

氏名(本籍)	よし とみ とおる 吉 富 徹 (佐賀県)		
学位の種類	博 士 (工 学)		
学位記番号	博 甲 第 5300 号		
学位授与年月日	平成 22 年 3 月 25 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当		
審査研究科	数理物質科学研究科		
学位論文題目	Design and characterization of core-shell-type radical-containing-nanoparticles for in vivo imaging (in vivo イメージングを目指したコア-シェル型ラジカル含有ナノ粒子の設計と評価)		
主 査	筑波大学教授	工学博士	長 崎 幸 夫
副 査	筑波大学教授	博士(工学)	神 原 貴 樹
副 査	筑波大学教授	工学博士	丹 羽 修
副 査	筑波大学准教授	理学博士	木 島 正 志

論 文 の 内 容 の 要 旨

近年、活性酸素など様々なラジカル種が癌や炎症に関与していることが見出されてきた。そこで、生体内フリーラジカルの関与を解明するために、ニトロキシルラジカルなどの安定ラジカルをプローブとして用いた電子常磁性共鳴 (EPR) イメージングや核磁気共鳴 (MR) イメージングの研究が注目を集めている。このニトロキシルラジカルは、生体内の酸化還元反応により、シグナルの ON-OFF 制御が可能であるといった特長を有している。しかしながら、従来用いられてきたプローブは低分子のものが多く、腎臓での濾過作用によりほとんどが急速に体外に排泄されてしまい、特定組織への集積が期待できないことや、生体還元環境下で急速に還元され、シグナルを消失してしまう問題点を有していた。そこで本論文の著者は、2,2,6,6-テトラメチルピペリジノオキシラジカル (TEMPO) を疎水セグメントに導入した親-疎水型ブロック共重合体を新規に合成し、生体適合性材料として知られるポリエチレングリコールをシェル層に、TEMPO ラジカルをコア層に有するコア-シェル型ラジカル含有ナノ粒子 (radical-containing-nanoparticles: RNP) の設計を行った。本論文においては、pH 応答性を有するナノ粒子 (N-RNP) と pH 非応答性のナノ粒子 (O-RNP) を合成している。このように、ニトロキシルラジカルをナノ粒子に封入することにより、腎臓への急速な排泄や生体還元環境において容易に還元され、シグナルを消失してしまう低分子化合物の問題点を解決し、TEMPO ラジカルの高い血中滞留性と生体内還元剤モデルであるアスコルビン酸に対して高い還元耐性を有することを明らかとなった。この RNP を担がんマウスの尾静脈から投与し、MRI を用いて T1 強調画像を撮像したところ、正常組織では、時間とともにシグナルが減少していくものの、一部の癌組織周辺においてはシグナルが増強していく画像化が得られた。血管透過性の亢進した腫瘍組織近傍においては数十ナノメートルサイズの粒子が集積することが知られており (EPR 効果 (Enhanced Permeation and Retention Effect))、この結果から RNP の EPR 効果による腫瘍への集積が示唆された。このことから、RNP は、新規腫瘍イメージング用プローブとして期待される。

また、近年、生体内の酸性環境の可視化を目指した非侵襲的なイメージングが注目を集めている。通常、

正常組織での pH は厳密に制御されているものの (pH 7.4)、虚血、炎症や癌などの組織周辺では pH が低下していることが知られている。このため、生体内酸性環境のイメージングは、様々な疾病の診断などへの応用が期待される。そこで、pH に応答したシグナル制御を行うため、疎水部にアミノ基を導入した pH 応答性ナノ粒子 (N-RNP) の評価を行った。この N-RNP は、溶液の pH 低下に伴い、疎水性コアに存在するアミノ基がプロトン化することにより、粒子が崩壊し、EPR シグナルの制御が可能であることを明らかにした。また、酸性条件においてシグナル強度が増大していることが明らかとなり、通常マウスなどの画像化に用いられる L-band EPR 装置を用いて画像化を行ったところ、酸性条件下でのみシグナルを示すような画像が得られた。これらの結果から、生体還元環境下において安定で、かつ生体内の酸性環境の変化に応答して ON-OFF 制御可能な EPR プローブとしての応用が期待される。

さらに、活性酸素種 (ROS) イメージングのためのプローブの設計についても行っている。生体内におけるフリーラジカルの過剰産生は、生体の酸化還元状態 (レドックス) のバランスを乱し、様々な疾患の形成・進展に結びつくことが報告されている。これら酸化ストレス疾患の、どの部位で、いつ、どの程度フリーラジカルが産生しているかを明らかにすることは、極めて重要である。ROS によって引き起こされる酸化ストレスをイメージングするために、N-RNP の疎水性コアに存在するニトロキシルラジカルを還元することで、ROS と反応した際に EPR シグナルを発することができるプローブを創製した。この粒子も同様に酸性条件下において崩壊し、ROS による酸化反応を促進させることを明らかにした。

このような性質を有する RNP は、腫瘍イメージング用プローブや pH が低下している虚血、炎症部位において反応性 ROS イメージングを可能にする新しい *in vivo* イメージングプローブとして期待される。

審査の結果の要旨

論文審査及び質疑応答に関して、

1. 今回作製プローブの機能を向上させるための設計として、還元耐性の高いニトロキシルラジカルプローブの使用、疎水性セグメントの重合度の制御やアミノ基のプロトン化挙動の改良など理論的に次の課題を考慮していることは、評価に値する。
2. 動物を用いて得られた結果と *in vitro* で得られた結果との違いを理論的に考察している点は、評価に値する。今後、RNP の生体内での挙動を明らかにするための評価方法や今後どのように展開するかを思考することは非常に重要なことである。
3. 本論文に記載した内容には、まだ投稿されていないデータも含まれ、今後論文としての投稿を行う必要がある。

論文審査ならびに最終試験の結果に基づき、著者は博士 (工学) の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。