

日本医療研究開発機構 創薬基盤推進研事業 事後評価報告書

I 基本情報

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

Extending Imaging Mass Spectrometry-Based Pharmacokinetic Analysis to Emerging Therapeutic Modalities

研究開発実施期間：令和3年11月30日～令和8年3月31日

研究開発代表者 氏名：瀬藤 光利

Mitsutoshi Setou

研究開発代表者 所属機関・部署・役職：

国立大学法人浜松医科大学 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

Director of the Center, International Mass Imaging and Spatial Omics Center, Institute of Photonics Medicine, Hamamatsu University School of Medicine / Professor, Department of Cellular and Molecular Anatomy, Hamamatsu University School of Medicine

II 研究開発の概要

本研究開発課題では、イメージング質量分析 (Mass Spectrometry Imaging: MSI) を基盤技術として、従来主対象であった低分子領域からペプチド医薬、核酸医薬、DDS 製剤などの中分子領域へと適用範囲を拡張し、創薬研究に資する次世代の薬物動態評価プラットフォームの構築を目的として研究を推進した。特に、小型動物全身および大型動物臓器を対象とした空間分布解析、アンビエントイオン化技術の高度化、大型試料測定系の開発、ならびに定量解析手法の高度化を柱とし、従来の薬物動態評価では取得困難であった「空間情報を伴う定量データ」の取得と統合解析の実現を目指した。

まず、新規モダリティのイメージング技術においては、AP-MALDI (Islam A et al. Pharmaceuticals, 2022; Islam MM et al. IJMS, 2024)、トリプル四重極型質量分析計 (QqQ) (Rahman MM et al. Journal of Mass Spectrometry, 2025) といった複数の分析手法を統合的に活用することで、中分子領域に対する高感度かつ高分解能なイメージング質量分析を実現した。独自に開発したエミッターチップを実装した IMS を構築し、低温プラズマを前処理として用いることで特定分子の検出感度を大幅に向上させた (Rahman MM et al. JASMS, 2024; 図 1)。これにより、従来検出が困難であった分子の可視化が可能となった。また、環状ペプチドなどの中分子医薬について、臓器レベルおよび細胞レベルでの分布解析を実施し、組織特異的な蓄積や代謝挙動の違いを明らかにした (Manirussaman M et al. Anal Bioanal Chem. 2026; 図 2)。さらに、薬物およびその代謝物の高速・高解像度イメージングに成功し、測定スループットの大幅な向上を達成した。加えて、マウス全身矢状断面の切片化技術および測定環境を整備した。これにより、薬物の体内分布を包括的に把握することが可能となり、創薬研究における評価効率の向上に寄与する基盤技術が確立された。

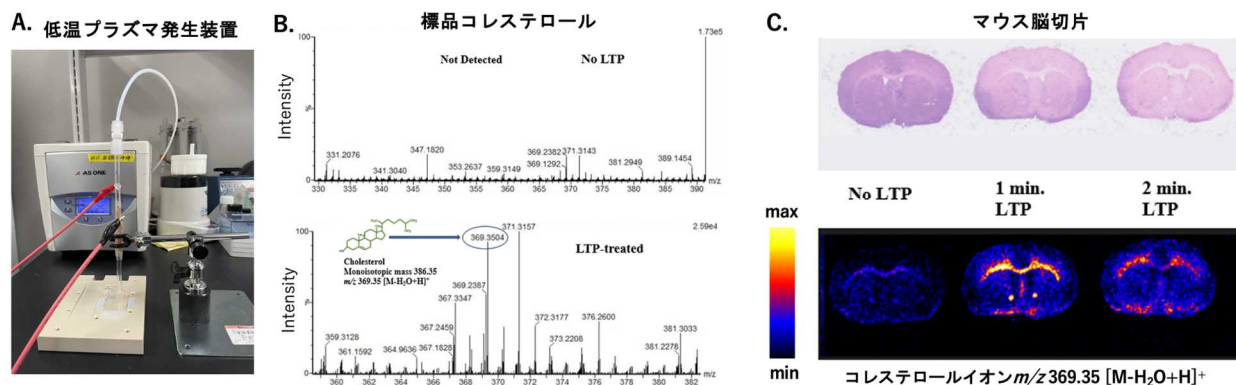


図 1 低温プラズマによるアンビエントイオン化高感度化

(A) Ar ガスを用いた低温プラズマ発生装置 (B) 低温プラズマ照射処理した標品コレステロールのマススペクトル (C) DESI-QqQ を用いたマウス脳冠状断面切片のコレステロールのイメージング [Rahman MM. et al. JASMS, 2024]

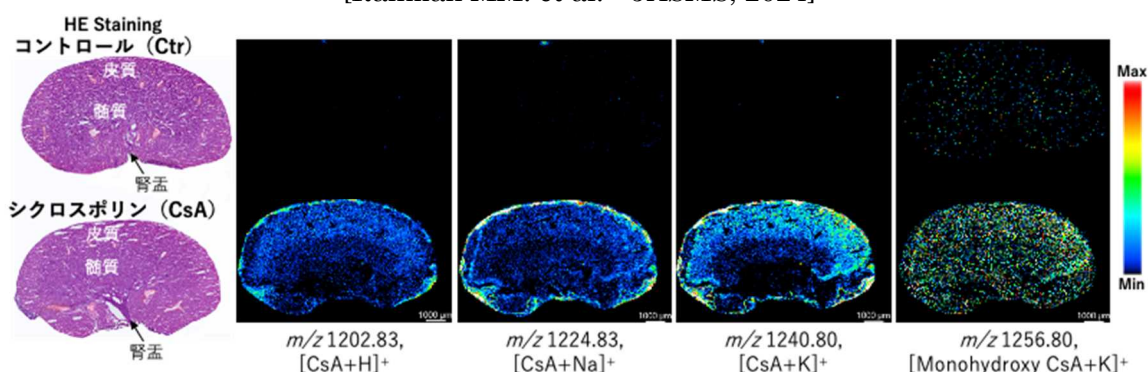


図 2 腎組織におけるシクロスポリン (CsA) イメージング

シクロスポリン腹腔内投与後 2 時間のマウス腎組織を DESI-QqQ にて計測

次に、大型試料測定に関しては、動物全身および大型臓器を対象としたイメージング質量分析を可能とするため、温度制御機構を備えた大型試料台を開発し、測定装置への統合を実現した (図 3)。本試料台は、高い位置決め精度と広い可動範囲を両立し、微小ピッチでの安定した走査を可能とする設計となっている。また、試料の物理的安定性を確保するための接着機構や駆動アダプターの最適化を行い、再現性の高いデータ取得を可能とした。さらに、測定環境の密閉化および窒素パージの導入により、外部由来ノイズの低減とバックグラウンド信号の抑制を達成し、測定精度の向上に寄与した。加えて、温度制御機構により試料の死後変化を抑制し、より生体に近い状態での分布解析を可能とした。これらの技術開発により、従来困難であった大型試料の安定的なイメージング測定が可能となり、全身レベルでの薬物動態解析の実用化に向けた重要な基盤が構築された。また、LC/MS による定量分析とイメージング質量分析を統合的に運用することで、空間分布情報と定量情報を両立させる解析系を確立し、創薬における評価の信頼性を大きく向上させた。

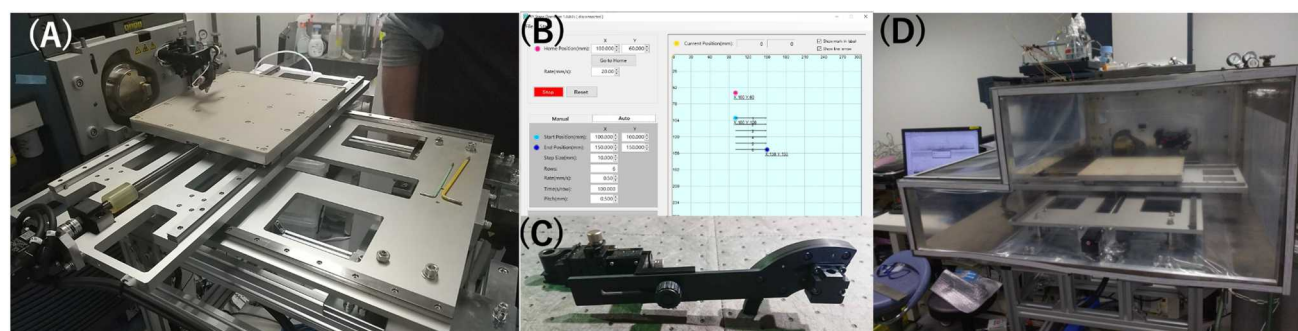


図 3 大型試料台と温度制御装置の実装

(A) DESI と連結した大型試料台 (B) 大型試料台の操作ソフトウェア操作画面 (C) DESI スプレーアーム (D) マススペクトルを取得している大型試料台と温度制御装置を取り付けた DESI

さらに、定量的イメージング質量分析の分野では、従来の領域平均に基づく手法の限界を克服するため、各ピクセルのマススペクトル強度を独立したデータとして扱う非線形統計モデルに基づく解析手法を開発した(図4)。具体的には、閾値自動決定アルゴリズム、ピクセル単位での標準補正手法、非線形フィッティング機能を組み合わせた解析ツール群を構築し、これらを既存の解析ソフトウェアにアドオンとして実装した。これにより、不均一な分布を有する組織においても精度の高い空間定量が可能となり、切片間比較や個体間比較における信頼性が大幅に向上した。さらに、生成AIを用いた空間データの高解像度化や(Xu L et al. JASMS, 2025)、情報エントロピーに基づく新規解析手法の導入により(Xu L et al. PLoS ONE, 2023)、イメージング質量分析データの多次元的解析基盤を構築した。これらの成果は、従来の定量解析の枠組みを大きく拡張するものである。

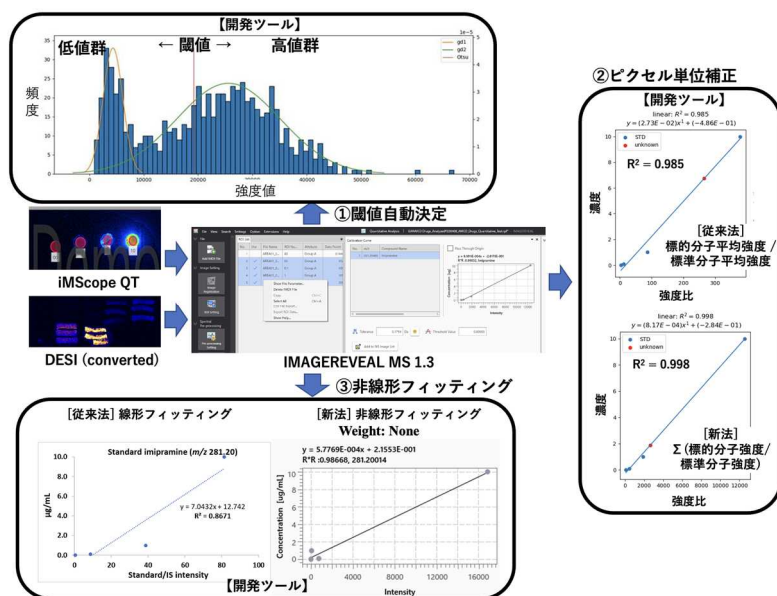


図4 定量的イメージング質量分析解析ツール

閾値自動決定(①)、ピクセル単位補正(②)、非線形フィッティング(③)のためのツール群。

非線形フィッティングツールはIMAGEREVEALのアドオンツール、それ以外は独立ツールとして開発。

加えて、本研究では課題間連携および橋渡し研究を通じて、人工核酸およびDDS製剤などの新規モダリティに対する動態評価を実施した。人工核酸については、経鼻投与動物組織を時系列で可視化し、脳内分布の空間的特徴を明らかにした。別のBBB通過型人工核酸でも、同様に中枢神経系への送達評価を可能とした。人工核酸および脂質ナノ粒子製剤については、腫瘍組織や正常組織における分布特性の比較解析を行い、集積挙動に関する知見を得た。これらの成果により、核酸医薬の送達機構の理解が進むとともに、DDS設計の高度化に資する重要な基盤データが蓄積された。

本研究開発課題全体を通じて、多数の論文発表および学会発表が行われ、国際的にも高い評価を受ける成果が創出された。また、医療分野への応用として、がん組織の分子プロファイル解析やバイオマーカー候補の同定、透析膜に吸着する分子の解析など、臨床応用に直結する研究も進展した。さらに、製薬企業や関連産業との共同研究を通じて、技術導出および社会実装に向けた取り組みも推進された。加えて、本研究を通じて多数の若手研究者および大学院生の育成が進み、将来の創薬研究を担う人材基盤の強化にも貢献した。

以上のように、本研究開発課題では、新規モダリティ薬剤に対応したイメージング質量分析技術、大型試料測定技術、および定量解析技術を有機的に統合することで、従来にない高精度かつ高解像度な薬物動態評価プラットフォームを確立した。本成果は、中分子医薬および核酸医薬を含む次世代創薬において不可欠な基盤技術となるとともに、空間オミクス解析やAI技術との融合を通じて、今後の生命科学および医学研究の発展に大きく寄与することが期待される。

Research and Development Summary

This project aimed to establish a next-generation pharmacokinetic evaluation platform based on mass spectrometry imaging (MSI), with a particular focus on expanding its applicability from conventional small molecules to emerging therapeutic modalities, including peptide drugs, nucleic acid therapeutics, and drug delivery system (DDS)-based formulations. Through this project, we developed and integrated three major technological components: imaging technologies for new drug modalities, large-sample MSI systems, and quantitative MSI analysis methods.

First, we advanced MSI methods using AP-MALDI (Islam A et al. *Pharmaceuticals*, 2022; Islam MM et al. *IJMS*, 2024) and triple quadrupole mass spectrometry (Rahman MM et al. *Journal of Mass Spectrometry*, 2025), enabling high-sensitivity and high-resolution visualization of drugs, metabolites, lipids, peptides, and nucleic acid-related molecules in biological tissues. These developments allow spatially resolved analysis of medium-sized therapeutic molecules and demonstrated the feasibility of applying MSI to drug distribution studies that had previously been difficult to perform.

Second, we developed and implemented approaches to improve ionization efficiency and measurement stability. In particular, low-temperature plasma pretreatment enhanced the detection of specific molecules in brain tissue, demonstrating its utility as an ambient ionization enhancement strategy (Rahman et al., *JASMS*, 2024). This result contributes to strengthened the applicability of MSI. We developed a large-sample stage with temperature-control capability and integrated it into an MSI system. This enabled stable measurement of large samples. The system improved measurement reproducibility and reduced background noise through environmental control, including temperature regulation and nitrogen purging. As a result, this result provides an important basis for spatial pharmacokinetic evaluation.

Third, we established quantitative MSI analysis methods that do not rely solely on average signal intensity within a region of interest. Instead, each pixel-derived mass spectral signal was treated as an independent quantitative value. We developed analytical tools for automatic thresholding, pixel-wise normalization, and nonlinear calibration, and implemented these functions as add-on tools for practical data analysis. These approaches improved the reliability of quantitative MSI, particularly for heterogeneous tissue distributions. In addition, AI-based image interpolation (Xu et al., *JASMS*, 2025) and information-theoretic analysis (Xu et al., *PLoS ONE*, 2023) further expanded the analytical potential of MSI data.

This project also applied the developed platform to collaborative studies involving nucleic acid therapeutics and DDS technologies, including intranasal delivery systems, artificial nucleic acids, and brain-delivery-oriented modalities. These studies generated spatial distribution data that are difficult to obtain using conventional pharmacokinetic methods and contributed to the understanding of tissue-level delivery mechanisms.

The platform was further applied to biomedical studies, including molecular profiling of cancer tissues, analysis of biomarker candidates, and comparative analysis of molecules adsorbed to dialysis membranes. These applications demonstrated the broader utility of mass spectrometry-based molecular analysis for improving molecular characterization and identification.

Overall, this project successfully established an integrated MSI-based platform combining imaging, large-sample measurement, and quantitative analysis. The outcomes provide a valuable technological foundation for evaluating next-generation drug modalities and are expected to contribute to drug discovery and pharmacokinetic studies.