

平成30年5月24日

再生医学・再生医療の先端融合的共同研究拠点  
平成29年度共同研究報告書

京都大学ウイルス・再生医科学研究所長 殿

研究代表者（申請者）  
所属：量子科学技術研究開発機構  
放射線医学総合研究所  
分子イメージング診断治療研究部  
職名：チームリーダー  
氏名：青木 伊知男

下記のとおり共同研究課題の実施結果について報告します。

記

1. 研究課題：「見える再生因子」が拓く戦略的徐放化再生医療の実現
2. ウイルス・再生医科学研究所共同研究者： 城 潤一郎
3. 研究期間：平成29年4月1日～平成30年3月31日
4. 研究経過及び研究成果：

再生因子を局所で持続的に放出する「徐放化技術」は生体内での組織再生の実現に必須であるが、体外から再生因子の放出を観察できないという問題があった。本研究では、申請者の専門である磁気共鳴画像装置（MRI）の撮像技術と共同研究者のもつ再生因子の徐放化技術・分子プローブ作製技術を融合、徐放化再生因子の非侵襲での可視化・評価技術を開発することを目的とする。加えて、再生因子と併せて評価されるべき課題で、昨年度の共同研究において実施してきた、再生過程を顕微鏡レベルの解像度で三次元的に可視化する技術の開発に関して、高感度高周波コイルを用いた高磁場磁気共鳴画像装置（MRI）による超高解像度MRI技術と再生研の材料技術を融合、骨再生過程を詳細に可視化する技術開発についても併せて報告する。

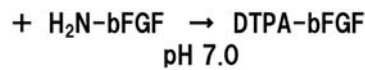
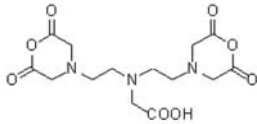
1. ゼラチンハイドロゲルおよび再生因子可視化プローブの作製（実施場所：ウイルス再生研）  
既報に従いゼラチンハイドロゲルを作製した。再生因子塩基性線維芽細胞増殖因子（bFGF）へMRI

プローブ（ガドリニウム錯体など）を修飾した再生因子可視化プローブ bFGF-DTPA-Gd を作製した。再生因子可視化プローブの MRI 造影能および生物活性を評価した。再生因子徐放化のための再生因子のゼラチンハイドロゲルへの含浸方法を量研に技術移転した。

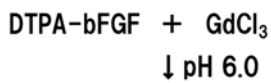
## bFGF可視化造影剤の作製(試行2)

Jo

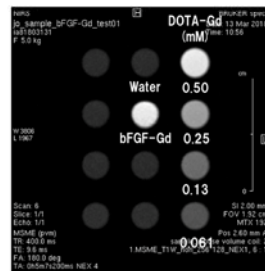
### DTPA酸無水物によるbFGFのアミノ基の修飾



### DTPA-bFGFへのGd配位



**bFGF-DTPA-Gd**  
(bFGF-Gd)

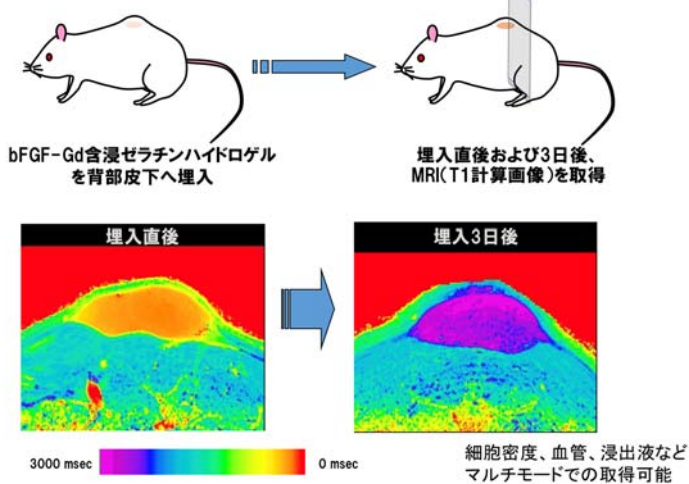


bFGF-Gd  
のMRI活性  
を確認

## 2. MRI を用いた徐放化再生因子の可視化（実施場所：ウイルス再生研、量研）

再生因子含浸ゼラチンハイドロゲルのマウスへの埋植方法を京大から量研に技術移転した。開発した bFGF-DTPA-Gd は、現行の医療用造影剤 Gd-DOTA と同等以上の緩和能を示した。高い磁場強度、低温による低熱ノイズを達成した冷却高周波コイルにより実現した超高解像度磁気共鳴イメージング（マイクロ MRI）を用いて、撮像対象にパラメーターを最適化し、再生因子可視化プローブ含浸ゼラチンハイドロゲルを埋植したマウスを経時的に撮像した。bFGF-DTPA-Gd を徐放化させたマウス in vivo モデルにおいて、経時的な定量 MRI マッピングを取得し、bFGF-DTPA-Gd の徐放を定量的に可視化できた。局所の拡散は極めて限局的で、今後、全身動態を含めた検討を行う。

### 定量MRIマッピングによる局所徐放動態の観察



### 3. BMP-2 により誘導される骨再生過程における血管新生の経時的可視化

In vivo での実証実験は、次のように実施した。骨形成因子 (BMP) -2 または対照となる生理食塩水を含浸したゼラチンハイドロゲルを S1c:ddY マウス背部皮下へ埋入し、異所性の骨形成を誘導した。骨形成誘導後、マイクロ MRI を用いて経時的に微小血管の撮像を行った。MRI 撮像は、7T 前臨床装置 (Bruker Biospin, Avance-III) および 2ch フェイズドアレイ冷却コイルを用いて、血管造影剤法 (MR angiograph, 3D FLASH) にて、直後、7、14、21 日後に撮像し、その後、組織を摘出した

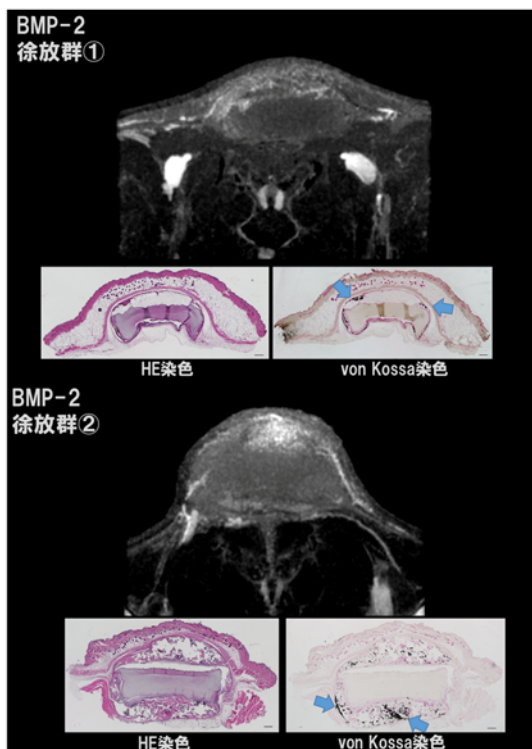
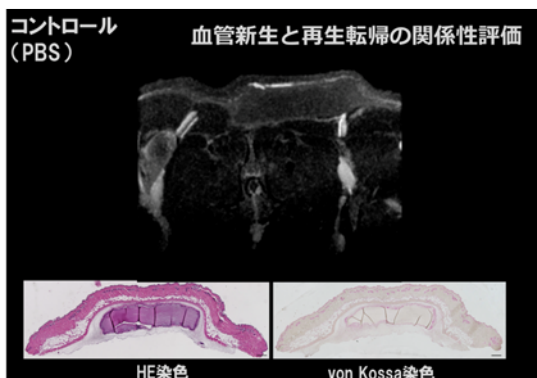
結果：50  $\mu\text{m}$  等方性空間分解能による血管造影マイクロ MRI のシステムが構築され、異所性骨再生モデルに適用可能となった。PBS コントロール群、骨再生成功群、骨再生失敗群をそれぞれ 5 例以上の実験データの取得が終了した。BMP-2 徐放化モデルと、PBS コントロール群を比較したところ、BMP-2 では移植後 7 日後に、ゲル周辺に接触する血管が複数観察され、移植後 14 日後に、非常に細く高密度な血管群 (またはゆっくりと流れる貯留水) が、広い領域で観察され、組織切片 HE および von Kossa 染色との相関性が示唆された。

#### マイクロMRIによる血管造影

ゼラチンハイドロゲルをマウス背部皮下へ埋入14日後

左：対照となる生理食塩水を含浸

右：骨形成因子BMP-2を含浸



### 5. 研究成果の公表

※発表論文リスト (掲載予定、プレプリントを含む。準備中も可)、学会発表、特許取得等

1. MRI の位置情報取得に関する特許：2017-12-15 特許第 6256968 号「固定位置表

示キットおよび位置表示固定方法」青木伊知男、城潤一郎、下村岳夫、國領大介、佐賀恒夫、国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構、日本

2. MRI のナノゼラチン造影剤に関する特許（京都大学は TLO の判断で連名を辞退）：  
2017.9.26 「MR I 造影剤、及びMR I 造影剤の製造方法」田口光正、廣木章博、木村敦、大山智子、中島健吾、青木伊知男、村山周平、国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構、日本、特願 2017-116241

- ・骨再生における血管新生に関する論文を準備中
- ・再生因子造影剤に関する論文を準備中