

有機化学的な分子設計による機能性 MRI 造影剤の創製

東京大学大学院 薬学系研究科 薬品代謝化学教室
花岡 健二郎

1. はじめに

近年の医療技術の進歩は目覚ましく、画像診断法として PET(positron emission tomography) や X 線 CT、超音波、MRI(magnetic resonance imaging)、内視鏡などが挙げられる。その一つである MRI は、非侵襲的に体の深部にわたる断層画像を撮影することができ、特に高い分解能で解剖学的な画像を撮影することに優れているため、臨床医療において脳出血、脳血栓、脳梗塞など様々な病変の診断に汎用されている。MRI の原理は、生体内に多く存在する水分子の水素原子核の NMR(nuclear magnetic resonance)信号を検出することで、生体内の解剖学的な画像を作り上げている。つまり、主に生体内に豊富に存在する水分子の ^1H -NMR シグナルをもとに画像を構築している。一方、ランタノイド金属イオンの一つであるガドリニウムイオン (Gd^{3+}) 錯体 (Fig. 1) は、その強い磁気的性質から MRI 画像をより鮮明にできるため、近年、MRI 造影剤として広く用いられている。さらに、MRI 画像において特定の病変部位を明確に画像化するためには、特定の病変部位と正常組織部位との間で MRI 信号の差をより大きくする必要がある。しかしながら、これまでの MRI 造影剤は単に MRI 画像のコントラストを明瞭化することを目的とし、先に述べたような生体内の特定の病変部位を検出する機能性 MRI 造影剤 (MRI プロブ) については殆ど報告されていない。そこで本研究では、有機化学に基づいた論理的な分子設計により、病変部位を生きたままの状態で捉えることを可能とする『MRI プロブ』の開発を行った。このような MRI プロブの開発に関する報告例は国内外において殆どなく、本研究によって、MRI プロブの論理的な分子設計法の確立、さらには生体へと応用することで医療分野のみならず、生命科学的研究においても貢献することを目指した。

本研究において標的とする病変部位としては、「低酸素環境部位」と「動脈硬化部位」に着目した。動脈硬化部位を検出する MRI プロブの開発研究に関しては現在、進行中であるので、本研究報告書においては割愛させて頂く。以下に、低酸素環境を検出する MRI プロブの開発研究において得られた成果を説明させて頂く。組織中の酸素濃度が低減した低酸素環境は、がんや虚血性疾患など、さまざまな疾患に関与していることから、*in vivo*において低酸素環境を非侵襲的に可視化する技術は低酸素環境に関連した疾患の診断に大きく貢献する。一方、前述の通り MRI は、非侵襲的に解剖学的描写に優れた生体深部の画像を得る手法であり、臨床医療で実際に汎用されている。MRI 造影剤としての Gd^{3+} 錯体が、MRI シグナル強度に及ぼす度合いは緩和能 (r_1) というパラメーターで表わされ、特定の環境において r_1 が変化するように配位子を精密に分子設計することで、その環境を認識して MRI シグナルが変化する MRI プロブの開発が可能である。現在までに、酸素分圧に応答して MRI シグナルを変化させる MRI プロブはいくつか報告されているが、これらは中心金属である Mn^{2+} や Eu^{2+} が溶存酸素によって酸化される反応を利用したものであり、常酸素から低酸素への変化をとらえることはできない。今回我々は、芳香族ニトロ

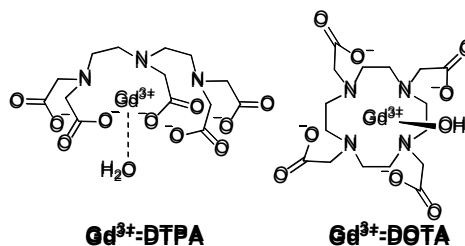
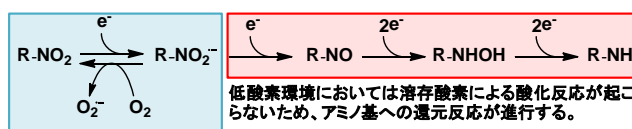


Fig. 1 Gd^{3+} 系 MRI 造影剤の分子構造



常酸素環境においてはニトロ基の一電子還元体が溶存酸素により酸化される逆反応が起こるため、還元反応の速度定数が著しく低下する。

Fig. 2 生体内におけるニトロ基の還元反応

基が低酸素環境選択的に還元されること (Fig. 2) に着目し、低酸素環境を検出してMRIシグナルが増大する新たなMRIプローブの開発を行った。

2. 方法

分子デザインとしては、芳香族スルホンアミド基を有する Gd^{3+} 錯体において、芳香環に存在する置換基の電子求引(供与)性によってスルホンアミド基の酸解離定数 (pK_a) が変化することを利用した (Fig. 3)。すなわち、芳香環に電子求引性基であるニトロ基を導入することで、芳香族スルホンアミド基の N 原子は生理的条件下 (pH 7.4) において脱プロトン化され、中心金属

である Gd^{3+} に配位する。この時、周囲の水分子が Gd^{3+} に配位できないため低い MRI シグナルを示すが、低酸素環境下、ニトロ基がアミノ基へと還元されることでアミノ基の電子供与性によって N 原子はプロトン化され Gd^{3+} に配位できず、結果として周囲の水分子が Gd^{3+} に配位し、高い MRI シグナルを示すことを期待した。先に述べたように、MRI シグナルは主に Gd^{3+} 錯体周囲の水分子の 1H -NMR 信号を捉えているため、 Gd^{3+} への水分子の配位数を変化させることで MRI シグナルを変化させることができる。実際に、ニトロ基の芳香環における置換位置や、芳香環上のその他の置換基を変化させた Gd^{3+} 錯体群、及びそれらの還元反応生成物と予想されるアミノ基を有する Gd^{3+} 錯体群、計 12 化合物 (SAGds) を合成した (Fig. 4)。

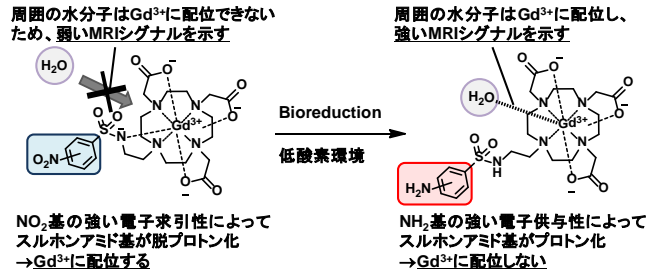


Fig. 3 低酸素環境検出 MRI センサー分子のデザイン

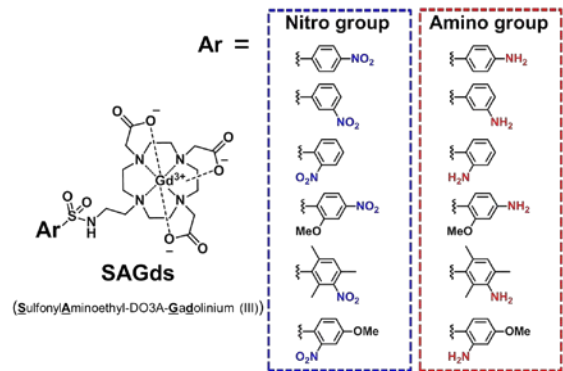


Fig. 4 合成した Gd^{3+} 錯体群 · SAGds

3. 結果

これら化合物は予想通り、芳香環に存在する置換基の電子求引性に依存して pK_a が変化し、置換基の電子求引性の指標であるハメット定数 (σ) と pK_a の間には相関が見られた (Fig. 5)。しかし、芳香環にメチル基が3つ付いた化合物に関しては外れ値を示した。これは、メチル基の立体障害により芳香環とスルホンアミド基とが上手く共鳴系が繋がらなかったためと考えている。また、スルホンアミドの pK_a を利用した低酸素環境下における還元反応にตอบสนองする MRI シグナル変化のメカニズムを分かり易く示したのが Fig. 6 である。スルホンアミドの pK_a の変化によって、生理的条件下 (pH 7.4) での Gd^{3+} への水分子の配位数が増加し、結果として、MRI シグナルの上昇を示すことを期待した。さらに、合成した Gd^{3+} 錯体の中で $4NO_2$ MeOSAGd (Fig. 7a) が最も良い pK_a シフトを示した。実際に、開発した MRI プローブは、ラット肝ミクロソームを用いた *in vitro* における

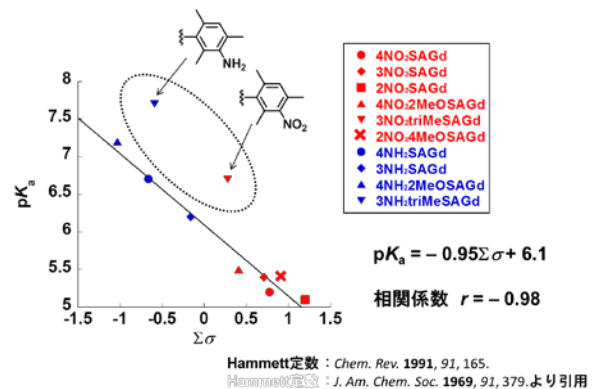


Fig. 5 ハメット定数と pK_a の相関

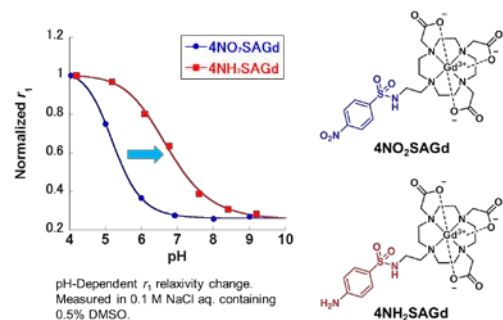


Fig. 6 MRI シグナル変化のメカニズム

モデル酵素系によって低酸素環境下でのみニトロ基からアミノ基へと速い還元反応が進行し、 r_1 の大きな増大が見られた (Fig. 8)。さらに、この還元反応によるMRIシグナルの増大をMRI装置 (1.5 T) にて明確に検出することに成功した (Fig. 7b)。このように、芳香族スルホンアミド基及びニトロ基の二つの官能基を用いることで、低酸素環境下においてMRIシグナルが増大する新たなMRIプローブの開発に成功した。

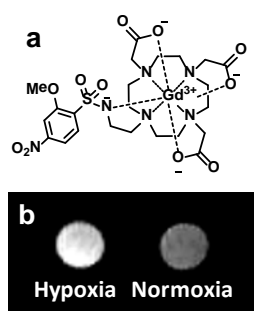


Fig.7 (a)新たに開発した低酸素環境検出 MRI プローブ、(b)酵素反応溶液の MRI 画像；低酸素環境下(左)、常酸素環境下(右)

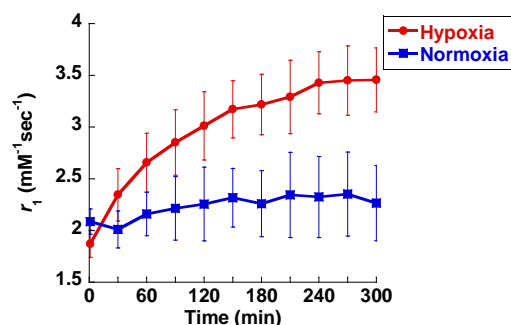


Fig.8 常酸素下および低酸素下、*in vitro* モデル酵素還元反応による開発したMRIプローブの r_1 変化

4. まとめ

本研究では、MRIプローブの新たな論理的分子設計法を確立すること、及びその分子設計法によって生体内の低酸素環境を標的とした新たなMRIプローブの開発を行った。具体的には、電子求引(供与)性の変化という基礎有機化学の知識を用いており、本分子設計法は他の電子求引(供与)性が変化する化学反応にも応用可能であり、汎用性が高いと考えている。有用なMRIプローブの分子設計法が存在しない今日において、この分子設計法がMRIプローブの開発研究に大きく貢献することを期待している。実際に、この独自のアイデアを基にして、低酸素環境を検出するMRIプローブの開発に世界で初めて成功した。低酸素環境は、がんや虚血性疾患など様々な疾患に関与しており、特にがんにおいては、低酸素環境におかれたがん細胞がより悪性度の高い表現型に変化し、化学療法や放射線療法への耐性が高くなることが知られている。そのため、がんなどの疾患の研究において低酸素環境を検出可能な画像診断法が求められており、低酸素環境を可視化する意義は非常に大きい。今後は、開発したプローブをがんや虚血などの生体内低酸素環境の検出へと応用していく。

5. 発表論文

1) Iwaki, S.; Hanaoka, K.; Piao, W.; Komatsu, T.; Ueno, T.; Terai, T.; Nagano, T. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2012**, *22*, 2798–2802.