

平成 22 年 3 月 31 日現在

研究種目：基盤研究（B）
 研究期間：2007～2009
 課題番号：19300172
 研究課題名（和文） 近赤外光に応答する医用 熱変換材料の創製
 研究課題名（英文） Development of light-heat converting medical materials responding to near infrared light
 研究代表者
 新留 琢郎（NIIDOME TAKURO）
 九州大学・大学院工学研究院・准教授
 研究者番号：20264210

研究成果の概要（和文）：200 字程度

金ナノロッドは近赤外光を吸収し、発熱する。その熱を利用したがん治療や薬物デリバリーシステムの開発が期待されている。本研究では、血中を安定に循環し、より高い EPR 効果を示すような金ナノロッドの PEG 修飾の条件検討を行った。また、金ナノロッドを温度感受性ポリマーゲルで修飾することにより、光照射した部位に積極的に金ナノロッドを集積させることに成功した。

研究成果の概要（英文）：

Gold nanorods adsorb infrared light, then, the light energy is converted to heat. In this study, we optimized condition of PEG-modification of the gold nanorods to make them circulate blood stably and show EPR effect. Furthermore, we succeeded in preparing thermosensitive polymer-modified gold nanorods that accumulated to light-irradiated site.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	8,000,000	2,400,000	10,400,000
2008年度	3,500,000	1,050,000	4,550,000
2009年度	3,100,000	930,000	4,030,000
年度			
年度			
総計	14,600,000	4,380,000	18,980,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：人間医工学・医用生体工学・生体材料学

キーワード：医用光・熱工学

1. 研究開始当初の背景

金ナノロッドは棒状の金ナノ粒子で、短軸方向に由来する 500 nm 付近（可視光域）の吸収と長軸方向に由来する 800～900 nm 付近（近赤外域）の吸収をもつ（図 1）。そして、

この吸収された光は効率よく熱エネルギーに変換される。また、近赤外光は組織への透過性が高いため、この金ナノロッドを病変部位に集積させることができれば、近赤外光を使ったバイオイメージングによる診断に加

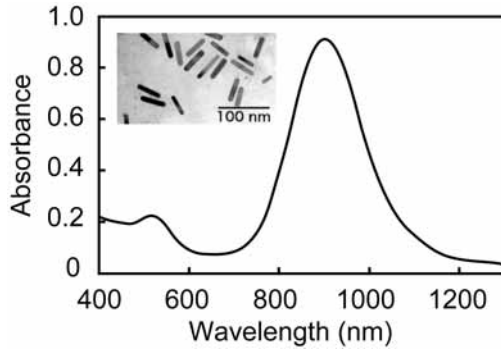


図1、金ナノロッドの吸収スペクトルと電子顕微鏡写真

え、光照射による発熱を利用したフォトサーマル治療が可能になると期待される。

金ナノロッドはカチオン性界面活性剤、hexadecyltrimethylammonium bromide (CTAB) のミセル存在下で調製されるが、CTAB の強い毒性のため、ライフサイエンスの分野への応用はなかなか進まなかった。そこで、我々は金ナノロッドの分散安定性を保ちつつ、生体適合化するために、中性の親水性ポリマーであるポリエチレングリコール (PEG) 鎖で金表面を修飾した。その結果、培養細胞毒性に対する毒性は認められず、また、マウスへ静脈投与後、6 時間後においても、投与量の 30% が血中を循環し、高い血中滞留性をもつことがわかった。最終的に金ナノロッドは肝臓と脾臓に蓄積するが、短期的な肝毒性、腎毒性、サイトカイン応答といった副作用は見られなかった。

一方、金ナノロッドを温度感受性ポリマー (N-イソプロピルアクリルアミド: pNIPAM) ゲル中に分散させることに成功し、近赤外光に反応してゲルを収縮させることを達成した。この実験は光でナノロッド表面の化学的構造をコントロールできることを示し、これは新しい薬物デリバリーシステム、あるいは、放出システムへと展開できる技術となる。

2. 研究の目的

本研究では金ナノロッドの発熱効果を利用したフォトサーマル治療のデモンストレーションを目的とした。担がんマウスに対し、腫瘍への局所投与や全身投与による金ナノロッドの体内分布を評価し、さらに、光照射後の組織傷害ならびに腫瘍の増殖抑制効果を評価した。

また、温度感受性ポリマーゲルを金ナノロッド表面に修飾することで、体外からの近赤外光照射に反応して金ナノロッドを光照射部位に蓄積させる技術を開発することも目的とした。これは、金ナノロッド自体の体内動態制御のみならず、ゲル層をリザーバーと

して用いる薬物デリバリーシステムを開発する上で重要な知見となる。

3. 研究の方法

(1) 担がんマウスの作製: マウス直腸がん細胞 colon26 (2×10^6 個) を ddY マウスの皮下に投与し、5-10 mm になるまで成長させた。実験動物の取扱いは九州大学動物実験規則にしたがって行った。

(2) 金ナノロッドの体内分布評価: マウスへ金ナノロッドを投与後、一定時間後に犠牲死させ、血液および臓器を摘出する。それぞれを王水に溶解した後、蒸発乾固させ、残渣を塩酸に溶解し、誘導結合プラズマ質量分析装置 (ICP-MS) により金イオンを定量した。

4. 研究成果

(1) PEG 修飾金ナノロッドの静脈投与後の体内動態評価: 分子量 2000、5000、10,000、20,000 の PEG 鎖を金ナノロッドに修飾した。分子量 2000 の PEG で修飾した金ナノロッドのみ、3 日後には PBS 中で凝集体が形成され、他は安定に分散していた。これらを静脈投与後の体内動態を評価した結果、分子量 5000、10,000 の PEG で修飾した金ナノロッドが 2000 および 20,000 のものより血中により多く存在した。

次に、修飾する PEG の密度を変えた金ナノロッドを作製し、同様の体内分布評価を行った。その結果、PEG の修飾密度を増やすほど、肝臓や脾臓の細網内皮系の取り込みから逃れやすくなり、また、EPR 効果による腫瘍への集積も高まることがわかった。投与量についても検討し、その結果、高投与量の場合、肝臓の細網内皮系が飽和するような現象が見られ、効果的に腫瘍に金ナノロッドが分配されることがわかった。

(2) がんのフォトサーマル治療: 分子量 5000 の PEG で修飾した金ナノロッドを担がんマウスの腫瘍内に局所投与し、そこへ近赤外レーザー光を照射 (Nd:YAG 1,064 nm, 20 Hz, ~750 mW, ビーム径 5 mm, 3 分) した。腫瘍を摘出し、組織切片を観察した結果、明らかな腫瘍細胞の傷害が観察され、これは金ナノロッドのフォトサーマル効果によるものであると考えられた。また、腫瘍の成長を評価した結果、有意な成長抑制が観察された (図 2)。金ナノロッドを静脈投与し、レーザー光照射した場合にも腫瘍の増殖抑制は認められたが、その効果は低かった。これは、PEG 修飾金ナノロッドは腫瘍組織の Enhanced Permeation and Retention (EPR) 効果により正常組織より高濃度に蓄積してはいるが、腫瘍への局所投与の場合に比べればその量

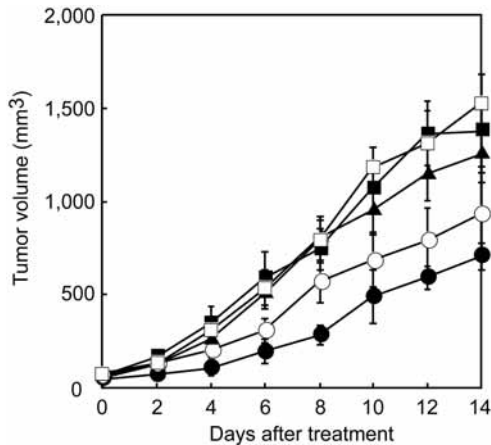


図2、フォトサーマル治療による腫瘍の増殖抑制。局所投与後、光照射(□) 静脈投与後、光照射(○) 局所投与のみ(△) 光照射のみ(●) 無処置(●)

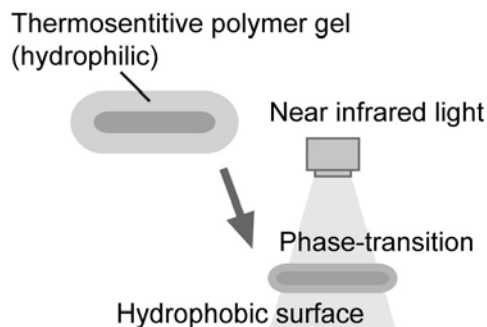


図3、光照射による金ナノロッドの表面構造コントロール

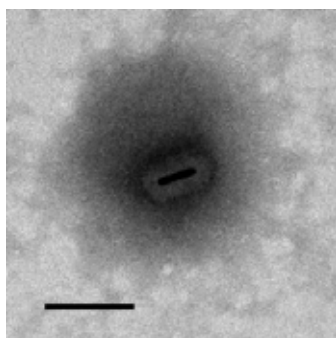


図4、pNIPAM ゲル修飾した透過型電子顕微鏡写真。スケールは100 nm。

は少なく、そのために効果が弱かったと考えられる。したがって、より高い抗腫瘍効果を得るためには金ナノロッドの腫瘍への積極的なターゲティングが必要であることが指摘された。

(3) 金ナノロッドのデリバリーシステム：

親水性ポリマーであるポリ-N-イソプロピルアクリルアミド (pNIPAM) は加熱すると、相転移を起こし、疎水性に変わる。この温度感受性ポリマーを金ナノロッド表面に修飾すれば、フォトサーマル効果により光照射した場合にのみ相転移が起こると期待される。そして、生体組織中でこの現象を起こせば、光照射部位のみで相転移が起こるため、金ナノロッドが細胞表面や細胞間マトリクスに吸着するだろう(図3)。ここでは、まず、この pNIPAM ゲルで修飾した金ナノロッドを作製した。PEG 修飾金ナノロッドを原料に、シリカコートし、その表面をメタクリル基で修飾した。さらにそこから、pNIPAM ゲルを重合させ、最後に、フッ化水素で金ナノロッド表面のシリカ層をエッチングした(図4)。ゲル層の相転移温度を動的光散乱測定により評価した結果、およそ32℃であった。そして、この pNIPAM ゲルで修飾した金ナノロッドをマウスへ尾静脈投与し、その後、右腎臓に近赤外レーザー光を照射した結果、その右腎臓への有意な金の蓄積が認められた。

しかし、マウスの体温は40℃弱なので、このゲル層は投与後すぐに相転移を起こし、非特異的に周辺組織に蓄積することが容易に予想される。そこで、ゲル層を重合させる際に、N-イソプロピルアクリルアミドにアクリルアミドモノマーを4.5%混合した。その結果、相転移温度が40℃付近まで上昇した。これを、マウス尾静脈より投与し、血中半減期を評価した結果、約30分程度であり、N-イソプロピルアクリルアミドのみのゲルの場合に比べれば、長かった。体温において、相転移せず親水性を保っていることが示された。さらに、担がんマウスに尾静脈投与し、腫瘍部位に近赤外レーザー光を照射すると、照射した腫瘍に金ナノロッドの有意な集積が認められた。

(4) まとめ：このように、血中を安定に循環し、より高いEPR効果を示すようなPEG修飾の条件検討を行った。そして、明確ながんのフォトサーマル治療効果が観察できた。また、金ナノロッドを温度感受性ポリマーゲルで修飾することにより、光照射した部位に積極的に金ナノロッドを集積させることに成功した。ゲル層に薬物など含有させておけば、光によりコントロールできる薬物デリバリーシステムへ発展するだろう。

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8件)

1. Y. Akiyama, T. Mori, Y. Katayama, T. Niidome, The effects of PEG grafting level

- and injection dose on gold nanorod biodistribution in the tumor-bearing mice, *J. Control. Release.* 139, 81-84 (2009) 査読有
2. T. Niidome, Y. Akiyama, M. Yamagata, T. Kawano, T. Mori, Y. Niidome, Y. Katayama, Poly(ethylene glycol)-modified gold nanorods as a photothermal nanodevice for hyperthermia, *J. Biomater. Sci.-Polym. Ed.*, 20, 1203-1215 (2009) 査読有
 3. T. Kawano, Y. Niidome, T. Mori, Y. Katayama, T. Niidome, PNIPAM gel-coated gold nanorods for targeted delivery responding to a near-infrared laser, *Bioconjugate Chem.*, 20, 209-212 (2009) 査読有
 4. T. Niidome, Y. Akiyama, K. Shimoda, T. Kawano, T. Mori, Y. Katayama, Y. Niidome, In vivo monitoring of intravenously injected gold nanorods using near-infrared light, *Small*, 4, 1001-1007 (2008) 査読有
 5. Y. Horiguchi, S. Yamashita, T. Niidome, N. Nakashima, Y. Niidome, Photoinduced release of oligonucleotide-conjugated silica-coated gold nanorods accompanied by moderate morphological changes, *Chem. Lett.*, 265, 281-288 (2008) 査読有
 6. H. Takahashi, T. Niidome, T. Kawano, Y. Niidome, S. Yamada, Surface modification of gold nanorods using layer-by-layer technique for cellular uptake, *J. Nanopart. Res.*, 10, 221-228 (2008) 査読有
 7. Y. Horiguchi, T. Niidome, S. Yamada, N. Nakashima, Y. Niidome, Expression of plasmid DNA released from DNA conjugates of gold nanorods, *Chem. Lett.*, 36, 952-953 (2007) 査読有
 8. A. Shiotani, T. Mori, T. Niidome, Y. Niidome, Y. Katayama, Stable incorporation of gold nanorods into N-isopropylacrylamide hydrogels and their rapid shrinkage induced by near-IR laser irradiation, *Langmuir*, 23, 4012-4018 (2007) 査読有
- [学会発表](計 19 件)
1. 新留琢郎、井藤 彰、光あるいは電磁波に
応答するマルチ機能性ナノデバイスの
創製、公開シンポジウム：生体ナノ環
境の時空間制御を目指して、北海道大学、
2010 年 1 月 5 日 招待講演
 2. 山下秀治、福島寛満、新留康郎、森 健、
片山佳樹、新留琢郎、Functional
Controlled Release Systems Triggered
by Photothermal Effect of Gold
Nanorods、2009 MRS Fall Meeting、米
国、2009 年 1 月 30 日～4 日
 3. 秋山泰之、森 健、片山 佳樹、新留琢
郎、The effect of PEG grafted on gold
nanorods and their injection dose on
biodistribution in tumor-bearing mice、
2009 MRS Fall Meeting、米国、2009 年
11 月 30 日～12 月 4 日
 4. T. Niidome, A. Ohga, T. Ando, Y.
Niidome, T. Mori, Y. Katayama、
Protease-Triggered Targeted Delivery
of Gold Nanorods into Tumor、2009
Materials Research Society Fall
Meeting、米国、2009 年 11 月 30 日～12
月 4 日
 5. T. Niidome、Development of Functional
Gold Nanorods for Bioimaging and
Photothermal Therapy、The 4th
International Symposium on Atomic
Technology、神戸市、2009 年 11 月 18
日～19 日、招待講演
 6. T. Niidome, T. Kawano, A. Ohga, Y.
Niidome, T. Mori, Y. Katayama、Surface
Modification of Gold Nanorods for
Photothermal Tumor Therapy and
Targeted Delivery to Specific Site、
2009、Pusan-Kyeongnam/Kyushu-Seibu
Joint Symposium、鹿児島大学、2009 年
10 月 25 日～26 日
 7. 新留琢郎、診断・治療を支えるハイブリ
ッド金ナノ粒子の創製、第 12 回日本化
学会バイオテクノロジー部会シンポジ
ウム、九州大学、2009 年 9 月 13 日～15
日、招待講演
 8. T. Niidome, Y. Akiyama, A. Ohga, T.
Kawano, Y. Niidome, T. Mori and Y.
Katayama、Development of tumor therapy
system using gold nanorods with
photothermal effect、The 7th Asia 3
foresight symposium on gene therapy
and biomaterials、韓国、2009 年 5 月
25 日～26 日、招待講演
 9. T. Niidome, Y. Akiyama, A. Ohga, T.
Kawano, Y. Niidome, T. Mori and Y.
Katayama、Photothermal Tumor Therapy
Using Gold Nanorods and Their Targeted
Delivery、8th International Symposium
on Frontiers in Biomedical Polymers、
三島市、2009 年 5 月 20 日～23 日
 10. T. Niidome, A. Ohga, Y. Niidome, T.
Mori, Y. Katayama、Gold nanorods for
photothermal tumor therapy、14th
International Symposium on Recent
Advances in Drug Delivery Systems、
米国、2009 年 2 月 15 日～18 日
 11. 塩谷 淳、河野喬仁、森 健、新留康郎、
片山佳樹、新留琢郎、バイオマテリアル
としての金ナノロッド：近赤外光応答性
ナノゲルのマウスへの静脈投与におけ
る体内分布、日本バイオマテリアル学会
シンポジウム 2008、東京大学、2008 年

- 11月17日～18日
12. 安藤豪、岡本悠里、新留康郎、森 健、狩野有宏、丸山厚、片山佳樹、新留琢郎、バイオマテリアルとしての金ナノロッド：PEG-g-PLL 修飾金ナノロッドの作製と評価、日本バイオマテリアル学会シンポジウム 2008、東京大学、2008年11月17日～18日
 13. 秋山泰之、新留康郎、森 健、片山佳樹、新留琢郎、バイオマテリアルとしての金ナノロッド：EPR 効果を狙った投与条件の最適化、日本バイオマテリアル学会シンポジウム 2008、東京大学、2008年11月17日～18日
 14. 大賀 晃、森 健、新留康郎、片山佳樹、新留琢郎、バイオマテリアルとしての金ナノロッド：プロテアーゼに应答し凝集する金ナノロッドの作製、日本バイオマテリアル学会シンポジウム 2008、東京大学、2008年11月17日～18日
 15. 山下秀治、岡本悠里、秋山泰之、下田康平、森 健、片山佳樹、新留康郎、新留琢郎、バイオマテリアルとしての金ナノロッド：金ナノロッドを用いた培養細胞イメージングと in vivo モニタリング、日本バイオマテリアル学会シンポジウム 2008、東京大学、2008年11月17日～18日
 16. A. Shiotani, T. Kawano, T. Mori, Y. Niidome, Y. Katayama, T. Niidome, Preparation of N-Isopropylacrylamide Hydrogel-Coated Gold Nanorods, The 35th Annual Meeting and Exposition of the Controlled Release Society, 米国、2008年7/12-7/16
 17. 河野喬仁、新留康郎、森 健、片山佳樹、新留琢郎、温度感受性ポリマーをコートした金ナノロッドの光応答、第 24 回日本 DDS 学会、東京都港区、2008年6月29日、30日
 18. 新留琢郎、新留康郎、秋山泰之、山形真人、河野喬仁、森 健、片山佳樹、金ナノロッドを使ったフォトサーマル治療、第 5 6 回高分子討論会、名古屋工業大学、2007年9月19日～21日
 19. T. Niidome, Bioimaging and photothermal therapy using biocompatible gold nanorods, BIO KOREA 2007 Conference、韓国、2007年9月12-14日、招待講演

〔図書〕(計5件)

1. プラズモンナノ材料の最新技術、山田 淳監修、第 2.3 章バイオ関連分野への応用展開、新留琢郎、新留康郎、p81-94、シーエムシー出版、2009
2. 金属ナノ・マイクロ粒子の形状・構造制御

- 技術、米澤 徹 監修、第 8.1 章医療用ナノ材料としての金ナノロッド・バイオイメージングとフォトサーマル治療、新留琢郎、新留康郎、p225-235、シーエムシー出版、2009
3. ナノ粒子の創製と応用展開、米澤 徹編集、第 5 章ナノ粒子のバイオ・医療材料への応用、新留琢郎、フロンティア出版、2008
 4. 遺伝子医学 MOOK 別冊、絵で見てわかるナノ DDS、マテリアルから見た治療・診断・予後・予防、ヘルスケア技術の最先端、原島秀吉、田端泰彦編集、第 3 章 2、新留琢郎、新留康郎、金属ナノ粒子、p208-213、2007
 5. Y. Niidome, T. Niidome, Gold nanorods: application to bioscience and medicine, Nano Biophotonics, Science and Technology, Elsevier, 297-307 (2007)

〔産業財産権〕

出願状況(計7件)

名称：金微粒子被覆体とその製造方法、およびその用途

発明者：新留琢郎、新留康郎、片山佳樹、秋山泰之

権利者：国立大学法人九州大学、大日本塗料株式会社、三菱マテリアル株式会社

種類：特許

番号：特願 2009-217241

出願年月日：2009年9月18日

国内外の別：国内

名称：Diels-Alder 金ナノロッド

発明者：新留琢郎、新留康郎、片山佳樹

権利者：国立大学法人九州大学、大日本塗料株式会社、三菱マテリアル株式会社

種類：特許

番号：特願 2009-198974

出願年月日：2009年8月28日

国内外の別：国内

名称：cRGD ペプチド修飾金ナノロッド

発明者：新留琢郎、新留康郎、森 健、片山佳樹

権利者：国立大学法人九州大学、大日本塗料株式会社、三菱マテリアル株式会社

種類：特許

番号：特願 2008-257675

出願年月日：2008年9月30日

国内外の別：国内

名称：PLL-g-PEG 修飾金ナノロッド

発明者：新留琢郎、新留康郎、森 健、片山佳樹、丸山厚、狩野有宏

権利者：国立大学法人九州大学、三菱マテリアル株式会社、大日本塗料株式会社

種類：特許
番号：特願 2008-222952
出願年月日：2008年8月30日
国内外の別：国内

名称：uPAsub 修飾金ナノロッド
発明者：新留琢郎、新留康郎、大賀 晃、森健、片山佳樹
権利者：国立大学法人九州大学、大日本塗料株式会社、三菱マテリアル株式会社
種類：特許
番号：特願 2008-171300
出願年月日：2008年6月30日
国内外の別：国内

名称：生体の近赤外分光法とその装置
発明者：新留康郎、新留琢郎
権利者：大日本塗料株式会社、三菱マテリアル株式会社、新留康郎、新留琢郎
種類：特許
番号：特願 2008-091675
出願年月日：2007年3月31日
国内外の別：国内

名称：理包微粒子とその調製方法、および用途
発明者：新留琢郎、新留康郎、河野喬仁、森健、片山佳樹
権利者：国立大学法人九州大学、大日本塗料株式会社、三菱マテリアル株式会社
種類：特許
番号：特願 2008-104014
出願年月日：2007年11月29日
国内外の別：国内

取得状況（計0件）

〔その他〕

ホームページ：

<http://www.chem.kyushu-u.ac.jp/~katayama/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

新留 琢郎 (NIIDOME TAKURO)
九州大学・大学院工学研究院・准教授
研究者番号：20264210