

京都大学	博士（工学）	氏名	三宅 由花
論文題目	Synthesis and Functional Evaluation of Novel Chiral Dendrimer-triamine-coordinated Gd-MRI Contrast Agents That Can Act as Molecular Probes（分子プローブ型新規キラルデンドリマートリアミン配位 Gd-MRI 造影剤の合成と機能評価）		
（論文内容の要旨） 本論文は、高感度かつ高腫瘍集積性を有する分子プローブ型 Gd-MRI 造影剤の開発を目的とし、新しい概念に基づくキラルデンドリマートリアミン配位 Gd-MRI 造影剤の合成を行った。次に、デンドリマー世代、およびキラリティーが造影剤の緩和能 r_1、およびマウス体内動態に及ぼす影響を、<i>in vitro</i> および <i>in vivo</i> MRI 撮像により評価した。さらに、水晶発振子マイクロバランス（Quartz Crystal Microbalance、QCM）法を用い、新規造影剤とウシ血清アルブミン（Bovine Serum Albumin、BSA）との結合定数（K_a）を求め、MRI による <i>in vivo</i> での体内動態評価との比較検討を行った研究の結果を纏めたものであって、5 章からなっている。 序論では、現在の MRI 検査において臨床現場で用いられているキレート型 Gd-MRI 造影剤の問題点を述べている。これらのキレート型 Gd-MRI 造影剤による腎性全身性線維症（NSF：Nephrogenic Systemic Fibrosis）などの副作用を防ぐためには、Gd-MRI 造影剤の高感度化による投与量の低減と、高い腫瘍集積能を有する低侵襲性の分子プローブ型 Gd-MRI 造影剤の開発が社会的に強く要請されており、本研究において、新しい概念に基づく分子プローブ型 Gd-MRI 造影剤の開発を行う意義を述べている。 第 1 章では、末端にポリオール基を有するキラルな第 2 世代デンドリマートリアミン配位 Gd-MRI 造影剤を設計し、高収率かつ高エナンチオ選択的合成に成功した。次に、7T の小動物実験用 MRI 装置を用い、不斉点の絶対配置が全て <i>R</i> および <i>S</i> であるいずれのキラルなデンドリマートリアミン配位 Gd-MRI 造影剤の <i>in vitro</i> での造影能 r_1 は、臨床で用いられている Gd-DTPA 造影剤の約 3 倍の高いコントラスト能を有することが明らかとなった。さらに、健常マウスに新規造影剤は投与した場合には、いずれの造影剤も、腎臓や肝臓など特定の臓器に蓄積することなく、長時間、高いコントラストが維持されることが <i>in vivo</i> MRI 撮像により明らかとなった。さらに <i>S</i> 体が <i>R</i> 体よりも高い血中滞留性を示したことから、キラリティーは造影剤の体内動態に大きな影響を与えることが明らかとなった。 第 2 章では、末端ポリアミノアルコール型キラルデンドリマートリアミン配位 Gd-MRI 造影剤を合成し、そのアミノ基へのポリエチレングリコール（PEG）鎖の導入を行った。<i>in vitro</i> での T_1 強調 MRI 撮			

京都大学	博士（工学）	氏名	三宅 由花
像により、末端アミノ基を PEG 化した造影剤は、Gd-DTPA の約 14 倍の高いコントラスト能を示した。この結果は、PEG 化により造影剤の分子量が増大し、Gd の回転が抑制されたためと考えられる。一方、末端ポリアミノアルコール型キラルデンドリマートリアミン配位 Gd-MRI 造影剤は、末端第一級アミノ基に起因する顕著な細胞毒性を示したが、第一級アミノ基を Boc 基で保護することにより、細胞毒性は観測されなくなった。従って、末端ポリアミノアルコール型キラルデンドリマートリアミン配位 Gd-MRI 造影剤の第一級アミノ基への PEG 鎖の導入は、本新規造影剤の高感度化および高機能化に有効であるとともに、毒性の著しい低減にも有効である。 第 3 章では、第 1 章で合成および機能評価を行った第 2 世代末端ポリオール型キラルデンドリマートリアミン配位 Gd-MRI 造影剤、および新たに合成した第 3 世代末端ポリオール型キラルデンドリマートリアミン配位 Gd-MRI 造影剤と、BSA との相互作用を QCM 法により <i>in vitro</i> で評価した。第 2 世代、および第 3 世代キラルデンドリマー造影剤と BSA とのタンパク結合定数 K_a を求めた結果、いずれも S 体が R 体よりも大きいタンパク結合定数 K_a を示した。この結果は、S 体が R 体より高い血中滞留性を示すという <i>in vivo</i> MRI での体内動態評価の結果と一致する。 第 4 章では、末端にチオール基を有する PEG 鎖、および腫瘍特異的ペプチドを導入可能なマレイミド基を有するキラルデンドリマートリアミン配位 Gd-MRI 造影剤を合成した。本造影剤のマレイミド基を介して PEG 鎖を導入した造影剤では、PEG 鎖の分子量の増大に伴い、緩和能 r_1 および血中滞留性が著しく向上することが明らかとなった。一方、マレイミド基を介して乳がん特異的抗 HER2 ペプチドである Affibody[®]を導入した造影剤は、Gd-DTPA の約 5 倍の高い緩和能 r_1 を示した。以上の結果は、PEG 鎖を導入したデンドリマー造影剤には、分子サイズに依存した EPR 効果による腫瘍組織への受動的ターゲティング機能が、また Affibody[®]を導入したデンドリマー造影剤には、腫瘍組織（乳がん）への能動的ターゲティング機能がそれぞれ期待される。 第 5 章では、第 2 章で合成および機能評価を行った第 2 世代末端ポリアミノアルコール型キラルデンドリマートリアミン配位 Gd-MRI 造影剤の 6 つの末端アミノ基全てに PEG 鎖を導入した新規デンドリマー造影剤を合成し、担癌マウスを用いた <i>in vivo</i> MRI により、腫瘍組織へのターゲティング能の評価を行った。平均分子量 2,000 および 5,000 の 6 つの PEG 鎖をそれぞれ導入した分子量 13,814、および 33,255 の新規デンドリマー造影剤を合成し、マウス大腸がん由来 colon 26 細胞を担癌したマウスに尾静脈投与し <i>in vivo</i> MRI 撮像を行った。その結果、低分子量の PEG 鎖を導入した分子量 13,814 のデンドリマー造影剤の方が、EPR 効果による腫瘍組織への集積性が高いことが明らかとなった。この結果は、長鎖の PEG 鎖を 6 つ導入した場合には、EPR 効果に適した分子サイズより大きくなるため、腫瘍集積性が低下したことを示している。 最終章は結論であり、本論文で得られた成果について要約している。			

(論文審査の結果の要旨)

本論文は、高感度かつ高腫瘍集積性を有する分子プローブ型 Gd-MRI 造影剤の開発を目的として、新しい概念に基づくキラルデンドリマートリアミン Gd-MRI 造影剤の設計・合成と機能評価方法の確立を目標に研究した成果についてまとめたものであり、得られた主な成果は次のとおりである。

(1) 不斉炭素原子の絶対配置が全て R および S である末端ポリオール型第 2 世代および第 3 世代キラルデンドリマートリアミン配位 Gd-MRI 造影剤を合成した。その結果、デンドリマー世代の増大に伴い、 r_1 値が増大すること、また、健常マウスを用いた *in vivo* MRI 撮像による新規造影剤の体内動態解析により、新規造影剤は特定の臓器に蓄積することなく、S 体が R 体よりも高い血中滞留性を示すことを明らかにした。この結果は、QCM 法により求めた新規造影剤と BSA との結合定数 K_a が、R 体より S 体の方が大きいという結果とよく一致している。

(2) 次に、末端にアミノ基を有するポリアミノアルコール型キラルデンドリマートリアミン配位 Gd-MRI 造影剤を合成し、末端アミノ基に PEG 鎖 ($M_w = 2,000, 5,000$) を導入した結果、造影剤分子の振動と回転が抑制され、 r_1 値が飛躍的に向上することを明らかにした。

(3) さらに、マレイミド基を導入したキラルデンドリマートリアミン配位 Gd-MRI 造影剤を合成し、マレイミド基を介して、末端にチオール基を有する PEG 鎖、および乳がん特異的抗 HER2 ペプチドである Affibody[®]を導入した。いずれの新規造影剤についても、緩和能 r_1 値と血中滞留性が飛躍的に向上し、PEG 鎖を導入した造影剤には、分子サイズに依存する EPR 効果による受動的腫瘍集積性が、また Affibody[®]を導入した造影剤には、能動的腫瘍集積性がそれぞれ期待される。

以上の様に、本論文は、高感度かつ高腫瘍集積性を有する分子プローブ型新規 Gd-MRI 造影剤の開発に関する重要な知見を与えるものであり、学術上、實際上寄与するところが少なくない。よって、本論文は博士(工学)の学位論文として価値あるものと認める。また、平成 28 年 2 月 23 日、論文内容とそれに関連した事項について試問を行って、申請者が博士後期課程学位取得基準を満たしていることを確認し、合格と認めた。なお、本論文は、京都大学学位規程第 14 条第 2 項に該当するものと判断し、公表に際しては、当該論文の全文に代えてその内容を要約したものとすることを認める。