

## ヒト画像診断へ応用可能な金ナノ粒子 X 線造影剤の開発 Development of gold nanoparticle X-ray contrast agent applicable to human diagnostic imaging

権田 幸祐<sup>a,b</sup>, 北村 成史<sup>a</sup>, 木村 森音<sup>a</sup>, 高瀬 拓夢<sup>a</sup>, 熊谷 圭悟<sup>a</sup>, 當山 亮太<sup>a</sup>,  
原田 裕太<sup>c</sup>, 北川 明子<sup>c</sup>, 清水 浩平<sup>c</sup>, 大倉 央<sup>c</sup>, 小林 芳男<sup>d</sup>  
Kohsuke Gonda<sup>a,b</sup>, Narufumi Kitamura<sup>a</sup>, Mone Kimura<sup>a</sup>, Takumu Takase<sup>a</sup>, Keigo Kumagai<sup>a</sup>,  
Ryouta Toyama<sup>a</sup>, Yuta Harada<sup>c</sup>, Akiko Kitagawa<sup>c</sup>, Kohei Shimizu<sup>c</sup>, Hiroshi Okura<sup>c</sup>, Yoshio Kobayashi<sup>d</sup>

<sup>a</sup> 東北大学 大学院医学系研究科, <sup>b</sup> 東北大学 国際放射光イノベーション・スマート研究センター,  
<sup>c</sup> 扶桑化学工業株式会社, <sup>d</sup> 茨城大学 大学院理工学系研究科

<sup>a</sup> Graduate School of Medicine, Tohoku University, <sup>b</sup> International Center for Synchrotron Radiation  
Innovation Smart, Tohoku University, <sup>c</sup> Fuso Chemical Co., Ltd,  
<sup>d</sup> Graduate School of Science and Engineering, Ibaraki University

本研究では、直径数 nm の金ナノ粒子と蛋白質を複合体化した新規 X 線造影剤に関して、マウスの尿路および血管の造影能を放射光の吸収 CT で評価し、ヒト画像診断を行うための前臨床試験データを獲得する。さらに本造影剤が、将来、腫瘍血管評価の診断薬として有望かを探るため、同等のサイズで X 線吸収能を数十倍高めた 15 nm 径金ナノ粒子を準備し、担癌マウスや抗癌剤を投与した担癌マウスに対し、本造影剤を注入した時の血管病変を評価する。

キーワード： がん、血管、尿路、X 線吸収、造影、金ナノ粒子、造影剤

### 背景と研究目的：

X 線 Computed Tomography (CT) を使った画像診断は、癌等の血管病変に加え、近年は尿路検査にも用いられている。X 線 CT は、装置の性能向上が 2000 年頃から急速に進み今や 320 個の検出器が多列化されている。一方、これ以上の多列化は困難になりつつあり、検出器自体の進化が無い限り、大幅な性能向上は難しくなってきた。造影剤に目を向けると X 線の吸収は原子番号 (Z) に指数関数的に比例するので、血管や尿路の造影には、生体構成元素 (C, H, O, N, Ca, P) よりも原子番号が大きい元素の利用が有効である。そのため以前からヨード (Z : 53) を使った造影剤開発が行われ、1980 年代には現在の形となる非イオン性ダイマー型ヨード造影剤が開発された。しかし、この後、造影剤開発は進歩が無かった。よって X 線 CT の装置性能の向上が困難になりつつある現状では、ヨード造影剤よりも X 線吸収性が高くかつ機能が向上した造影剤の開発が期待された。X 線吸収能が増加した造影剤は、画像コントラストを各段にアップするため、各医療施設は装置更新に多額の投資をすることなく、診断精度を高めることができる。

本研究では、直径数 nm 金ナノ粒子 (sAuNPs) と蛋白質を複合体化した新規 X 線造影剤 (sAuNPs-Protein) に関して、マウスの尿路および血管の造影能を放射光の吸収 CT で評価し、ヒト画像診断を行うための前臨床試験データを獲得する。さらに sAuNPs-Protein が、将来、腫瘍血管評価の診断薬として有望かを探るため、sAuNPs-Protein と同等のサイズで X 線吸収能を数十倍高めた 15 nm 径金ナノ粒子 (15 nm AuNPs) を準備し、担癌マウスに対して 15 nm AuNPs を注入した時の血管病変を評価する。これらの造影剤開発は、産学連携研究として進めている。

### 実験：

本研究では、6 シフトを申請し、その計画内において、「(1) sAuNPs-Protein を用いた野生型マウスの尿路造影」、「(2) sAuNPs-Protein を用いた糖尿病性腎症発症のマウスの尿路造影」、「(3) sAuNPs-Protein を用いた野生型および担癌マウスの血管造影」、「(4) 15 nm AuNPs を用いた担癌マウスの腫瘍血管造影」の実施を予定していた。

採択審査の結果、2 シフトの使用となったため、4 つの実験の中でも今後の研究のベースとなる

「(1) sAuNPs-Protein を用いた野生型マウスの尿路造影」と「(4) 15 nm AuNPs を用いた担癌マウスの腫瘍血管造影」に注力して進めることにした。

【sAuNPs-Protein を用いた野生型マウスの尿路造影について】

0.5M の sAuNPs-Protein を野生型マウスに尾静脈注入した後、造影剤投入後の異なる時間や腎臓内の異なる場所から組織を摘出し、ホルマリン固定を行う。固定後の腎臓組織を内径約 1 mm のチューブ内に挿入する。チューブ内に格納した腎臓組織を SPring-8 施設に持ち込み後、BL47XU のエンドステーションに装備されている放射光用の CT 装置にて、金原子の L 吸収端に相当するエネルギー（約 12 keV）で撮像し、詳細な解析を行う。

【15 nm AuNPs を用いた担癌マウスの腫瘍血管造影について】

マウスに癌細胞を移植し、担癌マウスを作製する。1.0 M の 15 nm AuNPs を尾静脈に注入し、注入直後と数時間後に当研究室の  $\mu$ X 線 CT で *in vivo* 撮像する。その後、腫瘍組織を摘出し、ホルマリン固定を行う。固定後の腫瘍組織の一部を内径約 1 mm のチューブ内に挿入する。チューブ内に格納した腫瘍組織を SPring-8 施設に持ち込み後、BL47XU のエンドステーションに装備されている放射光用の CT 装置にて、金原子の L 吸収端に相当するエネルギー（約 12 keV）で撮像し、詳細な解析を行う。

結果および考察：

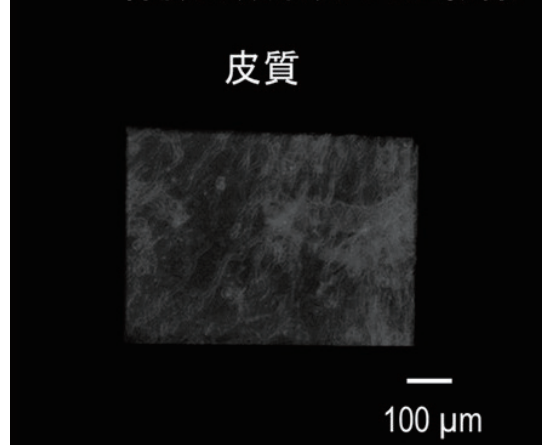
【sAuNPs-Protein を用いた野生型マウスの尿路造影について】

測定の結果、腎皮質と腎盂に向かう集合管の間を繋ぐ腎髄質の尿細管が数  $\mu$ m レベルで明瞭に可視化された (図 1)。この可視化法は、今後、腎症の病態解明を行う際、重要となる尿路形態を高分解能でイメージングする技術として期待できる。

【15 nm AuNPs を用いた担癌マウスの腫瘍血管造影について】

測定の結果、腫瘍血管が数  $\mu$ m レベルで 3 次的に明瞭に可視化された。15 nm AuNPs は腫瘍組織内において不均一に存在していた。これらの局在変化は薬物送達に深く関与することが考えられる。そのため、本可視化法は腫瘍微小環境における薬物送達性の検討に有効であり、創薬支援技術として役立つと期待された。

【図1】 sAuNPs-Protein投与後の腎臓の放射光CT造影像



#### 今後の課題：

今後の要望として、本研究では、これまでにない高分解能なレベルで腫瘍血管や尿路の非破壊・3D 画像を取得することに予備的に成功した。しかし、2 シフトの測定時間では、十分な計測を行うことが困難であり、今回の測定だけで投稿論文の質に耐えうる確固たるデータとするのは困難であった。よって本実験の加速によって SPring-8 の医学イメージングの成果をできるだけ早く、世の中に公表するためにもマシンタイムの大幅な増加をお願いしたい。