

脳動脈瘤の破裂リスクを評価するマクロファージイメージング MRI 造影剤の開発

近藤輝幸

京都大学大学院工学研究科 物質エネルギー化学専攻 基礎物質化学講座 先端医工学分野

【研究の背景】

申請者は、これまでにゼラチンで表面被覆した酸化ガドリニウム (Gd_2O_3) ナノ粒子 (図1)¹⁾ を始めとし、グルコサミンで表面被覆した酸化マンガン (MnO) ナノ粒子、およびポリエチレングリコール (PEG) で表面被覆したコバルト酸化物 (CoO) ナノ粒子の開発に成功している²⁾。いずれのナノ粒子も、EPR 効果 (Enhanced Permeability and Retention Effect) により、選択的に腫瘍に集積する高感度 MRI および次世代の光音響イメージング造影剤³⁾ として有効であることを明らかにしている。

くも膜下出血は、一旦発症すると、現在の医療水準で最大限の治療を行っても、死亡率は 50% を超え、遷延性意識障害や半身麻痺等の重篤な後遺症により、社会復帰が困難な重篤な疾患であるが、脳動脈瘤の破裂を回避するための薬物治療はなく、外科的治療のみに限られるアンメットメディカルニーズの高い疾患である。そこで本研究では、くも膜下出血の主要原因である脳動脈瘤の破裂リスクを、脳動脈瘤病変部に高集積しているマクロファージイメージングにより評価する新しい MRI 造影剤を開発し、最終的には、本造影剤を用いる質的 MRI 画像により、脳動脈瘤の破裂リスク評価に貢献する。

【目 的】

脳動脈瘤の破裂によるくも膜下出血は、死亡率 (~50%) および後遺症率が極めて高く、健康寿命を大きく損なう疾患である。一般に、脳動脈瘤は血管分岐部に多発することから、血流ストレスによる血管壁の慢性炎症と考えられる。そこで本研究では、脳動脈瘤病変部に高集積するマクロファージの MRI 画像化に不可欠な生体適合性ポリマー被覆 Gd ナノ粒子造影剤を開発する。本造影剤により、脳動脈瘤の破裂リスク評価が可能になり、不必要な外科治療の介入と合併症 (>10%) を回避できる。さらに、治療薬開発時の薬効評価マーカーとしての利用も期待される。

【方 法】

生理条件下、安定で凝集せず、毒性のない常磁性金属ナノ粒子として、 Gd^{3+} イオンを遊離しない Gd_2O_3 ナノ粒子を選択し、ゼラチン被覆 Gd_2O_3 ナノ粒子に加え、マクロファージの MRI 画像化に有効と考えられる3種類の新しい生体適合性高分子被覆 Gd_2O_3 ナノ粒子型 MRI 造影剤を合成した (図2)。続いて、合成した4種類の Gd_2O_3 ナノ粒子について、粒径と表面電位の制御可能性について動的光散乱法 (DLS) と TEM 観察により検討した。ナノ粒子中の Gd 含有量は、熱重量分析 (TGA) と原子吸光光度計により明らかし、4種類の Gd_2O_3 ナノ粒子について、それぞれ濃度の異なる水分散液の T_1 強調 MRI 画像から、緩和能 r_1 値および r_2 値を算出し評価した。さらに、最適の表面被覆 Gd_2O_3 ナノ粒子を、動脈瘤モデルラットに尾静脈投与し、Black Blood 法 MRI 画像化を行った。

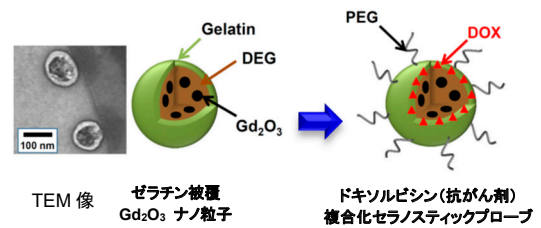


図1. ゼラチン被覆 Gd_2O_3 ナノ粒子型 MRI 造影剤の開発と抗がん剤の複合化によるセラノスティクスプローブへの応用。

【結 果】

マクロファージ細胞株(RAW264.7)を用い、4種類の Gd_2O_3 ナノ粒子の粒径、および表面被覆剤の違いが、ナノ粒子の取り込み量(=1細胞当たりの取り込み量/投与濃度)に及ぼす影響を検討した。我々は、マクロファージ細胞株により貪食された Gd_2O_3 ナノ粒子型 MRI 造影剤を、TEM および EDX 法により評価する方法を確立している。4種類の生体適合性ポリマー被覆 Gd_2O_3 ナノ粒子について、マクロファージ細胞株(RAW264)への取り込み量、MRI 造影能(I_2/I_1)、および生理条件下でのナノ粒子の安定性・分散性から PMMA 被覆 Gd_2O_3 ナノ粒子を選択した。さらに、PMMA 被覆 Gd_2O_3 ナノ粒子を、動脈瘤モデルラットに尾静脈投与し、動脈瘤病変部位に高集積しているマクロファージの MRI 画像化を試みた。

さらに、脳動脈瘤病変部位というごく限られた領域に集積しているマクロファージを MRI 画像化することから、通常の T_1 強調 MRI 画像化ではなく、近接する瘤内の血液を無信号にすることで MRI 信号を増強する Black Blood 法による MRI 画像化の有効性について検討した。その結果、図3に示した様に、マウス動脈瘤モデルの動脈瘤病変部位に高集積しているマクロファージに貪食された新規 PMMA 被覆 Gd_2O_3 ナノ粒子 MRI 造影剤により、投与後 24 時間で明瞭なマクロファージの MRI 画像化が可能であることが明らかになった。

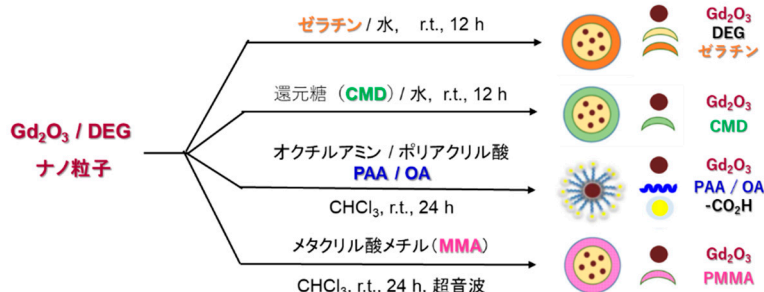


図2. ゼラチン被覆 Gd_2O_3 ナノ粒子を含む4種類の生体適合性ポリマー被覆 Gd_2O_3 ナノ粒子の合成。

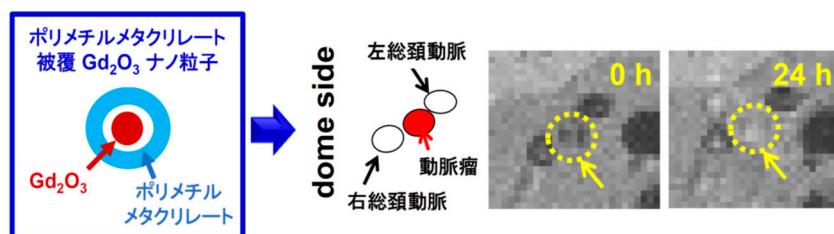


図3. 新規 PMMA 被覆 Gd_2O_3 ナノ粒子 MRI 造影剤を動脈瘤モデルラットに尾静脈投与し、Black Blood 法 MRI 造影によるマクロファージの MRI 画像化。

【考 察】

以上の様に、本研究では、4種類の生体適合性ポリマー被覆 Gd_2O_3 ナノ粒子の合成に成功し、新規 PMMA 被覆 Gd_2O_3 ナノ粒子 MRI 造影剤が、動脈瘤病変部位に高集積しているマクロファージの MRI 画像化に最適であることを見出した。今後は、非臨床試験に向けて、ラット単回/反復投与毒性試験および最大耐用量試験(非 GLP)を行うとともに、GMP に準拠した合成法を確立する。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

本研究により、くも膜下出血の主原因である脳動脈瘤の破裂リスクを、MR 造影により、評価する可能性を示した。すなわち、従来の MRI(MRA)撮像により得られる形態情報に加え、脳動脈瘤の活性度を示す質的情報を、臨床医に提供することにより、臨床医は、外科治療の適応とタイミングを確かな根拠に基づき判断する。その結果、不必要な外科治療の介入と合併症(~10%)の回避が実現し、患者の QOL 向上、および医療費の削減に大きく貢献する。

マクロファージは、超高齢社会において飛躍的増加が危惧される三大成人病(がん、心臓病、脳卒中)の病態形成・進展にも深く関与している。本研究は、マクロファージが関与する多くの疾患の質的な画像情報を臨床医に提供するとともに、次世代の画像診断システムの構築に貢献する研究である。

【参考・引用文献】

1. Kimura Y.; Kamisugi R.; Narazaki M.; Matsuda T.; Tabata Y.; Toshimitsu A.; Kondo T.* “Size-controlled and biocompatible Gd₂O₃ nanoparticles for dual photoacoustic and MR imaging”, *Adv. Healthcare Mater.* **2012**, *1* (5), 657–660.
2. Kondo, T.*; Kimura, Y.; Yamada, H.; Toshimitsu, A. “Magnetic Nanoparticles for Multimodal Bio-imaging, In Magnetic Nanoparticles”, *Synthesis, Physicochemical Properties and Roles in Biomedicine*; Sabbas, Nora P., Ed.; Nova Science Publishers: New York, pp 69–93 (2014).
3. Yamada, H.*; Matsumoto, N.; Komaki, T.; Konishi, H.; Kimura, Y.; Son, A.; Imai, H.; Matsuda, T.; Aoyama, Y.*; Kondo, T. “Photoacoustic in vivo 3D imaging of tumor using a highly tumor-targeting probe under high-threshold conditions”, *Sci. Rep.* **2020**, *10* (1), 19363.