

【目的】 光熱療法 (photothermal therapy : PTT) は、近赤外吸収を持つ光増感剤が吸収した光を熱エネルギーに変換することを利用して、光増感剤の集積かつ強い近赤外光を照射した部位を特異的に発熱させ、熱に弱い固形がんの深部からがんを死滅させる方法である。そのため、正常組織への侵襲性が低く、副作用の小さな治療法になると考えられている。しかしながら、インドシアニングリーンや IR-780 などの PTT プロローブは、腫瘍への選択性、血中半減期が短いといった課題がある。そこで、本研究では、pH 応答性近赤外蛍光プロローブの開発、そして、このプロローブの抗体医薬とのコンジュゲートにより、がん選択的光熱療法への応用を検討した。

【方法】 目的の pH 応答性近赤外蛍光プロローブを合成した。紫外可視近赤外分光光度計により吸収スペクトル、分光蛍光光度計により蛍光スペクトルを測定した。HeLa 細胞に蛍光プロローブを添加し、pH 6.4 および pH 7.4 で蛍光顕微鏡により観察した。また、それぞれの pH 条件で 808 nm レーザー (1 W/cm^2) を照射した際の細胞生存率を評価した。ラベル化部位を導入した蛍光プロローブと抗体の複合体を作製し、紫外可視近赤外分光光度計、分光蛍光光度計、サイズ排除クロマトグラフィーによって得られた複合体の評価を行った。

【結果】 置換基を変えることで数種類の pH 応答性近赤外蛍光プロローブを合成した。置換基を変えることで、応答する pH を任意に調節することが可能であった。また、正常組織周辺の pH 7.4 とがん組織周辺の pH 6.4~6.8 程度を認識して、吸光度・蛍光強度が OFF/ON 制御できる誘導体も開発することができた。細胞の蛍光イメージングにおいて、pH 7.4 と比較して、pH 6.4 では強い蛍光を示したことから、pH 応答性近赤外蛍光プロローブが細胞の pH を認識して蛍光を OFF/ON 制御できることが示された。PTT への応用を見据えて、pH 応答性近赤外蛍光プロローブを細胞にインキュベーションし、レーザー照射した際の細胞毒性を評価した。pH 7.4 では細胞毒性がみられないのに対して、pH 6.4 では細胞毒性を確認することができた。これらの結果より pH 選択的な光熱療法への応用可能性が示唆された。ラベル化部位を導入した蛍光プロローブと抗体の複合体について、反応時間、当量を変えて検討した。サイズ排除クロマトグラフィーにより、複合体の形成を確認することができたが、複合体に伴い、抗体の凝集体が確認された。今後は、複合体について検討を行い、凝集体が形成されないような条件検討を進めていく。

本研究の目的

