

## 第 4 部門 C の研究活動に関する報告

(平成 21~22 年度)

### 研究課題名 : がんの早期診断と治療および心疾患 の早期診断に適した磁性ナノ粒子の 新規調製法の開発

小林 猛\*, 伊東真弓\*\*, 高橋 誠\*\*\*

Abstract: A new hyperthermia system using antibody-conjugated magneto-liposome and alternating magnetic field irradiation has been developed, and has been clinically applied on October, 2009 at University Hospital, Nagoya University Medical School. The diameter of the liposome is 120 nm and the hyperthermia is only applicable to large malignant tumor. If the diameter of magnetic particles having targeting ability to tumor or atherosclerotic plaque is less than 40 nm, this material will accumulate in smaller malignant tumor or atherosclerotic lesion, which leads to diagnosis of small tumor or myocardial infarction by MRI and treatment by hyperthermia of small tumor. These particles have been developed and the characteristics of the particles were studied *in vitro* and *in vivo*.

**Keywords:** Hyperthermia, Magnetic nanoparticles, Diagnosis, Cancer, Myocardial infarction

#### 1. はじめに

ナノサイズの磁性微粒子であるマグネタイトをリポソームで包むこむ素材を開発し、この素材を用いた温熱療法で、現在までに様々な動物種（マウス、ラット、ハムスター、ウサギ）やガン種（脳腫瘍、皮膚ガン、舌ガン、乳ガン、腎細胞ガン、骨肉腫）で悪性腫瘍の完全な退縮に成功した。また、信州大学、名古屋大学、戸畑共立病院で臨床研究がスタートした。しかし、この素材の平均粒子径は 120 nm あり、小さな腫瘍には血管から漏出しない。粒子径がもっと小さな素材であれば、微小な腫瘍にもマグネタイトを送達でき、微小な腫瘍でも核磁気共鳴画像法（MRI）で容易に診断が可能となる。交番磁界を照射すれば磁性微粒子だけが発熱するので、温熱治療も可能となる。このような早期診断と治療が同時に達成可能な素材の開発をめざした。動脈硬化は虚血性心疾患の原因となる病変である。動脈硬化症では、正常な血管内膜の中で脂質が徐々に蓄積し、不安定なプラークが形成される。このプラークにマグネタイトを集積させれば、MRI による不安定プラークの早期診断も可能となるので、心疾患の早期診断にも使用できる素材の開発もめざした。

---

\* 応用生物化学科教授

\*\* 応用生物学研究科大学院生

\*\*\* 応用化学科教授

## 2. 研究計画と研究方法

コアとなる磁性微粒子の調製法として水相析出法と高温熱分解法で調製した。そして、血液中で安定して分散するように修飾し、さらにはがん細胞のような特定の細胞に特異的な親和性を持つように抗体を結合させた。高温熱分解法での調製法では、Dibenzyl ether の存在下で、4-Methylcatechol (4MC) と Tris(2,4-pentanedionato)iron(III) を 220°C で反応させ、1 時間の還流を行い、4MC 被覆マグネタイト微粒子(4MC-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 微粒子) を調製した。N,N-dimethylformamide の存在下で、4MC と 4-aminobutyric acid をマンニッヒ反応で共役させ、4MC-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 微粒子表面にカルボキシル基を導入した。さらに N-Cyclohexyl-N'-(2-morpholinoethyl)carbodiimide を用いて抗体を結合させた。また、細胞への磁性微粒子の取込みを簡便に計測するために、抗体に蛍光物質の Alexa Fluor 488 を予め結合させている。

平成 21 年度の研究では 2 型ヒト上皮成長因子受容体 (HER2) を強発現しているヒト乳がん細胞を使用して研究し、良好な結果を得たが、平成 22 年度の研究では、HER2 を強発現しているヒト胃がん細胞として GLM1 細胞株を使用した。HER2 を特異的に認識するモノクローナル抗体としてはハーセプチンを使用した。また、不安定プラーク内の粥状細胞を特異的に認識する抗体として、抗 long pentraxin 3 (PTX3)抗体を使用した。

## 3. 研究成果

シャーレを使用した *in vitro* 取込み実験では、ハーセプチンを結合させたマグネタイト微粒子を用いて GLM1 細胞株には細胞あたり 77 pg が取り込まれ、全く HER2 には無関係の抗体であるリツキサンを結合した場合には 14 pg となり、明確な差が得られた。マウスを使用した *in vivo* 実験の結果、蛍光観察でも MRI でも両者にははっきりとした差が認められた。

同様に、抗 PTX3 抗体を使用したマウスによる *in vivo* 実験の場合でも、蛍光観察では対照の結果とははっきりとした差が認められた。

## 4. 研究発表

### 査読付き論文

1. Y. Shido, Y. Nishida, Y. Suzuki, T. Kobayashi, N. Ishiguro : Targeted hyperthermia using magnetite cationic liposomes and an alternating magnetic field suppresses local tumor development in a mouse osteosarcoma model, J. Bone & Joint Surgery, 92-B, 580-585 (2010)

### 口頭発表

1. H. Kosuge and T. Kobayashi : Magnetite liposomes as potential theranostic agents for MRI and magnetic hyperthermia of vascular inflammation, International Society for Magnetic Resonance Imaging in Medicine, Stockholm, 2010 年 5 月
2. T. Kobayashi : Trend of cancer hyperthermia using magnetic nanoparticles, 12th International Conference on Magnetic Fluids, Sendai, 2010 年 8 月
3. 小林 猛 : Intracellular hyperthermia using magnetic nanoparticles, 日本ハイパーサーミア学会第 27 回大会, 福岡, 2010 年 9 月.
4. 小林 猛, 吉田彩乃, 杉村俊英, 斎田俊明 : Tumor regression by combined immunotherapy and hyperthermia using imiquimod injection and magnetic nanoparticles, 日本ハイパーサーミア学会第 27 回大会, 福岡, 2010 年 9 月