

近年、患者の Quality of Life(QOL)向上のために、ガンを早期発見するための新規診断システムの開発が求められているが、とりわけ磁気共鳴画像診断装置(MRI)は非侵襲的で安全であることから、大きな期待が寄せられている。特に、ガン特異的に集積する MRI 用造影剤の開発には多くの関心が寄せられており、MRI を用いたガン診断には不可欠と考えられている。ポリマーをコーティングした磁性微粒子は、Enhanced Permeability and Retention (EPR)効果と呼ばれるガン組織特異的に集積する効果が期待され、近年いくつかの研究グループがポリエチレングリコール(PEG)ベースのブロック共重合体を表面修飾した磁性微粒子を用いて、*in vivo* MRI にて評価している。しかしながら、ポリマーをコーティングした磁性微粒子の物理化学的評価と *in vivo* MRI 評価の関係を明らかにしている研究は少ない。本論文では、ステルス性の高いポリエチレングリコールと鉄との親和性があるカルボン酸を側鎖に有するポリアスパラギン酸のブロック共重合体(PEG-PAsp)に着目し、これをコーティングした磁性微粒子の腫瘍集積性 MRI 用造影剤としての開発が目的とされている。特に、ポリマーと磁性微粒子表面との相互作用が腫瘍集積性を高めるのに重要であると考え、本論文では腫瘍集積性 MRI 用造影剤として必要な物理化学的評価に重きをおき、*in vivo* MRI 評価とともにガンの早期発見への検討を行っている。以下、各章毎に、本論文の審査結果の概要を述べる。

第 1 章の序論では、臨床で使用されている MRI を始めとする非侵襲画像診断装置の一般的な特徴をコスト、安全性、解像度、造影剤の投与量、応用範囲など多方面から述べるとともに、ガンを早期発見するために高分子ミセル型の新しい MRI 用造影剤の設計の必要性について、本研究の意義及び論点を述べている。

第 2 章では、ポリエチレングリコールとポリアスパラギン酸のブロック共重合体(PEG-PAsp)を修飾した β -FeOOH 型水酸化鉄ナノ微粒子を作製し、MRI 用造影剤としての物理化学的評価と、腫瘍集積性 MRI 用造影剤としての検討として *in vivo* MRI も行っている。先行研究例では PEG を表面修飾した鉄微粒子の物理化学的評価までの検討は行われているものの、腫瘍集積性 MRI 用造影剤としての検討を腫瘍モデル用いた *in vivo* MRI 実験までをも含めて系統的に実施した報告例はほぼ皆無であるのが実情であった。本章では、腫瘍集積性 MRI 用造影剤としての材料設計指針について物理化学的評価から検討を行い、PEG によるステルス性、粒径制御、PEG-PAsp と β -FeOOH との相互作用が腫瘍集積性に密接に関係することを見いだしている。具体的には、透過型電子顕微鏡や動的光散乱法により、粒径 70nm 程度の単分散紡錘型微粒子が得られたことを確認し、赤外分光法及び電位測定により、生理条件の pH において PEG-PAsp と β -FeOOH との相互作用が静電的かつ Fe とカルボン酸の bidentate chelation を介した多点結合によるものであることを確認し、これらが生理条件下での安定性をもたらすことを見出した。また、*in vivo* MRI にて得られた微粒子の腫瘍集積性の有無を評価した結果、制御された粒径、表面電荷、PEG-PAsp と β -FeOOH との強固な結合が血中安定性の向上に寄与し、EPR 効果による腫瘍集積性をもたらすと結論づけている。

第 3 章では、さらなるガン診断精度向上を目指し、ガン細胞表面に過剰発現している葉酸結合

タンパクとの特異的結合を利用する能動的ターゲティングの達成を図り、PEG 末端に葉酸リガンドを導入した葉酸装着型 PEG-PAsp 修飾 β -FeOOH 微粒子を調製し、その物理化学的評価と *in vivo* 評価を行っている。その結果、葉酸導入率を 25%に制御した PEG-PAsp 修飾 β -FeOOH 微粒子において、粒径制御が可能でかつ、*in vivo* MRI にて葉酸未装着の造影剤微粒子に比べて腫瘍造影効果が高まることを確認している。疎水性である葉酸の導入率が過剰になれば血中滞留性に優れた粒径を維持することも困難となるが、本論文では粒径制御と能動的ターゲティングを両立する最適導入率を見出し、さらには両者が最適化された葉酸装着型造影剤微粒子は診断精度の向上に有効な手段であることを結論づけている。

第 4 章では、難治性ガンの一つである膵臓がんの診断に注目し、造影効果の高いマグネタイト微粒子に PEG-PAsp を表面修飾させたものを新たに作製し、物理化学的評価と *in vivo* 評価を行っている。本章では PEG-PAsp のアスパラギン酸連鎖長を変えることにより、微粒子の表面 PEG 密度と電荷の制御を図り、腫瘍集積効果への影響を検討している。また、膵臓がん組織は他のがん組織と異なり血管が未発達で線維が豊富にある領域が多いため、EPR 効果による腫瘍集積が有効でないことが予測される。そこで、ナノ微粒子の腫瘍集積を促進させる Transforming Growth Factor- β (TGF- β)阻害剤との併用が有効であると考え、*in vivo* MRI による膵臓がん診断を試みている。物理化学的評価においてアスパラギン酸連鎖長に着目すると、アスパラギン酸連鎖がより短い PEG-PAsp 修飾マグネタイト微粒子の表面電荷は負であるが絶対値はより小さく、表面 PEG 密度も増大したが、粒径や添加塩に対する安定性にはアスパラギン酸連鎖長依存性は見られずほぼ同程度であることを確認した。また、PEG-PAsp とマグネタイト微粒子の相互作用は、静電的ではなく monodentate chelation を介した多点結合であり、 β -FeOOH との違いを等電点の違いによるキレート構造変化であることを見出した。*In vivo* MRI 及び病理標本観察を行った結果、TGF- β 阻害剤を併用しない場合には腫瘍造影効果は認められなかったが、併用した場合にはアスパラギン酸連鎖長が 38 量体の PEG-PAsp を用いて微粒子を調製したときのみ腫瘍造影効果を確認した。以上より、PEG-PAsp 修飾マグネタイト微粒子の血中滞留性向上を図る設計において重要なのは、ポリマーとマグネタイト微粒子の結合の強さであることを見出している。また、上記のような MRI 診断用造影剤微粒子を調製する戦略が膵臓がん診断において有効であることを示した世界初の例であると結論づけている。

以上のように本論文では、ブロック共重合体を修飾した二種類の鉄微粒子の MRI 用造影剤作製を出発点として、種々の腫瘍モデルを使った *in vivo* MRI 評価を通じ、鉄微粒子の優れた腫瘍集積性を決定付ける最大の要因が表面修飾ポリマーと鉄微粒子の結合の強さに基づいたブロック共重合体設計及びリガンド導入設計であることを見出している。これらのシステムは、MRI を用いたがんの早期発見や治療効果の診断システムへの展開のみならず、治療薬と組み合わせたインテリジェント DDS へと多岐に渡った展開が期待できるナノデバイス創出への礎となる。本論文の内容は、その独創的なアプローチや高い有用性から考えてマテリアルを中核とする医工融合の分野において極めて秀逸であり、展開されているアプローチは新しいドラッグデリバリーシステム用材料の創製につながる重要な知見を提供しうるものと判定される。

よって本論文は博士（工学）の学位請求論文として合格と認められる。