

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名 : (日本語) 医療分野研究成果展開事業 産学連携医療イノベーション創出プログラム
(英語) Acceleration transformative research for Medical innovation

研究開発課題名 : (日本語) 未破裂脳動脈瘤のリスク評価を目指すマクロファージイメージング用新規 MRI 造影剤の開発
(英語) Development of novel MRI contrast agents for macrophage imaging enables risk evaluation of unruptured cerebral aneurysm

研究開発担当者 (日本語) 国立大学法人京都大学 大学院工学研究科 教授 近藤 輝幸
所属 役職 氏名 : (英語) Teruyuki Kondo, Professor, Graduate School of Engineering, Kyoto University

実施期間 : 平成 28 年 10 月 1 日 ~ 平成 29 年 3 月 31 日

分担研究 (日本語) マクロファージイメージング用新規「陽性」MRI 造影剤の選定と最適化、
開発課題名 : および *in vitro* 機能評価
(英語) Selection, optimization and *in vitro* functional evaluation of novel "positive" MRI contrast agents for macrophage imaging

研究開発分担者 (日本語) 京都大学 大学院工学研究科 教授 近藤 輝幸
所属 役職 氏名 : (英語) Teruyuki Kondo, Professor, Graduate School of Engineering, Kyoto University

分担研究 (日本語) 新規造影剤によるマクロファージイメージングに用いる MRI 撮像法の
最適化と未破裂脳動脈瘤の MRI 評価法の開発

開発課題名 : (英語) Development and optimization of a macrophage MR imaging with novel contrast agents for the assessment of unruptured cerebral aneurysm

研究開発分担者 (日本語) 京都大学 大学院医学研究科 特定准教授 青木 友浩
所属 役職 氏名 : (英語) Tomohiro Aoki, Associated professor, Graduate school of Medicine, Kyoto University

分担研究 (日本語) 新規造影剤によるマクロファージイメージングに用いる MRI 撮像法の
最適化と未破裂脳動脈瘤の MRI 評価法の開発

開発課題名 : (英語) Development and optimization of a macrophage MR imaging with novel contrast agents for the assessment of unruptured cerebral aneurysm

研究開発分担者 (日本語) 京都大学 大学院情報学研究科 教授 松田 哲也

II. 成果の概要 (総括研究報告)

くも膜下出血の主要な原因である未破裂脳動脈瘤症例の中から、外科治療が必要な破裂リスクの高い“active”な瘤を正確に選別し、症例の層別化を実現する新しいガドリニウムナノ粒子 MRI 造影剤の開発を行った。本委託研究により、破裂危険性の高い症例への適切な治療介入と、危険性の低い安定した脳動脈瘤に対する外科治療 (開頭手術等) という不必要な治療介入を回避できる。

研究開発担当者である近藤の研究グループでは、既に、粒径の自在制御が可能であり、安定で安全な常磁性ガドリニウムナノ粒子 MRI 造影剤の開発に成功している。本委託研究では、無機材料であるガドリニウムナノ粒子を生体適合性に優れた機能性有機高分子材料を用いる表面被覆により、脳動脈瘤周辺部位に特異的に集積する「有機-無機ハイブリッド型ガドリニウムナノ粒子 MRI 造影剤」として、5種類のカドリニウムナノ粒子の合成に取り組んだ。近藤グループと LSC がそれぞれの独自技術で合成に成功した4種類のカドリニウムナノ粒子について、動的光散乱 (DLS) 法による粒径と水中での粒子安定性の評価、ゼータ (表面) 電位測定、および原子吸光光度計と示差熱天秤 (TG-DTA) によるガドリニウム金属含有量 (率) の測定を行い、それぞれのナノ粒子の物性を明らかにした。なお、全てのガドリニウムナノ粒子について、細胞毒性は観測されなかった。さらに、これらのガドリニウムナノ粒子の陽性 MRI 造影剤としての有効性評価は、研究分担者である松田グループが担当した。7T MRI 装置を用い、ガドリニウムナノ粒子の濃度を変化させたサンプルの T_1 および T_2 強調画像を撮像し、水の ^1H の縦緩和能 r_1 と横緩和能 r_2 を算出した。以上のガドリニウムナノ粒子の物性評価の結果と *in vitro* での MRI 造影剤としての有効性評価の結果に基づき、高い r_1 値を示すガドリニウムナノ粒子と、 r_1 値は高くないが、ナノ粒子の安定性が極めて高いガドリニウムナノ粒子の2種類を候補造影剤として選定した。引き続き平成 29 年度は、青木・成宮グループが開発した脳動脈瘤モデルを用い、選定した2種類のカドリニウムナノ粒子の内、どちらが動脈瘤の画像化と層別化に有効な陽性 MRI 造影剤であるかについて、松田グループが *in vivo* MRI 撮像により評価する。

青木・成宮グループは、近藤グループと LSC が合成・選定した2種類のカドリニウムナノ粒子について、脳動脈瘤病変の検出の可否を判断するためのモデル動物の準備を開始した。平成 28 年度は、その第一段階として、より大きな病変を誘導し、ガドリニウムナノ粒子造影剤の効果を MRI 撮像により確実に検証できる様、ラットの頸動脈を血管吻合し、新たに分岐部を作ることにより瘤が生成するモデルの最適化を行った。

なお、ガドリニウムを含むナノ粒子、および脳動脈瘤を対象とした造影剤に関する国内外の特許出願の検索も行った。その結果、ガドリニウムを含むナノ粒子を請求項に含む特許出願は、約 10 件が検索された。しかしながら、脳動脈瘤を対象とした造影剤を請求項に含む特許出願は、平成 28 年度現在、見出されていない。

We are developing novel gadolinium nanoparticles as a positive MRI contrast agent, which can realize case stratification of unruptured cerebral aneurysms through the selection of “active” one with considerable high risk of the rupture and prompt necessity of surgical treatment. These cases are thought to be major cause of subarachnoid hemorrhage. The development of contrast agents could achieve appropriate therapeutic intervention in the case with

high risk of aneurysm rupture, as well as diminishment of unnecessary therapeutic intervention, such as surgical craniotomy, in stable aneurysm with low risk of rupture.

In Professor Kondo's group, preparation of stable and biocompatible paramagnetic gadolinium nanoparticles was succeeded, in which the nanoparticle was easily adjustable of the particle size. Five candidates of hybrid gadolinium nanoparticles between organic and inorganic materials were synthesized in this project through surface covering of inorganic gadolinium nanoparticles by functional organic polymer materials with high biocompatibility, as a MRI contrast agent to accumulate surrounding tissue of cerebral aneurysm. This group clarified physical properties of four of these candidates, such as the size and stability in water, through dynamic laser scattering (DLS), measurement of surface zeta potential and gadolinium contents with atomic absorption spectrometry and thermogravimetric-differential thermal analysis (TG-DTA). Also from cytotoxic assay, all nanoparticles candidates had no cytotoxicity to macrophage cell lines.

In Professor Matsuda's group, effectiveness validation of the nanoparticle candidates as a positive MRI contrast agents was performed. T_1 -weighted and T_2 -weighted MRI of suspension phantoms was obtained with various concentration of nanoparticle candidates through 7T MRI, and longitudinal and transversal ^1H relaxivity (r_1 , r_2) of water was calculated through the image analysis. Through all evaluation above, we selected two nanoparticles candidates with stability in water, higher r_1/r_2 values, and higher uptake ability in macrophages and continue in vivo MRI evaluation with cerebral aneurysm models established by Professor Aoki and Narumiya's group in AY2017.

In Professor Aoki and Narumiya's group, preparation of animal model was started to distinct acceptance or rejection of nanoparticle candidates as contrast agents which could detect lesioned part of cerebral aneurysm. In AY2016, as a first step, optimization of the aneurysm model was promoted to induce enlarged lesion and accordingly facilitate definite verification of effect of nanoparticle candidates through MRI. In the concrete, the model was revised to prepare newly formation of vascular bifurcation through angiostomy of rat carotid arteries.

In Professor Saotome's group, retrieval of patent application regarding gadolinium nanoparticle and contrast agents for cerebral aneurysms was performed. Although almost ten applications were found for patents including nanoparticles with gadolinium as claims, no application was found for patents whose claims included contrast agents for cerebral aneurysms in present.

成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧 (国内誌 1 件、国際誌 3 件)

1. AOKI T, NOZAKI K. Preemptive medicine for cerebral aneurysm. *Neurologia Medico-Chirurgica*. 2016, 56, 552-68.
2. AOKI T, FROSEN J, FUKUDA M, BANDO K, SHIOI G, TSUJI K, OLLIKANEN E, NOZAKI K, LAACKONEN J, NARUMIYA S. Prostaglandin E_2 -EP2-NF- κ B signaling in macrophages as a potential therapeutic target of intracranial aneurysm. *Science Signaling*. 2017, 10, eaah6037.
3. 野崎和彦, 青木友浩. 脳動脈瘤の発生と破裂の分子生物学的メカニズム. プライム脳神経外科、三輪書店、木内博之・斉藤延人 監修、木内博之 編集、2017, 5-11.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. 脳卒中の残された課題：日常診療での未破裂脳動脈瘤への対応とくも膜下出血予防の可能性を考える, 口頭, 青木友浩, 第 28 回三重中央脳卒中ホットライン, 2016/11/17, 国内.

2. Crucial contribution of NF- κ B-mediated inflammation in macrophages to intracranial aneurysm formation, 口演, Tomohiro Aoki, International Neurovascular Exploratory Workshop, 2017/2/16, 国外 (スイス, チューリッヒ).
3. Models of induced intracranial aneurysm formation, 口演, Tomohiro Aoki, International Neurovascular Exploratory Workshop, 2017/2/16, 国外 (スイス, チューリッヒ).

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

プレスリリース：2017年2月6日 京都大学 青木友浩、成宮周

脳動脈瘤が進行する仕組みの一端を解明 ～ 過剰な炎症を起こす受容体 EP2 が働くメカニズムを特定、新薬開発に期待 ～

朝日新聞一面、産経新聞、京都新聞、朝日新聞デジタル、NHK 報道、毎日放送 Voice、@nifty ニュース、マイナビニュース

(4) 特許出願

なし。