

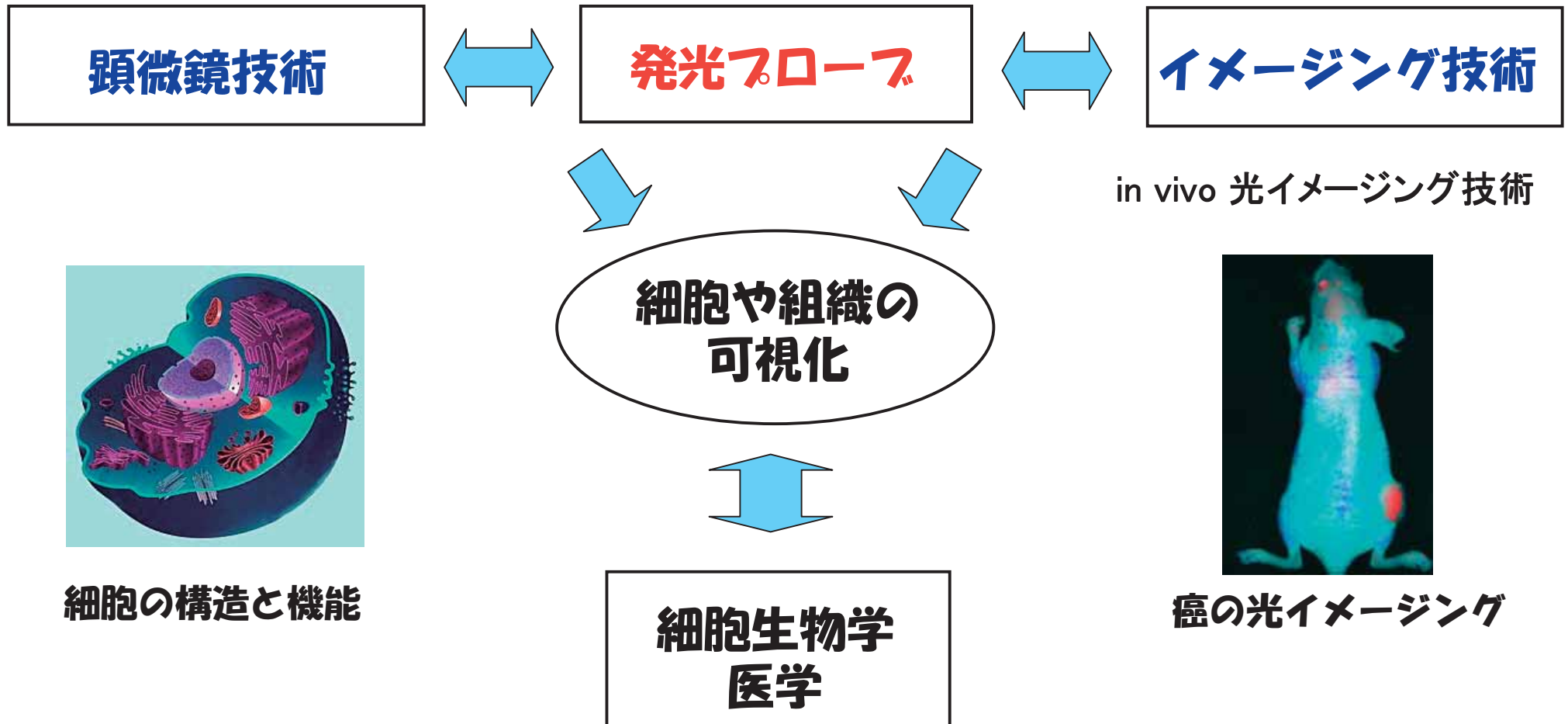
イリジウム錯体のりん光を利用した 酸素濃度センサー

群馬大学大学院工学研究科
応用化学・生物化学専攻
教授 飛田 成史

研究背景

光イメージング技術

これまで目で見えなかった生物の様々な生命現象を、
細胞や動物が生きたままの状態、リアルタイムで可視化

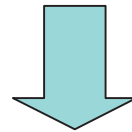


分子の発光

蛍光とりん光

りん光  酸素によって消光されやすい

発光分子の周囲の酸素濃度に依存して
発光強度, 発光寿命が変化する



酸素センサーへの応用

りん光量子収率(Φ_p) とりん光寿命 (τ_p)

$$\frac{\Phi_p^0}{\Phi_p} = \frac{\tau_p^0}{\tau_p} = 1 + k_q \tau_p^0 pO_2$$

酸素分圧の定量

$$pO_2 = \frac{1}{k_q} \left(\frac{1}{\tau_p} - \frac{1}{\tau_p^0} \right)$$

k_q : 消光速度定数

生体内酸素分圧

正常組織 > 癌組織

(約50-80 mmHg) (約30 mmHg以下)



りん光を用いて低酸素癌組織のみを光イメージング

組織深部を観るには近赤外発光が有利



近赤外部に強いりん光を与えるイリジウム錯体BTPに着目

イリジウム錯体の特徴

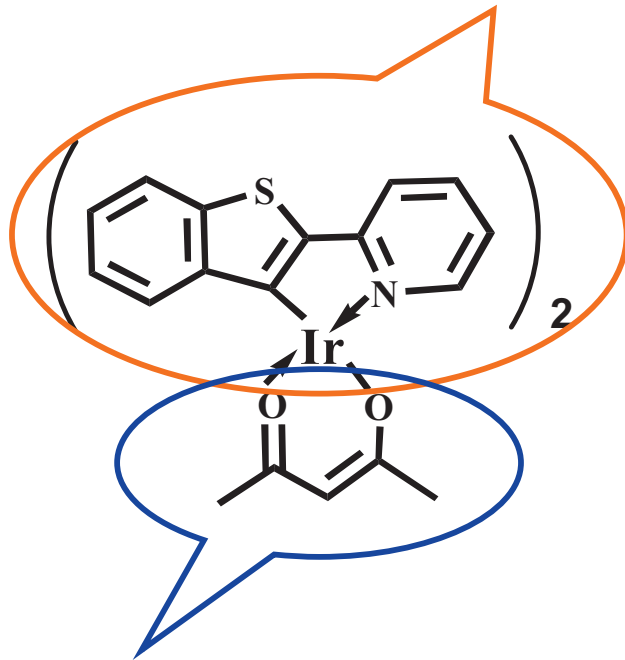
1. 発光量子収率が高い ($\Phi_p > 0.1$)
2. 化学的に安定
3. 光特性, 化学的性質をコントロールしやすい

ベンゾチエニルピリジン配位子



光特性の改良

吸収, 発光波長
発光量子収率
発光寿命, etc.



BTP [bis[2-(2'-benzothienyl)-pyridinato-N,C3']-
iridium(acetylacetonate)]

$\Phi_p = 0.31$, $\tau_p = 6.3 \mu\text{s}$ in hexane

$\lambda_{\text{max}} = 615 \text{ nm}$ (赤色りん光)

補助配位子



化学的性質の改良

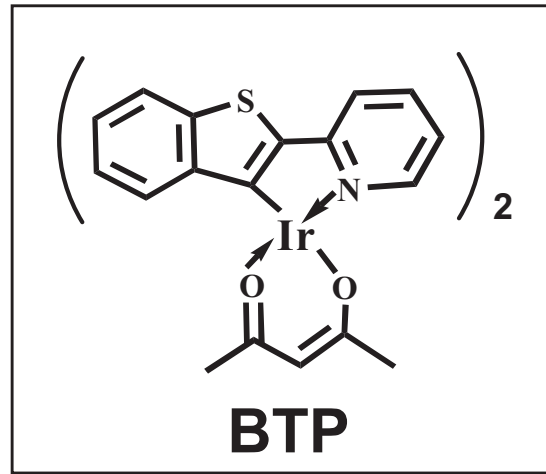
水への溶解度, 膜との親和性, etc

BTPのりん光測定

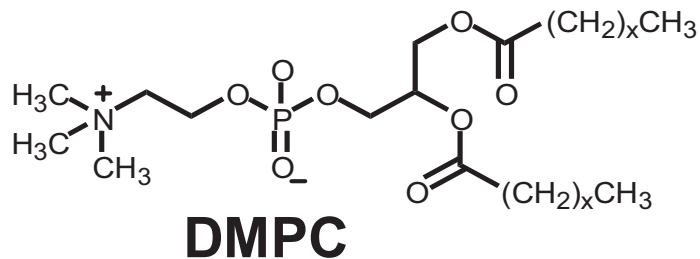
溶液中

(錯体自体の発光特性)

培養細胞中



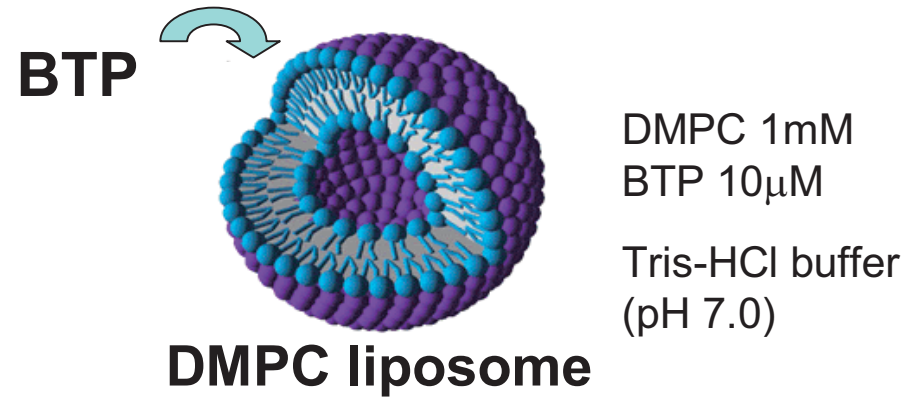
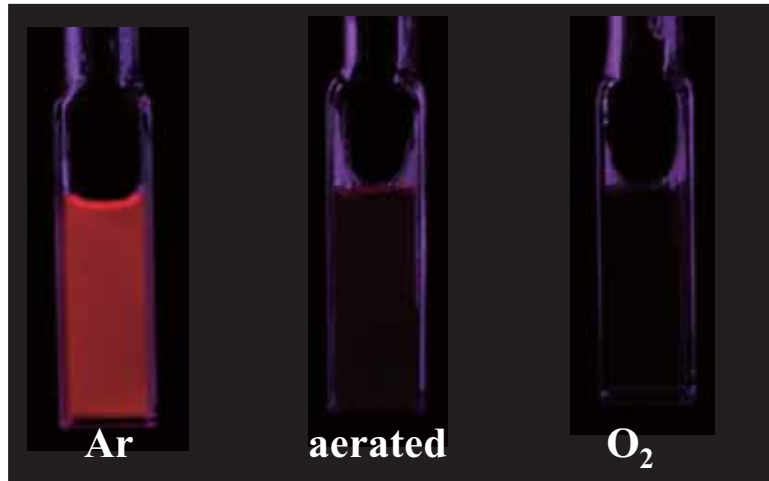
脂質二分子膜中



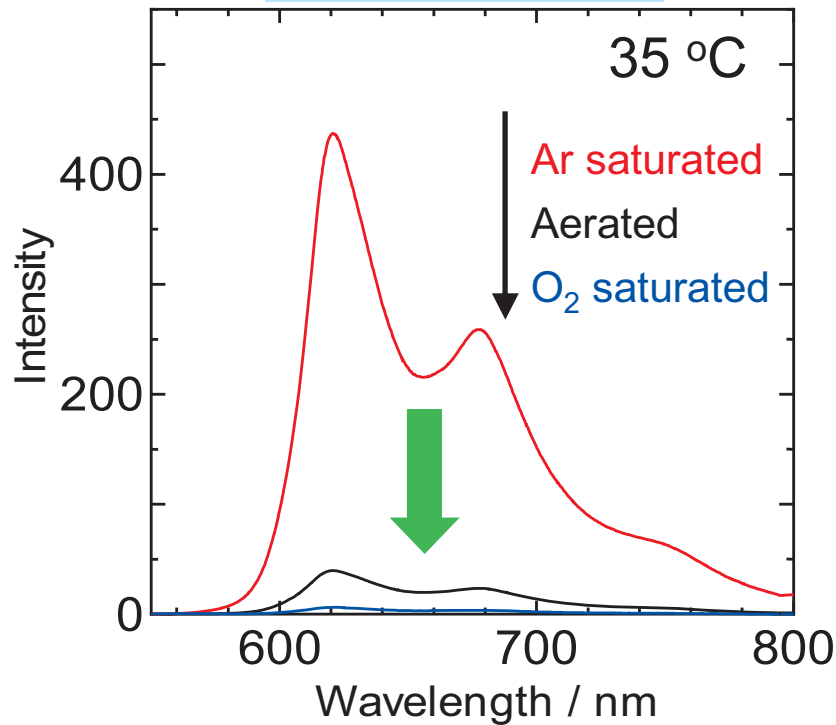
個体組織中

プローブの改良

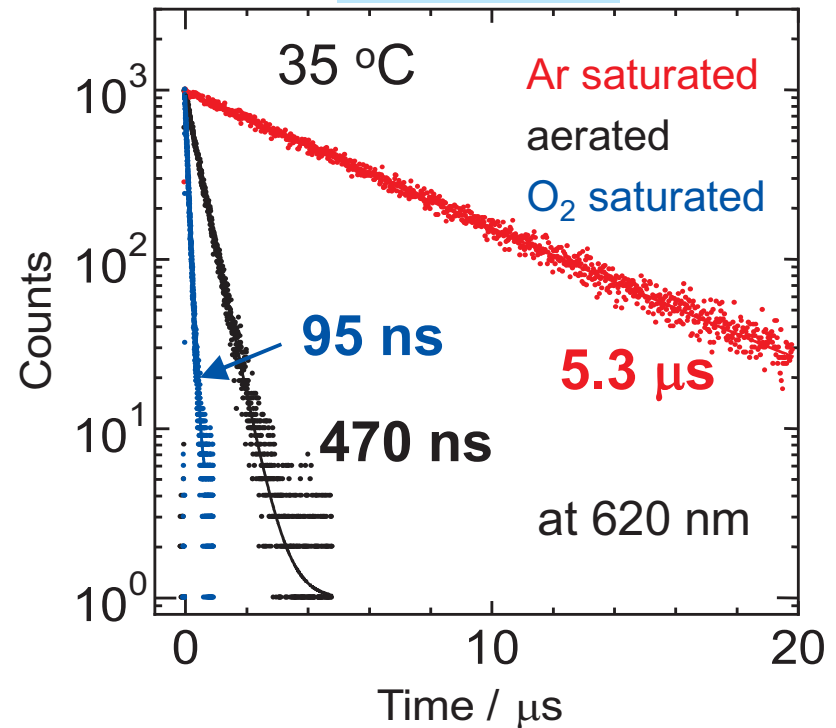
脂質二分子膜(DMPC膜)中におけるBTPりん光の酸素消光



りん光スペクトル



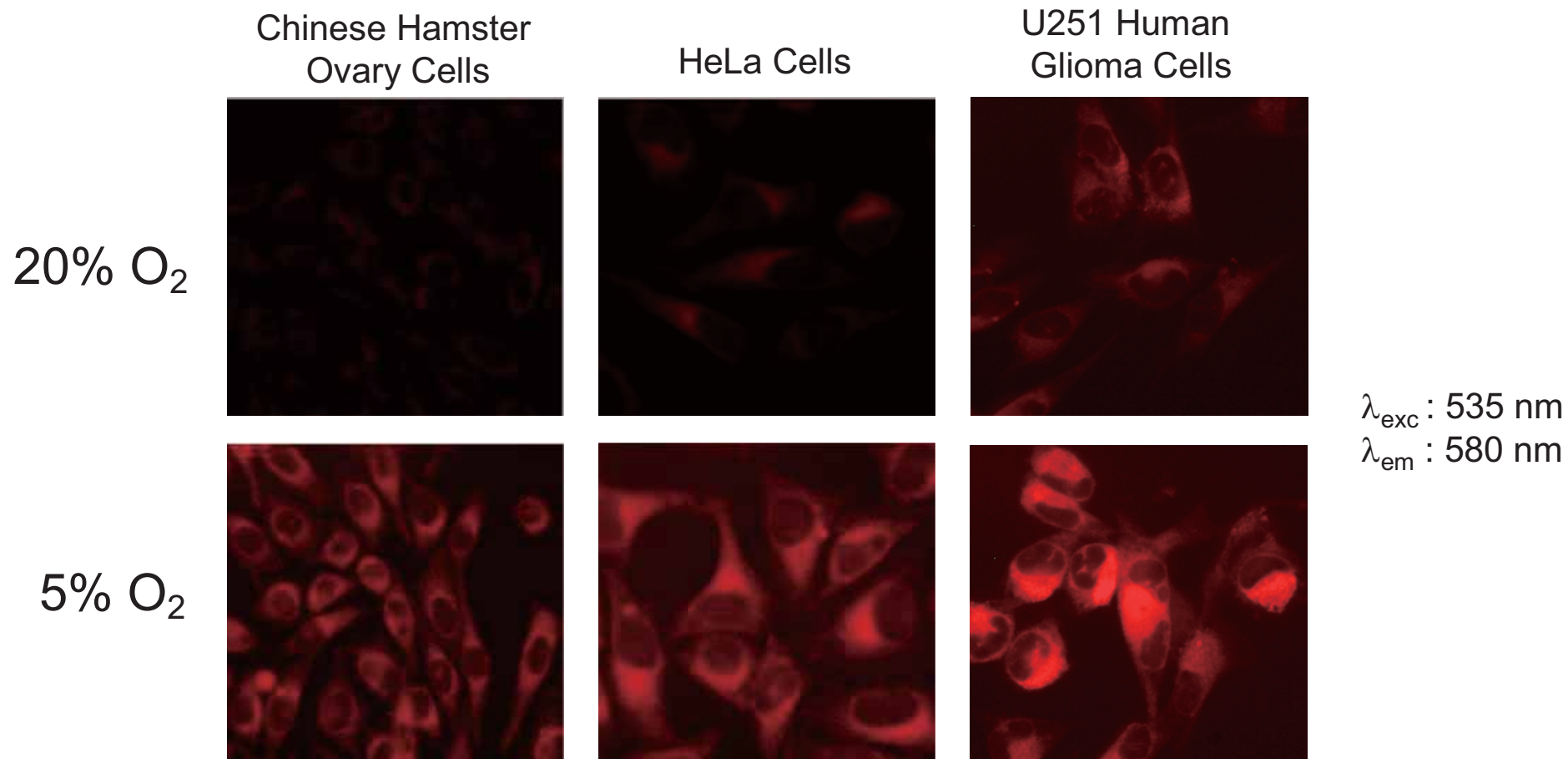
りん光減衰



培養細胞中におけるBTPの酸素消光

BTP (50 μ M, 2 h)

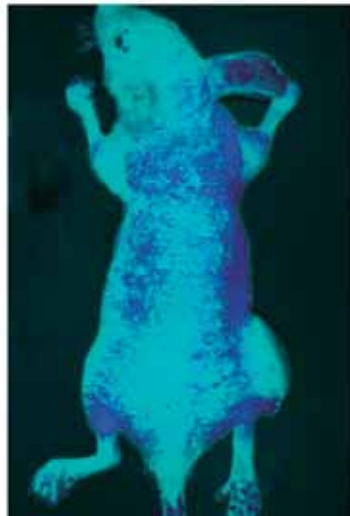
培養条件: 5% O₂, 20% O₂



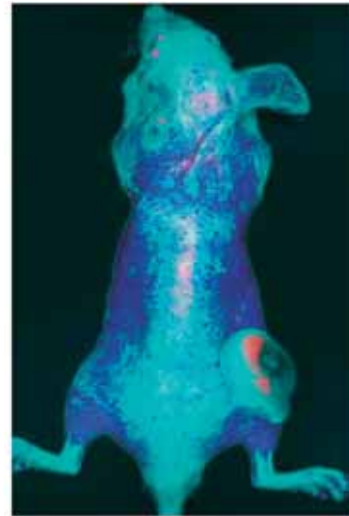
BTP は培養細胞に取り込まれ、酸素分圧に依存して発光強度が変化

BTPを用いた癌腫瘍の光イメージング

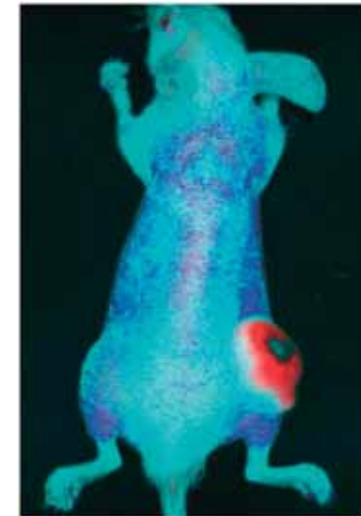
SCC-7 ヒト扁平上皮癌



0



30



60分後

以下の癌腫瘍でも光イメージングが可能

癌細胞

U87MG

Ramos

HT-29

LL-2

由来

ヒト
グリオーマ

ヒト
リンパ腫

ヒト
結腸腺癌

マウス
肺癌由来

- BTPは血流を通して全身に巡り, 細胞に取り込まれる
- 細胞内の小胞体に局在
- 静注後, 約5分後からイメージング可能
- 直径3.5mm程度の腫瘍をイメージングできる
- 細胞毒性はほとんどない。

従来技術とその問題点

(1) 微小電極を組織に挿入する方法

電極近傍の1点の酸素濃度しか測定できない。
細胞のような微小環境の酸素濃度は測定できない。

(2) 常磁性プローブ分子のESR信号幅から求める方法

リアルタイムの酸素濃度測定できない。

(3) ニトロイミダゾール系低酸素組織診断薬剤を使う方法

薬剤の代謝に時間を要するため、薬剤投与後数時間経過しないとデータが得られない。

(4) 金属ポルフィリン, ルテニウム錯体のりん光を用いる方法

センサー分子をポリマー等でコートしなければならない。

新技術の特徴・従来技術との比較

- 分子レベルのセンサーであるため、細胞やマイクロチャンネルのような微小空間の酸素濃度計測が可能。
- 癌腫瘍のような低酸素組織を選択的に可視化することができる。
- 発光法に基づいているため、非侵襲的かつ高感度の計測が可能。
- リアルタイムで酸素濃度の変化を計測可能。
- 分子を外界から保護する必要がないため、分子単独でセンサーとして用いることができる。

想定される用途

- 酸素濃度測定試薬
- 低酸素腫瘍診断試薬
- DO (dissolved oxygen) センサー
- 顕微鏡下でりん光寿命測定を行うことにより、細胞中の酸素濃度のマッピングが可能となることも期待される。

想定される業界

- 医療・医薬品関係
 - 試薬会社
 - 製薬会社
 - 光イメージング関係の研究所等
- 環境計測
 - 各種センサー製造メーカー
 - 環境関係の研究所等

実用化に向けた課題

- 現在、検出波長について近赤外検出が可能なところまで開発済み。しかし、励起波長の近赤外化の点が未解決である。
- 今後、励起波長の近赤外化について実験データを取得し、生体深部腫瘍イメージングに適用していく場合の条件設定を行っていく。
- 実用化に向けて、腫瘍の検出の精度を1mm以下まで向上できるように技術を確立する必要もあり。

企業への期待

- 未解決の励起波長の近赤外化については、化合物合成の技術により克服できると考えている。
- 化合物合成、化合物の毒性評価の技術を持つ企業との共同研究を希望。
- また、酸素濃度測定試薬を開発中の企業、創薬、環境分野への展開を考えている企業には、本技術の導入が有効と思われる。

本技術に関する知的財産権

- 発明の名称 : 酸素濃度測定試薬および
酸素濃度測定方法
- 出願番号 : 特願2007-126518
特開2008-281467
- 出願人 : 群馬大学
- 発明者 : 飛田成史、吉原利忠、
竹内利行、穂坂正博

お問い合わせ先

**国立大学法人群馬大学
群馬大学TLO**

TEL 0277-30-1171~1175

FAX 0277-30-1178

e-mail rip-admin@eng.gunma-u.ac.jp