

審査の結果の要旨

氏名 趙在凡

近年バイオイメージング技術は、疾病の診断から一細胞の機能解析まで幅広く医療分野で用いられている。この中で、生きた細胞を直接蛍光イメージングする技術は細胞生物学の研究において大変重要なツールとなる。例えば pH や温度などの物理的環境計測、細胞膜やタンパク質の機能解析、病原体による感染やがん化などの解析で利用されている。蛍光イメージング材料としては、有機物、無機物、金属材料などが開発されており、生体との適合性をもたせるために、親和性をもつシリカやポリエチレングリコールなどで被覆することで生体安定性を持たせる材料設計が行われている。一方、細胞膜の糖鎖であるシアル酸はがんとの因果関係や、ウイルスが感染する際に最初に結合する部位であることなどが知られており、細胞膜の糖鎖を解析し病気の原因を解明することは重要となっている。しかし現状では生きた細胞をその場で観察する技術、さらに1細胞を個別に解析するイメージング技術は十分に確立されていない。本論文では細胞膜を構成する糖鎖の一種であるシアル酸をターゲットとして細胞レベルの解析を目指した蛍光イメージングプローブの開発を行っている。以下に、各章ごとに対する審査結果の概要を述べる。

第一章の序論では、一般的な MRI、CT、超音波、PET、蛍光などの各種診断法の基本的な知識と特徴をまとめている。さらにこの中で蛍光イメージングに関連して細胞レベル解析の重要性を述べている。細胞膜の構造の変化と病態との関連性について細胞膜タンパク質の糖鎖と温度をとりあげてまとめている。最後に、イメージングプローブとしてナノ粒子の意義と材料としての生体親和性について述べ、基本的なナノ粒子の設計について述べた後に、本研究の意義を説明している。

第二章では、側鎖に蛍光物質であるローダミンを持ち、シアル酸認識物質であるレクチンを結合可能な両親媒性高分子 Poly(2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine (MPC))-*co*-(*n*-butyl methacrylate (BMA))-*co*-(nitrophenyloxycarbonyl polyethyleneglycol methacrylate (MEONP))-*co*-methacryloyloxyethyl thiocarbonyl rhodamine B (MTR)) (PMBNR)の設計と合成、さらに PMBNR と Poly(L-lactic acid)

(PLA) を用いたナノ粒子の設計と作製についてまとめている。種々の組成比で合成したポリマーから作製したローダミン標識ナノ粒子は、粒径 10-20 nm、ゼータ電位 -5 -8 mV を示し、この中でも疎水性部位の組成比が高いポリマーから作製した粒子は、数か月以上の中水中で安定な性質をもつことを明らかにした。これらの性質は、親水性に優れた poly(MPC) の特性により得られたものと考察している。またイメージングプローブとしての特性を、蛍光安定性、温度変化で評価し、ナノ粒子とすることで、ポリマーよりも UV 照射における退色が少ないこと、さらに 34°C~40°C の範囲で蛍光輝度の温度変化が得られ、温度計測にも利用できる可能性を示した。最後にこのナノ粒子にシアル酸認識として特異性をもつレクチンを結合させることに成功し、このレクチンつき蛍光標識ナノ粒子の毒性がないことを示し、開発した蛍光標識ナノ粒子の生細胞イメージングプローブへの適応可能であることを示した。

第三章では、上記のレクチン付のローダミン標識ナノ粒子を用い、病態の解明、診断としての適応可能性、および有用性についてまとめている。例として、がん細胞と正常細胞でのシアル酸発現量、およびウイルス感染過程でのシアル酸発現量について検討している。ローダミン標識ナノ粒子をイメージングプローブとして用いた場合では、蛍光輝度が高く、シアル酸の発現量はがん細胞で明らかに大きいことが確認された。また既存のレクチン付蛍光プローブと比較した結果から、ナノ粒子とすることでシアル酸と多価反応が可能であり短時間で感度のよいイメージングができることと明らかにした。また、ウイルス感染において細胞膜糖鎖であるシアル酸の発現量の継時変化を追った結果では、細胞内でウイルスタンパク質の存在確認の結果とあわせ、感染に伴いシアル酸発現量が減少することを示した結果と考察している。以上のことから、本 3 章では 2 章で開発した蛍光イメージングプローブが、細胞膜シアル酸のイメージング技術として利用できることを明らかにした。

第四章では、総括として本論文で開発したレクチン付ローダミン標識ナノ粒子の特性をまとめると共に、病態解明ツールとしての有用性をまとめ、1 細胞イメージングの将来展望について述べている。

以上、本論文では、蛍光イメージング技術とバイオマテリアル研究の発展に大きく貢献することものと確信される。

よって本論文は博士（工学）の学位請求論文として合格と判断される。