

低酸素病態イメージングのための高機能りん光プローブ分子の開発と応用

研究代表者

吉原利忠 群馬大学理工学研究院分子科学部門

共同研究者

穂坂正博 秋田県立大学生物資源科学部応用生物科学科



1. 研究の背景と達成目標

本研究では、癌、脳卒中、心筋梗塞など生体内の低酸素状態が関与している病態を、光を用いて可視化（イメージング）するための‘りん光プローブ分子’を光化学的アプローチから設計・開発し、プローブ分子の有用性を *in vivo* 実験（動物実験）を通して医学的アプローチから検証し、光を用いた新しい低酸素病態のイメージング技術を医工連携で構築する。

- ① 近赤外光領域（650nm–900nm）に吸収・りん光を示す水溶性イリジウム錯体および白金錯体の開発
- ② 高輝度イリジウム錯体および白金錯体の開発
- ③ りん光プローブ分子の細胞内動態解析および生体内低酸素領域（癌、梗塞）のりん光イメージング
- ④ りん光寿命法を用いた生体内低酸素部位（癌、梗塞）の酸素濃度定量

2. 主な研究成果と社会、学術へのインパクト

- ・イリジウム錯体の配位子にアミノ基やジメチルアミノ基などのカチオン性部位を導入することで、りん光特性を維持したまま細胞親和性を向上させることを見出し、これまでの 1/10 の投与量で腫瘍イメージングが可能なイリジウム錯体を開発した。光イメージングにおいて、投与量を軽減できることは実験動物への負荷が軽減でき、個体を長期間観察できることが可能となり、低酸素が関与している病態を研究している研究者が使用しやすくなる。これにより、病態の診断法や治療法の開発促進に貢献できる。
- ・イリジウム錯体の細胞内移行性や生体内動態（血中濃度、臓器蓄積量、排泄量）を定量的に追跡できる方法論を確立した。将来、薬剤としてイリジウム錯体を人へ投与する場合の毒性評価の指針作成に貢献できる。また、イリジウム錯体の配位子構造と生体動態の関連について研究が可能となる。

3. 研究成果

低酸素病態イメージングに適するイリジウム錯体を開発するために、光化学的アプローチと医学的アプローチから研究を進めた結果、図 1 に示すイリジウム錯体（BTPDM1, BTPDM2MD）が、これまでの錯体（BTP）の特性を凌駕することを明らかにした。BTPDM1 は、補助配位子であるアセチルアセトン部位にジメチルアミノ基が導入されているため、BTP のりん光特性を維持したまま、HeLa 細胞への移行性が約 18 倍増加した。また、担がんマウス内の腫瘍イメージングでは、BTP の 1/10 の投与量でイメージングできることを明らかにした。さらに、ICP-MS 法を用いることにより、尾静脈から投与された BTP および BTPDM1 の血中濃度の時間依存性、組織蓄積量、排泄量について定量的に評価した。その結果、イリジウム錯体は腫瘍へ集積しているのではなく、腫瘍が正常組織

よりも低酸素状態であるためりん光強度が増加することを確認した。これは本研究で開発した2分岐光ファイバーを用いたりん光寿命測定の結果と一致する。

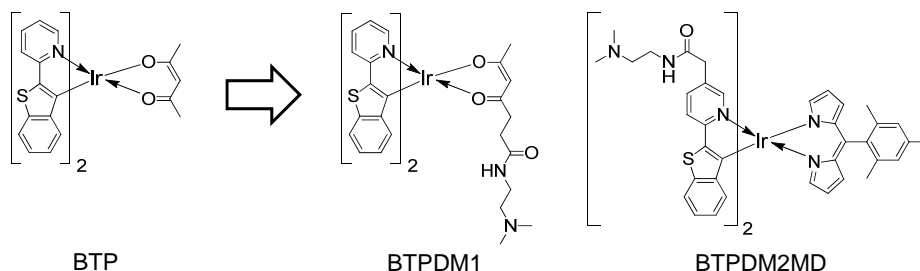


図1 BTP, BTPDM1, BTPDM2MDの構造式

BTPDM2MDでは、配位子のメシチルジピリナ

ートが吸収・りん光特性を主に決めている。特に吸収は485nmで分子吸光係数 $38700\text{dm}^{-3}\text{molecm}^{-1}$ であり、BTPと比較して約6倍である。さらに、りん光極大波長は688nmであり、BTPよりも73nm長波長に観測される。しかしながら、りん光量子収率が低下するためりん光輝度は約2.5倍の増加である。輝度が増加したことにより、担がんマウスを用いた実験では、BTPの1/5の投与量で腫瘍イメージングが可能であることが明らかとなった。

4. 今後の展開

本研究では低酸素病態を光イメージングするためのプローブ分子を開発することを目標とした。ここで開発した分子を今後多くの研究者に使用していただき、改善点を明らかにすることで、プローブ分子開発をさらに発展できると考えている。現段階では、3名の医学研究者にイリジウム錯体を提供しており、また、民間企業と特許使用契約を結び販売して頂いている。研究代表者は現在、イメージングだけでなく、低酸素領域内の酸素濃度定量法の開発に取り組んでおり、今後、低酸素病態の診断、治療に貢献できるように研究を進めている。

5. 発表実績

- [1] T. Yoshihara, A. Kobayashi, S. Oda, M. Hosaka, T. Takeuchi, and S. Tobita, Iridium Complex Probes for Monitoring of Cellular Oxygen Levels and Imaging of Hypoxic Tissues, Proc. SPIE, 8233, 82330A-1-A-8, 2012.
- [2] 飛田成史, 吉原利忠, 穂坂正博, 竹内利行, りん光プローブの設計・開発に基づく in vivo 低酸素環境イメージング, 実験医学, Vol.30, No.7(増刊), p.1100-1106, 2012.
- [3] T. Yoshihara, M. Hosaka, T. Takeuchi, and S. Tobita, Phosphorescence Imaging of Tumors Using Iridium Complexes, 14th International Congress of Histochemistry and Cytochemistry, Kyoto (Japan), (2012). 招待講演
- [4] 吉原利忠, 八木橋美樹, 穂坂正博, 竹内利行, 飛田成史, ジピリナート配位子を有するイリジウム錯体を用いた低酸素環境イメージング, 日本化学会第93回春季年会(2013), 草津, (2013).
- [5] 吉原利忠, 八木橋美樹, 穂坂正博, 竹内利行, 飛田成史, 低酸素環境イメージングを指向した近赤外光領域にりん光を示すイリジウム錯体の開発, 2012年光化学討論会, 東京, (2012).
- [6] 吉原利忠, 田中亜沙美, 穂坂正博, 寺田幹, 竹内利行, 飛田成史, カチオン性イリジウム錯体を用いた腫瘍の in vivo 光イメージング, 第34回日本光医学・光生物学会, 神戸, (2012).
- [7] 吉原利忠, 市川和貴, 大堀優佳, 小林敦, 穂坂正博, 竹内利行, 飛田成史, 生体内低酸素領域を識別するためのイリジウム錯体の開発および生体内発光特性, 第5回分子科学討論会 2011 札幌, (2011).
- [8] 吉原利忠, 市川和貴, 穂坂正博, 竹内利行, 飛田成史, 高い細胞膜透過性を示すイリジウム錯体の開発および in vivo 光イメージング, 第33回日本光医学・光生物学会, (2011).