

イリジウム錯体の発光に基づく がん(癌)などの低酸素組織イメージング

飛田成史, 吉原利忠

(群馬大学大学院工学研究科応用化学・生物化学専攻)

穂坂正博, 竹内利行

(群馬大学生体調節研究所)

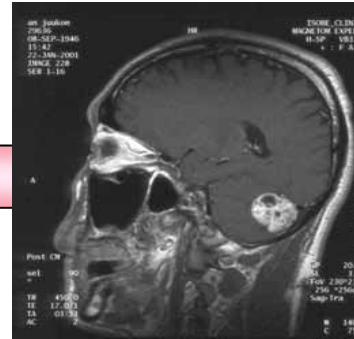
がん診断技術の進歩



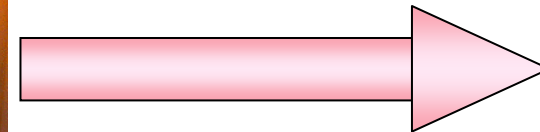
1895 Roentogen



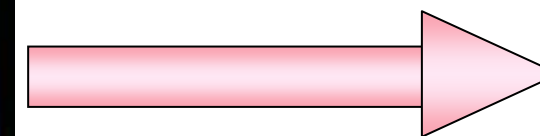
1970~ CT



1970~ PET



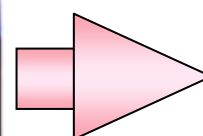
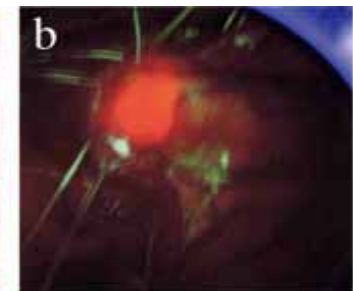
1970~ MRI



Non-radiation

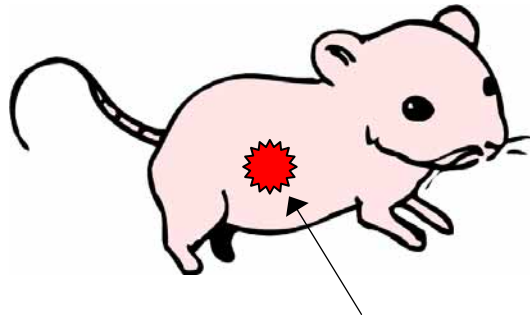


2000~ 光



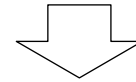
光診断法

蛍光イメージング



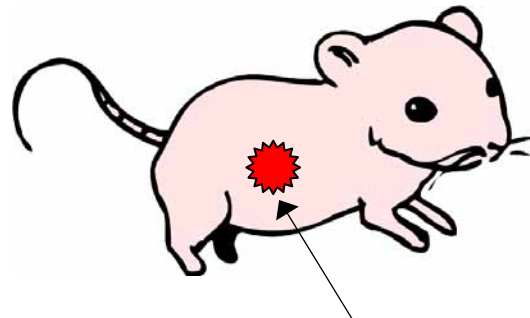
集積したプローブが発光

プローブをがん腫瘍に集積させて
腫瘍を選択的に光らせる



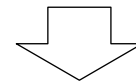
集積に時間が掛かる
自家蛍光が強い

りん光イメージング



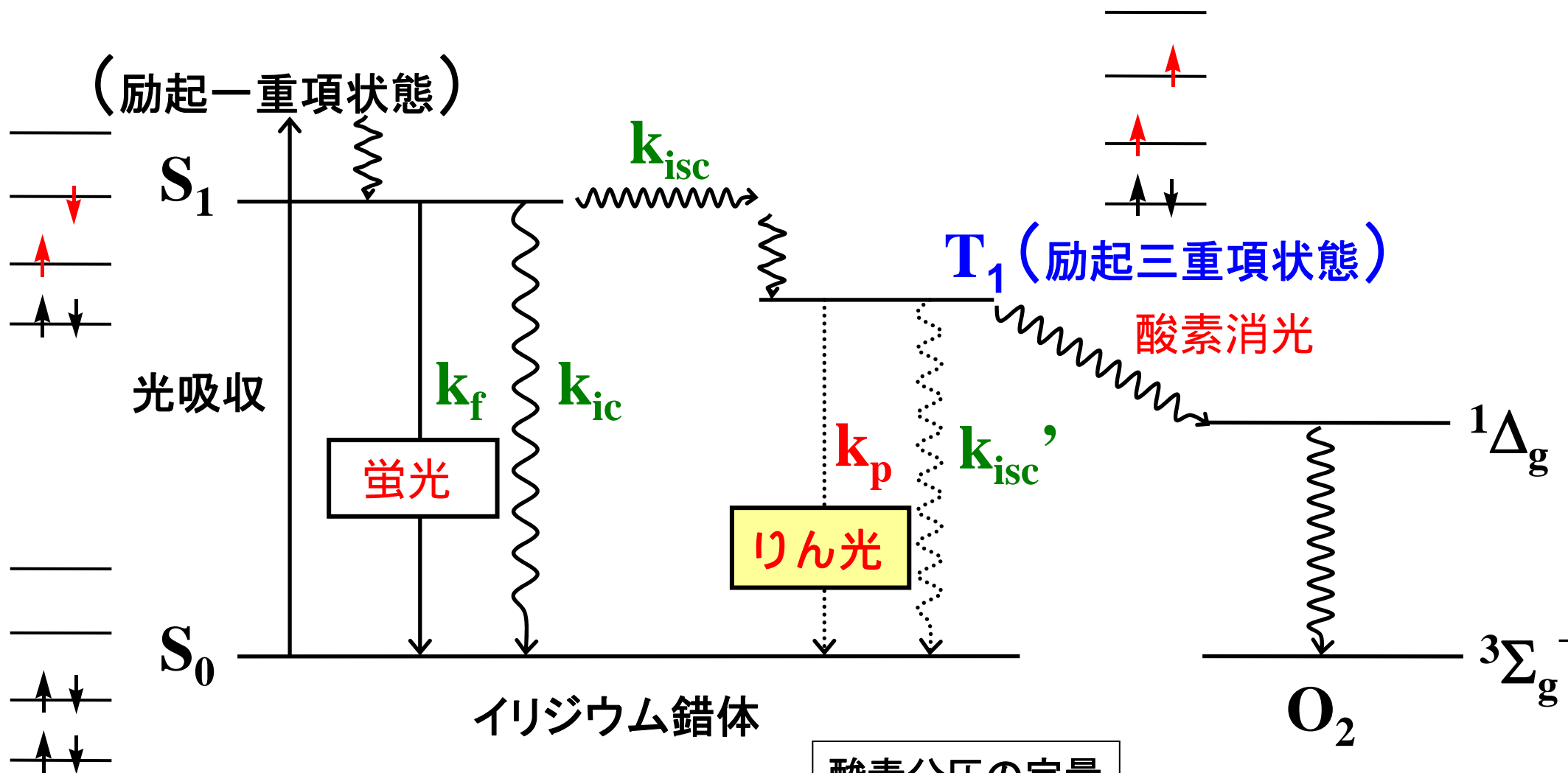
低酸素環境のプローブが発光

酸素によるりん光消光現象を利用して
低酸素がん組織のみを選択的に光らせる



プローブの集積を必要としないため迅速な
検出が可能
ゲート機能の付いた検出器を使うことにより、
自家蛍光を排除できる

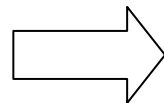
蛍光イメージングとりん光イメージング



酸素分圧の定量

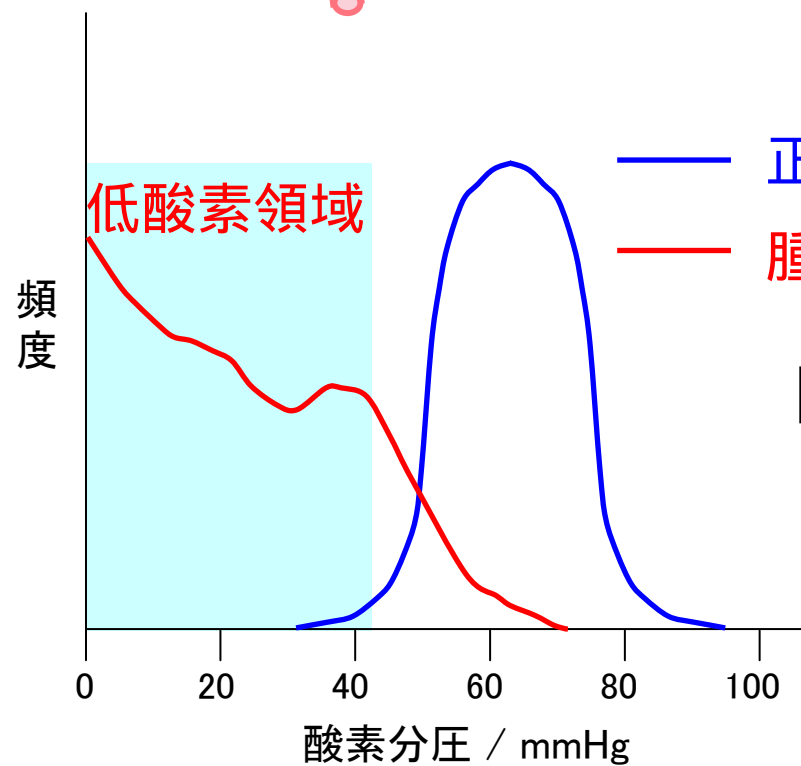
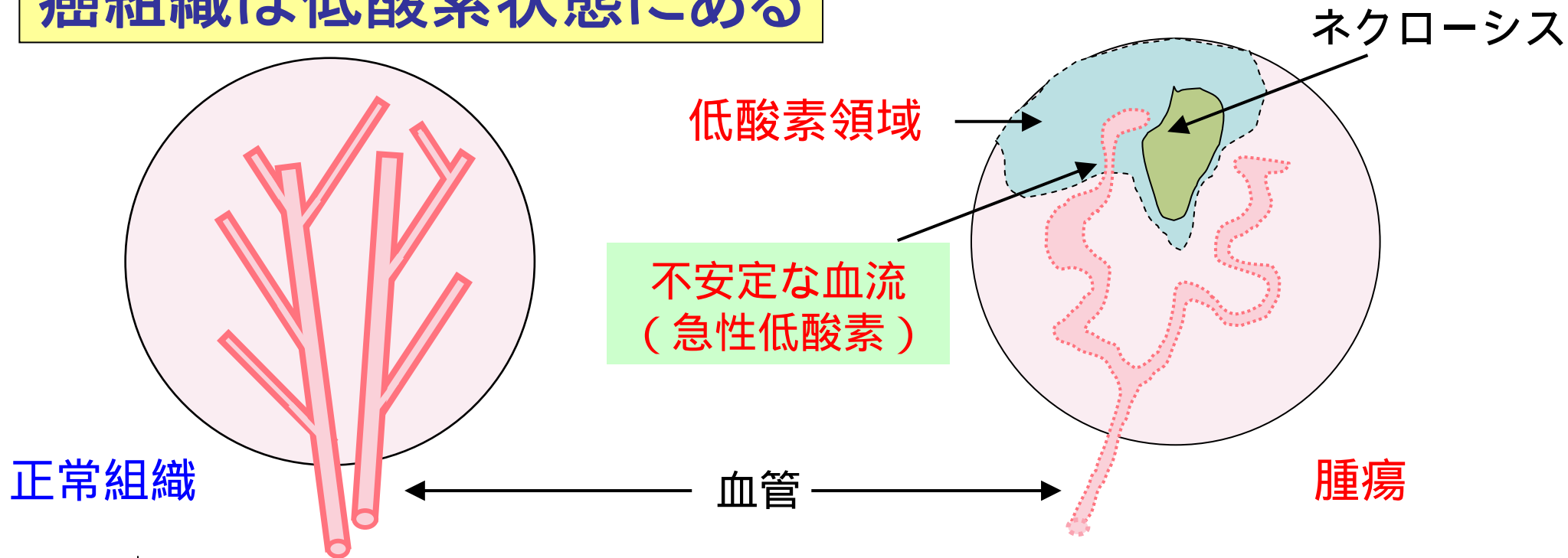
りん光寿命

$$\frac{\tau_p^0}{\tau_p} = 1 + k_q \tau_p^0 p O_2$$



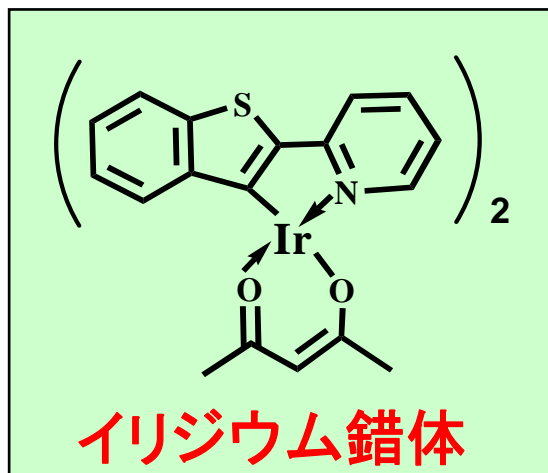
$$p O_2 = \frac{1}{k_q} \left(\frac{1}{\tau_p} - \frac{1}{\tau_p^0} \right)$$

癌組織は低酸素状態にある



⇒ イリジウム錯体のりん光を利用して癌組織をイメージング

開発内容



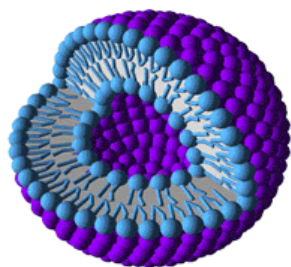
低酸素組織プローブ

近赤外発光プローブの確立
in vivo酸素分圧計測法の確立

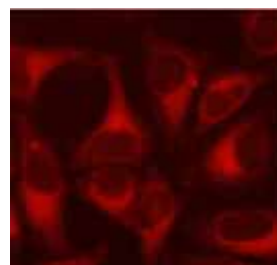
改良



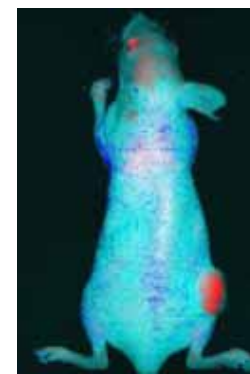
溶液中



脂質二分子膜中

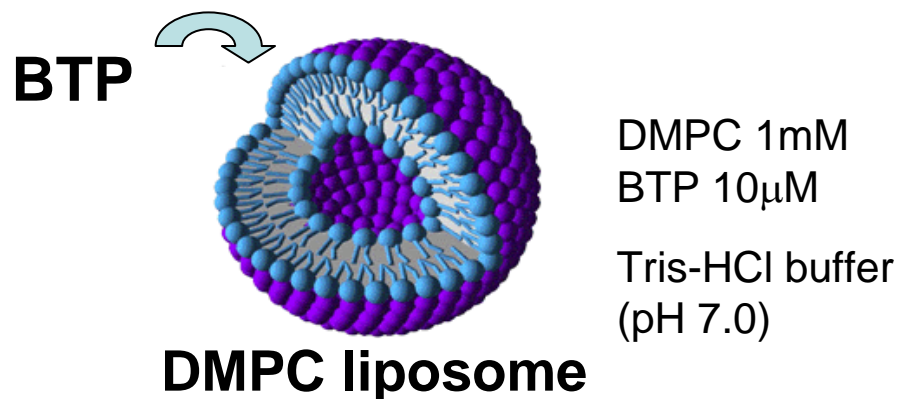
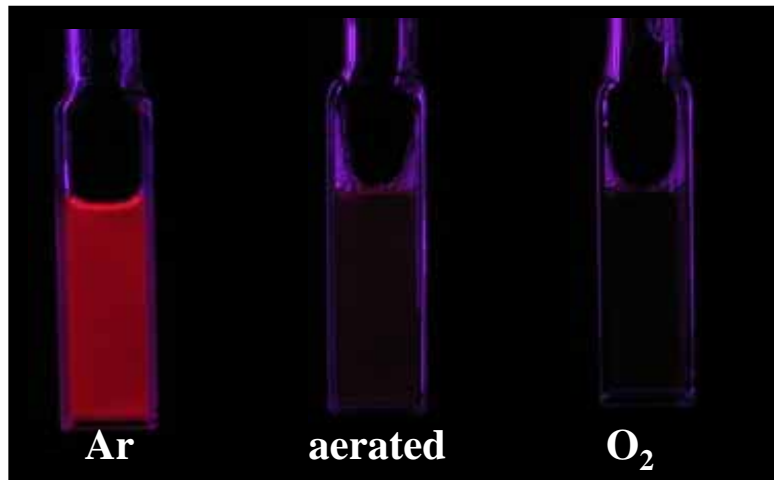


培養細胞中

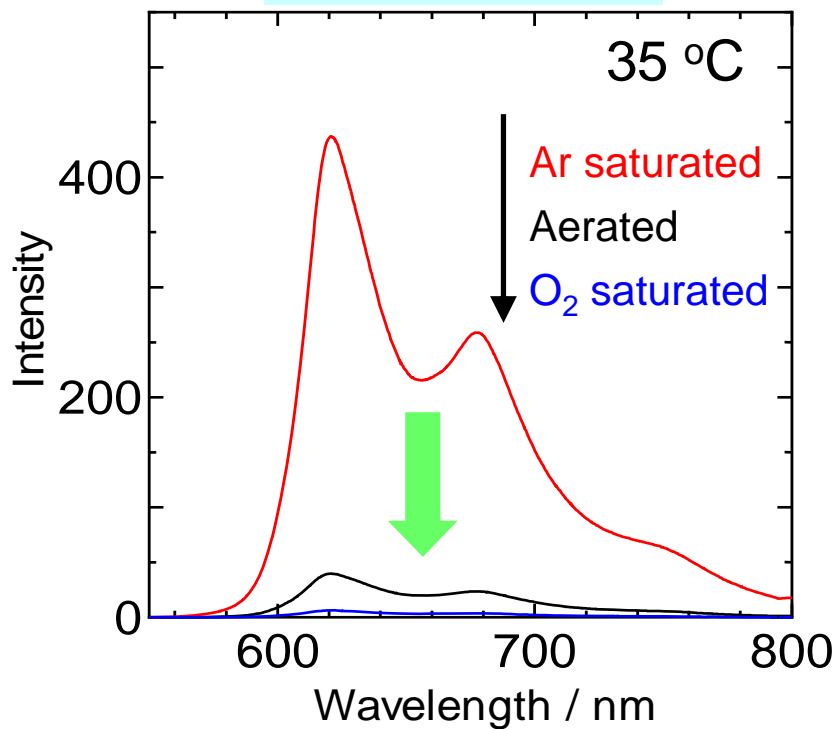


個体組織中

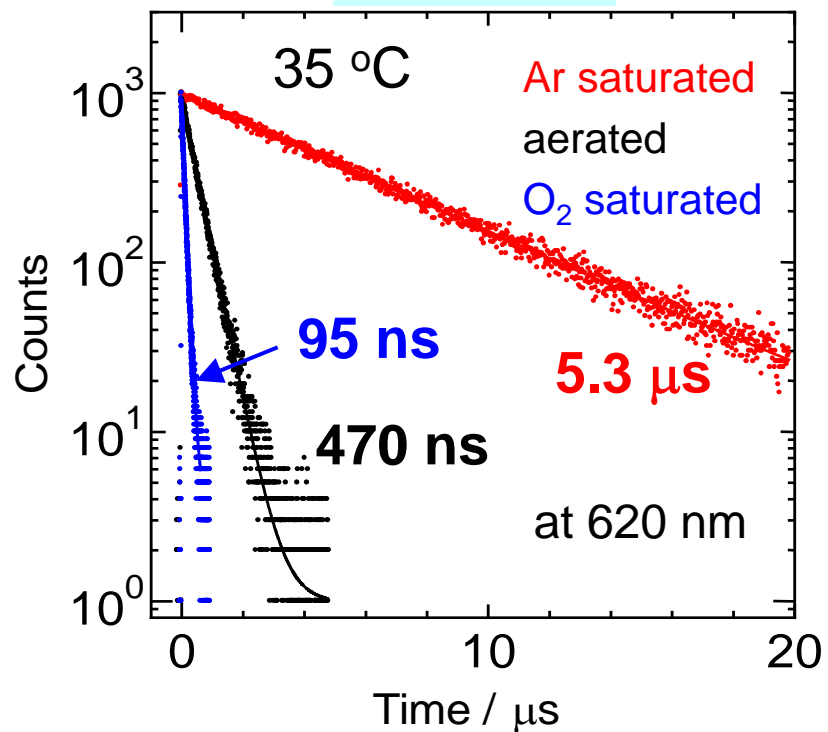
脂質二分子膜 (DMPC膜) 中におけるBTPりん光の酸素消光



りん光スペクトル



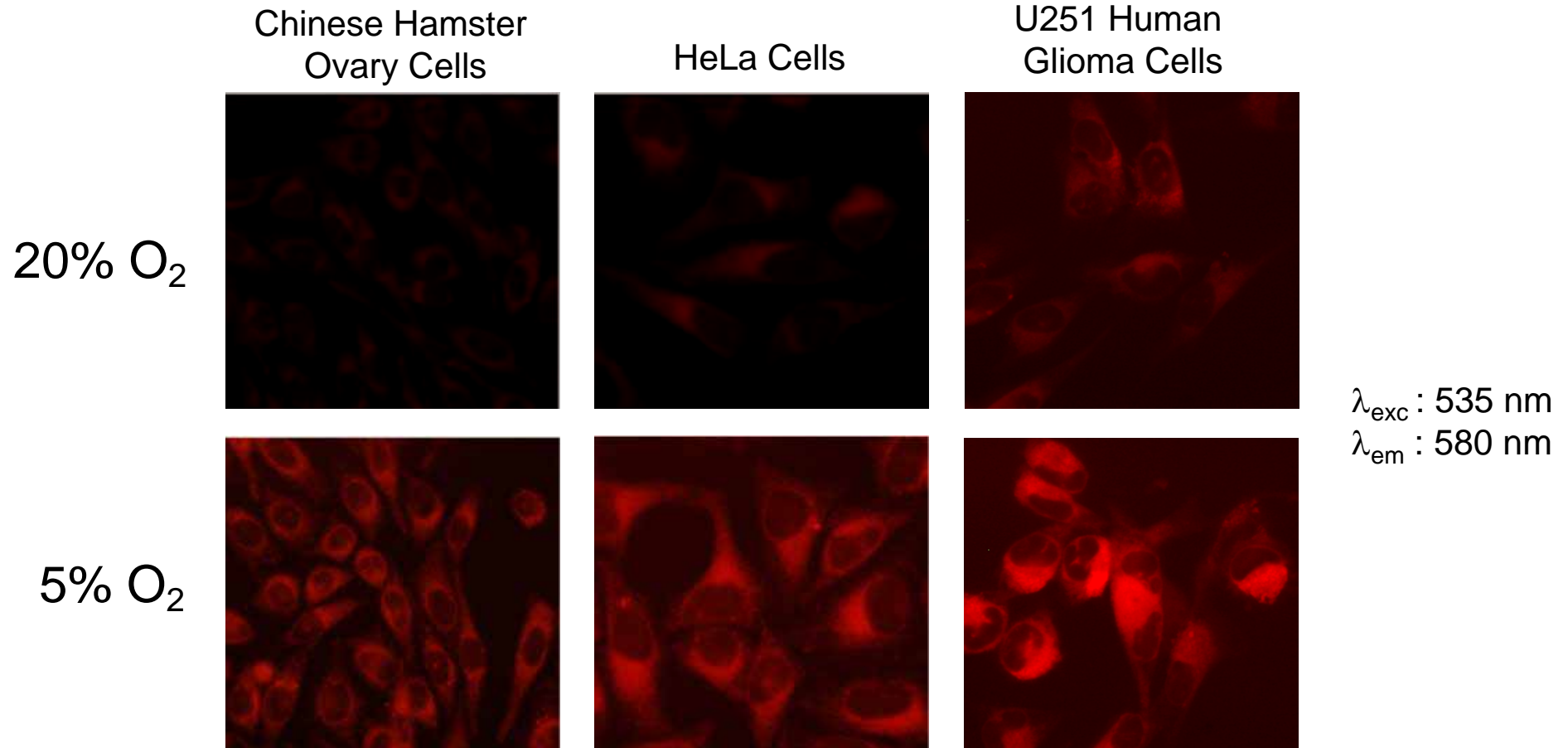
りん光減衰



培養細胞中におけるBTPの酸素消光

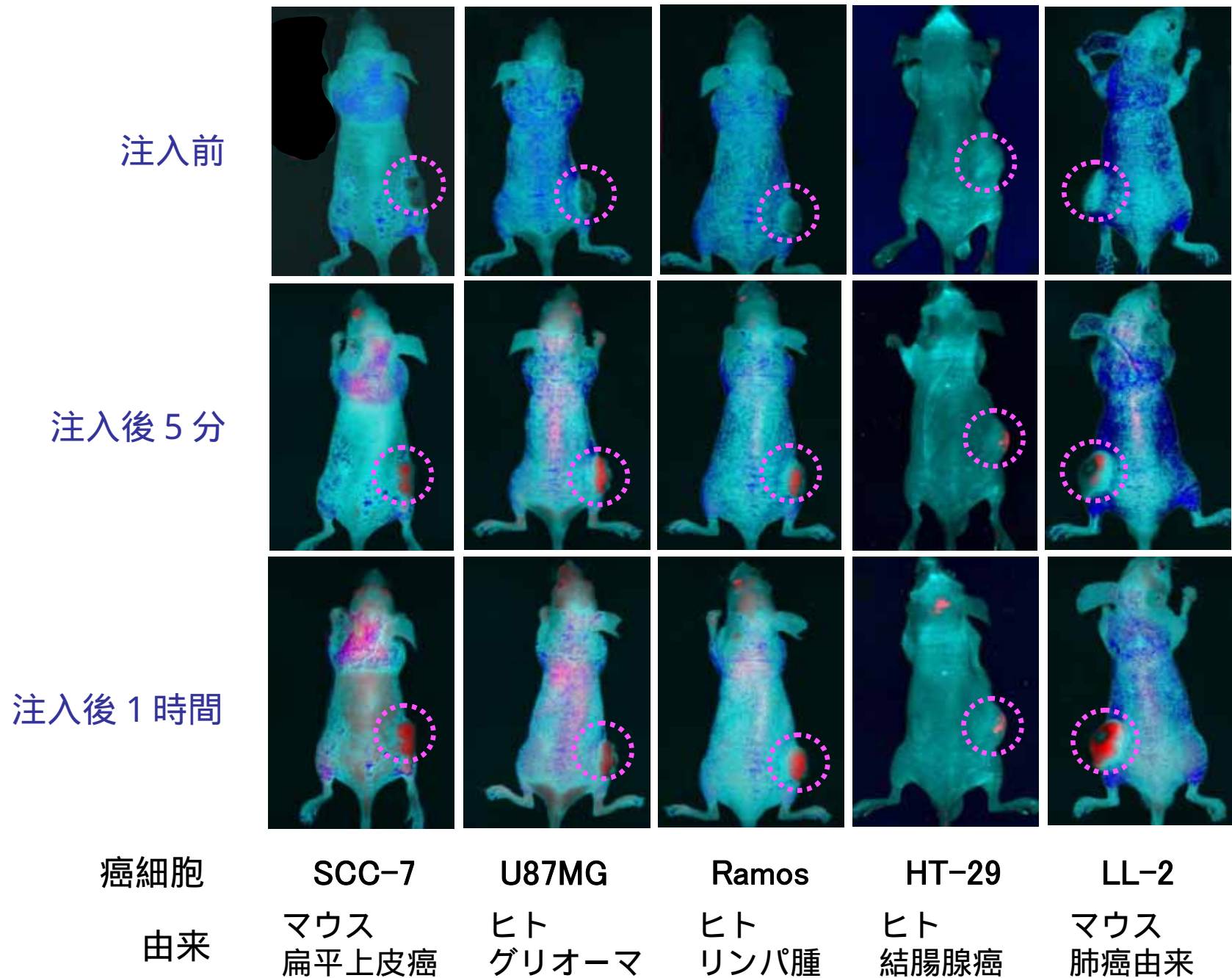
BTP (50 μ M, 2 h)

培養条件: 5% O₂, 20% O₂

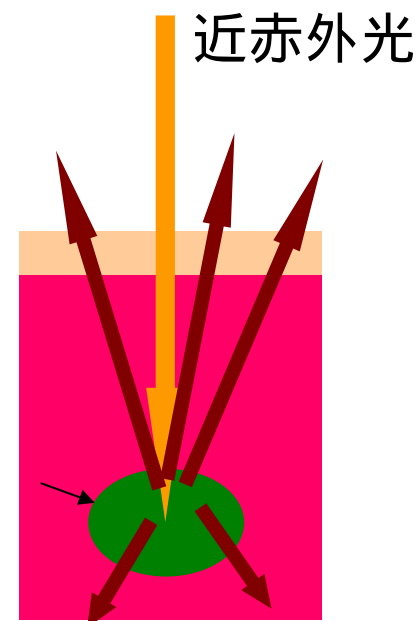
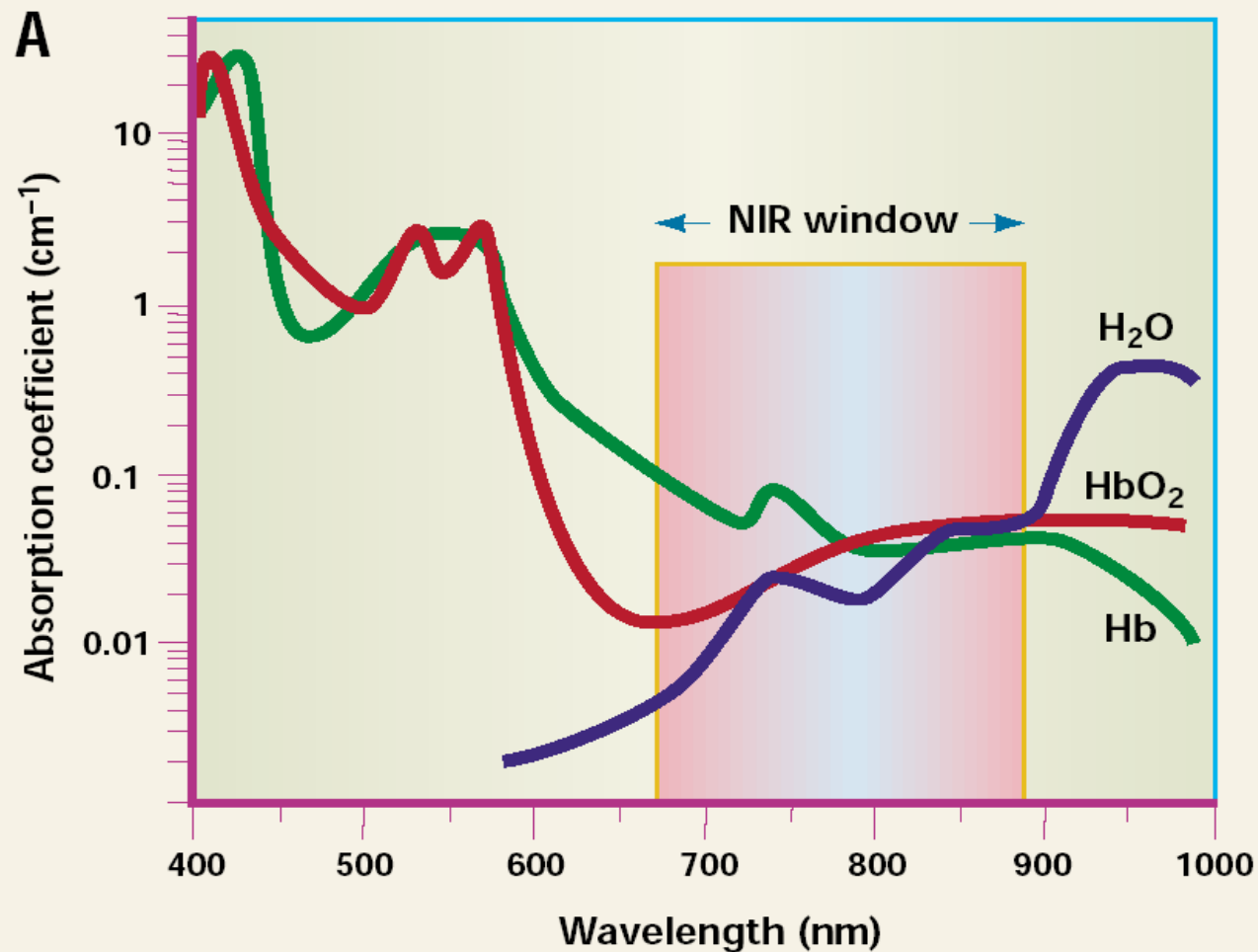


BTP は培養細胞に取り込まれ、酸素分圧に依存して発光強度が変化

BTPを用いた低酸素癌組織の光イメージング

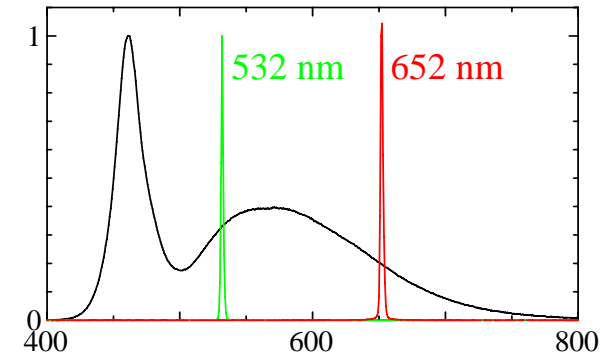
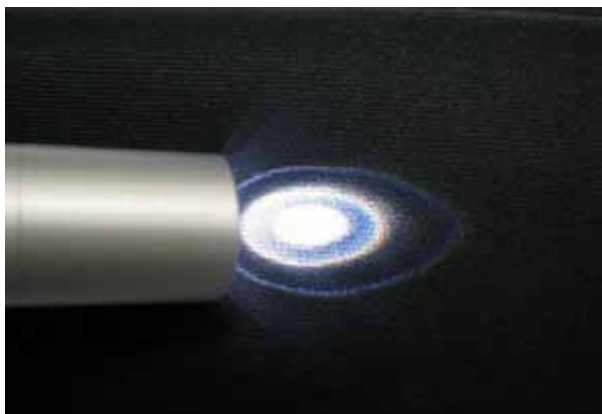
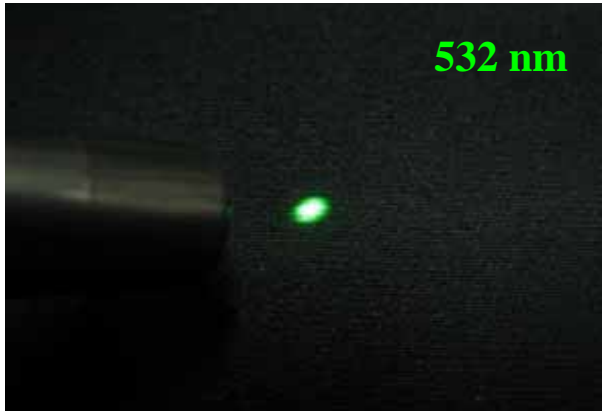


イリジウム錯体の吸収波長, 発光波長の長波長化



より深部の癌組織の検出が
可能

Weissleder, R. *Nat. Biotechnol.* **2001**, *19*, 316.



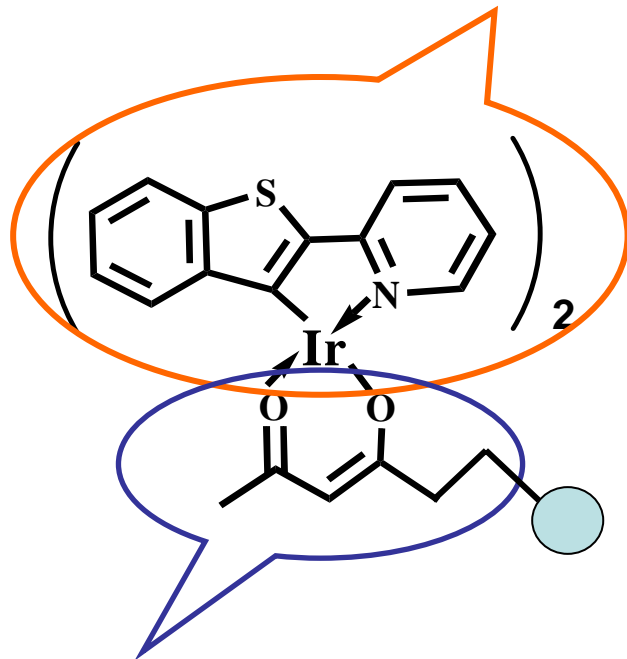
イリジウム錯体の改良

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

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

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

補助配位子

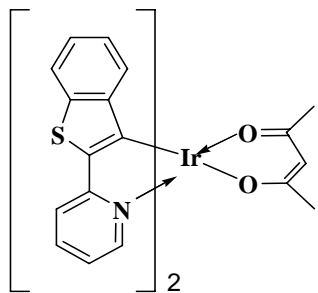


化学的性質の改良

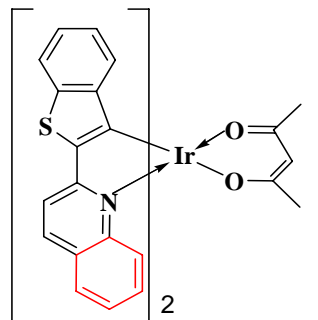
水への溶解度, 膜との親和性, etc
高輝度化

長波長化イリジウム錯体

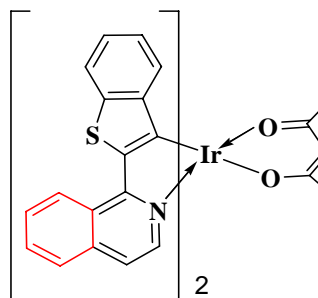
BTP



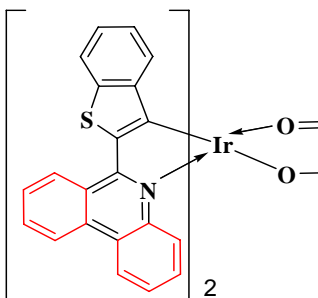
BTQ



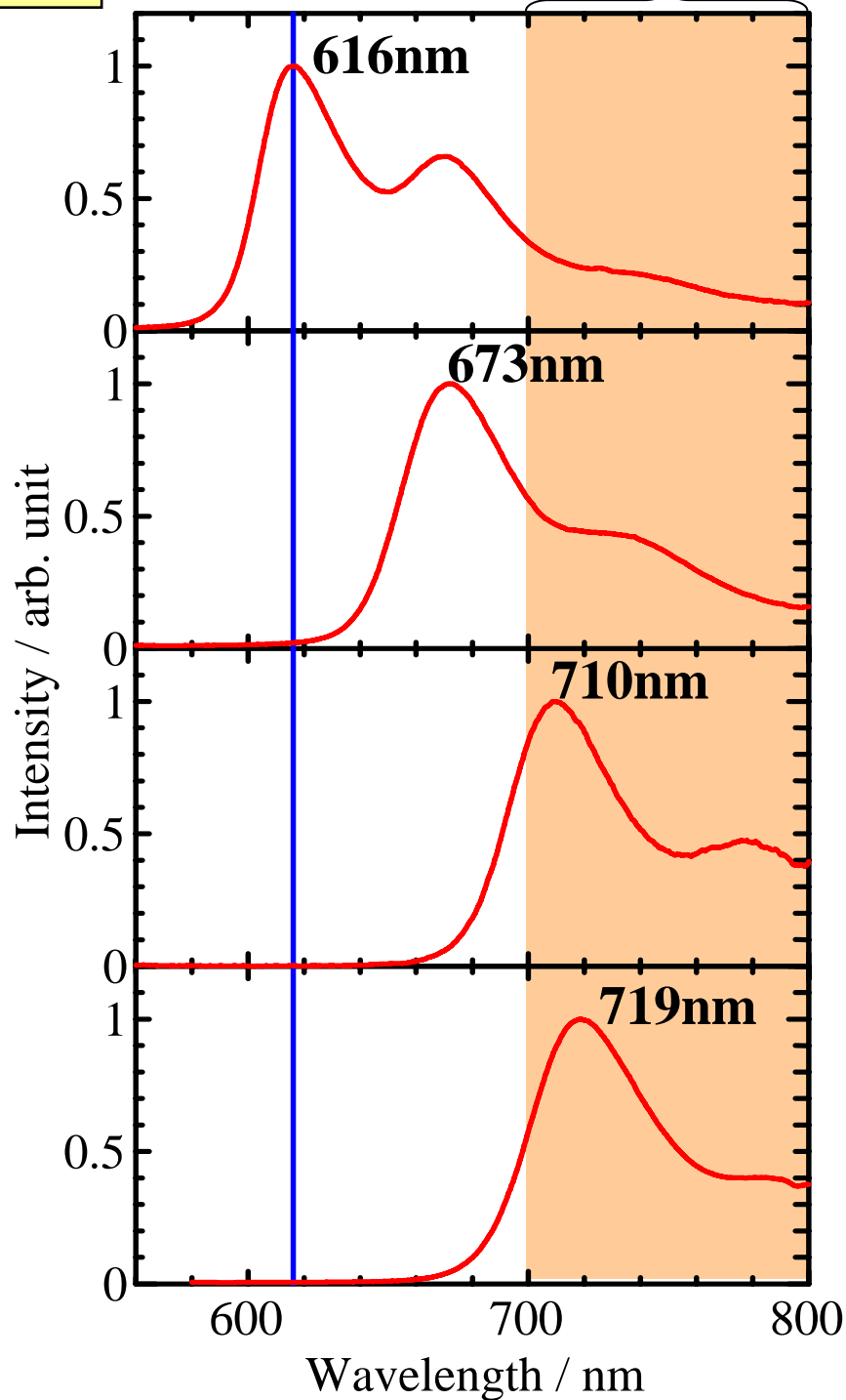
BTIQ



BTPH



近赤外領域



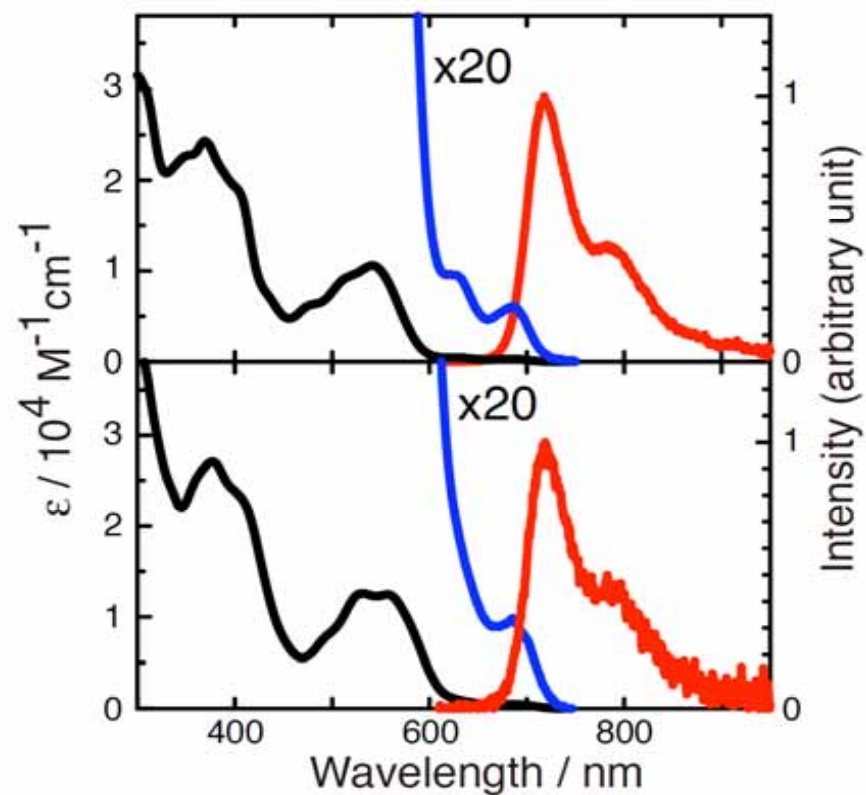
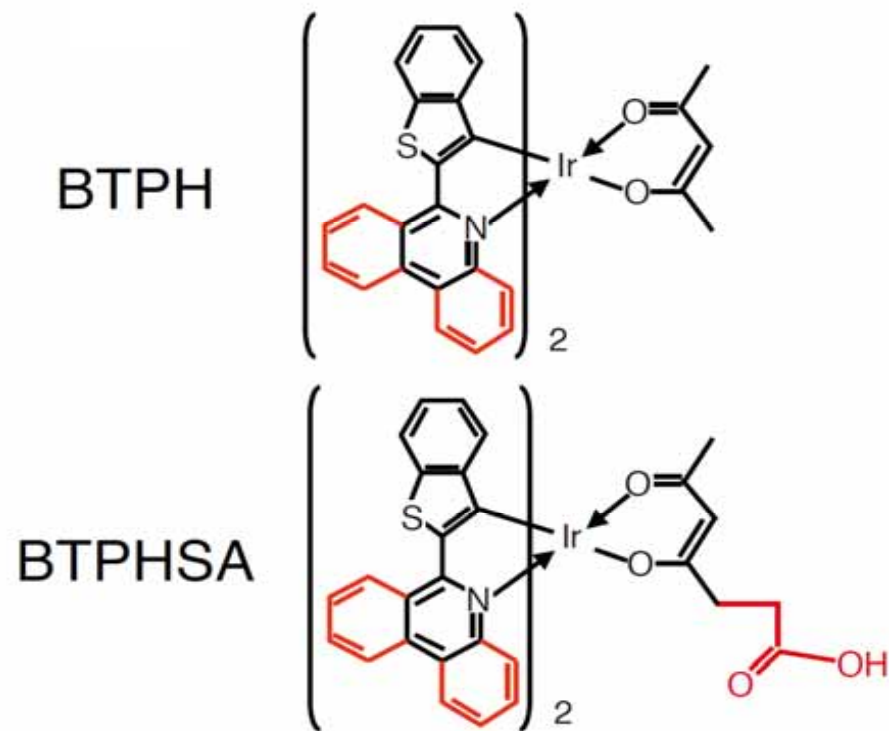
$$\Phi_p = 0.30$$

$$\Phi_p = 0.38$$

$$\Phi_p = 0.12$$

$$\Phi_p = 0.29$$

BTPH, BTPHSAの吸収・発光スペクトル





Excitation /Emission

575-605 nm/645 nm

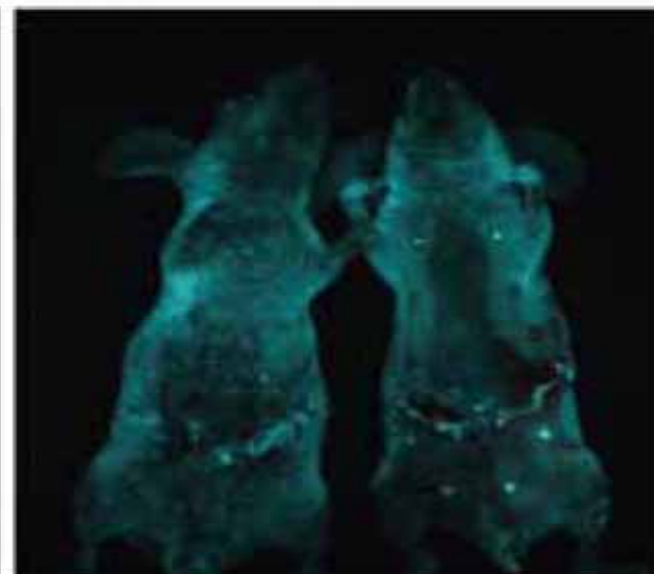
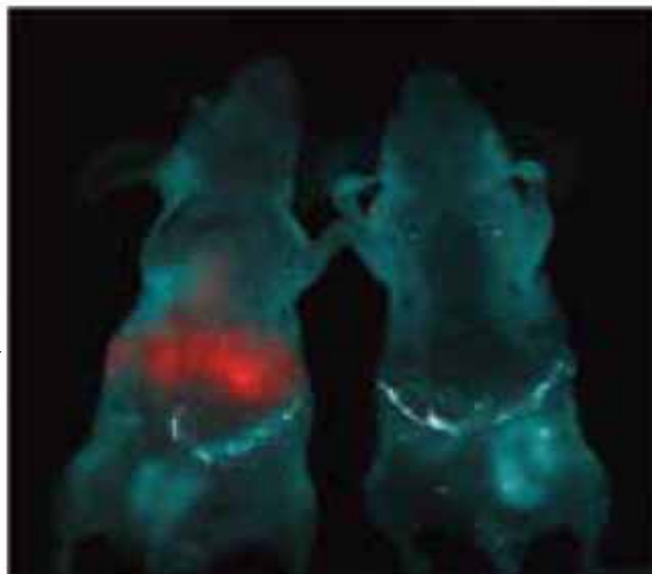
445-490 nm/580 nm

BTPHSA

BTP

BTPHSA

BTP

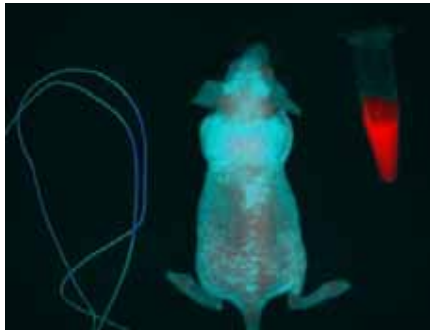


BTPHSAでは皮膚から
6-7 mmの深さの
腫瘍をイメージング

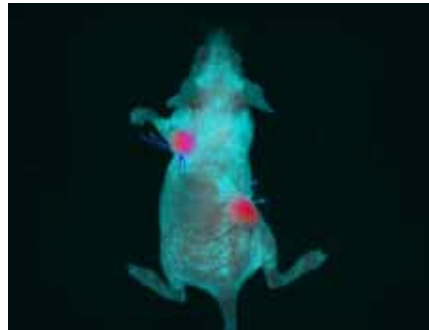
イリジウム錯体による低酸素組織検出

結紮実験

結紮前

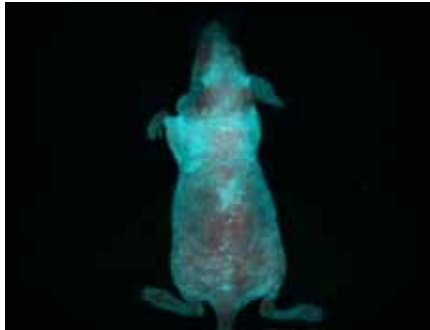


結紮後1分

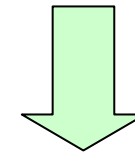
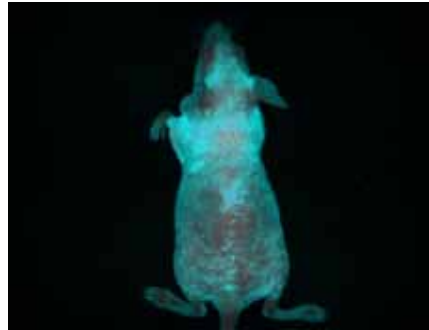


生体の低酸素部位は血流が不足・欠乏する
癌, 動脈硬化プラーク, 脳梗塞・心筋梗塞などの
病態組織で観察される

結紮を解放後1分



結紮を解放後2分



本技術はこのような病態の検出を
可能にする

BTPはマウスの身体全体に分布し
低酸素組織を描出

- 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。

想定される用途と業界

用途

- 低酸素組織診断試薬
- 酸素濃度測定試薬
- DO (dissolved oxygen) センサ

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

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。
- 内視鏡、CCDカメラ等と組み合わせたin vivoイメージング技術の確立が望まれる。

企業への期待

- CCDカメラ, 内視鏡の技術を持ち, 本プローブを用いたin vivoイメージングシステムの開発に興味を持つ企業との共同研究を希望。
- 酸素濃度測定試薬, 光学式酸素センサーを開発中の企業, もしくは創薬, 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 : 新規錯体化合物, 並びにそれを用いた酸素濃度測定試薬および癌診断薬
- 出願番号 : 特願2009-166878
- 出願人 : 群馬大学
- 発明者 : 吉原利忠, 飛田成史, 穂坂正博, 竹内利行
- 発明の名称 : 新規水溶性イリジウム錯体化合物およびそれを用いた酸素濃度測定試薬
- 出願番号 : 特願2008-239660
特開2010-070494
- 出願人 : 群馬大学
- 発明者 : 吉原利忠, 飛田成史, 穂坂正博, 竹内利行
- 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 T L O

T E L 0277-30-1171 ~ 1175

F A X 0277-30-1178

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