

群馬大学理工学研究院

分子科学部門 飛田研究室

http://tobita-lab.chem-bio.st.gunma-u.ac.jp/

■研究テーマ

- りん光プローブを用いた細胞内酸素濃度計測法の開発
- がんなどの低酸素組織イメージング法の開発

■キーワード

低酸素組織、機能的りん光プローブ、癌イメージング

■産業界の相談に対応できる技術分野

発光イメージング、低酸素検出試薬、生体組織の酸素濃度測定

■主な設備

酸素濃度可変インキュベーター、蛍光顕微鏡、顕微りん光寿命測定装置

連絡先
群馬大学理工学研究院 飛田 成史
TEL:0277-30-1210 FAX:0277-30-1213
e-mail:tobita@gunma-u.ac.jp



飛田成史教授



吉原利忠助教

研究概要

低酸素状態で強く発光するイリジウム錯体を用いて、細胞・組織内の酸素量をイメージングする技術を開発

生体内で低酸素状態は、癌、動脈硬化巣、脳・心筋梗塞などの病態組織で観察され、我国の3大死因、癌、脳卒中、心筋梗塞の共通の基本的病態となっています。低酸素検出素材として我々が改良・開発している有機EL素材、イリジウム錯体は薄型テレビディスプレイの発光材料として注目され、高効率でりん光を發します。そのりん光は酸素消光現象により、低酸素環境で発光し、常酸素環境で消光する特性をもちます。我々は、この特性を利用して低酸素状態にある癌組織の可視化を試みました。イリジウム錯体として(btp)₂Ir(acac) (BTP)を用い、培養細胞でその発光を観察しました。3種類の培養細胞は20%酸素濃度では発光を観察できませんが、5%では発光を観察しました。次にマウスに移植した腫瘍(胃がん、大腸がん、口腔上皮がん、グリオーマ、リンパ腫)で発光を観察しました。マウスを麻酔し、尾静脈からBTPを静注し、in vivo イメージングシステムマエストロを用いて観

察したところ、どの腫瘍でも静注5分後には鮮明な赤色イメージングを得ました。さらに生体深部の腫瘍を検出するため、近赤外領域に発光を与えるBTPHSA(図1)を開発しました。このプローブを用いて皮膚表面から5-6mmに移植した腫瘍を検出することに成功しました(図2)。

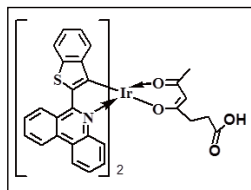


図1 イリジウム錯体 BTPHSA の化学構造

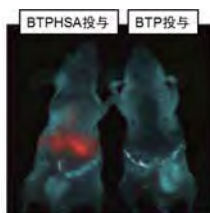


図2 BTPHSA による腫瘍イメージング

特徴と強み

発光測定に基づくため細胞・組織内の酸素レベルを非侵襲的、高空間分解能でリアルタイム計測できます



イリジウム錯体をプローブとする酸素計測法は、発光測定に基づくため、顕微鏡と組み合わせた測定が可能になります。その結果、細胞や組織のようなミクロな生体環境の酸素レベルをリアルタイムで計測することが可能になります。

また、従来用いられてきたキャピラリー電極を生体組織に挿入することにより酸素濃度を計測する方法に比べて、我々の方法は低侵襲的であるという特徴を有します。

さらに、プローブの構造を化学的に設計することにより、細胞内の特定のオルガネラに局在するプローブも合成されています。図3は細胞内のミトコンドリアに選択的に集積性をもつイリジウム錯体BTP-Mitoの構造式と、HeLa細胞内での酸素応答を示しています。培養器の酸素分圧を、通常の20%から2.5%に下げて低酸素状態にすると、細胞内からのBTP-Mitoの発光が強くなるのがわかります。

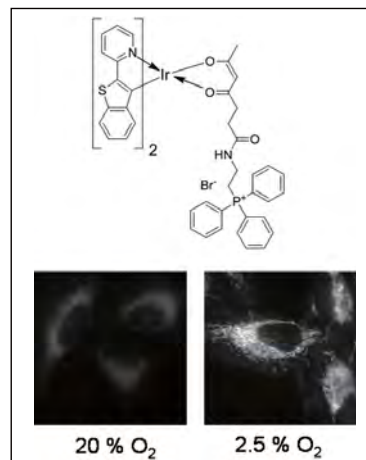


図3 BTP-Mito を用いた HeLa 細胞内の酸素イメージング

今後の展開

発光寿命の測定に基づいて酸素濃度の定量を目指すとともに、寿命測定を必要としないレシオ型酸素プローブを開発する



イリジウム錯体のりん光を検出して細胞や組織の酸素濃度を決めるには、りん光の寿命が酸素濃度に依存して変化することを利用します。そのためにレーザーパルス光源、蛍光顕微鏡、寿命測定系を組み合わせたシステムを構築し、酸素濃度の定量にチャレンジしています。

一方、寿命測定を必要としないプローブとして、レシオ型酸素プローブを開発しつつあります。図4に発光強度が酸素に依存しない蛍光団(C343)と発光強度が酸素濃度に依存して変化するイリジウム錯体(BTP)を結合したレシオ型プローブの構造と溶液中の発光画像を示します。溶液中に酸素が存在しない酸素分圧条件(0 mmHg)では、主にBTPの赤色発光が見られますが、常酸素の条件(160 mmHg)では、BTPのりん光が消光されるため、主にC343の青色発光が現れています。その中間の酸素分圧では、赤と青が混合した紫色発光を呈しており、酸素濃度に依存して発光色すなわち発光スペクトルが変化しています。

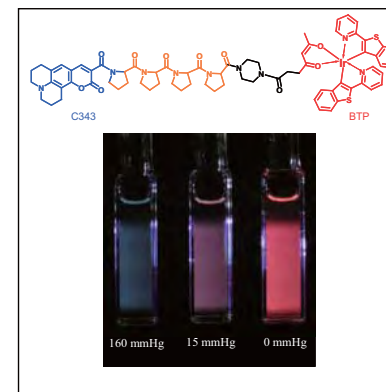


図4 C343-Pro₃-BTP の構造と酸素応答