

高分子 1 本鎖の「自己折り畳み」に基づく新規 MRI 造影剤の開発

大野 哲史*^{1,2}
Ohno Satoshi

高山*³
Gao Shan

三浦 裕*^{1,2}
Miura Yutaka

1. はじめに

今回筆者らは、高分子 1 本鎖が折り畳まれて形成する微小ナノ粒子を基盤として、新たなナノ MRI 造影剤を開発した¹⁾。本稿では、この研究成果について概要を紹介する。

核磁気共鳴画像法 (Magnetic Resonance Imaging ; MRI) は高い空間分解能を有しながら被ばくのない低侵襲な検査を実施できるため、国内外の病院で広く普及している。この MRI では生体中の水分子 (水素原子) を観察対象とし、その情報を画像化することで、疾患の有無や状態を知ることが可能となっている。また、乳癌や脳腫瘍等の特定の疾患を精密に検査する場合には、取得画像のコントラストを明確にするために MRI 造影剤の使用が推奨されている。MRI 造影剤の利点は、通常の画像診断よりも微少な病変を発見しやすくなることに他ならないが、特定の臓器へフォーカスを当てるような特異性や感度に乏しい。また、ガドリニウム (Gd) 錯体 (Gd-1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1,4,7,10-tetraacetic acid) (Gd-DOTA) が造影剤として広く用いられているが、1 回の検査での投与量が非常に多いため (1 回の検査にて 1.9~7.4 g/人)、副作用の懸念が多少なりともある。更に近年では、MRI 造影剤の使用によってカリフォルニア湾や東京湾の Gd 濃度が上昇しているとの報告^{2,3)}もあり、環境保全の観点からも注意が必要とされている。そのため、近年で

は、人にも環境にもより低負荷かつ安全な新しい MRI 造影剤の開発が望まれつつあった。

一方、筆者らの主たる研究でもあるドラッグデリバリーシステム (Drug Delivery System ; DDS) では、薬物動態の時空間的な制御を可能にしている。特に腫瘍を標的とした全身投与型の DDS では、薬剤を内包したナノサイズのキャリアが Enhanced permeability and retention effect (EPR) 効果⁴⁾によって腫瘍選択的に薬物送達できることを明らかにしてきた。他方、MRI 造影剤の性能を向上させるためには、金属錯体中に配位する水分子の交換速度や金属錯体の回転運動を規制する必要がある⁵⁾。しかし、これら 2 つの因子を同時に制御することは技術的に困難となっている。そこで筆者らは、MRI 造影能を有する Gd-DOTA を高分子鎖中へ適切に導入することで金属錯体の回転運動を高度に規制し、かつ、高分子をナノ粒子化させることで腫瘍への選択的な MRI 造影剤デリバリーが可能になると考えた。また、筆者らは高分子側鎖の親疎水性バランスを調整することによって、1 本鎖の高分子が折り畳まれて形成する単一高分子ミセルに着目した。単一高分子ミセルは、そのサイズが 5~10 nm 程度に制御されることが予想され、小さいながらも粒子表面をポリエチレングリコール (PEG) 等の生体適合性分子で覆うことも可能である。更に、数 nm 単位のサイズ調整にて明確なコントラストを得られるようになる¹と予測して本研究を実施するに至った。

1 腎臓のろ過機能には閾値^{しきい}が有り、その大きさは 5 nm 程度とされている。そのため、SMDC のサイズを数 nm 単位で制御することで、腎臓を介した SMDC のクリアランスを最適化し、血中からのシグナルを低減することができる。その結果、明確なコントラストを得ることが期待できる。

2. SMDCの分子設計

はじめに筆者らは、親水基を有する poly(ethylene glycol) methyl ether acrylate (PEGA), 疎水性基を有する benzyl acrylate (BZA), カルボキシ基を有する 2-carboxyethyl acrylate (CEA) を Reversible Addition-Fragmentation Chain Transfer 重合法を用いて重合し、数多くの三元共重合体を合成した。得られた共重合体は、核磁気共鳴スペクトル, ゲル浸透クロマトグラフィー, 多角度光散乱等を用いて評価し、分子量と親疎水性バランス, 有機溶媒並びに水溶液中における折り畳み挙動を精査した。その結果, 高分子1本

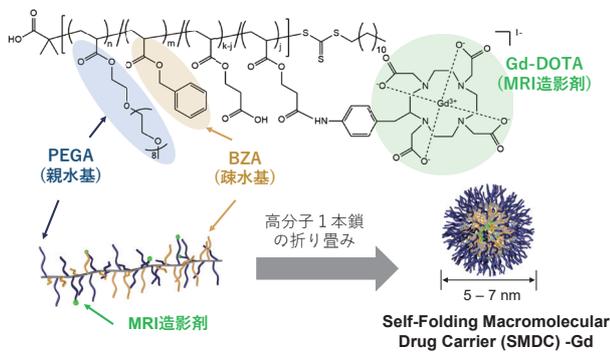


図1 高分子1本鎖の折り畳みによるSMDC形成

鎖が水中で単一の高分子ミセルを形成する最適な条件を見出した(図1)。これらの実験で得られたポリマーの幾つかをベースポリマーとして採用し, 更に Gd-DOTA を導入することでMRI 造影剤を担持した 10 nm 以下の新しい高分子ミセルを得ている。筆者らはこの造影剤を導入した高分子ミセルを「Self-Folding Macromolecular Drug Carrier (SMDC)」と名付けた(図1)。なお, ここでは Gd-DOTA を導入した SMDC を「SMDC-Gd」と表記する。

3. ナノMRI造影剤としての評価

次に筆者らは SMDC-Gd の i) 緩和能, ii) 体内動態並びに iii) 腫瘍の MR イメージングについて評価を行った。

i) 緩和能²

得られた SMDC-Gd の Gd 濃度依存的な縦緩和時間の変化から, 縦緩和能 (r_1) を算出したところ, その r_1 値は $25.9 \text{ s}^{-1}\text{mM}^{-1}$ となった(図2)。市販されている MRI 造影剤でもある Gd-DOTA の r_1 値が $3.4 \text{ s}^{-1}\text{mM}^{-1}$ であることから, その差は約7倍となることを見出されている。これまでタンパク質等の高分子量化合物へ MRI 造影剤が結合すると, 分子全

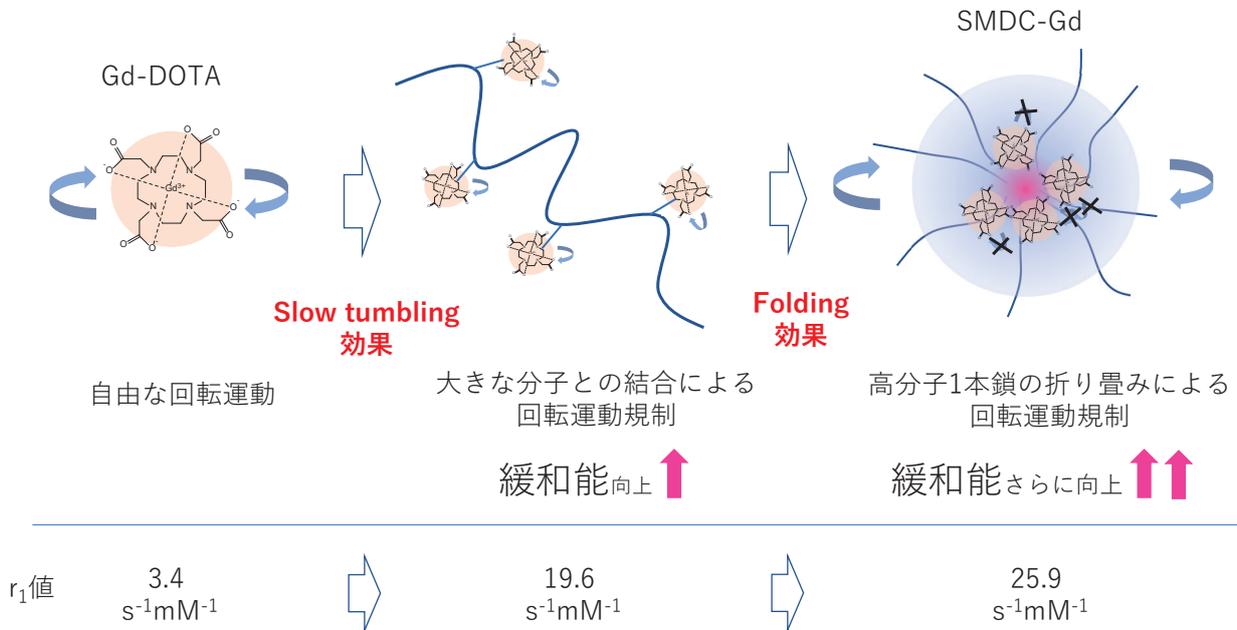


図2 高分子1本鎖の折り畳みによる縦緩和能の増強

2 緩和能: 単位濃度あたりの MRI 造影剤分子の水の緩和時間を短縮する性能のこと。単位は $\text{s}^{-1}\text{mM}^{-1}$ 。Gd を用いた MRI 造影剤の場合, この値が大きいほど MRI で得られるにおいて信号が大きくなり, 高いコントラストが得られる。

体の回転運動がフリーの MRI 造影剤と比べて格段に抑制され、 r_1 値が上昇すると知られている (Slow tumbling 効果)⁶⁾。実際、今回筆者らが作製した疎水性を付与していないコントロールポリマーの r_1 値は $19.6 \text{ s}^{-1}\text{mM}^{-1}$ まで上昇している。これに対して、コントロールポリマーから SMDC-Gd までの r_1 値の上昇に関しては、Gd-DOTA の局所回転運動が高分子 1 本鎖の折り畳みによって更に強固に制限されたことが主要因であると考えられ、筆者らはこの現象をフォールディング効果と新たに名付けた (図 2)。

ii) 体内動態

MRI 造影剤の腫瘍集積量と血中滞留性のバランスは、腫瘍イメージングの際に良好なコントラストを得るための鍵となる。そこで筆者らは、マウス大腸癌細胞 (murine colon carcinoma 26; CT26) を皮下移植して作製した担がんモデルマウスへ SMDC-Gd を全身投与し、腫瘍集積量と血中滞留性を調査

した「投与量 = 0.1 mmol/kg (Gd 換算)」。図 3 に示すように、SMDC-Gd は投与後 24 時間までは高い血中濃度を保ち、また同時間内にて経時的な腫瘍への集積が認められている。また、その後、次第にクリアランスされていく様子が観察されていることから SMDC-Gd は 10 nm 以下の粒子でありながらも EPR 効果様の体内動態を示すことが明らかになった。一方でフリーの Gd-DOTA は投与後に速やかに体外へ排泄され、腫瘍に対する選択的な集積性も示さないことが確認できている。

iii) MR イメージング

MR イメージングの実験においても CT26 細胞由来の担がんモデルマウスを用いて実験を行った。

図 4a は腫瘍断面の縦緩和率 (R_1) の分布の代表画像を示している。図 4a 中の、青色は低シグナルを示し、黄色、赤の順にシグナルが高くなる (ただし、 R_1 分布では脂肪組織も赤色になるためデータの解釈には注意が必要である)。また、白色線で囲った部分が腫瘍である。SMDC-Gd を投与した群では、腫瘍部分が青色から黄緑色へと変化しており、腫瘍部位のシグナルが向上している。その R_1 値は、投与 1 時間後に投与前の約 2 倍、24 時間後に約 2.5 倍へと向上している (図 4b)。フリーの Gd-DOTA 投与群では、投与前後で腫瘍部位の顕著な色変化が認められず、 R_1 値も投与 1 時間後に投与前の約 1.1 倍程度であった。以上の結果から、SMDC-Gd を投与した腫瘍イメージングでは、SMDC-Gd の高い緩和能と選択的な腫瘍集積によって、良好なコントラストを得られることが明らかになった。

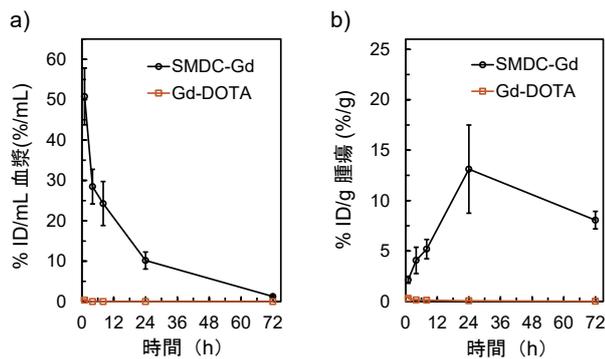


図 3 SMDC-Gd の体内動態試験結果

a) 血中 Gd 濃度変化, b) 腫瘍集積性

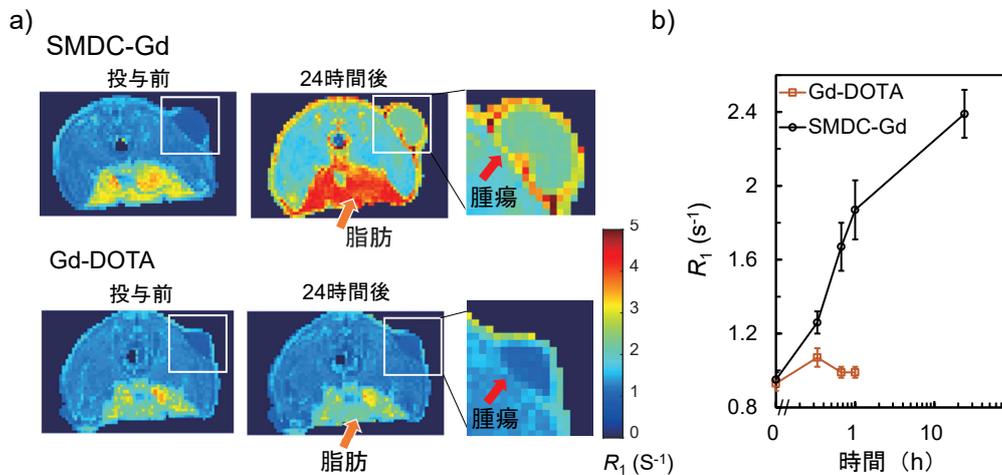


図 4 MR イメージングの結果

a) 担がんモデルマウスの MR 画像, b) 腫瘍断面における縦緩和率 (R_1) の定量値

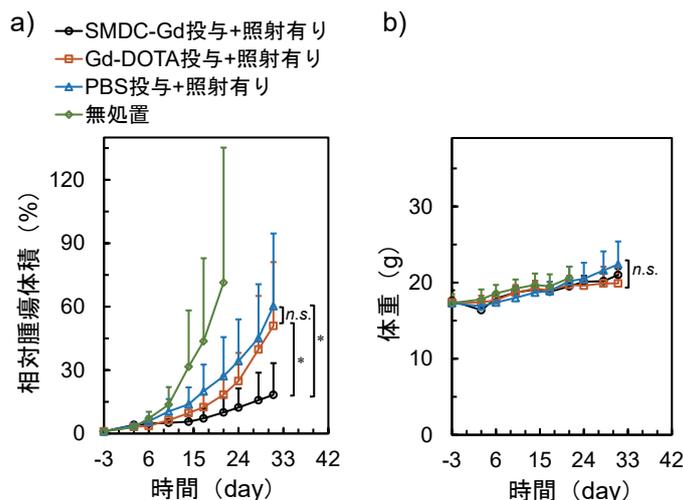


図5 Gd-NCTによる腫瘍増殖抑制試験の結果

a) 腫瘍体積, b) 体重の経時変化, n.s. $p \geq 0.05$, * $p < 0.05$

4. 中性子捕捉療法への応用

中性子捕捉療法 (Neutron capture therapy ; NCT) は次世代のがん治療法として注目されている。このNCTに使用される薬剤としてはボロノフェニルアラニン等のホウ素化合物が主流となっているが、中性子補足断面積の大きさを勘案すればGdはBより大きいため、Gdを介在したNCT (Gd-NCT) の有効性に関心が集まりつつある。特にGd錯体を用いた場合は、MRIによる診断とGd-NCTによる治療を同時に達成できることも期待されている。そこで筆者らはSMDC-Gdを用いたGd-NCTについても検証を行った。実験では、CT26細胞由来の担がんモデルマウスに対してGd換算で0.1 mmol/kgのSMDC-GdあるいはフリーのGd-DOTAを24時間おきに3回全身投与し、最後の投与から24時間後に熱中性子線を照射した。その後、腫瘍サイズの経時変化を調べることでその治療効果を評価した。図5に示すように、SMDC-Gd投与+照射有りの群では、フリーのGd-DOTA投与+照射有りの群、PBS投与+照射有りの群及び、無処置群と比較して、有意に腫瘍増殖が抑制されることが明らかになった。フリーのGd-DOTA投与+照射有りの群は、リン酸緩衝生理食塩水 (PBS) 投与+照射有りの群との間に腫瘍抑制効果に有意な差がなかった。これらの結果は、SMDC-Gdによる腫瘍への選択的なGd錯体の送達が生体による腫瘍抑制効果を向上させたことを示唆している。以上の結果からSMDC-Gdを用いた

たGd-NCTにより腫瘍増殖抑制効果が得られることが明らかになった。

5. おわりに

今回新たに開発したSMDCは、高分子1本鎖が折り畳まれるという非常にユニークな性能を持っている。このSMDCへGd-DOTAを導入したナノMRI造影剤“SMDC-Gd”は、 r_1 値がフリーのGd-DOTAと比較して7倍高く、全身投与後の腫瘍集積にも優位性を示した。また同様のSMDC-Gdは、MRIによるハイコントラストな腫瘍イメージングとGd-NCTによる効果的な腫瘍増殖抑制効果を同時に達成できることから次世代のセラノスティクス医薬品としても期待できる。

参考文献

- 1) Gao, S., *et al.*, *Adv. Sci.*, **11**, 2304171 (2024)
- 2) Hatje, V., *et al.*, *Sci. Technol.*, **50**, 4159-4168 (2016)
- 3) Nozaki, Y., *et al.*, *Geochim. Cosmochim. Acta*, **64**, 3975-3982 (2000)
- 4) Matsumura, Y., *et al.*, *Cancer Res.*, **46**, 6387-6392 (1986)
- 5) Wahsner, J., *et al.*, *Chem. Rev.*, **119**, 957-1057 (2019)
- 6) Caravan, P., *et al.*, *Contrast Media Mol. Imaging.*, **4**, 89-100 (2009)

(*¹ 東京科学大学 総合研究院 化学生命科学研究所, *² 東京科学大学 生命理工学院, *³ 量子科学技術研究開発機構 量子医科学研究所)