

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 6 年 6 月 25 日現在

機関番号：12608

研究種目：学術変革領域研究(B)

研究期間：2021～2023

課題番号：21H05089

研究課題名（和文）革新的ナノテクノロジーによる脳分子探査

研究課題名（英文）Innovative nanotechnology for probing molecular landscapes in the brain

研究代表者

安楽 泰孝（Anraku, Yasutaka）

東京工業大学・物質理工学院・准教授

研究者番号：60581585

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,200,000円

研究成果の概要（和文）：領域のtwitter・ウェブサイトを開設し、研究者コミュニティのみならず、一般に向けた領域の紹介や研究成果について紹介する場を構築した。研究進捗状況の共有を目的とした領域会議を年2回実施し、研究が順調に進捗していることを確認した。また各研究領域に関する情報共有を目的とする領域内勉強会を実施した。オンラインセミナーと題して、今後融合が可能な分野の研究者を招待し、公開でセミナーを実施し、今後の領域との融合について議論した。また本研究領域の柱の一つとしているアウトリーチ活動について、領域代表の安楽が各種メディアに出演し、番組内で本領域での研究活動についてコメントし、一般の方からの高い関心を集めた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本領域の特徴として、専門性の異なる3つの計画研究班(A01 脳探査ナノマシン、A02 分子脳病態、A03 極限検出)から形成され、分野を超えた研究基盤の構築を目的としている点にある。本領域においては、個人の専門領域をつくり籠もりながら他分野を伺うというのではなく、異分野に積極的に踏み込み様々な学問分野を融合し、新たな脳内分子情報科学研究を提案できるような環境を調整した。越境する好奇心を与えるのではなく、積極的に引き出すようにファシリテートすることで円滑な組織運営を実施した。近年の最先端科学領域は、複数の異なる分野間での連携は必須であり、枠組み体制を形成する上で良い模範になったと自負している。

研究成果の概要（英文）：We launched a Twitter account and website for the field to introduce the field and its research achievements not only to the research community but also to the general public. We held field meetings twice a year to share the research progress and to confirm that the research was progressing smoothly. Additionally, we held study sessions within the field to share information related to each research area. We invited researchers from fields with potential for future integration to our "Online seminars", conducted public seminars, and discussed future integration with our field. Furthermore, as part of our field's outreach activities, the field representative, Anraku, appeared on various media platforms, commented on the research activities within this field, and garnered high interest from the general public.

研究分野：バイオマテリアル

キーワード：脳分子探査 脳 ナノマシン はやぶさ型ナノマシン 抗体 情動性疾患 超高感度検出

様式 C-19、F-19-1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

分子生理学的観点から「脳」という臓器を考えると、核磁気共鳴機能造影画像法の技術革新などもあり、脳血流動態の可視化などの「マクロな機能解析」が可能となり、脳機能変化という視点から中枢神経系(CNS)疾患の理解が進んできた。一方で、CNS 疾患に直接的に関与している脳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る。例えば CNS 疾患の一つであるうつ病の病態生理はいまだに未解明なことが多く、客観的な診断基準も存在しない。これは、ヒト脳は生検できないことに加え、採取が容易な血液へは脳分子が移行しにくいために、ヒト生体脳における分子動態をモニタリングする技術が無いことが原因である。動物実験では、透析プローブを外科的に脳局所へ挿入し分子を回収する微小透析膜(MD)法が確立されているが、生体脳に損傷を与えてしまうことに加え、回収可能な分子に制限があるため、ヒトへの応用は倫理的にも技術的にも極めて限定的である。すなわち「非侵襲的な手法によって生体脳から脳分子を回収し、血液中に分子情報を持ち帰り、その情報を網羅的に解析する」方法論の確立は、分子情報に基づいた脳機能・疾患に関する理解を深め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。

ここで「非侵襲的」に脳内に到達するルートとして、血液中から脳内に移行する方法が一般的であるが、脳は血管内皮細胞同士が強固に接着することによって形成される血液脳関門(BBB)によって、血管内腔から脳実質への物質輸送が著しく制限されている。そのため脳への薬剤送達研究において、十分量の薬剤を脳内に送達できない事が大きな課題とされてきた。そうした中で、領域代表者 安楽は、BBB を既存技術と比べて 100 倍効率的に通過する高分子集合体(ナノマシン)を構築し、核酸医薬・抗体医薬を脳内に送達し機能させることに成功している。

そこで本システムを要素技術とし、高分子化学、材料科学、分子生物学観点からさらに洗練し、薬剤を疾患部位に送り届ける従来の薬剤送達システム(DDS)研究ではなく、既存技術では着想もしない「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(図 1)、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『脳分子探査』領域を創成することを着想した。本領域研究により、脳分子情報に基づく脳機能・疾患の理解という観点から新たな学術的変革・転換をもたらす可能性が高く、国際的にも大きくリードする、新たな研究領域を切り拓いていくことが期待される。

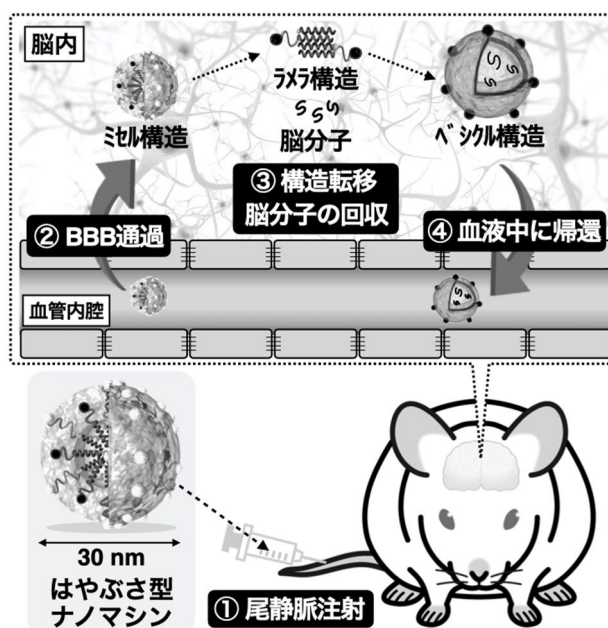


図 1. はやぶさ型ナノマシンの概念図

2. 研究の目的

脳分子探査領域の創成に貢献するために、総括班が果たす主な役割は、「連携研究の推進」及び「研究成果の社会発信」である。「連携研究の推進」は、本領域で策定した「脳分子を非侵襲的に回収・検出、脳機能・疾患を理解」というミッション推進に必須である。専門性の異なる3つの計画研究班(A01 脳探査ナノマシン設計、A02 分子脳病態、A03 極限検出)に配された班員間のダイナミックな連携により推進されることで、分野を超えた研究基盤を構築する。その際、個々の連携が研究基盤の構築につながっていることを総括班は常にチェックする。また勉強会を開催し、脳分子探査に関連した知識の班員間での共有を促すと共に、得られた研究成果をもとに新たな連携を積極的にコーディネートする。また「研究成果の社会発信」は、本研究開始と同時に Web サイトを立ち上げ、本領域の狙いや意義について紹介する。顕著な研究成果の学術論文への掲載、それに伴う大学広報を通じたプレスリリースはもちろん、各学会とのシンポジウム共催を通じて、研究成果を国内外に広く発信する。さらに各種イベント等を活用して、本研究領域に関する中学生・高校生向けの講習会を開催することを目的とする。

領域代表を先頭にした全班員が、新しい研究領域である「脳分子探査」を創成するという気概をもち、この領域のパイオニアでありトッランナーになるという意気込みを持って領域推進に挑む。本領域は、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新進気鋭の研究者から形成される。科学の歴史を紐解くと、異分野間での連携は技術革新を生み出し、未知なる現象の発見につながってきた。本領域においても、異分野に積極的に踏み込み様々な学

問分野を融合する「越境する好奇心」を重要視し、新たな脳分子探査研究を提案できるような環境を調整する。

連携体制としては、領域内研究者の智を共有し、「脳分子探査」研究を進展させる環境を総括班が図2に示す体制・役割で整備し、新たな学術分野の創成を活性化させる。また研究計画班は、「A01 脳探査ナノマシン班」の材料工学、抗体工学に基づいた高水準の要素技術、「A02 分子脳病態班」の基礎医学・生物学的技術、「A03 極限検出班」の世界最高水準の高感度分析技術を、総括班が先導して戦略的かつ有機的に組み合わせることで、既成概念にはとらわれない新たな学術分野・研究領域を創成する。

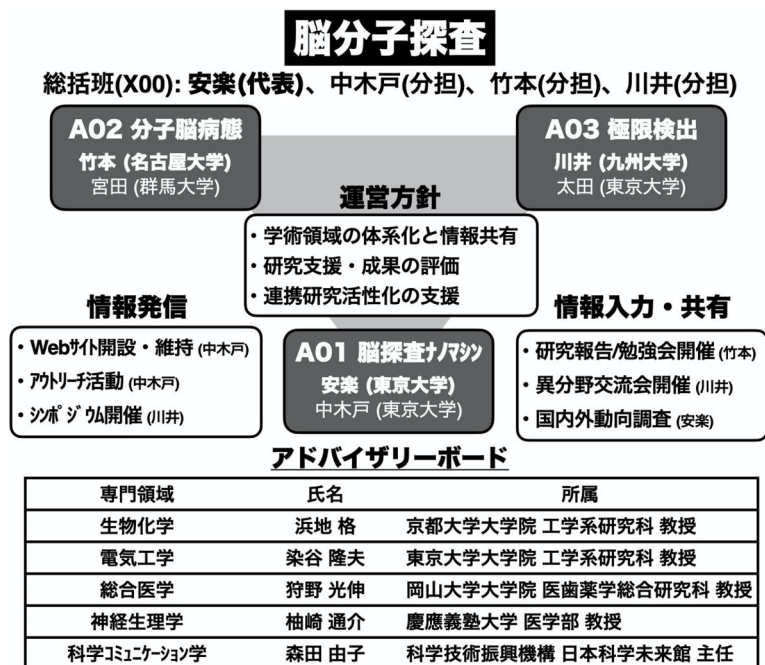


図2. 脳分子探査 研究領域全体の組織体制図

3. 研究の方法

A01 脳探査ナノマシン班:

BBB 通過型ナノマシンを基盤技術とし、高分子化学、材料科学、タンパク質工学的観点からさらに洗練し、従来の薬剤を疾患部位に送り届ける DDS ではなく、既存技術では着想もしない「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』の構築を試みた。また脳分子と脳機能・疾患との関連を精査する「A02 分子脳病態班」と、独自の高感度分析技術を駆使したマルチオミックス解析により微量の脳内成分の同定を行う「A03 極限検出班」と綿密に連携し、「脳分子探査」の研究基盤構築に貢献する。

A02 分子脳病態班:

情動障害を示すうつ病のモデルマウス脳内よりマイクロダイアリシスによって回収された細胞外液性因子の変化を、行動学的評価と並行して明らかとし、情動障害に関わる細胞外分子変化をとらえる。「A03 極限検出班」と共同で取り組むことで、従来法では検出が困難であった、微量かつ幅広い分子種(神経伝達物質、神経ペプチド、核酸、代謝産物など)の継時的網羅解析を実現し、未だ不明点の多いうつ病態仮説の包括的な理解を試みた。更に得られる研究成果を基盤として「A01 脳探査ナノマシン班」と共同ではやぶさ型ナノマシンの機能実証を行い、本領域の共通目標である「脳分子探査」に基づく脳機能・疾患の理解に貢献する。

A03 極限検出班:

超高感度キャピラリー電気泳動-質量分析(CE-MS)技術・ナノ材料化学に基づく信号増幅技術などの独自分析技術を融合することで、微量脳内成分を最小で一分子から精密解析できる「極限検出システム」を開発する。また「A01 脳探査ナノマシン班」と連携し、ナノマシンの生体分子捕捉特性の解析およびフィードバックを実施し、高い採取効率のナノマシン開発を支援する。「A02 分子脳病態班」との連携では、うつ病モデルマウスの微量脳試料を対象に、マルチオミックス解析を実施することで、分子病態の理解を支援する。これにより「脳分子探査」のための研究基盤構築と脳機能・疾患の理解に貢献する。

X00 総括班:

「脳分子探査」領域の研究を進展させるのに注力しつつ、それが滞らない範囲内で、積極的にアウトリーチ活動など、本領域へのパブリックアクセプタンスの醸成に取り組んでゆく。本領域創成に総括班が果たす主な役割は、「連携研究の推進」及び「研究成果の社会発信」である。「連携研究の推進」は、本領域で策定した「脳分子を非侵襲的に回収・検出し、脳機能・疾患を理解」

というミッション推進に必須である。専門性の異なる 3 つの計画研究班に配された班員間のダイナミックな連携により推進されることで、分野を超えた研究基盤を構築する。その際、個々の連携が研究基盤の構築につながっていることを総括班は常に確認する。また勉強会を開催し、脳分子探査に関連した知識を班員間で共有を促すと共に、得られた研究成果をもとに新たな連携を積極的にコーディネートする。また「研究成果の社会発信」は、本研究開始と同時に Web サイトを立ち上げ、本領域の狙いや意義について紹介する。顕著な研究成果の学術論文への掲載、それに伴う大学広報を通じたプレスリリースはもちろんのこと、各学会とのシンポジウム共催を通じて、研究成果を国内外に広く発信する。

4. 研究成果

A01 脳探査ナノマシン班:

A01 班では、BBB 通過型ナノマシン内に、脳内分子を回収(サンプリング)、血液中に脳内分子情報を持ち帰る(リエントリー)といった異なる機能を適材適所に組み込んだ「はやぶさ型ナノマシン」の構築を目指した。それぞれの要素技術がこれまでに報告例のないチャレンジングな機能であるが故に、それぞれの機能を分割して、サンプリング型ナノマシン、リエントリー型ナノマシンをそれぞれ単独で構築した。まずそれぞれのナノマシンに必要な機構を組み込んだ新規ブロック共重合体を合成することに成功した。その中でもリエントリー型ナノマシン用に合成したブロック共重合体については、mRNA と混合することで、生体内で安定な高分子ミセルを構築することにも成功した¹。また上記で合成した高分子を用いて、サンプリング型ナノマシンを構築したところ、血液中を模倣した環境では直径 30 nm の高分子ミセル状のナノマシンへと構造変化することを確認した。また A03 グループより供給された 12 種類の神経伝達物質が含まれる標品を用いてサンプリング評価を行ったところ 11 種類の化合物が封入されていることを確認した。またリエントリー型ナノマシンについては、まずナノマシン表層に搭載する Fc の改変を行った。抗体工学により、ヒト IgG1 および IgG4 由来の Fc 領域のみを切り出したコンストラクトを作製し、哺乳細胞発現系によって組換えタンパク質として調製したところ、特に IgG4 由来の Fc において凝集体の形成が確認された。そこで、Fc コンストラクトの N 末端領域に Cys を導入して末端を安定化することにより、凝集体の形成を抑制することに成功した。また Fc をクリック反応で修飾したナノマシン(Fc-ナノマシン)を脳室中に投与し、血液中へのリエントリー能を評価した結果、Fc-ナノマシンは投与 15 分後から血液中への移行が確認された。加えて、Fc-ナノマシンは血液中に移行後も高い血中循環性を示すことも明らかとなった。

A02 分子脳病態班:

A02 班では、情動障害の脳内分子病態の解明を目指した。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、情動の変容を示す慢性ストレスモデルにおいてその中枢である扁桃体の各神経核のトランスクリプトーム解析を実施した(Ueda et al. 投稿準備中)。この際に、遺伝子改変マウスを用いて、各微小神経核を蛍光標識により分離し微小神経核間の差異を比較可能な方法を用いた。更に、扁桃体におけるリアルタイムでの神経活動変化を計測するために、*in vivo* カルシウムイメージング法を確立した。この方法を用いて、扁桃体中心核の複数の細胞種を対象に、どのような刺激に応答するのか検討する中で、味覚刺激を与えた際に、活動変化を示す細胞種を見出した。また、分担研究者の宮田、A03 班の川井らと連携し、細胞外物質(代謝物)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。竹本・宮田は、摂食中のマウス側坐核や前頭前皮質においてマイクロダイアリシスによる脳内物質の採取を行い、川井にサンプルを提供し、超高感度質量分析技術による神経伝達物質の網羅解析を実施した。その結果、特殊な前処理を行うことなく、複数の神経伝達物質について、脱分極刺激による上昇の検出に成功し、その感度は液体クロマトグラフィ-質量分析技術よりも高い可能性が示唆された。また、脳内微小環境での代謝物分析に関連し、脳腫瘍ラットモデルを用いて脳腫瘍周囲領域では GABA 神経細胞数の減少が引き起こされている可能性を見出した。さらに、新規に、情動障害を示す神経発達症の病態モデルマウスの開発に成功した。今後、高感度網羅分析システムを独自に開発した病態モデルマ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 極限検出班:

A03 班では、A01 班で開発されるナノマシンや、A02 班で実施されるマイクロダイアリシス(MD) 法によって回収された微量の脳内生体分子を網羅的に解析するための超高感度 CE-MS 分析法および miRNA 分析法を開発した。CE-MS 分析では、親水性試料向けの新規オンライン試料濃縮法および、疎水性試料向けの新規オンライン試料濃縮法の 2 つの濃縮法を開発した。これにより、脳脊髄液のような高塩濃度試料であっても生体分子を約 500 倍濃縮でき、実際に A02 班から提供された脳脊髄液やマイクロダイアリシス試料から GABA やグルタミン酸などの脳内分

子 10 種類以上を高感度に検出して経時変化を追跡できることを確認した⁴。同様に A01 班で開発された回収型ナノマシンを用いて神経伝達物質 12 種類を含むサンプルを採取し、回収前後の試料を解析したところ、回収前後でほとんど組成に差が無いバイアスフリーな回収を確認した。回収率は 47-101% と計算され、実際の脳分子採取の際にも試料をロスせずに微量の分子を回収して解析できると期待される。

X00 総括班:

X00 総括班では、領域内研究者の専門分野である工・医薬・化学の智を共有し、「脳分子探査」研究を発展させることができる連携環境を整備し、新たな学術分野の創成を活性化することを目的としている。「領域の狙いや意義の発信」や「班員の意識共有」を主な目的として、下記の特筆すべき成果を得た。

- 1) 領域の twitter (https://x.com/hayabusa_brain) と領域ウェブサイト (<https://hayabusa-brain.org>) を開設し、研究者コミュニティのみならず、一般に向けた領域の紹介や研究成果について紹介する場を構築し、積極的に発信を行なった。
- 2) 2021 年 12 月 1 日に領域キックオフシンポジウムを行い(オンライン開催)、総勢 50 名(オブザーバー、学術審査官を含む)を超える参加者を迎え、本領域の狙いや意義について情報を発信した。
- 3) 研究進捗状況の共有を目的とした領域会議を年 2 回(オンライン、対面)実施し、研究が順調に進捗していることを確認した。また当該領域は研究分野の異なる研究から形成されるために、各研究領域に関する情報共有を目的とする領域内勉強会(6 回)を実施した。
- 4) オンラインセミナーと題して、本領域と今後融合が可能な分野の研究者を招待し、公開でセミナーを実施し(3 回)、セミナー後に今後の領域との融合について議論した。
- 5) 本研究領域の柱の一つとしているアウトリーチ活動について、領域代表の安楽が NHK 「サイエンス ZERO 極小マシンがあなたを救う!?薬を届けるナノマシン最前線」、NHK BS1 「認知症に挑む～研究から見た 4 つの希望～」に出演し、番組内で本領域での研究活動についてコメントし、一般の方からの高い関心を集めた。
- 6) 複数の学術変革領域(B)の生命科学系領域と合同でシンポジウム(BioneX 生命科学の変革, 3 領域横断小規模研究会)を実施した。それぞれの領域の紹介とそれを基に幅広い分野に支えられる生命科学を多角的に理解する機会を設けた。



<引用文献>

1. 安楽泰孝、乗松純平、水野隼斗、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、PCT/JP2024/013965、2024 年 4 月 4 日
2. 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, *Molecular Brain* 16, 28 (2023).
3. 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.* 12, 6805 (2022).
4. S. Koganemaru, T. Kawai, 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, *British Journal of Pharmacology* 180, 762–774 (2023).

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

脳分子探査 ウェブサイト https://hayabusa-brain.org 脳分子探査 twitter https://twitter.com/Hayabusa_brain 脳分子探査 ウェブサイト https://hayabusa-brain.org 脳分子探査 twitter https://twitter.com/Hayabusa_brain
--

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	川井 隆之 (Kawai Takayuki) (60738962)	九州大学・理学研究院・准教授 (17102)	
研究分担者	竹本 さやか(木村さやか) (Takemoto-Kimura Sayaka) (70372365)	名古屋大学・環境医学研究所・教授 (13901)	
研究分担者	中木戸 誠 (Nakakido Makoto) (80784511)	東京大学・大学院工学系研究科(工学部)・講師 (12601)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------