

研究成果（小テーマにつき2ページ以内でまとめてください）

サブテーマ名：ナノテク材料による医療用イメージングとターゲティング技術の開発 小テーマ名：2-2 融合ナノ材料によるイメージング・ターゲティングおよびDDS材料の評価・実用化検討
サブテーマリーダー（所属、役職、氏名） 平岡真寛（共同研究員・京都大学）、中條善樹（雇用研究員・京都大学） 研究従事者（所属、役職、氏名） 小林 牧（雇用研究員・ASTEM）、近藤科江、三嶋理晃、原田 浩、福山秀直、猪原匡史、尾野 亘、岩田博夫（雇用研究員・京都大学）、犬伏俊郎（雇用研究員・滋賀医科大学）、木村 剛（共同研究員・京都大学）、中井敏晴（共同研究員・国立長寿医療センター）、山崎 晃（共同研究員・日本新薬㈱）、磯崎正史（共同研究員・テルモ㈱）、小関英一、原 功、山原 亮、竹内恵理（共同研究員・㈱島津製作所）〔田中正太郎（雇用研究員・ASTEM）、富本秀和、古川 裕（雇用研究員・京都大学）、関 純造（共同研究員・日本新薬㈱）、伏見良治（共同研究員・㈱島津製作所）〕
研究の概要、新規性及び目標 ① 研究の概要 生体光イメージングの2種類の手法（発光と蛍光）を用いて、ターゲットである病態の可視化と3-1で開発しているナノ複合材料の病態特異的なプローブの体内動態、標的特異性を評価し、材料の改良を行うための情報を提供する。 ② 研究の独自性・新規性 生体光イメージングの2種類の手法（発光と蛍光）は、ほぼ確立している手法ではあるが、低酸素誘導因子が発現している疾患部位を特異的に可視化する発光は独自性が高い。（HIF-1活性イメージングプローブで心筋虚血域を明瞭に描出できた点などは全く新規の知見である。）また、2-1で開発しているプローブやDDSも独自性・新規性が高いものであり、本研究は極めて独自性・新規性が高い研究である。 ③ 研究の目標（フェーズ毎に数値目標等をあげ、具体的に） 2-1で開発しているイメージング、ターゲティングおよびDDS材料の評価を適切に行い、実用化のために必要な情報を提供することで、開発研究を推進する。
研究の進め方及び進捗状況（目標と対比して） 2-1の各グループが開発しているナノ複合材料を、培養細胞、実験動物を用いて評価し、ナノ複合材料の改良すべき問題点を明確にする。具体的には、細胞毒性、体内動態、体内での標的特異性を評価し、実用化に必要な要素を検証する。標的特異性評価としては、疾患モデル動物を作成し、ナノ複合材料が疾患部位に集まるかどうかを評価した。2-1-③および2-1-④では、体内動態、標的特異性に優れたナノ複合材料を得ることができ、実用化のために派生事業へと発展させることができた。
主な成果 具体的な成果内容 1) 光イメージングプローブの構築 生体蛍光イメージング解析を行うことで、2-1-③の低酸素特異的プローブの体内動態、標的特異性の評価を行った。がんの皮下移植モデル、同所移植モデル、および虚血性疾患モデルマウスに、光イメージングプローブを投与し、経時的にシグナルを観察することで評価した。いずれも1日以内に低酸素部位に特異的と思われるイメージングを得ることができた。がん皮下移植モデルの場合は、プローブ投与直後に全身にPOHAプローブのシグナルが観察されたが、数時間でシグナルは腫瘍と排泄臓器である腎臓・膀胱以外からは消え、20時間後には腫瘍特異的なイメージを得ることができた。すい臓癌同所移植モデルでも、発光イメージングで低酸素誘導因子HIF-1が活性化しているがん細胞と、蛍光プローブが投与後9～24時間で局在しているところが一致しており、プローブの標的特異性を確認することができた。蛍光イメージングが腫瘍内低酸素領域を反映したものであるかを、腫瘍切片を免疫染色して検証したところ、POH融合タンパク質の局在が低酸素誘導因子HIF-1活性を有する領域とほぼ一致していることがわかった。 2) 悪性度の高いがんに対する治療薬の開発 2-1-③で開発したPTD-ODD-Pro-caspase-3融合タンパク質を2種類（TOP3、POP33）を投与した担がんマウスにおける、腫瘍内の低酸素誘導因子HIF-1の活性を可視化できる発光イメージングでモニターしたところ、HIF-1活性が有意に減少し、腫瘍の増殖も抑制することができた。更に、すい臓がんの同所移植モデルにPOP33を投与したところ、すい臓がんの浸潤・転移を抑えることができた。

この結果は、HIF-1活性を持つがん細胞が悪性化に寄与していることを明確にしており、腫瘍生物学的にも意味が深い。

3) 脳虚血巣に対する治療薬の開発

2-1-③で開発したPTD-ODD-Caspase阻害剤融合タンパク質を中大脳動脈閉塞モデルに投与したところ、脳梗塞面積が有意に縮小し、神経学的脱落症状を改善した。この結果は、HIF-1活性を持つ神経細胞を保護することで、脳梗塞治療に応用できることを意味しており興味深い。

4) 心筋梗塞巣に対する治療薬の開発

Hypoxic inducible Factor (HIF)-1の活性化を検出できる動物モデルとして、マウス心筋梗塞モデル、大動脈縮窄心肥大・心不全モデルを作成した。心筋梗塞モデルにおいて、心筋虚血部に特異的にHIF-1の活性化を認め、同部位に体外から投与したHIF-1イメージング用のプローブが集積することを確認した。

5) DDS材料の評価

2-1-④で構築したペプトソームの体内動態、および腫瘍特異性を評価した。2-1-④のグループが構築した様々なサイズや構造要素の異なるDDS材料は蛍光色素標識されており、生体光イメージングの腫瘍により、経時的なモニタリングが可能であるため、がんの皮下移植モデルおよび肝臓がん同所移植モデルにより、腫瘍への集積を観察し、最適なサイズ、構造要素を決定した。

特許件数：1件、論文件数：49件、口頭発表件数：42件

研究成果に関する評価

1 国内外における水準との対比

生体光イメージングによる評価系の構築は、国内では先駆的で、光イメージング研究をリードしている。世界的に見ても、低酸素誘導因子に着目して、それを特異的にイメージングする評価系を構築している研究は他に無く、先進的である。また、将来的に脳梗塞治療への応用を見据えた研究である点でも先進的であり、さらにHIF-1活性プローブで心筋虚血域を明瞭に描出できた点は全く新規の知見である。

2 実用化に向けた波及効果

光イメージングによる評価は、RIや磁性体を用いたPET、MRIイメージングに比べて、安全、安価、容易で、迅速性にも優れており、初期のスクリーニングには最適であり、実用化のプロセスを飛躍的に短縮できるメリットがあるため、この実験系の構築は、実用化には必須の技術である。

また、心筋虚血のイメージング用のプローブとして応用される可能性があるほか、HIF-1の活性化は心肥大、心不全においても起きるため、今後この分野にも適応される可能性がある。

残された課題と対応方針について

- 今後、PET、MRIプローブとして発展させていくためには、それらのイメージング機器を備えた施設を利用する必要がある。新たなプロジェクトと共同研究施設を利用して実用化に向けた研究体制が必要になる。
- 体外からのイメージ描出に向けて、より深部のシグナルを感度良くイメージングする工夫・改良が必要である。
- 虚血性脳血管障害への応用研究グループには、来年動物用MRIが導入される予定となっており、京都大学高次脳機能センターの有する動物用PETをも利用することにより、PET、MRIプローブの更なる開発を図っていく。

	JST負担分 (千円)							地域負担分 (千円)							合計
	16年度	17年度	18年度	19年度	20年度	21年度	小計	16年度	17年度	18年度	19年度	20年度	21年度	小計	
人件費	中間評価結果を受けて研究テーマの組み直しを行ったため、フェーズIについては様式1を参照されたい			6,650	7,006	2,498	16,154	中間評価結果を受けて研究テーマの組み直しを行ったため、フェーズIについては様式1を参照されたい			65,861	53,332	24,949	144,142	160,296
設備費				10,882	3,464	0	14,346				0	0	0	14,346	
その他研究費 (消耗品費、材料費等)				20,088	24,099	18,476	62,663				10,200	19,000	1,450	30,650	93,313
旅費				44	71	0	115				2,550	900	180	3,630	3,745
その他				337	229	125	691				9,295	3,168	1,268	13,731	14,422
小計				38,001	34,869	21,099	93,969				87,906	76,400	27,847	192,153	286,122

代表的な設備名と仕様 [既存 (事業開始前) の設備含む]

JST負担による設備：IVISO200、SPECTRUMアップグレードキット一式、コリメーター

地域負担による設備：