

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年4月20日現在

機関番号：16301

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21510116

研究課題名（和文） 外部エネルギーと分子標的を認識する磁性ナノ粒子を用いた新たな低侵襲癌治療法の開発

研究課題名（英文） Development of a novel minimally invasive treatment of cancer using magnetic nanoparticles to recognize molecular target and energy

研究代表者

渡部 祐司（WATANABE YUJI）

愛媛大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：20210958

研究成果の概要（和文）：

ヒト乳がん細胞（BT474, SKBr3）をヌードマウス大腿筋膜下に移植し腫瘍モデルとした。リポソームは100nm以下に安定して調整でき、表面にHerceptin(whole antibody)を結合させ、内部に抗癌剤（疎水性）を安定して封入でき、発熱磁性体（FeFe204）を脂質二重膜間に封入することができた。温熱・化学・抗体同時療法を行った群では、腫瘍縮小効果のみならず生存率にも有意差を認め、転移リンパ節への治療効果も認められた。以上より、予定した研究目的は達成できたと判断した。

研究成果の概要（英文）：

Tumor model was achieved by implantation of human breast cancer cell line (BT474, SKBr3) under the fascia of the lower leg of nude mouse. Liposomes bound to antibody could be adjusted and kept stable below 100nm in diameter contained anticancer drugs inside, sealed between lipid bilayer (FeFe204) magnetite. In the group given antibody, chemical and thermal, such systemic therapy showed not only a reduction in tumor size but also a therapeutic effect against the lymph node metastases. As described above, the planned research purposes could be achieved.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	2,700,000	810,000	3,510,000
2010年度	700,000	210,000	910,000
2011年度	300,000	90,000	390,000
年度			
年度			
総計	3,700,000	1,110,000	4,810,000

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：ナノ・マイクロ科学・ナノ材料・ナノバイオサイエンス

キーワード：誘導加熱、温熱療法、モノクロナール抗体、DDS、リポソーム

## 1. 研究開始当初の背景

癌治療において、集学的治療法の有用性が徐々に蓄積されつつあるが、化学療法と温熱療法を同時に行う複合的治療法の研究はあ

まりなされていない。更に、温熱療法のなかでも癌選択的治療法の検討は皆無に近い。ピンポイントで癌組織を温熱治療することは技術的に困難であるため、温熱療法の有用性

は予想されても複合的治療法の研究に繋がらなかったものと思われる。我々は、以前から発熱磁性体に対する誘導加熱療法により有効な温熱治療ができることを報告してきたが、抗腫瘍モノクローナルをナノリポソーム表面に結合させ、発熱磁性体と抗癌剤を同時包埋し、癌組織にて誘導加熱することでその抗腫瘍効果を検討できると考えた。

## 2. 研究の目的

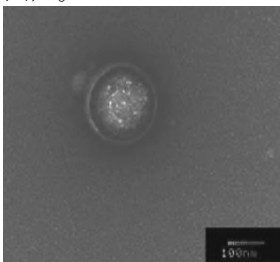
生体適合性の高い発熱磁性体と抗癌剤を抗腫瘍モノクローナル抗体結合リポソームに包埋し、誘導加熱印加による温熱化学療法の可能性をin vivoにて検討した。ヒト乳がん細胞 (BT474, SKBr3) をヌードマウス大腿筋膜下に移植し10mm径を超えた時点で実験開始した。



発熱磁性体に対する誘導加熱が、化学療法と相乗・相加効果を発揮し、それぞれの欠点を補うことで有効な抗腫瘍効果を得られることを期待したものである。更に、腫瘍選択性と抗体自体による制癌効果も併せて検討することを目的とした。

## 3. 研究の方法

リポソームは100nm以下に安定して調整でき、表面にHerceptin(whole antibody)を結合させ、内部に抗癌剤(疎水性)を安定して封入でき、発熱磁性体(FeFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>)を脂質二重膜間に封入することができた(下図)。まずは、備品購入した蛍光顕微鏡により、蛍光標識リポソームがリンパ行性に移動することが経時的に観察できた。つぎに、蛍光観察したリンパ節を摘出し、腫瘍細胞がリンパ行性に移行していることを確認し、同リンパ節の鉄染色にて磁性体が確実に移行していることから、本研究手法は確立されたと判断した(下右図)。



組織内ドセタキセル濃度を測定し、十分量がデリバリーされていることも確認した。

誘導加熱および化学療法によりアポトーシスに至った腫瘍からは蛍光色素の排出が遅れることが確認されたが、蛍光顕微鏡下では健康組織と腫瘍組織の境界が明瞭に描出され、治療効果判定に本法が適していることも確認された。尚、既に確認されていたことではあるが、腫瘍表面温度は42.5°Cで推移し、マウス直腸温は37°C程度で推移し、腫瘍選択的に温熱療法が安全に行われていることを、サーモグラフィーおよび光ファイバー温度計で確認した。

## 4. 研究成果

温熱・化学・抗体同時療法を行った群では、腫瘍縮小効果のみならず生存率にも有意差を認め、原発巣と考えられる移植腫瘍から転移したリンパ節への治療効果が全身治療に繋がったと推測され、本法の局所治療としての意義に加え、全身治療の可能性も示唆された。従来、腫瘍縮小効果を認めた研究はあったが、抗体付加リポソーム温熱、化学療法の組み合わせにより、生存率の上昇を認めたことは、局所治療のみならず、全身治療としての本法の有用性を証明することができた初めての成果であると考えられる。

以上より、予定した研究目的は達成できたと判断した。

## 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 12 件)

- ① H. Aono, T. Naohara, Y. Watanabe  
Heat Generation Ability in AC Magnetic Field and Their Computer Simulation for Ti Tube Filled with Ferrite Powder  
Journal of Magnetism and Magnetic Materials 査読有、323、2011、 88-93
- ② Y. Yamamoto, Y. Watanabe  
Feasibility of tailored, selective and effective anticancer chemotherapy by direct injection of docetaxel-loaded immunoliposomes into Her2/neu positive gastric tumor xenografts  
International Journal of Oncology 査読有 38, 2011、 33-39
- ③ H. Aono, T. Naohara, Y. Watanabe  
Heat generation ability in AC magnetic field of nano MgFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>-based ferrite powder

- prepared by bead milling  
Journal of Magnetism and Magnetic Materials 査読有、323、2011、675-680
- ④ H. Aono, T. Naohara, Y. Watanabe  
New Heat Generation Material in AC Magnetic Field for Y3Fe5O12-based Powder Material Synthesized by Reverse Coprecipitation Method Materials Letters 査読有、65、2011、1454-1456
- ⑤ T. Naohara, H. Aono, Y. Watanabe  
Effect of bead milling on heat generation ability in AC magnetic field of FeFe2O4 powder Materials Chemistry and Physics 査読有、129、2011、1081-1088
- ⑥ Aono, T. Naohara, Y. Watanabe  
High heat generation ability in AC magnetic field for Y3Fe5O12 powder prepared using bead milling. Journal of the American Ceramic Society 査読有、94、2011、4116-4119
- ⑦ Aono, T. Naohara, Y. Watanabe  
Heat generation ability in AC magnetic field of needle-type Ti-coated mild steel for ablation cancer therapy. The International Journal for Computation and Mathematics in Electrical and Electronic Engineering 査読有、30、2011、1582-1588
- ⑧ T. Naohara, H. Aono, Y. Watanabe  
Heat generation ability in AC magnetic field of needle-type Ti-coated mild steel for ablation cancer therapy. Proc. of International Symposium on Heating by Electromagnetic Sources 査読有、2010、507-511
- ⑨ T. Naohara, H. Aono, Y. Watanabe  
Heat Generation Ability in AC Magnetic Field of Nano Sized Ferrite Powder Prepared by Physical Bead Milling for Thermal Coagulation Therapy. Proc. of International Symposium on Heating by Electromagnetic

Sources. 査読有、2010、483-489

- ⑩ H. Aono, T. Naohara, Y. Watanabe  
High heat generation ability in AC magnetic field for Y3Fe5O12 powder prepared using bead milling. 査読有、J. Ceram. Soc. Jpn. 118, 2010, 384-386

- ⑪ 猶原 隆、渡部祐司  
子宮頸癌における誘導加熱治療法の検討  
生体医工学 査読有、47、2010、535-540

[学会発表] (計 2 件)

- ① 渡部祐司  
磁性体・抗癌剤同時包埋リポソームを用いた温熱化学療法と抗癌剤包埋免疫リポソームの有用性の検討-ヒト胃癌マウス皮下腫瘍モデルに対する癌局所治療の検討-  
第 27 回日本 DDS 学会シンポジウム  
2011.6 月 9-10 日
- ② 渡部祐司  
ナノテクノロジーと物理エネルギーを融合したハイブリッド標的的化学診断・治療  
第 50 回日本生体医工学会オーガナイズドセッション 2011. 4. 29

[図書] (計 1 件)

- ① 渡部祐司  
ハイパーサーミア癌温熱療法装置  
臨床工学講座 医用治療機器学  
医歯薬出版株式会社  
2011、

[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

6. 研究組織

(1) 研究代表者

渡部 祐司 (WATANABE YUJI)  
愛媛大学・大学院医学系研究科・教授  
研究者番号：20210958

(2) 研究分担者

猶原 隆 (NAOHARA TAKASHI)  
愛媛大学・理工学研究科・准教授  
研究者番号：50093935

前原 常弘 (MAEHARA TSUNEHIRO)  
愛媛大学・理工学研究科・教授  
研究者番号：40274302

青野 宏通 (AONO HIROMICHI)  
愛媛大学・理工学研究科・准教授  
研究者番号：00184052