

## 科学研究費補助金研究成果報告書

平成 23 年 5 月 20 日現在

機関番号：11401

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2008～2010

課題番号：20390338

研究課題名（和文）磁界印加を引金に薬剤を放出する機能性微粒子を用いた癌治療戦略

研究課題名（英文）Functional Nanoparticles which Release Anticancer Agent by Applying a Magnetic Field

研究代表者

南谷 佳弘（MINAMIYA YOSHIHIRO）

秋田大学・大学院医学系研究科・准教授

研究者番号：30239321

研究成果の概要（和文）：磁性体粒子と温度応答性高分子の複合粒子を作成した。開発した機能性微粒子は交流磁界を印加することにより発熱する。また温度上昇により内部に含有する薬剤を放出する。この粒子を用いて温度上昇により抗がん剤、メトトレキサートを放出する機能性微粒子を開発することに成功した。この粒子は癌に対する温熱化学療法を行う新規抗がん剤として期待される。

研究成果の概要（英文）：We developed functional nanoparticles, combined with thermo-sensitive polymers and magnetite. The functional nanoparticles emit heat when exposed to an AC magnetic field, causing them to release drugs. We have utilized these functional nanoparticles to administer methotrexate, an anti-cancer agent, making them ideal candidates for cancer thermo-chemotherapy.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	4,700,000	1,410,000	6,110,000
2009年度	5,100,000	1,530,000	6,630,000
2010年度	4,900,000	1,470,000	6,370,000
総計	14,700,000	4,410,000	19,110,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・胸部外科学

キーワード：ナノテクノロジー，抗がん剤，機能性微粒子，癌，磁性体，高分子化合物

### 1. 研究開始当初の背景

外科療法を含めて現在行われている癌に対する治療は，癌のみではなく正常組織にも障害を及ぼす．この点を克服するために多くの研究が行われている．しかし満足に行く方法は開発されていない．一方，ナノテクノロジーなど工学系の進歩とともに，様々な付加価値を持ったナノメートルサイズの機能性微粒子が開発されている．そしてそれらの臨床応用を目指した研究が盛んに行われている．

### 2. 研究の目的

本研究の目的は，機能性微粒子を用いて，癌細胞のみに働き，正常細胞を傷つけない治療法を開発することである．しかし申請した期間内に目的をすべて達成することは不可能なので，この研究期間ではリンパ節転移への応用，塞栓温熱化学療法への応用，機能性ナノ微粒子のリンパ球への導入などを目指して段階的に機能性微粒子を用いた癌治療の可能性を追求することを目的とした．

### 3. 研究の方法

(1) 磁性体粒子と温度応答性高分子 poly N-isopropylacrylamide (NIPAM) との複合粒子 (poly NIPAM 磁性体複合粒子) の創製  
親水性モノマー NIPAM (N-isopropylacrylamide) と疎水性モノマー Glycidyl methacrylate (GMA) の仕込み組成を変化させ，ソープフリー乳化共重合法により，温度応答性を有する粒子 (NG 粒子) を作製した．NG 粒子の GMA のエポキシ基を利用し

て，3-mercapto-1-propane sulfonic acid sodium salt (MPSA) のチオール基の求核反応により NG 粒子にスルホン基を導入し，MPSA 粒子を作製した．MPSA 粒子中のスルホン基を利用して，静電引力で鉄イオンを粒子内に導入し，アルカリ処理することで磁性体粒子を in situ 合成し，poly NIPAM 磁性体複合粒子を作製した．作製した poly NIPAM 磁性体複合粒子の磁場印加時の発熱特性を検討した．

#### (2) poly NIPAM 磁性体複合粒子の薬物吸着挙動解析

poly NIPAM 磁性体複合粒子の交流磁場を物理的的刺激とした薬物放出ができるようなドラッグデリバリーシステム用担体としての応用を見据え，複合粒子への薬物吸着挙動を解析することとした．本研究では多くの研究で薬物モデルとして用いられている定量が簡便な染料を用いた．

#### (3) poly NIPAM 磁性体複合粒子の抗がん剤吸着挙動解析

温度変化に伴う抗がん剤の MPSA 粒子への吸着を検討した．抗がん剤としてメルファラン，ビンクリスチン，ドキソルビシン，メトトレキセートを用いた．

### 4. 研究成果

(1) 磁性体粒子と温度応答性高分子 poly NIPAM との複合粒子の創製  
Poly NIPAM シェル/poly GMA コアを有するマイクロゲルを用い，磁性体であるマグネタイ

トの in situ 合成の反応場を poly GMA コアとすることで、磁性体をコア部に含有する poly NIPAM 磁性体複合粒子を作製することができた (図 1)。

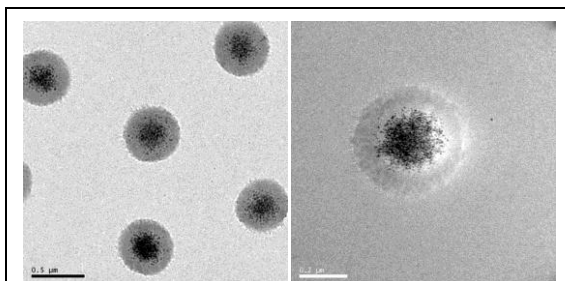


図 1. poly NIPAM 磁性体複合粒子電子顕微鏡写真

各段階での粒子は動的光散乱法による粒径測定によって温度応答性を有していることを確認した (図 2)。また、元素分析により MPSA 粒子のスルホン基導入量を、熱重量測定により poly NIPAM 磁性体複合粒子の磁性体含有量について定量を行った。さらに、マグネタイトの特徴である交流磁場による発熱特性を複合粒子が有していることを、複合粒子を含むラテックスに交流磁場を印可することで確認した。

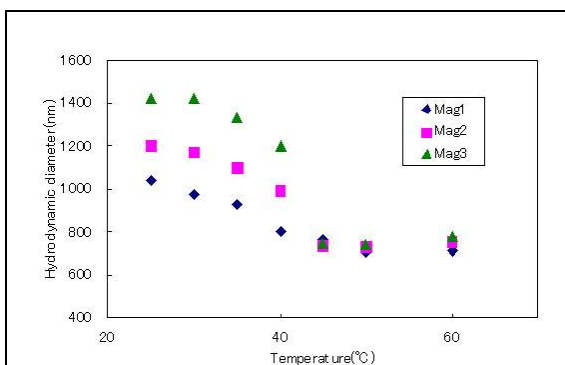


図 2. 温度を上昇に伴い粒子径が縮小。

そして交流磁場下において、poly NIPAM 磁性体複合粒子は 5.5°C の温度上昇があり、発熱特性を有していることが確認された (図 3)。

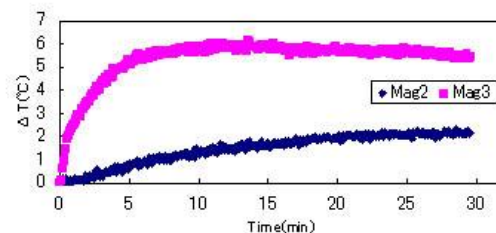


図 3. 磁場印加による粒子温度の変化。

## (2) poly NIPAM 磁性体複合粒子の薬物吸着挙動解析

Methylene Blue 2<sup>~</sup>3hydrate (MB) および Rhodamine 6G (R6G), アニオン性染料として Erythrosine、両性染料として Rhodamine B (RB) を用いた。これらの染料を用いた吸着実験では、poly NIPAM 磁性体複合粒子内に存在するスルホン基由来の負電荷に起因した静電相互作用が大きな鍵となることが確認された。また、ノニオン性薬剤である 4-Hydroxyphenyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside (Arbutin) についても同様の吸着実験を行い、その挙動について検討を行った。さらに、先に行った静電相互作用が見られた染料吸着において、塩を加えた系でも同様に吸着実験を行った。複合粒子内のスルホン基が遮蔽されることにより、吸着に起因する因子が静電相互作用だけでなく、poly NIPAM の親疎水性も影響することが示唆された。MB を用いた系では、昇温によりその吸着量が減少していることが分かる。つまり、昇温での染料の放出が示唆され、また可逆性も有していることから、この複合粒子は特定の塩濃度におけるカチオン性・親水性の薬剤について、交流磁場による磁性体の発熱→複合粒子の温度上昇→薬剤の放出という挙動を繰り返し行うことができるドラッグデリバリーシステム担体としての応用も期待される

(図4).

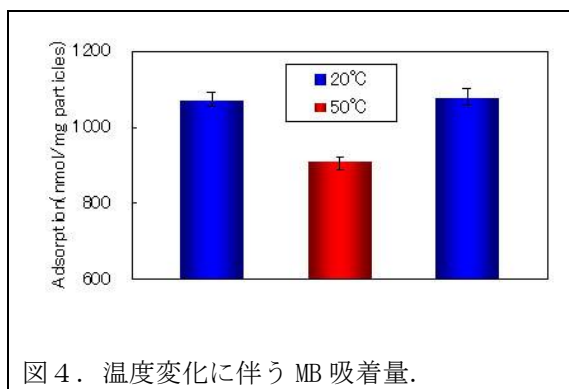


図4. 温度変化に伴う MB 吸着量.

R6G を用いた系では、降温によりその吸着量が減少している (図5). 先の親水性の染料とは異なり、昇温による染料の放出の抑制が示唆され、また可逆性も有していることから、本研究のコンセプトとは異なるが、この複合粒子は特定の塩濃度におけるカチオン性・疎水性の薬剤について、交流磁場による磁性体の発熱→複合粒子の温度上昇→薬剤の放出抑制という挙動を繰り返し行うことができるドラッグデリバリーシステム担体としての応用が期待される。

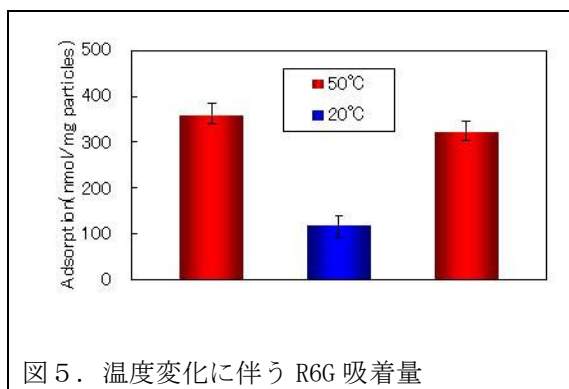


図5. 温度変化に伴う R6G 吸着量

### (3) 磁性体包含 poly NIPAM 粒子の抗がん剤吸着挙動解析

磁場印加による温度上昇は認められた (図3) もの、印加する磁場を得るには特殊な設備が必要であることがわかったため、内部に磁性体粒子を含有しない MPSA 粒子に抗がん剤を含有させ、外部から加温する方式に切り替

えることとした。MPSA 粒子に抗がん剤としてメルファラン、ビンクリスチン、ドキソルビシン、メトトレキサートで検討した。メルファラン、ビンクリスチンは全く MPSA 粒子に吸着されなかったが、ドキソルビシン、メトトレキサート (MTX) は MPSA 粒子に吸着された。

図6は温度変化に伴う MTX の MPSA 粒子への吸着量を示している。高温になると MTX の吸着量が減り、当初の目的であった温熱に伴って抗がん剤放出する粒子が作成されたことが確認された。

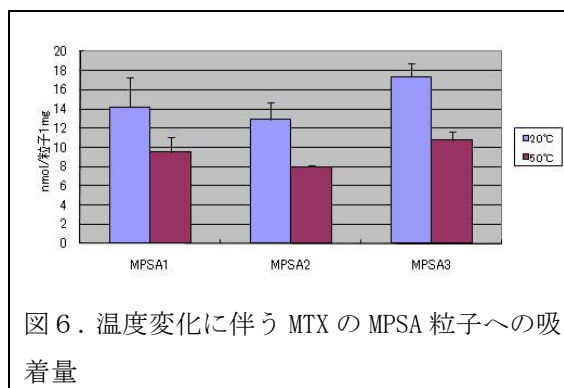


図6. 温度変化に伴う MTX の MPSA 粒子への吸着量

温度変化による薬剤放出機能を有した機能性ナノ微粒子は国内外を問わず、初めて達成された成果である。今後は含有する磁性体量を検討して、簡便な磁場印加装置で薬剤が放出される粒子を開発する方向性と、磁性体を含まない MPSA 粒子と同時に発熱効率の高い磁性粒子を注入する方式で研究を展開したい。

## 5. 研究組織

### (1) 研究代表者

南谷 佳弘 (MINAMIYA YOSHIHIRO)

秋田大学・大学院医学系研究科・准教授

研究者番号：30239321

### (2) 研究分担者

小川 純一 (OGAWA JUNICHI)

秋田大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：20112774

齋藤 元 (SAITO HAJIME)

秋田大学・医学部・講師

研究者番号：20323149

澤田 賢一 (SAWADA KENICHI)

秋田大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：90226069

(3) 連携研究者

川口 春馬 (KAWAGUCHI HARUMA)

慶應義塾大学・理工学部・教授

研究者番号：30051808

上田 智章 (UEDA TOMOAKI)

東京工業大学・統合研究院・教授

研究者番号：50456258

(4) 研究協力者

伊井 智明 (II TOMOAKI)

慶應義塾大学・理工学部・川口研究室学生

現花王テクノケミカル研究センター

小森 知世 (KOMORI CHIYO)

秋田大学医学部附属病院・薬剤部・研究員