

平成 30 年 5 月 17 日現在

機関番号：11301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2017

課題番号：16K15572

研究課題名(和文) がんの検出と治療の効果を同時に併せ持つナノ粒子造影剤の開発

研究課題名(英文) Development of nanoparticles which can detect and treat cancer simultaneously

研究代表者

権田 幸祐 (Gonda, Kohsuke)

東北大学・医学系研究科・教授

研究者番号：80375435

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では癌の検出と治療の効果を併せ持つナノ粒子の開発を行うことを目的として、シリカコーティングした金ナノロッドナノ粒子(金ナノロッドシリカ)を作製した。このナノ粒子は約700nmの光波長に対し光熱反応のピークを有していた。次にマウスの皮下に癌細胞を移植し、近傍のリンパ節へ転移するマウスを作製した。このマウスの腫瘍近傍に金ナノロッドシリカを注入したところ、転移リンパ節へ輸送される様子が、X線CTで造影された。さらに金ナノロッドシリカが転移リンパ節に送達された後、700nmの近赤外レーザーを照射したところ、光熱反応によって転移リンパ節の温度が上昇し、リンパ節内の癌細胞を死滅させることに成功した。

研究成果の概要(英文)：Hyperthermia has been studied for a long time for treating tumors. Recently, an application of gold (Au) nanorods (AuNRs), possessing high photothermal capability, in hyperthermia has attracted attention. To apply AuNRs in photothermal therapy of metastatic lymph nodes in mice, we produced AuNRs coated with silica (AuNR/SiO₂). AuNR/SiO₂ did not have cytotoxicity. When the AuNR/SiO₂ nanoparticles were injected into the tumor of the model mouse with lymphatic metastasis, X-ray computed tomography showed that the nanoparticles were delivered to the metastatic lymph nodes and afferent lymphatic vessels. Then irradiation of the metastatic lymph nodes with a 700-nm laser was conducted. We successfully completed photothermal therapy of the metastatic lymph nodes.

研究分野：医工学

キーワード：がん 温熱療法 リンパ節 転移 ナノ粒子 イメージング X線 光

1. 研究開始当初の背景

細胞は 42.5℃以上の温度になると、蛋白質変性などが原因となり、細胞致死性が急激に高まる。正常な組織では、組織に熱が発生しても正常血管の拡張によって血流量が増加し、熱を逃がす(図 1a)。しかしがん組織に構築される腫瘍血管は、無秩序な制御のもと急速に作られるため、血管構造が未熟であり、血管拡張機能に欠陥がある。そのため発熱下において正常血管のように熱を逃がすことができない(図 1b)。この形態的特徴を利用することで、がん特異的な温熱療法が可能となる。

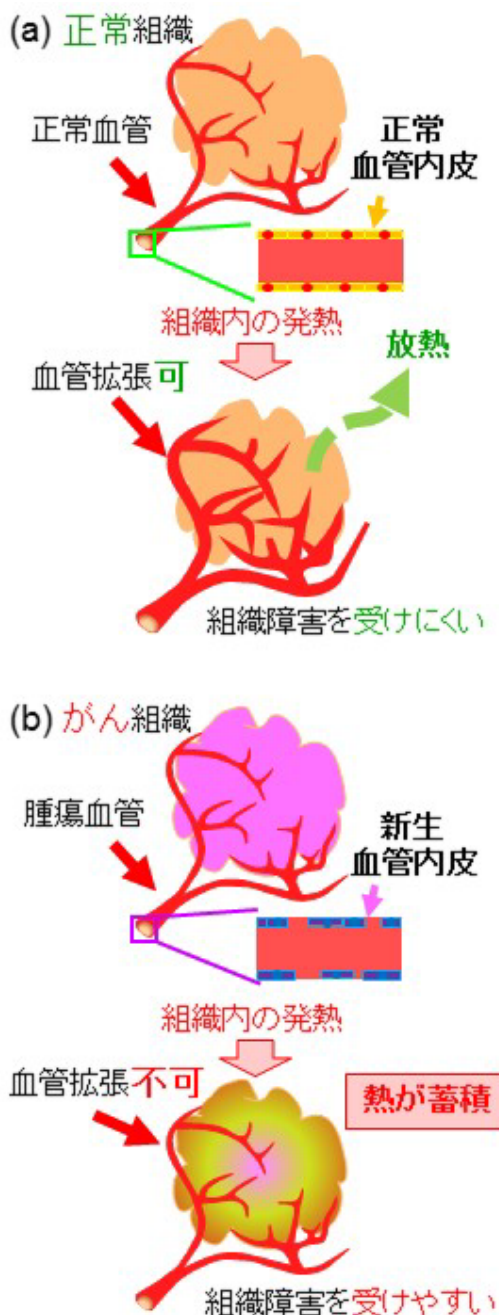


図 1 正常組織 (a) やがん組織 (b) の各組織内の温度上昇が起こった時の生体反応。

正常血管と腫瘍血管の構造の差は、がん組織への薬剤送達にも利用できる。急速に形成された腫瘍血管は正常血管に比べ血管内皮構造が不完全であり、血管透過性が著しく亢進している。そのため正常血管では透過しないような 5-150 nm サイズの物質が腫瘍血管からがん細胞側へ漏出し易く、またリンパ系の発達が未熟であり、がん組織に滞留しやすい特性がある。この特性は EPR 効果 (Enhanced permeation and retention effect) と呼ばれ、抗がん剤や造影剤のがん組織への送達法として応用が期待されている。

これまでの温熱療法は、マグネタイト (Fe₃O₄) 等の磁性ナノ粒子を利用した磁場誘導法が盛んに行われていた。磁性ナノ粒子は交流磁場において磁気モーメントの緩和が遅れることで磁気エネルギーが熱に変換される。マグネタイトは優れた熱産生効率を有するが、MRI を利用した造影効果は高くない。また MRI は X 線 CT に比べ軟組織造影に優れているが、MRI 造影剤の造影効果は、CT 造影剤と異なり、濃度と信号強度は単純に比例しない。陽性造影剤である Gd-DTPA も、ある濃度以上になると T2 短縮効果による信号低下が著明となる。

温熱療法は古くから行われてきたがん治療法であり、がん組織は正常組織に比べて熱に弱いという性質を利用している。しかし温熱療法は外科手術、化学療法、放射線療法に代わるほどの強力ながん治療法になっていない。その要因として、がん組織だけを自在に加温する技術が開発されていなかったこと、また温熱療法効果の検証として組織内の温度変化を計測する術がなかったこと、が挙げられる。

2. 研究の目的

本研究では、ロッド状の金ナノ粒子 (金ナノロッド粒子) が高い X 線吸収能を保持し、かつ光照射によって発熱する現象を利用することで、がんの検出 (X 線 CT) と治療 (温熱療法) の効果を同時に併せ持つナノ粒子造影療法の開発を行う。具体的には、

- (1) 金ナノロッド造影剤を開発し、これを用いた高感度がん組織検出法の開発
- (2) がん組織へ送達したナノ粒子への光照射による温度上昇効果 (光熱療法) の検討
- (3) 光熱療法によるがん進展阻害効果の検討以上を行うことを目的とした。

3. 研究の方法

ナノロッド造影剤を開発するために、テトラクロロ金酸と水素化ホウ素ナトリウムを混合し、金ナノロッドナノ粒子合成の核となる種粒子を合成した。その後、種粒子、テトラクロロ金酸、硝酸銀、アスコルビン酸 (還元剤) を混合し、金ナノロッドナノ粒子を作製した (図 2a)。さらに金ナノロッドナノ粒子に Tetraethylorthosilicate を加え、金ナノロッドのシリコーティングを行い、「金ナ

ノロッドシリカ粒子」を合成した(図2b)。

作製した金ナノロッドシリカ粒子は、適宜、*in vitro*及び*in vivo*実験に使用した。なお、*in vivo*実験においては、BALB/c-nu マウス 4~7 週齢 (15g~22 g)を実験用動物として使用した。全ての処置や観察の前に、ケタミンとキシラジンを腹腔内投与もしくは臀部への局所投与にて麻酔を行い、実験動物の苦痛を伴わないよう配慮した。実験は「国立大学法人東北大学動物実験等に関する規定」に準拠して行った。また本研究における動物実験計画は東北大学動物実験委員会から承認を受けた。

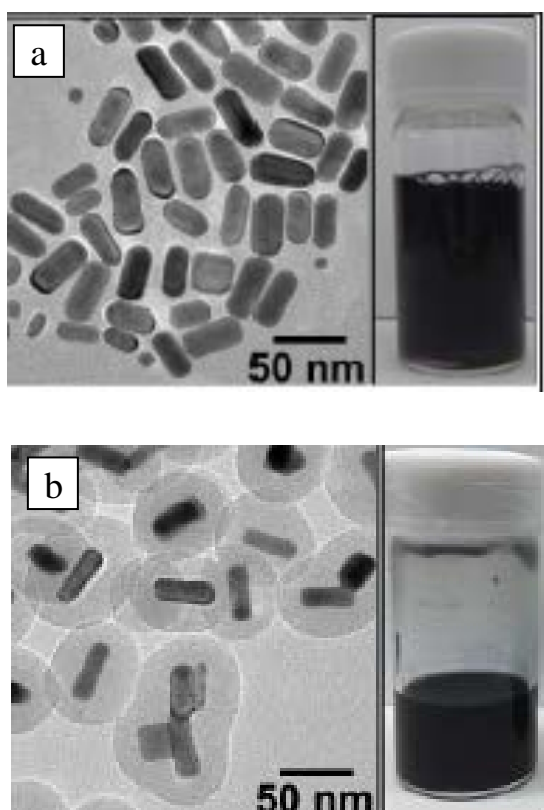


図2 温熱療法に用いるナノ粒子の合成。

(a) 合成した金ナノロッドナノ粒子の電子顕微鏡像。(b) 金ナノロッドのシリカコーティングを行い、金ナノロッドシリカ粒子を合成した時の電子顕微鏡像。

4. 研究成果

in vivo 実験の基盤データを得るために、担がんマウスの作製に用いるがん細胞の温度感受性を 40~70°Cの温度条件下で調べた。その結果、56°C以上、5 分間の熱処理において、顕著な細胞の致死効果が認められた。さらに金ナノロッドシリカ粒子への光照射による温度上昇効果(光熱療法)の検討を行った。合成した金ナノロッドシリカ粒子は約700nm に光吸収ピークを保持しており、この波長付近のレーザー光を金ナノロッドシリ

カ粒子に照射した結果、光熱反応が確認された。この光熱反応は細胞培養液の温度を 56°C以上を上昇させ、細胞致死効果を発揮することが認められた。

以上の結果を受け、次に金ナノロッドシリカ粒子の *in vivo* 研究への応用を行った。具体的には、マウスの皮下にがん細胞を移植し、近傍のリンパ節へ転移するマウスを作製した。このマウスの腫瘍近傍に金ナノロッドシリカ粒子を注入したところ、転移リンパ節へ輸送される様子が、X線CTで造影された。さらに金ナノロッドシリカ粒子が転移リンパ節に送達された後、700nmの近赤外レーザーを照射したところ、光熱反応によって転移リンパ節の温度が上昇し、リンパ節内のがん細胞を死滅させることに成功した。温熱療法後のリンパ節組織を摘出し、病理解析した結果、金ナノロッドシリカ粒子はがん細胞の近傍に局在し、光熱変換反応により温熱効果を及ぼしていたことが示唆された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 4 件)

(1) 権田幸祐*、中野寧 「1 粒子蛍光イメージングによる高精度がん組織診断法」 フォルマシア、54 巻 1 号 36-40 (2018 年) 査読無

DOI: 10.14894/faruawpsj.54.1_36

(2) Gonda K, Watanabe M, Tada H, Miyashita M, Takahashi-Aoyama Y, Kamei T, Ishida T, Usami S, Hirakawa H, Kakugawa Y, Hamanaka Y, Yoshida R, Okada H, Goda H, Negishi H, Takanashi K, Takahashi M, Ozaki Y, Yoshihara Y, Nakano Y, Ohuchi N. Quantitative diagnostic imaging of cancer tissues by using phosphor-integrated dots with ultra-high brightness. *Scientific Reports* 7: 7509 (2017). 査読有

DOI: 10.1038/s41598-017-06534-z

(3) Miyashita M, Gonda K, Tada H, Watanabe M, Kitamura N, Kamei T, Sasano H, Ishida T, Ohuchi N. Quantitative diagnosis of HER2 protein expressing breast cancer by single particle quantum dot imaging. *Cancer Medicine* 5: 2813-2824 (2016). 査読有

DOI: 10.1002/cam4.898

(4) Nakagawa T, Gonda K, Kamei T, Cong L, Hamada Y, Kitamura N, Tada H, Ishida T, Aimiya T, Furusawa N, Nakano Y, Ohuchi N. X-ray computed tomography imaging of a tumor with high sensitivity using gold nanoparticles conjugated to a cancer-specific antibody via polyethylene glycol chains on their surface. *Science and Technology of Advanced Materials*. 17: 387-397 (2016). 査読有

DOI: 10.1080/14686996.2016.1194167

[学会発表] (計 6 件)

(1) Gonda K. Quantitative diagnostic imaging of cancer tissues by using fluorescence nanoparticles with ultra-high brightness. Tohoku University-KIST Joint Symposium. November 21, 2017, KIST International Cooperation Building Seminar Rooms, KIST, Korea

(2) Ohta M, Tokunaga M, Sakaguchi M, Hatoyama K, Gonda K. Nano-biomaging of cancer and peripheral artery disease using X-ray CT and fluorescence. A3 Foresight 9th Meeting. September 29, 2017, Yokohama, Japan.

(3) 権田幸祐 「蛍光 1 粒子イメージングでがんの病態を可視化する」、第 106 回日本病理学会総会 シンポジウム「光学顕微鏡で見えない世界 ～形態変化はどのように捉えられ、どのように生じているのか～」、2017 年 4 月 27 日、名古屋国際会議場

(4) 権田幸祐 「ナノバイオイメージングで挑む病態診断技術開発」、日本分析化学会東北支部会 2017 年 3 月 11 日、東北大学

(5) Gonda K. Fluorescence imaging of human cancer tissues using nanobiotechnology. 3rd International Conference on Biomaterials Science in

Tokyo (ICBS2016). November 28, 2016, Ito Hall, The University of Tokyo, Japan

(6) Gonda K Ohuchi N. Highly sensitive imaging of cancer with functional nanoparticles. 252nd American Chemical Society National Meeting. August 22, 2016, Pennsylvania Convention Center, Philadelphia, PA, USA.

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ等

<http://www.medphys.med.tohoku.ac.jp/gondalab/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

権田 幸祐 (GONDA Kohsuke)

東北大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号: 80375435

(2) 研究分担者

大内 憲明 (OHUCHI Noriaki)

東北大学・大学院医学系研究科・客員教授

研究者番号: 90203710

亀井 尚 (KAMEI Takashi)

東北大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号: 10436115