



Title	Screening of Near-Infrared Chemical Probes Library for In vivo Blood Vessel Imaging and Analysis of its Target Protein on the Endothelial Cells
Author(s)	Muhammad Asri Bin, Sisak Abdul
Citation	大阪大学, 2022, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/89596
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

Abstract of Thesis

Name (ABDUL SISAK MUHAMMAD ASRI BIN)

Title

Screening of Near-Infrared Chemical Probes Library for *In vivo* Blood Vessel Imaging and Analysis of its Target Protein on the Endothelial Cells
(体内での血管イメージングのための近赤外化学プローブライブラリーのスクリーニングと血管内皮細胞上の標的タンパク質の分析)

Abstract of Thesis

Blood vessels are present in almost all the organs, reflecting their importance for oxygen and nutrient delivery to the cells. Blood vessels are made up of vascular endothelial cells that line the inner surface and play an important role in the delivery of essential nutrients, growth factors and oxygen to all tissues, as well as transporting blood throughout the body. It is therefore crucial to be able to perform live imaging on blood vessels so that their many related diseases and conditions such as atherosclerosis, aneurysm, thrombosis, and ischemia can be studied. Live imaging has transformed biomedical research by enabling visualization and analysis of dynamic cellular processes as they occur in their native systems. Fluorescence-based imaging is one of the most popular techniques in live imaging owing to its sensitivity, selectivity, and technical ease. [1]

The available easy and high-resolution methods of imaging blood vessels *in vivo* or *in situ* are currently limited. There have been reports describing staining of endothelial cells by small molecule-modified nanoparticles. [2-5] However, the screening approach was from an *in vitro* profiling where cells may markedly lose their responsiveness and function because of the 2D environment. [6] We therefore sought to develop a more generalizable, reliable approach to the discovery of *in vivo* imaging probes in order to enable integrative studies of chemistry in real tissues. Therefore, the development of a technique for constructing a three-dimensional (3D) tissue having a structure and function similar to a living body *in vitro* is highly sought after.

In this study, the discovery of a blood vessel chemical probe at near-infrared wavelength range (BV-NIR) through an engineered 3D-blood capillary-based screening system was reported. The selected Cy5 based probe showed the highest specific adsorption on the vascular endothelial cells out of 240 candidates and was equivalent to an anti-CD31 antibody based on fluorescence intensity. The BV-NIR probe indicated strong and stable *in vitro*, *ex vivo*, and *in vivo* imaging of the endothelium even after histological immunostaining processes. This 3D-tissue models screening method will be a powerful assay for selecting chemical probes specifically staining blood capillaries, providing more reliable data through their physiologically relevance compared to conventional two-dimensional (2D) cell culture assay.

References

- [1] X. Liu, Y. T. Chang, *Chem. Soc. Rev.* **2022**, *51*, 1573.
- [2] K. A. Kelly, S. Y. Shaw, M. Nahrendorf, K. Kristoff, E. Aikawa, S. L. Schreiber, P. A. Clemons, R. Weissleder, *Integr. Biol.* **2009**, *1*, 311.
- [3] W. J. M. Mulder, R. Koole, R. J. Brandwijk, G. Storm, P. T. K. Chin, G. J. Strijkers, C. De Mello Donegá, K. Nicolay, A. W. Griffioen, *Nano Letters* **2006**, *6*, 1.
- [4] W. Chen, P. A. Jarzyna, G. A. F. Van Tilborg, A. Van Nguyen, D. P. Cormode, A. Klink, A. W. Griffioen, G. J. Randolph, E. A. Fisher, W. J. M. Mulder, Z. A. Fayad, *The FASEB Journal* **2010**, *24*, 1689.
- [5] J. M. Fontana, H. Yin, Y. Chen, R. Florez, H. Brismar, Y. Fu, *International Journal of Nanomedicine* **2017**, *12*, 8615.
- [6] H. Kimura, Y. Sakai, T. Fujii, *Drug Metabolism and Pharmacokinetics* **2018**, *33*, 43.

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏名 (ABDUL SISAK MUHAMMAD ASRI BIN)		
	(職)	氏名
論文審査担当者	主査 教授	松崎典弥
	副査 教授	平野康次
	副査 教授	木田敏之
	副査 教授	安田 誠
	副査 教授	正岡重行
	副査 教授	生越専介
	副査 教授	鳶巣 守
	副査 教授	菊地和也
	副査 教授	伊東 忍
	副査 教授	芝田育也
	副査 教授	藤塚 守
	副査 教授	家 裕隆

論文審査の結果の要旨

本研究は、体内での血管イメージングのための近赤外化学プローブライブラリーのスクリーニングと血管内皮細胞上の標的タンパク質の分析に関する論文である。血管のイメージングには様々な手法が用いられるが、血管に高い特異性を有し、かつ近赤外光を発する化学プローブは報告例が無い。もし、達成することができれば、MRIやCTに代わる血管の詳細な蛍光イメージングが可能となる。それを達成するため、本研究では毛細血管構造を有するハイスループットスクリーニングシステムを作製し、240の候補化合物のスクリーニングを行った。足場材料であるコラーゲンマイクロファイバーの長さや分散性を制御することで、ネットワーク構造形成に最適なサイズを見出すことができた。本スクリーニングデバイスを用いてスクリーニングされた最適な化学構造を有するプローブは、*in vivo*動物実験での高い特異性だけでなく、組織標本を作製後も安定に残存していることが確認された。

さらに、選択されたプローブが血管内皮細胞表面の膜タンパク質とどのように相互作用しているのかメカニズムを詳細に検討し、あるタンパク質を同定することができた。

以上のように、本論文は、血管への特異性を有する化合物のハイスループットスクリーニングを可能とする三次元毛細血管モデルという新しい概念の創成に関する独創性と新規性に優れた研究内容である。よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。