

第 4 部門 C の研究活動に関する報告

(平成 21～平成 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、鈴木伸和*、伊東真弓*、高須雄太**、高橋 誠

Keywords：温熱療法、磁性微粒子、診断、癌、心疾患

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ボ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、信州大学と名古屋大学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にくい。もっと小さな粒子径の素材であれば、微小な腫瘍にもマグネタイト微粒子を送達でき、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微粒子を集積させれば、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応用できる素材の開発も研究目的とした。

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。さらに、血液中で安定して分散し、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、修飾する必要がある。そこで、コアの磁性微粒子をシラン化合物や生体適合性ポリマーでコーティングし、この表面にがんを特異的に認識するモノクローナル抗体を結合させた。ヒト乳がん細胞として、2 型ヒト上皮成長因子受容体（HER2）を強発現している BT-474 細胞株と、HER2 を弱発現している MDA-MB-231 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、対照抗体として、HER2 とは無関係の抗 CD20 抗体であるリツキシマンを使用した。

*応用生物学研究科大学院生 **工学研究科大学院生

3. 研究成果

高温熱分解法で調製した 4-メチルカテコール被覆マグネタイト微粒子は、表面に 4-メチルカテコール由来のベンゼン環を持つため、マンニッヒ反応で γ -アミノ酪酸を反応させた。さらに、水溶性カルボジイミド試薬による脱水縮合反応で抗体を結合した(素材 1)。TEM 写真から見積もった平均粒子径は 8 nm と非常に小さく、粒子径分布もシャープであった。水相析出法で調製した磁性マグネタイト微粒子も調製し、エタノール中で 3-アミノプロピルトリエトキシシランと反応させ、さらにカルボジイミドによる脱水縮合反応で抗体を結合した(素材 2)。TEM 写真から見積もった平均粒子径は 20 nm であった。

シャーレを使用した *in vitro* 取込み実験では、BT-474 細胞株の場合には素材 1 では細胞あたり 77 pg が取り込まれ、MDA-MB-231 細胞では 47 pg であった。また、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 34 pg となり、明確な差が得られた。

同様に、素材 2 では、BT-474 細胞株に対して細胞あたり 42 pg 取り込まれ、MDA-MB-231 細胞では 13 pg 取込まれた。このように、BT-474 細胞株 と MDA-MB-231 細胞株で明確な差が得られた。

4. 研究発表

査読付き論文

1. Toyone Kikumori, Takeshi Kobayashi, Makoto Sawaki and Tsuneo Imai : Anti-cancer effect of hyperthermia on breast cancer by magnetite nanoparticle-loaded anti-HER2 immunoliposomes, Breast Cancer Research Treatment, 113, 435-441 (2009)

口頭発表

1. 小林 猛: 磁性微粒子を利用した癌の温熱免疫療法の開発、日本分子病理学会講演会、神戸、2009 年 7 月
2. 伊東真弓, 亀田めぐみ, 井村美香, 鈴木伸和, 椎木峰行, 堤内 要, 小林 猛: 高温熱分解法などを利用した温熱治療のための磁性ナノ粒子の調製、日本ハイパーサーミア学会第 26 回大会、千葉、2009 年 9 月
3. 伊東真弓, 亀田めぐみ, 井村美香, 鈴木伸和, 椎木峰行, 堤内 要, 小林 猛: 磁性ナノ粒子の調製と抗体結合、第 61 回日本生物工学会大会、名古屋、2009 年 9 月