

がん認識光熱変換ジラジカル錯体によるがんの革新的セラノスティクス

東北大学 大学院環境科学研究科 先端環境創成学専攻

壹岐 伸彦

1. はじめに

持続可能で費用対効果が高く、幅広い種類のがんに適用可能な診断・治療法の開発は、現代医療における喫緊の課題である。その有力な解決策として、診断(Diagnosis)と治療(Therapy)を融合させたセラノスティクス(Theranostics)が注目されている。これは、診断機能と治療機能の両方を担うプローブ薬剤をがん組織に送達し、一度の投与で診断と治療を完結させるアプローチである。この成否は、「がん細胞内だけで診断・治療の両機能を発揮するプローブを、いかに設計し、がんを送達するか」という根源的な問いにかかっている。

この課題に対し、我々はジラジカル電子構造を持つジラジカル-Pt^{II}錯体というユニークな分子に着目した(図1, PtL₂)^{1,2)}。この錯体は、生体透過性に優れる700-750 nmの近赤外(NIR)光を極めて強く吸収し(モル吸光係数 $\epsilon = 10^5 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$)、ほぼ100%の高効率で光熱変換を引き起こす。さらに特筆すべきは、この錯体のがん細胞内の環境を認識してNIR光吸収能をスイッチオンする特性を持つ点である(図2)。この性質を利用すれば、NIR光パルス照射による光音響イメージング(PAI)での診断と、連続光照射による光熱療法(PTT)での治療を、がん組織限定で行うことが可能となる(図3)。

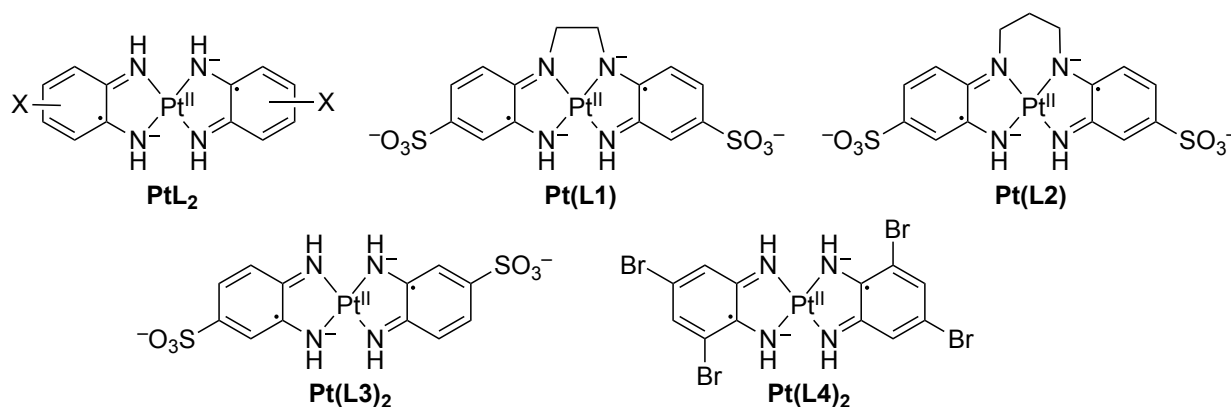


図1. ジラジカル-Pt^{II}錯体群

本研究の最終的な目標は、生体内で安定かつ、がんを選択的に送達され、がん細胞を認識して機能を発現する光熱変換プローブを創製することである。これにより、ジラジカル錯体を基盤とする革新的ながんセラノスティクスが創成される。本研究はその前段階として本セラノスティクスのコンセプトを *in vitro* で検証することを目的とする。具体的には「プローブの設計」「送達システムの設計」「細胞での評価」の三つの柱で推進してきた。以下、各項目ごとの成果を述べ、総括する。

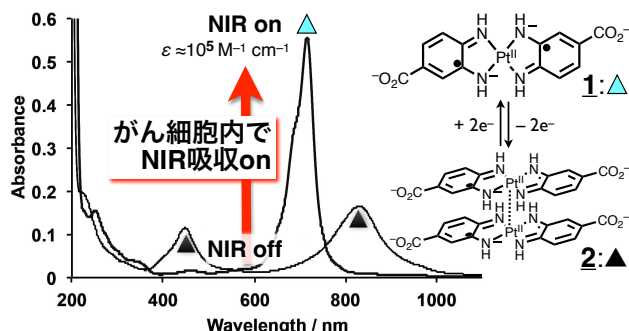


図 2. ジラジカル錯体の NIR 吸収スイッチ

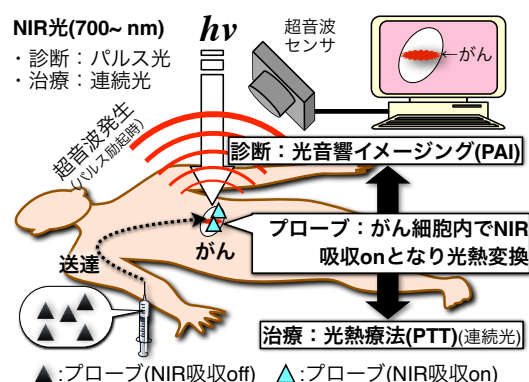


図 3. PAI と PTT によるがんの革新的セラノスティクスコンセプト

2. プローブの設計³⁾

前述のようにジラジカル-Pt 錯体は強く NIR 光を吸収し、それをほぼ 100%熱に変換する。しかし Pt^{II} との親和性の高いグルタチオン(GSH)が多量に存在するがん細胞内では容易に解離する問題があった。そこで、安定性向上のために、2 個の配位子をリンカーで連結し、キレート効果による安定性向上を企図した。すなわち、エチレンあるいはプロピレンリンカーで配位子同士を連結した水溶性錯体 Pt(L1)および Pt(L2)を設計し (図 1), GSH との配位子置換反応速度を解析した。水溶液中で、Pt(L1)は 675 nm ($4.8 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)に、Pt(L2)は 723 nm ($8.7 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)に吸収極大を示した。種々の濃度で GSH を添加した錯体のリン酸緩衝生理食塩水(PBS)溶液について、37°C での吸収スペクトルの時間変化から、配位子置換反応速度定数 k_Y ならびに加溶媒分解反応速度定数 k_d を求めた (表 1)。このとき配位子を連結していない Pt(L3)₂ を対照として用いた。半減期 $t_{1/2}$ で比較すると Pt(L2) (27 h)の安定性は際立っており、Pt(L1) (5.9 s)の約 1800 倍、Pt(L3)₂ (72 s)の約 1300 倍であった。これは k_d および k_Y の小ささ、すなわち速度論的安定性に負うところが大きい。対して Pt(L1)の k_Y は Pt(L3)₂ のものよりむしろ大きくなっており、エチレンリンカーが不安定化をもたらしている。結晶構造解析の結果、Pt(L1)は Pt(L2)に比べて、リンカーによって配位構造に大きな捻りと撓みが生じていた。結果的に歪みの少ないプロピレンリンカーにより速度論的に安定な錯体を合成できた。

表 1. ジラジカル-Pt^{II} 錯体の GSH 置換反応速度論解析結果 (PBS 中, 37°C)

	$k_Y / \text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$	k_d / s^{-1}	$t_{1/2}$
Pt(L1)	1.2×10^1	4.3×10^{-5}	5.9 s
Pt(L2)	6.5×10^{-4}	6.9×10^{-7}	27 h
Pt(L3) ₂	9.6×10^{-1}	-	72 s

3. 送達システム⁴⁾

ジラジカル- Pt^{II} 錯体自体はがん組織への選択性はなく、正常組織にも送達される可能性がある。副作用のないがん治療や高コントラストのがんイメージングのためにはがんへの選択的な送達が必要である。そこで我々は EPR 効果を利用する受動輸送によって送達することを企図した。ここで EPR 効果とは、がん組織の血管壁は構造が粗いため粒径 200 nm 以下のナノ粒子が浸透しやすく、一方リンパ管が未発達であることからそれが保持されやすい性質(Enhanced permeability and retention, EPR)のことを指す。そこでポリエチレングリコール(PEG)ブロック共重合体 PEG-*b*-PMNT が水溶液中で自己組織的に形成するレッドクスナノミセル(RNP)に搭載し(図4)、光熱変換能およびがん細胞殺傷能を検討した。

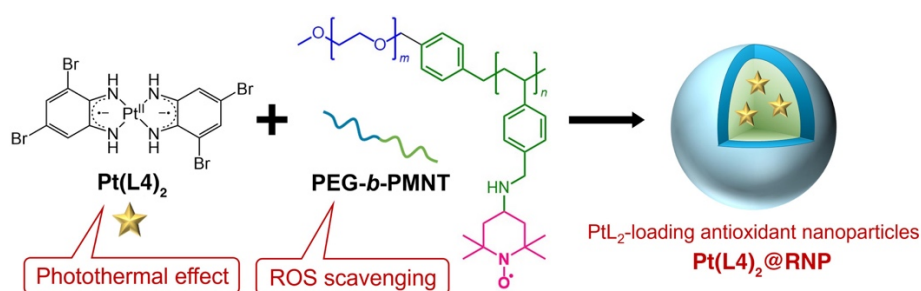


図4. PEG-*b*-PMNT への $\text{Pt}(\text{L4})_2$ の搭載. PMNT: poly[4-(2,2,6,6-tetramethylpiperidine-1-oxyl)aminomethylstyrene]

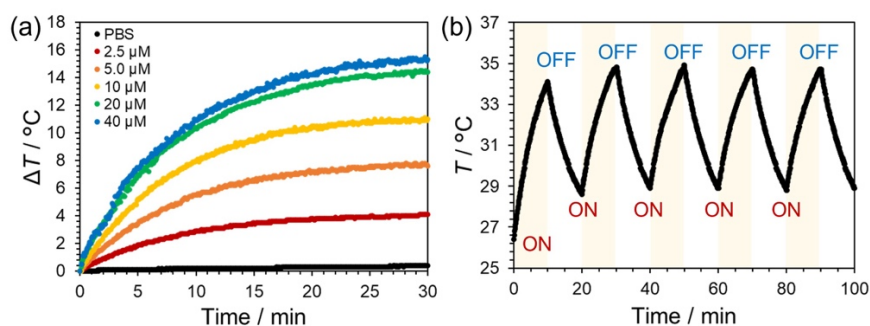


図5. (a) $\text{Pt}(\text{L4})_2\text{@RNP}$ の PBS 溶液の温度変化 (初期値からの上昇 ΔT). 白金濃度 $[\text{Pt}^{\text{II}}] = 0 - 4.0 \times 10^{-5}$ M, NIR レーザー: 730 nm, 2 W cm^{-2} , 照射時間 30 分. (b) $\text{Pt}(\text{L4})_2\text{@RNP}$ の PBS 溶液 ($[\text{Pt}^{\text{II}}] = 1.0 \times 10^{-5}$ M) に対する 5 サイクルのレーザー照射に伴う溶液温度の時間経過. 各サイクルで NIR レーザー (730 nm, 2 W cm^{-2}) を 10 分間照射し, その後 10 分間自然冷却させた.

疎水性のジラジカル-白金(II)錯体 $\text{Pt}(\text{L4})_2$ (図1) と PEG-*b*-PMNT とを DMF に溶解し, 24 h 透析することによって錯体搭載ナノミセル($\text{Pt}(\text{L4})_2\text{@RNP}$)を得た(図4). 動的光散乱法で粒径を調べたところ, 20~30 nm であり, EPR 効果にふさわしいサイズであることを確認した. また,

Pt(L4)₂ の RNP への搭載率は 90% を超え、搭載容量は 12% となり、高効率での搭載を達成した。PBS 中の Pt(L4)₂@RNP に 730 nm の近赤外レーザー光 (2 W/cm²) を照射することによって光熱効果を調べた (図 5a)。Pt(L4)₂@RNP 濃度を高めるに従いより大きな温度上昇を示した。[Pt^{II}] = 2.0 × 10⁻⁵ M の場合、30 分照射時の温度上昇は 15.3°C となった。また、光熱変換効率は 99.9% となった。なお NIR 光を繰り返し照射しても安定して光熱効果を示すことから (図 5b)、Pt(L4)₂@RNP が NIR 光に対して堅牢であることがわかった。

4. 細胞レベルでの有効性評価⁴⁾

4.1 イメージング

ラット胃粘膜上皮細胞株 RGM1 (正常細胞) とがん化細胞株 RGK1 に対して Pt(L4)₂@RNP ([Pt^{II}] = 0–40 μM) を 24 時間曝露した後の生存率は、濃度によらずほぼ 100% であった。[Pt^{II}] = 40 μM について顕微鏡観察したところ、RGM1 と比較し RGK1 の方が錯体由来の青色の小胞の数が多くみられた (図 6a,b)。ハイパースペクトルイメージングにより、小胞の吸収スペクトルを測定したところ PBS 中での Pt(L4)₂@RNP と一致し (図 6c)、Pt(L4)₂@RNP がよく取り込まれていること、またがん細胞中で NIR 光を吸収することがわかった。このことから Pt(L4)₂@RNP はがん細胞における NIR 吸収体として機能し、PTT や PAI での有用性が示唆された。

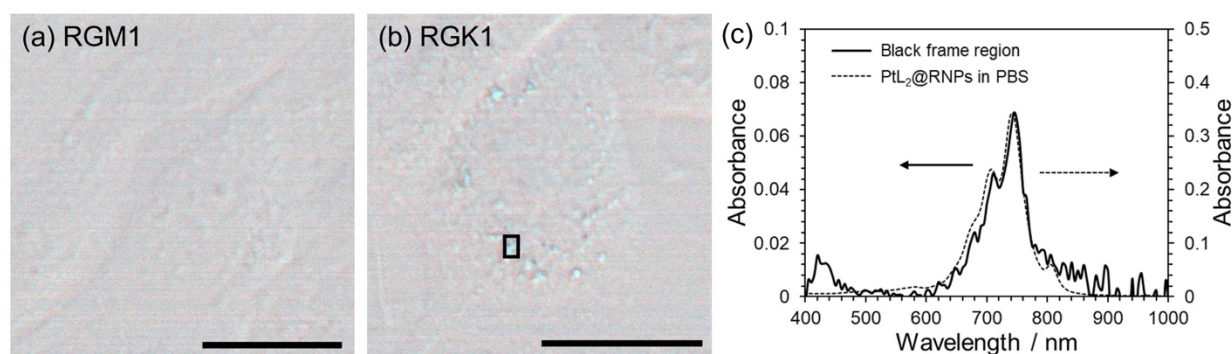


図 6. (a, b) Pt(L4)₂@RNP ([Pt^{II}] = 4.0 × 10⁻⁵ M) を 24 時間インキュベートした (a) RGM1 細胞および (b) RGK1 細胞のカラー像。 (c) (b) の黒枠領域の吸収スペクトル (実線, 左軸) と PBS 中 Pt(L4)₂@RNP (点線, 右軸, [Pt^{II}] = 5.0 × 10⁻⁶ M) の吸収スペクトル。

4.2 光熱治療

Pt(L4)₂@RNP を 24 h 曝露後、各細胞中の Pt 濃度を誘導結合プラズマ原子発光分光分析により測定した。その結果 RGK1 内の Pt 物質量は、RGM1 の 1.9 倍となり、Pt(L4)₂@RNP がより多く取り込まれることがわかった。さらに Pt(L4)₂@RNP を含む各細胞に NIR レーザー (0.15 W, 照射径約 0.3 mm) を 10 分間照射すると、RGK1 は時間経過とともに萎縮し、周囲の細胞が集まる様子が観察された (図 7)。RGM1 ではほぼ変化がなく、がん細胞特異的な光熱変換に伴う殺傷効果が明らかとなった。

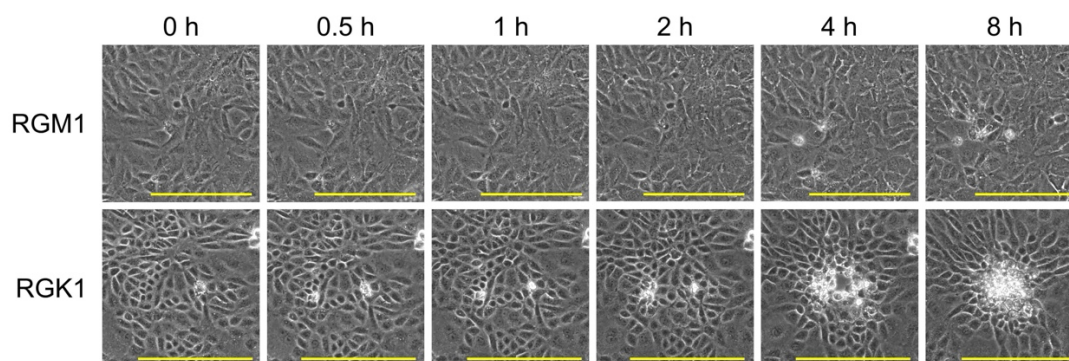


図 7 $\text{Pt}(\text{L4})_2@\text{RNP}$ を送達した RGM1 および RGK1 細胞への NIR レーザー (730 nm, 0.15 W, 照射径: 約 0.3 mm) 10 分間照射後の位相差顕微鏡像の時間変化. スケールバー: 200 μm .

5. まとめ

以上を総括すると, 細胞内で安定して NIR 吸収する錯体 $\text{Pt}(\text{L2})$ の設計, EPR 効果にふさわしいサイズのナノ粒子 $\text{Pt}(\text{L4})_2@\text{RNP}$ の生成, およびそのがん細胞での NIR 吸収イメージングや殺細胞をもたらす光熱効果の明確化を達成した. このことから, 細胞レベルでジラジカル錯体を用いるセラノスティクスのコンセプトの核心を実証したといえる. 今後は $\text{Pt}(\text{L2})$ を PEG-*b*-PMNT ナノミセルに搭載し, 動物実験での評価を行い, 前臨床研究として完成させる.

謝辞

本研究を遂行するにあたり, 公益財団法人 天野工業技術研究所から多大なご支援を頂きました. ここに記して謝意を示します.

参考文献

- 1) 澤村瞭太, 壹岐伸彦, 「がん治療のための金属錯体を基体としたナノメディシン」, 膜, 50 巻, 1 号, pp. 12-18, 2025. doi: 10.5360/membrane.50.12.
- 2) Nobuhiko Iki, "Multifunctional metal complex systems emerging from analytical chemistry for theranostic applications", Analytical Sciences, vol. 41, pp. 623–637, 2025. doi: 10.1007/s44211-025-00740-w
- 3) Ryota Sawamura, Satoshi Horii, Kousaku Tamura, Satoshi Tsuchiya and Nobuhiko Iki, "Contrasting effects of ethylene and propylene linkers on the kinetic stability of water-soluble near-infrared-absorbing diradical- Pt^{II} complexes," Dalton Transactions, in press, 2025. doi: 10.1039/D5DT01798J
- 4) Ryota Sawamura, Hiromi Kurokawa, , Atsushi Taninaka, Takuto Toriumi, Yukio Nagasaki, Hidemi Shigekawa, Hirofumi Matsui, and Nobuhiko Iki, "Selective Photothermal Therapy Using Antioxidant Nanoparticles Encapsulating Novel Near-Infrared-Absorbing Platinum(II) Complexes," Nanomaterials, vol. 15, no. 11, 796, 2025. doi: 10.3390/nano15110796