革新的ナノテクノロジーによる脳分子探査

領域番号:21B204

令和 3 年度～令和 5 年度

科学研究費助成事業(科学研究費補助金)

(学術変革領域研究(B))

研究成果報告書

令和 7 年 5 月

領域代表者　安楽 泰孝

東京科学大学・物質理工学院・准教授

はしがき（0.5 ページくらい）

分子生理学的観点から「脳」という臓器を考えると、分子の局在や動態といった「ミクロな分子情報」は未だブラックボックスの中にあり、中枢神経系(CNS)疾患との関連性についても未解明な部分が多い。これは、ヒト生体脳の組織を非侵襲的に直接採取する手法がなく、また脳分子の血液移行性も著しく低いため、間接的にでも生体脳の分子情報を得ることが困難だからである。プローブを「局所的に」脳内に挿入し分子を回収する微小透析膜法などが確立されているが、脳に損傷を与えるためヒトへの適用は極めて限られる。すなわち、「非侵襲的な手法により生体脳から脳分子を回収し、血液中に分子情報を持ち帰る」方法論の確立は、分子生理学的に脳機能・疾患を理解するための核心技術であり、未だ達成されていない挑戦的な研究課題である。

そこで本学術変革領域「脳分子探査」では、高効率に脳内送達可能な高分子集合体(ナノマシン)を要素技術とし、さらに「血液脳関門(BBB)を効率的に通過」し、「脳分子を回収」、さらには「血液中に帰還」することで、脳分子情報を知らせる『はやぶさ型ナノマシン』を構築し、CNS 疾患の革新的診断法へと展開し、脳内外の物質移動研究に新たな学術的視点をもたらすことを目的とする。この『はやぶさ型ナノマシン』計画を実現するために、①どのようにして血液中に効率的に戻るか、②どういった疾患を対象とするか、③持ち帰った分子をどのように検出するか、という課題を抽出した。これらを解決するために、「A01 班 脳探査ナノマシン」に安楽と、抗体を中心としたタンパク質工学を専門とする中木戸、「A02 班分子脳病態」に、認知情動機能を制御する分子神経機構に関する研究を展開している竹本、うつ病や不安障害といった精神疾患に関する研究を専門とする宮田、「A03 班 極限検出」に独自の質量分析やプローブ技術により多様な分子を超高感度検出する技術を有している川井、太田といった、工・医薬・化学といった異なる分野・専門性をバックグラウンドとする研究者から形成されるチームを構築し、課題の解決に取り組んだ。

研究組織

計画研究

領域代表者　安楽　泰孝（東京科学大学･物質理工学院･准教授）

（総括班）

研究代表者　安楽　泰孝（東京科学大学･物質理工学院･准教授）

研究分担者　中木戸　誠（東京大学･工学系研究科･講師）

研究代表者　竹本　さやか（名古屋大学･環境医学研究所･教授）

研究分担者　川井　隆之　（九州大学・大学院理学研究院・准教授）

（A01 班）

研究代表者　安楽　泰孝　（東京科学大学・物質理工学院・准教授）

研究分担者　中木戸　誠　（東京大学・工学系研究科・講師）

（A02 班）

研究代表者　竹本　さやか　（名古屋大学・環境医学研究所・教授）

研究分担者　宮田　茂雄　（日本薬科大学・薬学部・准教授）

（A03 班）

研究代表者　川井　隆之　（九州大学・大学院理学研究院・准教授）

研究分担者　太田　誠一（東京大学・大学院工学系研究科・准教授）

交付決定額（配分額）

	合計	直接経費	間接経費
令和 3 年度	45,630,000 円	35,100,000 円	10,530,000 円
令和 4 年度	45,500,000 円	35,000,000 円	10,500,000 円
令和 5 年度	45,500,000 円	35,000,000 円	10,500,000 円
総計	136,630,000 円	105,100,000 円	31,530,000 円

研究発表

雑誌論文

A01 班・安楽/中木戸班

1. H. L. Mizuno, Y. Anraku, Development of a nanomachine for efficient drug delivery to the brain, *Folia Pharmacol. Jpn.*, 査読無し, 159, 2024, 305–310.

2. H. L. Mizuno, Y. Anraku, 血液脳関門通過型ナノマシンの構築と応用, *化学と工業*, 査読無し, 78, 2025, 238–240.

3. A. Goto, Y. Anraku, S. Fukushima, A. Kishimura, Polyion complex vesicles containing viscosity enhancer for sustained release of water-soluble low-molecular-weight drugs, *Chem. Lett.*, 査読有り, 53(5), 2024, upae070.

4. G. M. Quindoza, Y. Nakagawa, H. L. Mizuno, Y. Anraku, R. Espiritu, T. Ikoma, Site preference and local structural stability of Bi(III) substitution in hydroxyapatite using first-principles simulations, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 査読有り, 26(19), 2024, 14277–14287.

5. T. Watanabe, G. M. Quindoza, Y. Aida, H. L. Mizuno, Y. Anraku, T. Ikoma, Controlling hydroxyapatite formation via high-pressure vapor treatment of amino acid-incorporated β-tricalcium phosphate compacts, *Mater. Lett.*, 査読有り, 384, 2025, 138115.

6. J. Norimatsu, H. L. Mizuno, T. Watanabe, T. Obara, M. Nakakido, K. Tsumoto, H. Cabral, D. Kuroda, Y. Anraku, Triphenylphosphonium-modified catiomers enhance in vivo mRNA delivery through stabilized polyion complexation, *Mater. Horiz.*, 査読有り, 11, 2024, 4711–4721.

7. G. M. Quindoza, R. Horimoto, Y. Nakagawa, Y. Aida, V. Irawan, J. Norimatsu, H. L. Mizuno, Y. Anraku, T. Ikoma, Folic acid-mediated enhancement of the diagnostic potential of luminescent europium-doped hydroxyapatite nanocrystals for cancer bioimaging, *Colloids Surf. B: Biointerfaces*, 査読有り, 239, 2024, 113975.

8. G. M. Quindoza, Y. Nakagawa, Y. Anraku, T. Ikoma, Adsorption of L-buthionine sulfoximine on Bi(III) and Eu(III) co-substituted hydroxyapatite nanocrystals for enhancing radiosensitization effects, *Colloids Surf. B: Biointerfaces*, 査読有り, 2023, 113403.

9. Y. Nakagawa, K. Ushidome, K. Masuda, K. Igarashi, Y. Matsumoto, T. Yamasoba, Y. Anraku, M. Taka-i, H. Cabral, Multi-Armed Star-Shaped Block Copolymers of

Poly(ethylene glycol)-Poly(furfuryl glycidol) as Long Circulating Nanocarriers, *Polymers*, 査読有り, 15(12), 2023, 2626.

10. T. Watanabe*, H. L. Mizuno*, J. Norimatsu, T. Obara, H. Cabral, M. Nakakido, D. Kawauchi, Y. Anraku, Ligand Installation to Polymeric Micelles for Pediatric Brain Tumor Targeting, *Polymers*, 査読有り, 15, 2023, 1808.

11. N. Uchida, Y. Ryu, Y. Takagi, K. Yoshizawa, K. Suzuki, Y. Anraku, I. Ajioka, N. Shimokawa, M. Takagi, N. Hoshino, T. Akutagawa, T. Matsubara, T. Sato, Y. Higuchi, H. Ito, M. Morita, T. Muraoka, Endocytosis-Like Vesicle Fission Mediated by a Membrane-Expanding Molecular Machine Enables Virus Encapsulation for In Vivo Delivery, *J. Am. Chem. Soc.*, 査読有り, 145(11), 2023, 6210–6220.

12. A. Goto, Y. Anraku, S. Fukushima, A. Kishimura, Increased Enzyme Loading in PICsomes via Controlling Membrane Permeability Improves Enzyme Prodrug Cancer Therapy Outcome, *Polymers*, 査読有り, 15(6), 2023.

13. A. Amano, N. Sanjo, W. Araki, Y. Anraku, M. Nakakido, E. Matsubara, T. Tomiyama, T. Nagata, K. Tsumoto, K. Kataoka, T. Yokota, Peripheral administration of nanomicelle-encapsulated anti-Aβ oligomer fragment antibody reduces various toxic Aβ species in the brain, *J. Nanobiotechnol.*, 査読有り, 21(36), 2023.

14. H. L. Mizuno, Y. Anraku, I. Sakuma, Y. Akagi, Effect of PEGylation on the Drug Release Performance and Hemocompatibility of Photoresponsive Drug-Loading Platform, *Int. J. Mol. Sci.*, 査読有り, 23(12), 2022.

15. Y. Uto, M. Nakakido, T. Yokoo, J. Fernandez-Perez, J. Entzminger, T. Maruyama, C.J. Okumura, D. Kuroda, J.M.M. Caaveiro, K. Tsumoto, Improving the solubility of single domain antibodies using VH-like hallmark residues, *Protein Science*, **査読有り**, in press.

16. K. Ujiie, M. Nakakido, S. Kinoshita, J.M.M. Caaveiro, C.K. Entzminger, S.C.J. Okumura, T. Maruyama, K. Miyauchi, T. Matano, K. Tsumoto, Specific recognition mechanism of an antibody to sulfated tyrosine and its potential use in biological research, *J. Biol. Chem.*, 査読有り, 2025, 301(2), 108176.

17. M. Nakakido, S. Kinoshita, K. Tsumoto, Development of novel humanized VHH synthetic libraries based on physicochemical analyses, *Sci. Rep.*, 査読有り, 2024, 14(1), 19533.

18. R. Asano, M. Takeuchi, M. Nakakido, S. Ito, C. Aikawa, T. Yokoyama, A. Senoo, G. Ueno, S. Nagatoishi, Y. Tanaka, I. Nakagawa, K. Tsumoto, Characterization of a

novel format scFv×VHH single-chain biparatopic antibody against metal binding protein MtsA, *Protein Science*, 査読有り, 2024, 33(6), e5017.

19. R. Asano, M. Nakakido, J.F. Pérez, T. Ise, J.M.M. Caaveiro, S. Nagata, K. Tsumoto, Crystal structures of human CD40 in complex with monoclonal antibodies dacetuzumab and bleselumab, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 査読有り, 2024, 714, 149969.

20. T. Sumikawa, M. Nakakido, R. Matsunaga, D. Kuroda, S. Nagatoishi, K. Tsumoto, Generation of antibodies to an extracellular region of the transporters Glut1/Glut4 by immunization with a designed antigen, *J. Biol. Chem.*, 査読有り, 2024, 300(2), 105640.

21. S. Maeta, M. Nakakido, H. Matsuura, N. Sakai, K. Hirata, D. Kuroda, A. Fukunaga, K. Tsumoto, Arginine cluster introduction on framework region in anti-lysozyme antibody improved association rate constant by changing conformational diversity of CDR loops, *Protein Science*, 査読有り, 2023, 32(9), e4745.

22. S. Kinoshita, M. Nakakido, C. Mori, D. Kuroda, J.M.M. Caaveiro, K. Tsumoto, Molecular basis for thermal stability and affinity in a VHH: contribution of the framework region and its influence in the conformation of the CDR3, *Protein Science*, 査読有り, 2022, 31(11), e4450.

A02 班・竹本/宮田班

1. H. Fujii, H. Kidokoro, Y. Kondo, M. Kawaguchi, S. Horigane, J. Natsume, S. Takemoto-Kimura, H. Bito, Forster resonance energy transfer-based kinase mutation phenotyping reveals an aberrant facilitation of Ca^{2+}/calmodulin-dependent CaMKIIα activity in de novo mutations related to intellectual disability, *Front. Mol. Neurosci.*, 査読有り, 15, 2022, 970031.

2. K. Komiyama, K. Iijima, R. Kawabata-Iwakawa, K. Fujihara, T. Kakizaki, Y. Yanagawa, Y. Yoshimoto, S. Miyata, Glioma facilitates the epileptic and tumor-suppressive gene expressions in the surrounding region, *Sci. Rep.*, 査読有り, 12, 2022, 6805.

3. C. Wang, S.H. Horigane, M. Wakamori, S. Ueda, T. Kawabata, H. Fujii, I. Kushima, H. Kimura, K. Ishizuka, Y. Nakamura, Y. Iwayama, M. Ikeda, N. Iwata, T. Okada, B. Aleksic, D. Mori, T. Yoshida, H. Bito, T. Yoshikawa, S. Takemoto-Kimura, N. Ozaki, Identification of ultra-rare disruptive variants in voltage-gated calcium channel-encoding genes in Japanese samples of schizophrenia and autism spectrum disorder, *Transl. Psychiatry*, 査読有り, 4, 2022, DOI:10.1038/s41398-022-01851-y.

4. S. Hamada, K. Mikami, S. Ueda, M. Nagase, T. Nagashima, M. Yamamoto, H. Bito, S. Takemoto-Kimura, T. Ohtsuka, A.M. Watabe, Experience-dependent changes in affective valence of taste in male mice, *Mol. Brain*, 査読有り, 16, 2023, 28.

A03 班・川井/太田班

1. T. Miki, S. Yamamoto, C. Liu, K. Torikai, M. Kinoshita, N. Matsumori, T. Kawai*, Highly sensitive two-dimensional profiling of N-linked glycans by hydrophilic interaction liquid chromatography and dual stacking capillary gel electrophoresis, *Anal. Chim. Acta*, 2024, **1320**, 342990.

2. F. Kitagawa*, K. Takahashi, R. Osanai, R. Sasaki, T. Kawai, Application of on-line sample preconcentration by large-volume dual preconcentration by isotachophoresis and stacking (LDIS) on straight-channel microchips, *Anal. Sci.*, 2024, **40**, 1611–1617.

3. K. Kitagishi, T. Kawai, M. Tonouchi, K. Serita*, Terahertz-capillary electrophoresis (THz-CE) for direct detection of separated substances in solutions, *Opt. Mater. Express*, 2024, **14**, 472.

4. S. Wangamnuayporn, M. Kinoshita, T. Kawai, N. Matsumori*, Gold nanoparticle-powered screening of membrane protein-specific lipids from complex lipid mixtures, *Anal. Biochem.*, 2024, **687**, 115447.

5. K. Kitagishi*, T. Kawai, M. Tonouchi, K. Serita, An innovative detection technique for capillary electrophoresis: Localized terahertz emission-time domain spectroscopy, *J. Chromatogr. A*, 2023, **1710**, 464384.

6. S. Koganemaru†, T. Kawai†,* (co-first, co-corresponding author), H. Fuchigami, N. Maeda, K. Koyama, Y. Kuboki, T. Mukohara, T. Doi, M. Yasunaga*, Quantitative analysis of drug distribution in heterogeneous tissues using dual-stacking capillary electrophoresis–mass spectrometry, *Br. J. Pharmacol.*, 2023, **180**, 762–774.

7. N. Nakamura, N. Tanaka, S. Ohta, Facile and wide-range size tuning of conjugated polymer nanoparticles for biomedical applications as a fluorescent probe, *RSC Adv.*, 査読あり, 2022, **12**, 11606.

8. N. Nakamura, R. Hamada, H. Kaneko, S. Ohta, Selecting optimum miRNA panel for miRNA signature-based companion diagnostic model to predict the response of R-CHOP treatment in diffuse large B-cell lymphoma, *J. Biosci. Bioeng.*, 2023, **4**, 341.

9. Y. Maeda, N. Nakamura, S. Ohta, DNA-mediated, on-membrane sequential assembly of conjugated polymer nanoparticles for sensitive detection of cell surface markers, *Adv. Funct. Mater.*, 2024, 2315160.

10. Z. Zhao, A. Otsuka, N. Nakamura, T. Tatsumi, K. Nakatsui, T. Tsuzukiishi, T. Sakanoue, K. Shimazoe, S. Ohta, 64Cu-chelated InP/ZnSe/ZnS QDs as

PET/fluorescence dual-modal probe for tumor imaging, *Sci. Technol. Adv. Mater.*, 2025, **26**, 2463317.

学会発表

A01 班・安楽/中木戸班

1. 水野ローレンス隼斗、安楽泰孝、Development of smart drug delivery system, University of Manchester-Tokyo Institute of Technology Joint Workshop, 2024 年, 国内, 口頭

2. 水野ローレンス隼斗、片岡一則、青木一洋、安楽泰孝、BBB-penetrable gadolinium-loaded polymeric micelles for high-contrast MR brain imaging, 第 40 回日本 DDS 学会学術集会, 2024 年, 国内, 口頭

3. 水野ローレンス隼斗、片岡一則、青木一洋、安楽泰孝、Development of glucose-decorated gadolinium-loaded polymeric micelle for high-contrast MR brain imaging, The Fourteenth International Conference on the Science and Technology for Advanced Ceramics, 2024 年, 国内, 口頭

4. 大橋瑶奈、境谷優、水野ローレンス隼斗、生駒俊之、安楽泰孝、非晶質リン酸カルシウム被覆による高分子ー核酸複合粒子の安定化, 第 40 回日本 DDS 学会学術集会, 2024 年, 国内, ポスター

5. 境谷優、大橋瑶奈、水野ローレンス隼斗、生駒俊之、安楽泰孝、小児脳腫瘍治療を指向したポルフィリン結合無機有機複合シリカナノ粒子の開発, 第 40 回日本 DDS 学会学術集会, 2024 年, 国内, ポスター

6. 見世賢信、水野ローレンス隼斗、安楽泰孝、生駒俊之、生体内挙動の向上を志向した弾性率変調メソポーラスシリカナノ粒子の調製, 日本化学会 第 105 春季年会, 2024 年, 国内, ポスター

7. 境谷優、水野ローレンス隼斗、中木戸誠、津本浩平、安楽泰孝、生駒俊之、生理環境下での分散安定性を有するポルフィリン結合 Ormosil ナノ粒子の開発, 日本化学会 第 105 春季年会, 2024 年, 国内, 口頭

8. 山田里々乃、水野ローレンス隼斗、竹口雅樹、Xueying Liu、生駒俊之、安楽泰孝、シリカ被覆したポリイオンコンプレックス型ベシクル（Si-some）の構築と機能評価, 日本化学会 第 105 春季年会, 2024 年, 国内, ポスター

9. 三島奈都子、會田雄大、水野ローレンス隼斗、安楽泰孝、生駒俊之、アルカリ加水分解による酸化ビスマス量子ドットの合成, 日本化学会 第 105 春季年会, 2024 年, 国内, ポスター

10. Asano R、Takeuchi M、Nakakido M、Aikawa C、Yokoyama T、Tanaka Y、Nakagawa I、Tsumoto K、Design and functional characterization of novel scFv×VHH format of biparatopic antibody against MtsA from Streptococcus pyogenes, 16th Annual PEGS-Europe, 2024 年, 国際, 口頭

11. Yokoo T、Nakakido M、Matsuda K、Kinoshita S、Aricescu R、Yuzaki M、Tsumoto K、Structural-guided rational multivalency design and physicochemical analysis of antibodies to multivalent antigens, The 38th Annual Symposium of The Protein Society, 2024 年, 国際, 口頭

12. 淺野梨紗、竹内美結、中木戸誠、相川知宏、横山武司、田中良和、中川一路、津本浩平、Characterization of novel scFv×VHH format of biparatopic antibody against MtsA from Streptococcus pyogenes, 21st IUPAB & 62nd BSJ Joint Congress, 2024 年, 国際, 口頭

13. 中木戸誠、木下清晶、津本浩平、物理化学／計算科学的解析に基づいた新規ヒト化 VHH 人工合成ライブラリ構築, 第 24 回 日本蛋白質科学会年会, 2024 年, 国内, 口頭

14. 横尾尚典、中木戸誠、松田恵子、木下清晶、Radu Aricescu、柚﨑通介、津本浩平、構造情報に基づく多価抗原に対する抗体の合理的多価設計と物理化学的解析, 第 24 回 日本蛋白質科学会年会, 2024 年, 国内, 口頭

15. 横尾尚典、中木戸誠、松田恵子、木下清晶、柚﨑通介、津本浩平、シナプスオーガナイザーMDGA1 に対するナノボディを用いた人工シナプスコネクターの創出, 第 96 回 日本生化学会大会, 2023 年, 国内, 口頭

16. 淺野梨紗、中木戸誠、竹内美結、相川知宏、中川一路、津本浩平、分子連結した抗体は金属結合蛋白質の機能を阻害する, 第 96 回 日本生化学会大会, 2023 年, 国内, 口頭

17. 中木戸誠、トランスフェリン受容体に対する機能性抗体開発を指向した物理化学的解析, 第 450 回 CBI 学会, 2023 年, 国内, 口頭（招待講演）

18. 住川太一、中木戸誠、黒田大祐、津本浩平、膜蛋白質 Glut1 の動態解明を指向した部位特異的抗体の開発, 第 23 回 日本蛋白質科学会年会, 2023 年, 国内, 口頭

19. Yokoo T， Tanabe A， Nakakido M， Nagatoishi S， Jose M. M. Caaveiro、Yoshida Y， Ikeda Y， Nangaku M， Tsumoto K， Proposal for the model of aHUS pathogenesis caused by anti-CFH autoantibodies based on the functional analysis of novel antibodies, The 37th Annual Symposium of the Protein Society, 2023 年, 国際, 口頭

20. Sumikawa T， Nakakido M， Kuroda D， Tsumoto K， Generation of site-specific antibodies to a membrane protein by using a scaffold protein, The 37th Annual Symposium of the Protein Society, 2023 年, 国際, 口頭

21. 木下清晶、中木戸誠、黒田大祐、Jose M. M. Caaveiro、津本浩平、CDR-Grafting によるヒト化 VHH の物性機能解析に基づくヒト化 VHH 人工合成ライブラリ構築, 第 22 回 日本蛋白質科学会年会, 2022 年, 国内, 口頭

22. 淺野梨紗、中木戸誠、竹内美結、相川知宏、中川一路、津本浩平、化膿レンサ球菌由来金属結合蛋白質 MtsA に対するバイパラトピック抗体の設計と機能評価, 第 22 回 日本蛋白質科学会年会, 2022 年, 国内, 口頭

23. 横尾尚典、中木戸誠、松田恵子、柚﨑通介、津本浩平、Acquisition of novel VHH antibodies to synaptic organizers for application to molecular imaging, Neuro2022, 2022 年, 国際, 口頭

24. Kinoshita S、Nakakido M、Kuroda D、Jose M. M. Caaveiro、Tsumoto K、Molecular basis of contribution of intramolecular interactions between Complementarity Determining Region 3 (CDR3) and framework region on biophysical properties in camelid single-domain antibody, The 36th Annual Symposium of The Protein Society, 2022 年, 国際, 口頭

A02 班・竹本/宮田班

1. S. Takemoto-Kimura, Essential functions of calcium-dependent signaling in neuronal morphogenesis and neuropsychiatric disorders, Circuit Construction in the Mammalian Brain 2021, 2021 年, 国際, 口頭

2. S. Ueda, T. Fukada, M. Fujiwara, H. Bito, S. Takemoto-Kimura, PKCδ+ neurons in two central extended amygdala subnuclei differentially govern anxiety and fear, 第 44 回日本神経科学大会, 2021 年, 国内, 口頭

3. S. Takemoto-Kimura, Exploring molecular pathways involved in central amygdala-dependent control of emotional behaviors, 第 99 回日本生理学会大会, 2022 年, 国内, 口頭

4. 宮田 茂雄、込山 和毅、川端（岩川）麗香、好本 裕平、柳川 右千夫, ラット神経膠腫モデルの腫瘍周囲組織におけるてんかんに関連した遺伝子発現の変化, 日本薬学会第 142 年会, 2022 年, 国内, ポスター

5. 竹本 さやか, 扁桃体微小神経核における情動制御分子基盤の探索, 第 95 回日本生化学会大会, 2022 年, 国内, ポスター

6. S. Takemoto-Kimura, S. Ueda, Exploring the molecular and neuronal bases involved in central amygdala-dependent control of emotional behaviors, 第 96 回日本薬理学会年会, 2022 年, 国内, 口頭

7. 宮田 茂雄, ストレスにより変動するマウス脳内微量細胞外分子の網羅的探索, 第 96 回日本薬理学会年会, 2022 年, 国内, ポスター

8. M. Pan, Y. Ozawa, S. Ueda, M. Abe, K. Sakimura, S. Horigane, S. Takemoto-Kimura, Phenotypic characterization of a novel mouse model for Timothy syndrome by a behavioral assessment battery, 第 45 回日本神経科学大会, 2022 年, 国内, ポスター

9. Y. Ozawa, M. Pan, M. Abe, K. Sakimura, S. Horigane, S. Takemoto-Kimura, Development of a nervous system-specific conditional knock-in mouse strain of a gain-of-function mutation in L-type Ca2+ channel associated with Timothy syndrome, 第 45 回日本神経科学大会, 2022 年, 国内, ポスター

10. H. Murata, S. Ueda, K. Minoura, S. Horigane, S. Takemoto-Kimura, Investigation of fear conditioning-induced myelin plasticity in the amygdala, 第 45 回日本神経科学大会, 2022 年, 国内, ポスター

11. 猪狩 世玲菜、劉 晨晨、木下 祥尚、松森 信明、淺野 紘史、宮田 茂雄、上田 修平、竹本 さやか、川井 隆之, 脳分子解析のための超高感度キャピラリー電気泳動-質量分析法の開発と応用, 日本分析化学会第 71 年会, 2022 年, 国内, ポスター

12. 竹本 さやか、上田 修平, 扁桃体微小神経核における情動および社会的行動制御の分子基盤探索, 第 96 回日本生化学会大会, 2023 年, 国内, ポスター

13. 竹本 さやか、上田 修平, 扁桃体微小神経核を介した情動制御分子基盤の解明, 第 46 回日本分子生物学会年会, 2023 年, 国内, ポスター

14. 宮田 茂雄, こころの疾患“うつ病”のバイオマーカー探索～脳分子探査に期待すること～, 第 96 回日本生化学会大会, 2023 年, 国内, 口頭

1. 川井 隆之*, 超高感度・極微量分析技術が切り拓く次世代創薬研究, 徳島大学大学院医歯薬学研究部 DDS 研究センター 2024 年度 第 2 回シンポジウム, 2025 年, 国内, 口頭

2. 川井 隆之*, 超高感度キャピラリー電気泳動技術を駆使した微量バイオ分析法の開発, 日本化学会 第 104 春季年会, 2024 年, 国内, 口頭

3. 川井 隆之*, サブセルラー質量分析技術が切り拓く生体膜研究, 日本膜学会第 45 年会・膜シンポジウム 2023 合同大会, 2023 年, 国内, 口頭

4. 川井 隆之*, 超高感度 CE-MS 分析法による脳分子探査, 第 96 回日本生化学会大会, 2023 年, 国内, 口頭

5. T. Kawai*, Ultra-sensitive Bioanalysis by Dual-Stacking Capillary Electrophoresis, 19th Asia-Pacific International Symposium on Microscale Separations and Analysis 2023 (APCE 2023), 2023 年, 国際, 基調講演

6. 川井 隆之*, 微量脳内分子の網羅解析に向けた超高感度分析技術の開発, 第 96 回 日本薬理学会年会, 2022 年, 国内, 口頭

7. 川井 隆之*, 一細胞メタボロミクスへの挑戦, 第 95 回 日本生化学会大会, 2022 年, 国内, 口頭

8. 川井 隆之*, 超高感度 CE-MS 分析プラットフォームの開発と微量バイオ分析への応用, 第 42 回キャピラリー電気泳動シンポジウム, 2022 年, 国内, 口頭

9. Seiichi Ohta, Detection of Disease-related Biomarkers based on DNA-mediated Nanoparticle Assembly Technology, The 4th International Conference on Biomaterials, Bio-Design and Manufacturing, 2024 年, 国際, 口頭

10. 赤羽祐紀・中村乃理子・太田誠一, DNA 触媒反応の多色・マルチサイクル化による複数種のがん関連 miRNA の簡便定量, 化学工学会第 88 年会, 2023 年, 国内, ポスター

11. Seiichi Ohta, miRNA detection system based on DNA-mediated catalytic reaction and nanoparticle assembly, International Congress on Pure & Applied Chemistry 2022, 2022 年, 国際, 口頭

12. 中村乃理子、濵田梨渚、金子弘昌、太田誠一, バイオマーカーパネルとして miRNA を用いた悪性リンパ腫治療に対するコンパニオン診断モデルの構築, 化学工学会 第 53 回秋季大会, 2022 年, 国内, ポスター

産業財産権

出願

1. ホスホニウム基を有するカチオン性ポリマーおよびこれを含むポリマー粒子または医薬組成物、安楽泰孝、乗松純平、水野隼斗、特願 2023-066279、東京大学 (出願日:2024 年 1 月 15 日).

研究成果

A01 班(安楽)では、はやぶさ型ナノマシンを機能を分けた①脳内から血液中に戻るリエントリーナノマシンと、②脳内で構造変化し、脳分子を回収するサンプリングナノマシンの構築を検討した。まず、ナノマシンを構築するために高分子を合成した。具体的には、血液脳関門(BBB)を通過するためにグルコース分子を組み込み、脳内で開裂する官能基を持つブロック共重合体を合成した。合成した高分子を血液中と脳内環境を模倣したグルタチオン濃度の異なる溶液中で静置したところ、脳内環境に応答してブロック共重合体が分解されることを確認した。リエントリーナノマシンについて、A01 班(中木戸)は、ナノマシンの構築のため、脳内から血中へと戻って来る機能の付与のため、抗体のドメインを切り出したコンストラクトを作製した。ヒト由来 IgG1 および IgG4 の Fc 領域を切り出し(Fc1, Fc4)、哺乳細胞発現系により組換えタンパク質として発現させたところ、両者の物性に大きく差が生じ、特に IgG4 由来の Fc では凝集形成が見られ、単量体としての精製が困難であった。そこで N 末端領域にリンカーを介して Cys を導入したところ、分子内ジスルフィド結合により分子全体が安定化し、凝集形成を抑制することに成功した。中木戸が作製した種々の Fc をナノマシン表層に搭載した直径が 100 nm で分散性の高い Fc-ナノマシンを構築した。標的受容体(Fc ﾚｾﾌﾟﾀｰ)への相互作用について、組換えタンパク質として調製した FcRn との相互作用を表面プラズモン共鳴によって解析した。その結果、親和性の算出には至らなかったものの、導入数依存的に結合レスポンスが確認された。Fc1, Fc4 を導入したナノマシンを、脳脊髄液中に投与したところ、いずれも脳から血液中へのリエントリーすることを確認した。興味深いことに Fc1 と Fc4 で血液中への移行量が異なることが明らかとなった。またサンプリングナノマシンについては、高分子側鎖構造を制御することでナノマシンの構造変化速度を制御可能であることを明らかにした。また 12 種類の神経伝達物質を含んだ溶液にナノマシンを添加し構造変化したサンプルを A03 班に供給し、サンプリング能を有していることを実証した(成果は A03 班に記載)。以上、リエントリー、サンプリング能を有するナノマシンをそれぞれ確立することに成功した。

A02 班（竹本・宮田）は、生物が生存するうえで必要不可欠な生理機能である脳によって生起する情動（不安、恐怖、快楽など）に焦点を当て情動障害における分子脳病態解析を推進した。現代社会における様々なストレスが一因となり、過度な情動の亢進や消失といった情動障害が生じ、うつ病や適応障害、不安障害をはじめとする精神疾患の病態に関与するとされる。様々なストレスが取り巻く現代社会において、その患者数は増加の一途をたどり社会問題ともなっている。しかし、精神疾患の理解や治療法の確立は遅れており、その分子機序の解明が待望される。この要因として、採取・検出手法が限られ生体脳での分子レベルの研究が困難であること、診断が医師による問診に基づいて行われ客観的指標が乏しいことなどがあげられる。そこで本研究では、抑うつ状態、不安亢進などを示す病態モデルマウスを用い、情動障害の分子病態解明を目指し、病態モデルマウスの構築、脳深部イメージング法やマイクロダイアリシス法などの分子脳生物学的手法による、ストレスに伴う情動障害の病態解明を行った。さらには、高感度・非侵襲的に生体脳内の細胞外分子の変化を計測することが可能な新たな分析システムの構築を目指した。研究代表者の竹本はこれまでの研究に基づき、情動障害において重要

な役割を果たす扁桃体に注目し、扁桃体の微小亜核における分子病態および回路活動の変化の解明を推進した。更に、分担研究者の宮田、九州大学の川井と連携し、細胞外物質の変化を検出するため、マイクロダイアリシスにより採取した脳内細胞外物質の網羅解析を可能とする分析系の開発を行った。また、分担研究者の宮田は、ヒトの脳内においてうつ状態依存的に含有量が変化するとされるγ-アミノ酪酸（GABA）に着目し、遺伝子改変マウスなどうつ・不安病態モデルを使用して脳局所における細胞外 GABA 量の変化とマウス情動行動変化との関連性について追究した。その結果、情動行動異常を示す慢性ストレスモデルにおいて、扁桃体の各亜核においてまったく異なる遺伝子発現変動を見出した。更に、扁桃体脳深部における自由行動下 Ca2+イメージング実施し、扁桃体中心核の複数の細胞種を対象に、苦み物質に対する神経活動応答の計測に成功した。また、細胞外物質の変化を検出するため、分担研究者の宮田、A03 班の川井と連携し、マイクロダイアリシス法による脳内分子回収を行い、高感度液体クロマトグラフィ-質量分析技術ならびに超高感度キャピラリー電気泳動-質量分析技術によるメタボローム解析を実施し、マイクロダイアリシスにより採取した脳内細胞外物質の網羅解析を可能とする分析系の構築を行った。さらに、これらの手法を用いた解析を行う対象として、精神疾患の新規病態モデルマウスを開発し、情動（不安や恐怖など）に関する行動学的解析を行うとともに病態解明を推進した。今後、開発を進めた脳内細胞外分子採取と高感度網羅分析システムを独自に開発した病態モデルウスに適用することで、情動障害の分子病態の一端解明に繋がることが期待される。

A03 班では，A01 班でサンプリングされた脳由来物質を超高感度に計測するための分析システムの開発を行った。はやぶさ型ナノマシンは非侵襲的なサンプリングであり，細胞外成分が採取されるため，従来のオミックスのようなゲノム・トランスクリプトーム・プロテオーム解析ではなく，miRNA・分泌タンパク質・ニューロペプチド・神経伝達物質等 (低分子代謝物) などを対象とした分析法を開発し，各班との連携を通じてその性能評価を行った。A01 班との連携においては，ナノマシンによって回収された脳分子を網羅的に解析するための前処理技術・濃縮・分離・検出などの一連の分析技術開発および検証を推進した。実際に A01 班で開発されたサンプリング型ナノマシンによって回収された脳分子をキャピラリー電気泳動-質量分析 (CE-MS) で計測したところ，十分な感度で脳分子が高い回収率 (概ね 50%以上) で回収されていることを確認できた。A02 班との連携においては，主に脳脊髄液やマウス生体脳からマイクロダイアリシス (MD) 法で採取した微量試料を対象に，次世代シーケンサーを利用した miRNA オームや超高感度 CE-MS を用いたメタボローム解析等を実施した。miRNA オームでは MD で得られた試料に含まれる miRNA プロファイルから特徴的な分子を抽出することに成功した。またメタボローム分析では，新たなメカニズムを組み込んだ改良版二重濃縮法を開発することで，分離性能を損なうことなく高塩濃度試料中の脳分子を最大 4000 倍高感度に計測可能なシステムを構築し，脳内分子の経時変化を定量的に計測することに成功した。一分子解析では，自家蛍光を有する夾雑分子と標的分子を電気泳動で分離して一分子ずつバックグラウンド成分と見分けてカウント可能な体制を構築し，実用感度として数分子の検出下限を実現した。また，DNA 触媒反応を用いた miRNA 由来の蛍光シグナル増幅や，蛍光ナノ粒子の集積化を用いたタンパク質由来の蛍光シグナル増幅など，

微量の分子を化学的なシグナル増幅によって高感度検出する系を構築することもできた。今後これらの技術を用いて分泌タンパク質等を対象とした脳分子計測を実践していく予定である。

提出について

ア 研究成果報告書（研究領域）の提出にあたっては、PDFファイルを日本学術振興会に提出すること。

イ 上記ファイルの名前については「領域番号_kenkyu_seika_hokoku_ja.pdf」とすること。

例）領域番号1111の場合、「1111_kenkyu_seika_hokoku_ja.pdf」

ウ 研究成果を社会・国民に説明するものであるため、原則欧文等での記入は避けること。