

令和5年度 創薬基盤推進研究事業 研究開発課題
中間報告書

研究開発課題名	イメージング質量分析による動態評価技術の新規モダリティ薬剤への適応展開	
代表機関名	国立大学法人浜松医科大学	
研究開発代表者	所属 役職	国際マスイメージングセンター センター長 医学部細胞分子解剖学講座 教授
	氏名	瀬藤 光利
全研究開発期間	令和3年11月30日 ~ 令和8年3月31日 (予定)	

研究開発成果概要：

本研究開発では、新規モダリティのイメージング技術、大型試料測定、定量的イメージング質量分析、シーズ連携、を研究開発のマイルストーンとして設定し、小型動物全身と大型動物臓器のイメージング質量分析を従来の低分子から中分子領域にモダリティを広げることによって次世代の動態評価プラットフォームの構築を目指している。

新規モダリティのイメージング技術では、中分子イメージングのための準備としてイメージング質量分析に使用可能な独自微細加工のエミッターチップを開発した。不安定な内因性カンナビノイドである2-AGとその代謝産物をイメージングする技術を確認し、ストレスに応答した2-AGの分布変化を評価する測定系を構築した (図1A: Islam A et al., BBRC, 2022; 図1B: Zhai Q et al., Cells, 2023)。薬物動

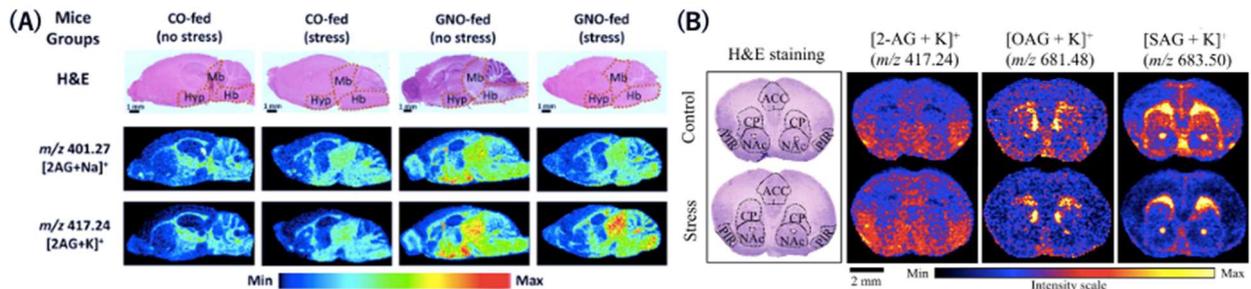


図1 2-AGのイメージング質量分析 (A) 水浸ストレスとグリーンナッツオイル(GNO)による視床下部(Hyp)、中脳(Mb)、後脳(Hb)での2-AG増加 (Islam A et al., BBRC, 2022)。 (B) 拘束ストレスによる前帯状皮質(ACC)、側坐核(NAc)、線条体(CP)、嗅皮質(PIR)での2-AGおよびその代謝産物(OAG、SAG)の増減 (Zhai Q et al., Cells, 2023)。

態で利用されることが多いトリプル四重極型質量分析(QqQ)のDESIの高度化として、試料台および測定条件の調整により、従来よりも10倍以上の高速化と5倍以上の高空間解像度化を実現した。中分子イメージングの成果として、環状ペプチド、ペプチドホルモン、糖鎖のイメージング技術を確認した。汎用的な薬物動態解析技術開発の一環として、イミプラミン、クロロキン、アセトアミノフェンといった低分子薬物とその代謝物を大気圧MALDI型イメージング質量分析でイメージングする技術を確認した (図2: Islam A et

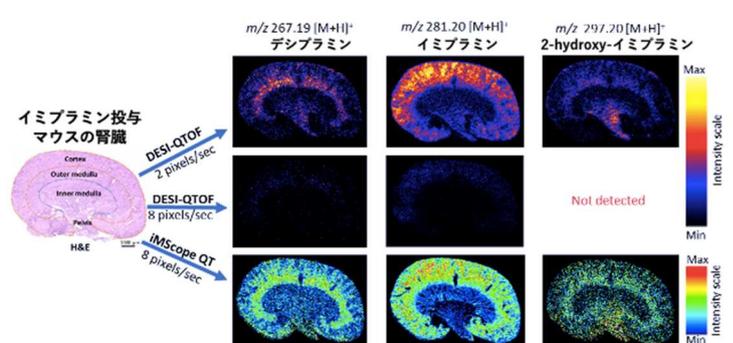
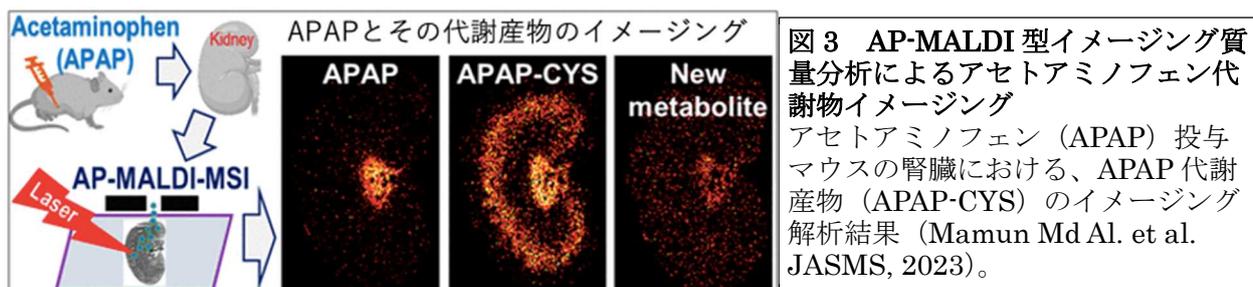


図2 AP-MALDI型イメージング質量分析によるイミプラミンの高速測定
イミプラミンを投与したマウスの腎臓における、イミプラミンとその代謝産物のイメージング解析結果 (Islam A et al. Pharmaceuticals, 2022)。



al. Pharmaceuticals, 2022; 図3: Mamun Md Al. et al. JASMS, 2023)。薬物動態解析に資するイメージング質量分析技術の高度化を進めた結果、生体内で脱水素酵素の補酵素として機能するニコチンアミドジヌクレオチドとその代謝産物のイメージング (Chi DH et al. ATVB, 2022)、神経伝達物質であるグルタミン酸の誘導体化イメージング Ping Y et al. Biomolecules, 2023)、テープストリッピングのイメージングによるヒト皮膚表面分析 (Wallullah ASM et al. Medical Mass Spectrometry, 2023)、数理解析を用いたイメージング質量分析 (Xu L et al. PLoS One, 2023)、TOF-SIMS を用いた1細胞における脂肪酸イメージング (Zhang C et al. Microscopy (Oxf), 2022; Zhang C et al. Cells, 2022)、NAD 代謝物であるニコチンアミドモノヌクレオチド (NMN) の QqQ を用いたハイスループット質量分析 (Yan J et al. Molecules, 2022)、生体試料からの Coenzyme Q10 の同定と眼球におけるイメージング (Mamun MA et al. Sci Rep, 2022)、の要素技術を確立した。医療分野の進展として、外科医グループと共同で、肺がんにおけるカルジオリピンとトリグリセリド (Yamashita T et al. SciRep, 2023)、胆管がんにおける胆汁エクソソーム由来のフォスファチジルコリン含有量が、将来の診断基準に寄与し得ること (Muraki R et al. Cancer Med) を発見した。

大型試料測定では、横 300 mm×縦 260 mm、厚さ 14 mm の試料台を制作し、大型試料との安定的な接着性や試料台駆動のためのアダプター形状、耐久性、スプレーアームを含めた設置要件などを満たすことを確認した。ノイズ低減のための温度制御測定システムを構築した。イメージング質量分析の定量解析を試みる際に、薬物動態での標準的な定量法である LC/MS を用いて評価するために必要な技術として、同じ検出器で共有して LC/MS とイメージングを行うことが可能な質量分析計を用いて、イミプラミンとクロロキンおよびそれらの代謝物の測定系を確立した。

定量的イメージング質量分析では、マススペクトル強度が閾値以上のピクセルとそれ未満のピクセルの数をカウントするための閾値自動決定ツール、ピクセルごとのマススペクトル強度が一様分布以外の非線形分布となっている対象領域を高精度に標準値で補正するためのピクセル単位の標準補正ツール、定量解析のための検量線が非線形的とみなされる場合に、非線形的フィッティングを可能にするツール、を開発した。

その他に、令和 5 年より開始されたシーズ研究課題に対する準備として、DDS 分子の動物組織を用いたイメージング技術を確立した。製薬および DDS 関連の会議での講演を通じて、製薬業界からのニーズに関する情報収集を行なった。

以上