

骨表面 pH を測定するレシオ蛍光イメージング用色素の開発

(¹ 阪大院工、² 阪大免疫学フロンティア研究センター) 三木初音¹・○蓑島維文¹・菊地和也^{1,2} (¹ Graduate School of Engineering, Osaka University, ² IFRc, Osaka University)
Hatsune Miki¹, ○Masafumi Minoshima¹, Kazuya Kikuchi^{1,2}

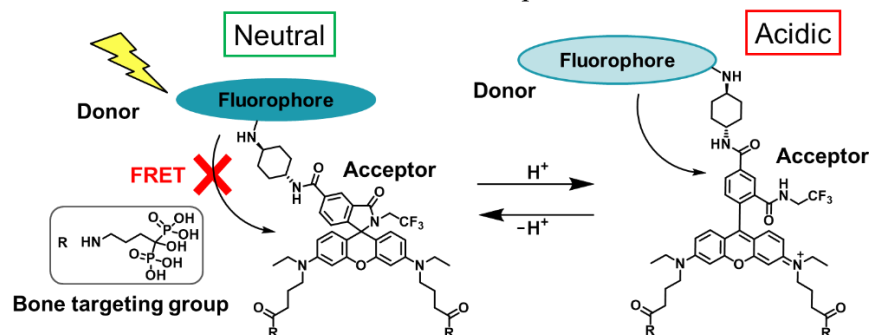
In bone tissue, bone-resorbing osteoclasts and bone-forming osteoblasts are deeply involved in the maintenance of bone homeostasis. In particular, excessive bone resorption causes various bone diseases, and imaging technology for detection of osteoclast activity *in vivo* is a useful tool for the development of new drugs and therapies. We have previously developed fluorescent probes to detect osteoclast activity.^{1),2)} They have a fluorescent OFF/ON switch function that responds to the acidic regions formed by osteoclasts during bone resorption. Owing to the bisphosphonates in the probes, they are delivered to bone tissues in the body. By administering the probe to osteoclast-labeled mice with fluorescent proteins, the osteoclast localization and activity was simultaneously visualized using a two-photon excitation microscopy.

In this study, we developed a FRET-type ratiometric fluorescent probe to quantitatively measure the pH in bone tissue. The probe was designed based on the fluorescence spectral shift by changing the overlap integral between FRET donor and acceptor in different pH. In this presentation, we report the design and synthesis of the probe and its pH responsiveness *in vitro* and *in vivo*.

Keywords : Osteoclast; Fluorescent probe; pH responsive; FRET; Ratio imaging

骨組織では、骨吸収を行う「破骨細胞」と骨形成を行う「骨芽細胞」が存在し、骨の恒常性の維持に深く関連している。特に、過剰な骨吸収は様々な骨疾患の要因となるとされており、新薬開発や治療法の確立のために、生体内における破骨細胞活性を検出可能とするイメージング技術は有用な手段である。我々は以前に、破骨細胞活性検出蛍光プローブ^{1),2)}を開発した。これは破骨細胞が骨吸収過程で形成する酸性領域に応答する蛍光 OFF/ON スイッチ機能を有し、さらに体内の骨組織へ自発的に送達される。破骨細胞を蛍光タンパク質で標識したマウスにプローブを投与することで、破骨細胞局在と活性情報の同時取得が可能である。

本研究では、破骨細胞付近の pH を定量的に測定するために、pH の変化で蛍光波長が変化する FRET 型レシオ蛍光プローブ(下図)の開発に取り組んだ。本発表では、プローブの設計、合成と *in vitro* 及び *in vivo* での pH 応答性について報告する。



1) H. Maeda, T. Kowada, J. Kikuta, M. Furuya, M. Shirazaki, S. Mizukami, M. Ishii, K. Kikuchi, *Nat. Chem. Biol.* **2016**, 12, 579. 2) M. Minoshima, J. Kikuta, Y. Omori, S. Seno, R. Suehara, H. Maeda, H. Matsuda, M. Ishii, K. Kikuchi, *ACS Cent. Sci.* **2019**, 5, 1059.