



Title	Multifunctional 19F MRI Contrast Agents Based on Core-shell Fluorine-encapsulated Silica Nanoparticles
Author(s)	松下, 尚嗣
Citation	大阪大学, 2014, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/34432
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

論文内容の要旨

氏名 (松下 尚嗣)	
論文題名	Multifunctional ¹⁹ 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 F MRI造影剤の開発)
論文内容の要旨	
<p>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。こ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。</p> <p>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。</p> <p>臨床で使われるMRIの対象核はプロトン (¹H) で、体内の水分子や脂肪を画像化する。体内に存在する¹H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して、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 (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、¹H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、¹H 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。</p> <p>そこで、着目したのがフッ素 (¹⁹F) である。¹⁹F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、¹⁹F含有造影剤を生体内へ投与した際に得られる¹⁹F MRI画像を、¹H 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。</p> <p>本博士論文では、Gd^{3+}錯体のPRE効果を応用することで、遺伝子発現検出用¹⁹F 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¹⁹F 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、Paramagnetic Relaxation Enhancement (PRE) 効果を利用した遺伝子発現検出用¹⁹F 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β-ガラクトシダーゼやβ-ラクタマーゼの活性を検出するための¹⁹F MRIプローブの開発を行った。中でも、β-ラクタマーゼ活性検出用プローブは、β-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。</p> <p>第2章では、第1章で示したβ-ラクタマーゼ活性検出プローブの応用実験で見出した¹⁹F MRIプローブの原理的限界の改善を行った。原理的限界とは、(1) フッ素数增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¹⁹F 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。</p> <p>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¹⁹F MRIナノプローブ (FSG) の開発を行った。これにより、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。</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、¹⁹F 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。</p> <p>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。</p>	

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏名(松下尚嗣)		
論文審査担当者	(職)	氏名
	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

論文審査の結果の要旨

本博士論文では、Gd³⁺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 ¹⁹F MRI プローブとナノ粒子型 ¹⁹F MRI 造影剤コア-シェル型シリカナノ粒子を用いた高感度 ¹⁹F 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、遺伝子発現検出用 ¹⁹F MRI プローブについて述べる。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 β -ガラクトシダーゼや β -ラクタマーゼの活性を検出するための ¹⁹F MRI プローブの開発を行った。中でも、 β -ラクタマーゼ活性検出用プローブは、 β -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。

第2章では、第1章で示した β -ラクタマーゼ活性検出プローブの応用実験で見出した ¹⁹F MRI プローブ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) フッ素数增加によって起こる分子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 ¹⁹F 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 ¹⁹F 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 *in vivo* 実験が可能であることを初めて示した。

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ブの開発原理と、第2章で開発した高感度 ¹⁹F 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 ¹⁹F MRI ナノプローブ (PSG) の開発を行った。これにより、Gd³⁺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、¹⁹F MRI 追跡可能な薬物キャリア (*m*FLAME) を開発した。*m*FLAME の物性評価を行い、蛍光と ¹⁹F 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 *m*FLAME-FA の開発を行った。抗癌剤内包 *m*FLAME-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 *m*FLAME がセラノシスへ応用であることを示唆しており、¹⁹F MRI と組み合わせた初めての例である。

以上のように、本論文は、Gd³⁺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 ¹⁹F 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 ¹⁹F MRI を達成している。また、造影剤の ¹⁹F MRI シグナルの抑制に Gd³⁺錯体を用いることは非常に斬新な分子設計であり、*in vivo* イメージングで汎用されるようなプローブ創成に繋がる重要な一步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 ¹⁹F 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。