

令和 4 年 6 月 7 日現在

機関番号：32622

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2018～2021

課題番号：18K19413

研究課題名（和文）『痛みを診る』低リスク神経診断プローブの開発

研究課題名（英文）New nanoparticle for neurodiagnosis of "diagnosing pain"

研究代表者

村山 周平（MURAYAMA, SHUHEI）

昭和大学・薬学部・講師

研究者番号：50549649

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,900,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、ゲルの網目構造を用いて、重金属を含む錯体を、生体内環境から隔離し保護した状態で造影剤として用い、早く、確実に、生体内から安全な形のままで造影剤を排出するという二段構えのアプローチによって、毒性の低い腎排泄性ナノ粒子神経診断プローブプラットフォームの開発とそれを用いた疼痛の評価を目指して、実際に、毒性を抑えたナノ粒子の試作品を作り、実際にラットの神経の低侵襲な造影に成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

現在、病院などのMRIで生体内を観察するために用いられている薬は、重金属由来のものであり、毒性の高い物が用いられている。高齢化社会が進む近い将来、大きな問題になる慢性疼痛について、観察する手段としてそのような薬を繰り返し用いると、歩行できなくなる位の酷い腫れなどが起こるとラットでの実験結果から予想され、用いることは好ましくないが、ナノ粒子を用いて改良することで、そのような問題が解決できる。

研究成果の概要（英文）：In this study, using the mesh structure of nanogel, a complex containing heavy metals is used as a contrast agent in a state of being isolated and protected from the in-vivo environment, and the contrast medium is quickly and surely used in a safe form from the in-vivo. With a two-step approach of excretion, we actually made a prototype of nanogel with reduced toxicity with the aim of developing a low-toxicity renal excretory nanogel neurodiagnosis probe platform and evaluating pain using it. In fact, we succeeded in minimally invasive imaging of rat nerves.

研究分野：分析化学

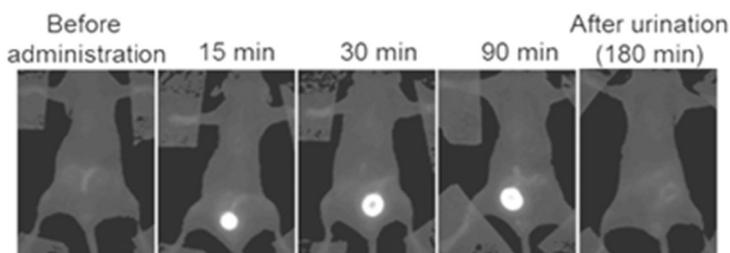
キーワード：分析科学 ナノ粒子 DDS

1. 研究開始当初の背景

高齢化社会の進行に伴って腰痛、膝痛などの運動器疼痛疾患が急増している。『慢性的な痛み』=炎症、は運動能力・意欲を大幅に減退させ、社会的な生産性の低下と、個々人の生活の質の低下原因になる。日米欧における疼痛薬の2014年度の市場規模は約2兆円とそれだけでも巨額ではあるが、慢性的な痛みによる就労困難等まで含めた社会的損失はその何十倍にも上ると推定されるなど、疼痛は医療費問題にとどまらない21世紀における新たな社会的な課題であり、『痛み』の機構解明と、治療法の確立が求められており、その解決へ向けた第一歩として、痛みの可視化=炎症反応時の神経の観察法が希求されている。

現在の疼痛の観察は、動物モデルを用いた免疫組織学的手法に基づくものであり、ヒトに対して非侵襲的に、痛みの強度を含めて詳細に疼痛を観測・評価することは困難である。生体内を観察する手段として、MRIはその高い分解能から医療分野で広く用いられている。しかし現在造影剤として用いられるキレート化合物からの金属イオン漏出による非常に強い毒性が知られ始めていること、つまり実質的には毒であるともいえるので、低リスクの造影剤の開発が渴望されている。これらの造影剤の侵襲性は、生体内を長期間循環する間に、金属イオンがキレートから外れることで生じている。

ナノ粒子ゲルは生体内に投与後速やかに腎排泄されると言う性質から安全な多機能素材として期待され、それを用いて造影剤の安全性を高めて、疼痛の可視化を達成することが期待できた。(右図)

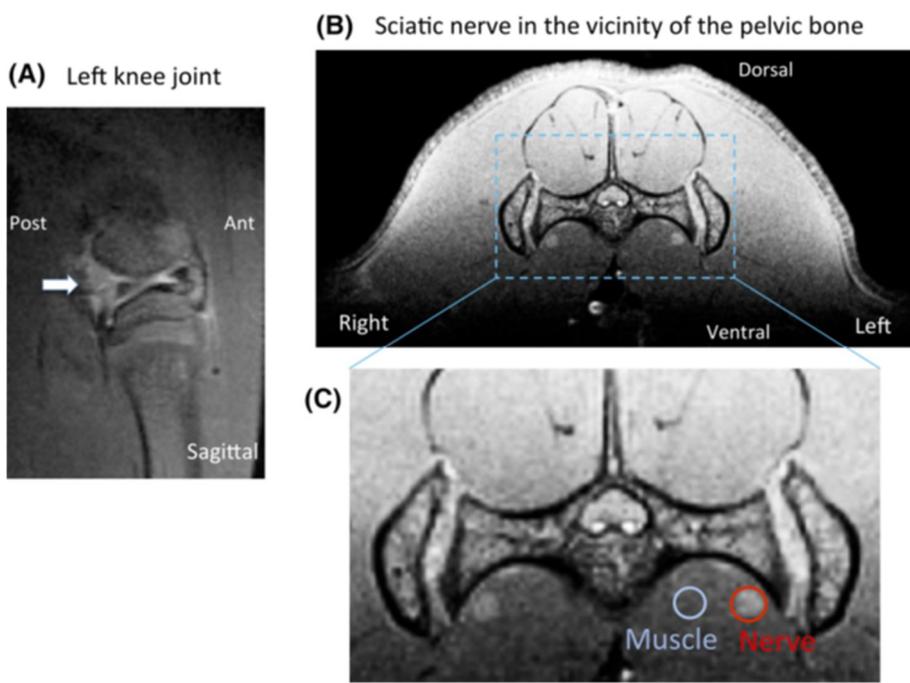


2. 研究の目的

本研究では、非常に強い保持能を有する新規金属錯体を用いて、ゲルの網目構造に結合させ、生体内環境から隔離し保護した状態で造影剤として用い、早く、確実に、生体内から安全な形のままで造影剤を排出するという二段構えのアプローチによって、毒性の低い腎排泄性ナノ粒子神経診断プローブプラットフォームの開発とそれを用いた疼痛の評価を目指す。本粒子は、神経造影剤として痛みを評価するだけでなく、新たなDDSのプラットフォームとなり得る。

3. 研究の方法

X字型のPEGベースのナノ粒子ゲルは、ゲルを構成する網目構造により、物理的に各種機能性高分子を内包することが可能な腎排泄性の粒子であり、過去には高分子MRI造影剤を内包しMRI造影を達成している。また、NMRによるとナノ粒子ゲルはX字材料の4腕の内の2~3本の腕が網目形成に関与しており、残りの1~2本の腕に蛍光性の材料を結合させてゲルに蛍光性を付与することにも成功している。また粒子を構成する材料を変更することで、より漏出の少ない網目構造にすることも可能である。(右図)



4. 研究成果

本研究では、ゲルの網目構造を用いて、重金属を含む錯体を、生体内環境から隔離し保護した状態で造影剤として用い、早く、確実に、生体内から安全な形のままで造影剤を排出するという

二段構えのアプローチによって、毒性の低い腎排泄性ナノ粒子神経診断プローブプラットフォームの開発とそ

(A) Control



Administered side

(B) Dex-Mn Gel



Administered side

(C) MnCl₂

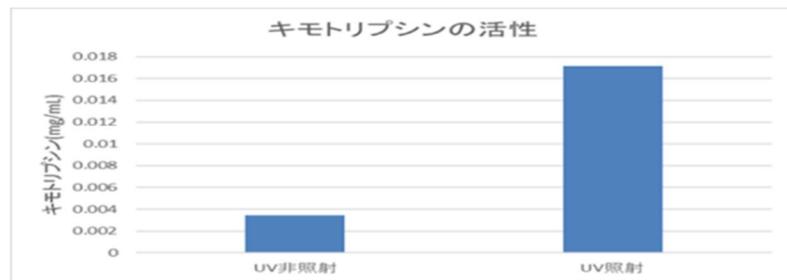


Administered side

れを用いた疼痛の評価を目指して、実際に、毒性を抑えたナノ粒子の試作品を作り、ラットの神経の低侵襲な造影に成功した。(図)

また MRI は造影剤中の重金属イオンと、系に含まれる水分子のインタラクションで撮像されるものであることから、網目構造を通して水分子が自由に入出入りすることも示唆されている。一方で、そもそも MRI 造影による侵襲は、重金属イオンを含む錯体と言う低分子を用いて、それが生体内で悪さを働く事が原因であり、既存のゲルによる隔離で、低減という一定の成果を上げたが、ごく一部のゲルからの錯体の漏出による侵襲性も残っていた。また、造影だけでは見るだけなので、疾患の治療に向けて各種生理活性物質の送達も必要であることから、より漏出が少なく安定性の高いナノ粒子の開発が必要であった。そこで、そのようなナノ粒子からの生理活性物質の漏出を抑える

べく、ゲルの網目構造を工夫した結果、内包する分子量の小さいタンパク質の漏出を、既存の物と比較して大幅に抑えた新しいタイプのゲルの開発に成功したなど(右図)網目構造を細かくすることで、漏出を抑え、毒



性の高い MRI 造影剤について、安定に生体を見るための道具として使用する道筋を開いた。

また、水分子のような極小の低分子を通すと言う新たな知見を生かして、造影剤では疾患の治療できないが、酵素等の機能性分子を内包することで、例えば、過酸化水素等の低分子を分解するようなナノ粒子として、抗酸化ストレス性能をもつ粒子とするような展開も期待できる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Okubo Kyohei, Takeda Ryuta, Murayama Shuhei, Umezawa Masakazu, Kamimura Masao, Osada Kensuke, Aoki Ichio, Soga Kohei	4. 巻 22
2. 論文標題 Size-controlled bimodal in vivo nanoprobes as near-infrared phosphors and positive contrast agents for magnetic resonance imaging	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Science and Technology of Advanced Materials	6. 最初と最後の頁 160 ~ 172
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/14686996.2021.1887712	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Eguchi Yawara, Murayama Shuhei, Kanamoto Hirohito, Abe Koki, Miyagi Masayuki, Takahashi Kazuhisa, Ohtori Seiji, Aoki Ichio	4. 巻 2
2. 論文標題 Minimally invasive manganese enhanced magnetic resonance imaging for the sciatic nerve tract tracing used intra articularly administrated dextran?manganese encapsulated nanogels	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 JOR SPINE	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jsp2.1059	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Murayama Shuhei, Karasawa Koji, Kato Masaru	4. 巻 31
2. 論文標題 Photodegradable Nanoparticles for Functional Analysis of Intracellular Protein	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Photopolymer Science and Technology	6. 最初と最後の頁 71 ~ 74
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2494/photopolymer.31.71	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Araki Takeru, Fuchi Yasufumi, Murayama Shuhei, Shiraishi Ryoma, Oyama Tokimi, Aso Mariko, Aoki Ichio, Kobayashi Shigeki, Yamada Ken-ichi, Karasawa Satoru	4. 巻 8
2. 論文標題 Fluorescence Tumor-Imaging Using a Thermo-Responsive Molecule with an Emissive Aminoquinoline Derivative	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Nanomaterials	6. 最初と最後の頁 782 ~ 782
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/nano8100782	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Watanabe Ayako, Karasawa Koji, Murayama Shuhei, Sano Yoshihiro, Takagi Mio, Yamamoto Eiichi, Murata Shigeo, Kato Masaru	4. 巻 1564
2. 論文標題 Enrichment of liposomal nanomedicines using monolithic solid phase extraction discs following preactivation with bivalent metal ion solutions	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Chromatography A	6. 最初と最後の頁 224 ~ 227
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.chroma.2018.06.011	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Morishita Kosuke, Ueki Shoji, Fuchi Yasufumi, Murayama Shuhei, Kaneko Tomoyo, Narita Nozomi, Kobayashi Shigeki, Hirai Go, Aoki Ichio, Karasawa Satoru	4. 巻 1
2. 論文標題 Self-Assembled Biradical Ureabenzene Nanoparticles for Magnetic Resonance Imaging	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 ACS Applied Nano Materials	6. 最初と最後の頁 6967 ~ 6975
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acsnm.8b01774	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

[学会発表] 計8件(うち招待講演 0件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 村山 周平、山崎 詩乃、唐沢 浩二、加藤 大
2. 発表標題 光応答性ナノ粒子による機能性分子放出量の精密制御法
3. 学会等名 第80回分析化学討論会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 出川朱花 村山周平 加藤大
2. 発表標題 ナノ粒子を用いてタンパク質を精密に機能させる方法
3. 学会等名 新アミノ酸分析研究会第10回学術講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 村山周平、河野典秋、佐々木彩香、出川朱花、唐沢浩二、加藤大
2. 発表標題 光応答性ナノ粒子による細胞内タンパク質の『数量』制御法開発
3. 学会等名 バイオメディカル分析科学シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 村山周平、河野典秋、佐々木彩香、出川朱花、唐沢浩二、加藤大
2. 発表標題 光応答性ナノ粒子によるタンパク質放出量の精密制御法開発
3. 学会等名 新アミノ酸分析研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 村山周平
2. 発表標題 細胞内分析に向けた ソフトナノ粒子プローブ
3. 学会等名 第11回NanoBio若手ネットワーキングシンポジウム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 村山周平、小林修輔、竹内涼、小倉麻美、茂野由佳、山崎詩乃、唐沢浩二、加藤大
2. 発表標題 ミトコンドリアへ送達される ナノ粒子の開発 ~細胞内のナノ粒子の行き先を制御する~
3. 学会等名 BMAS2018
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 佐々木 彩香, 村山 周平, 唐沢 浩二, 加藤 大
2. 発表標題 ゲルの網目構造が内包した生理活性物質の放出に与える影響
3. 学会等名 日本薬学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 河野 典秋, 村山 周平, 唐沢 浩二, 加藤 大
2. 発表標題 光を利用した細胞内タンパク質の『量的調節』と細胞の機能制御
3. 学会等名 日本薬学会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------