

Title	Multifunctional <sup>19</sup> F MRI Contrast Agents Based on Core-shell Fluorine-encapsulated Silica Nanoparticles
Author(s)	松下, 尚嗣
Citation	
Issue Date	
Text Version	ETD
URL	<a href="https://doi.org/10.18910/34432">https://doi.org/10.18910/34432</a>
DOI	10.18910/34432
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/repo/ouka/all/>

## 論文内容の要旨

氏名 ( 松下 尚嗣 )

## 論文題名

Multifunctional  $^{19}\text{F}$  MRI Contrast Agents Based on Core-shell Fluorine-encapsulated Silica Nanoparticles  
(コア-シェル型フッ素内包シリカナノ粒子を応用した多機能性 $^{19}\text{F}$  MRI造影剤の開発)

## 論文内容の要旨

我々の生命活動は、生体分子が複雑に相互作用することで、その恒常性が保たれている。そうした相互作用を解明する手段の一つとして分子イメージングがある。その代表例とも言える蛍光イメージングは、細胞内挙動を高感度かつ簡便に追跡できるため、生命科学研究に大きく貢献している。こうした1細胞レベルでの解析が急速に発展していく中で、近年では生体環境により近い状態での解析が望まれている。しかし、蛍光イメージングは光の組織透過性が低いため、生体深部の可視化には適さない。

そこで、Magnetic Resonance Imaging (MRI)に着目した。MRIは、核磁気共鳴 (Nuclear Magnetic Resonance: NMR) 現象を利用した画像化法であり、動物内を非侵襲的かつ高い時空間分解能で画像化することが可能である。またMRIは、他の非侵襲イメージング法であるPositron Emission Tomography (PET)やSingle Photon Emission Computed Tomography (SPECT)のように、造影剤として放射線同位体を用いる必要がない。

臨床で使われるMRIの対象核はプロトン ( $^1\text{H}$ ) で、体内の水分子や脂肪を画像化する。体内に存在する $^1\text{H}$ は、その量や流動性、他の構成成分によって、シグナル強度が大きく変化する。そのシグナル強度を決める重要な因子が縦緩和時間 ( $T_1$ )と横緩和時間 ( $T_2$ )である。緩和時間の特性を利用することで、分子スイッチを組み込んだプローブ開発が可能となる。初期のMRIプローブは、酵素活性によってガドリニウムイオン ( $\text{Gd}^{3+}$ )への水の配位数をコントロールすることで、 $T_1$ を変化させ、 $^1\text{H}$ のMRIシグナルを増加させるという原理を用いていた。しかし、 $^1\text{H}$  MRIは、水や脂肪が、大きなバックグラウンドシグナルとなってしまうため、特定分子の追跡には適さない。

そこで、着目したのがフッ素 ( $^{19}\text{F}$ )である。 $^{19}\text{F}$ は、比較的高いNMR感度を持ち、生体内に存在しないので、バックグラウンドシグナルがない。したがって、 $^{19}\text{F}$ 含有造影剤を生体内へ投与した際に得られる $^{19}\text{F}$  MRI画像を、 $^1\text{H}$  MRIによって取得した解剖学的情報と重ね合わせることによって、造影剤分布に関する情報を高コントラストで得ることが出来る。

本博士論文では、 $\text{Gd}^{3+}$ 錯体のPRE効果を応用することで、遺伝子発現検出用 $^{19}\text{F}$  MRIプローブを開発し、さらにはコア-シェル型シリカナノ粒子を用いた高感度 $^{19}\text{F}$  MRIについて述べる。序論、第1章～第4章、結論および展望より構成される。

第1章では、Paramagnetic Relaxation Enhancement (PRE)効果を利用した遺伝子発現検出用 $^{19}\text{F}$  MRIプローブについて述べる。この原理を応用し、遺伝子発現のレポーター酵素として知られる $\beta$ -ガラクトシダーゼや $\beta$ -ラクタマーゼの活性を検出するための $^{19}\text{F}$  MRIプローブの開発を行った。中でも、 $\beta$ -ラクタマーゼ活性検出用プローブは、 $\beta$ -ラクタマーゼを細胞膜上に発現させることによって、生細胞遺伝子発現の可視化に成功した。

第2章では、第1章で示した $\beta$ -ラクタマーゼ活性検出プローブの応用実験で見出した $^{19}\text{F}$  MRIプローブの原理的境界の改善を行った。原理的境界とは、(1) フッ素数増加によって起こるプローブの疎水性の向上と、(2) フッ素の分子運動の抑制によって起こる $^{19}\text{F}$  MRIシグナルの消失の二点である。これら二つの問題を同時に解決するために、コア-シェル型フッ素内包シリカナノ粒子 (FLAME)を開発した。FLAMEの詳細な物性評価を行い、小分子では成し得なかった遺伝子発現の可視化やin vivo実験が可能であることを示した。

第3章では、第1章で開発したPRE効果を用いたプローブ開発原理と、第2章で開発したFLAMEを組み合わせることによって、還元環境に応答する $^{19}\text{F}$  MRIナノプローブ (FSG)の開発を行った。これにより、 $\text{Gd}^{3+}$ 錯体のPRE効果を用いたスイッチ機構が、FLAMEへ応用可能であることを示した。

第4章では、コア-シェル型フッ素内包シリカナノ粒子の設計原理を応用することによって、 $^{19}\text{F}$  MRI追跡可能な薬物キャリア (mFLAME)を開発した。mFLAMEの物性評価を行い、さらには癌細胞内への効率的な輸送のために葉酸修飾を行った粒子mFLAME-FAの開発を行った。抗癌剤内包mFLAME-FAは、葉酸受容体が過剰発現した癌細胞へ効率的に取り込まれ、かつ強い細胞毒性を示すことが分かった。

結論では、以上の結果について総括し、今後の展望について記した。

## 論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 ( 松 下 尚 嗣 )			
	(職)	氏 名	
論文審査担当者	主 査	教授	菊地 和也
	副 査	教授	福住 俊一
	副 査	教授	伊東 忍
	副 査	教授	高井 義造
	副 査	教授	渡部 平司
	副 査	教授	兼松 泰男
	副 査	教授	金谷 茂則
<b>論文審査の結果の要旨</b>			
<p>本博士論文では、<math>Gd^{3+}</math>錯体の Paramagnetic Relaxation Enhancement (PRE) 効果を分子スイッチへした遺伝子発現検出用 <math>^{19}F</math> MRI プロープとナノ粒子型 <math>^{19}F</math> MRI 造影剤コア-シェル型シリカナノ粒子を用いた高感度 <math>^{19}F</math> MRI について述べる。序論、第 1 章～第 4 章、結論および展望より構成される。</p> <p>第 1 章では、遺伝子発現検出用 <math>^{19}F</math> MRI プロープについて述べる。PRE 効果を応用し、遺伝子発現のレポーター酵素として知られる <math>\beta</math>-ガラクトシダーゼや <math>\beta</math>-ラクタマーゼの活性を検出するための <math>^{19}F</math> MRI プロープの開発を行った。中でも、<math>\beta</math>-ラクタマーゼ活性検出用プロープは、<math>\beta</math>-ラクタマーゼを細胞膜上に発現させることによって、生細胞遺伝子発現の可視化に初めて成功した。</p> <p>第 2 章では、第 1 章で示した <math>\beta</math>-ラクタマーゼ活性検出プロープの応用実験で見出した <math>^{19}F</math> MRI プロープの原理的限界の問題について取り組んだ。ここでの原理的限界とは、(1) フッ素数増加によって起こる分子プロープの疎水性の向上と、(2) フッ素の分子運動の抑制によって起こる <math>^{19}F</math> MRI シグナルの消失の二点である。これら二つの問題を同時に解決するために、コア-シェル型フッ素内包シリカナノ粒子 (FLAME) を開発した。FLAME は、表面化学修飾が容易でかつ、高い <math>^{19}F</math> MRI 感度を持つ。この FLAME の持つ優れた特性を用いることで、小分子では成し得なかった遺伝子発現の可視化や <i>in vivo</i> 実験が可能であることを初めて示した。</p> <p>第 3 章では、第 1 章で開発した PRE 効果を用いた分子プロープの開発原理と、第 2 章で開発した高感度 <math>^{19}F</math> MRI 造影剤 FLAME を組み合わせることによって、還元環境に応答する <math>^{19}F</math> MRI ナノプロープ (FSG) の開発を行った。これにより、<math>Gd^{3+}</math>錯体の PRE 効果を用いたスイッチ機構が、FLAME へ応用可能であることを示した。</p> <p>第 4 章では、コア-シェル型フッ素内包シリカナノ粒子の設計原理を応用することによって、<math>^{19}F</math> MRI 追跡可能な薬物キャリア (mFLAME) を開発した。mFLAME の物性評価を行い、蛍光と <math>^{19}F</math> MRI のマルチモダルセンシングが可能であることを示した。さらには癌細胞内への効率的な輸送のために葉酸修飾を行った粒子 mFLAME-FA の開発を行った。抗癌剤内包 mFLAME-FA は、葉酸受容体が過剰発現した癌細胞へ効率的に取り込まれ、かつ強い細胞毒性を示すことが分かった。これらの結果は、開発した mFLAME がセラノシスへ応用であることを示唆しており、<math>^{19}F</math> MRI と組み合わせた初めての例である。</p> <p>以上のように、本論文は、<math>Gd^{3+}</math>錯体の分子スイッチ原理を遺伝子発現への応用に加え、高感度 <math>^{19}F</math> MRI 造影剤を開発することで、これまでの手法では原理的に不可能であった遺伝子発現の <math>^{19}F</math> MRI を達成している。また、造影剤の <math>^{19}F</math> MRI シグナルの抑制に <math>Gd^{3+}</math>錯体を用いることは非常に斬新な分子設計であり、<i>in vivo</i> イメージングで汎用されるようなプロープ創成に繋がる重要な一歩であることは間違いない。さらには、セラノシスへ応用可能な <math>^{19}F</math> MRI 造影剤についても前例がなく、薬物キャリアのデザインとして独創性に溢れている。よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。</p>			