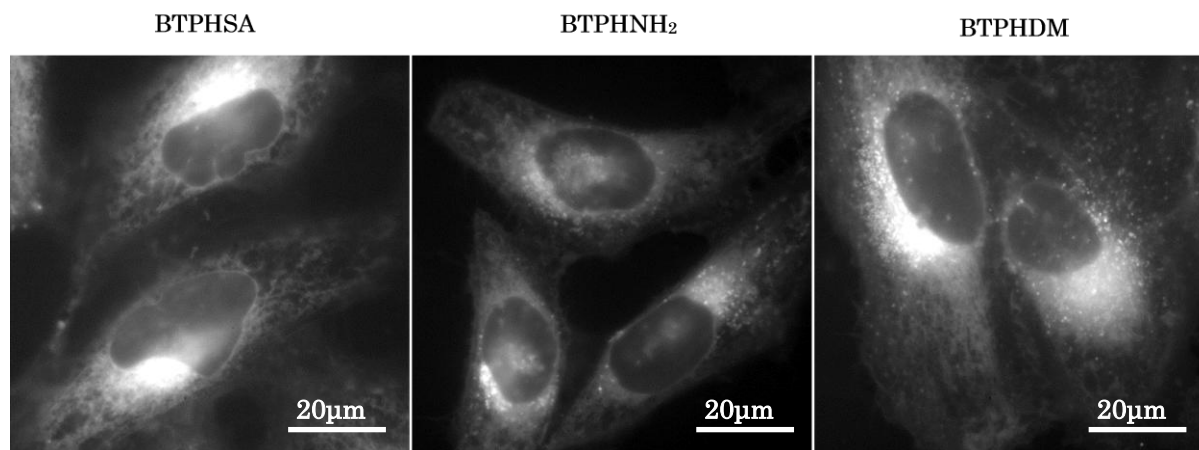


Fig. 5 各イリジウム錯体の HeLa 細胞中におけるりん光顕微画像

参考文献

- 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, and T. Takeuchi, *Cancer Res.*, **2010**, 70, 4490-4498.