

機関番号：32660

研究種目：若手B

研究期間：2010 ～ 2011

課題番号：22700479

研究課題名（和文）温熱治療応用を目的とした金銀コアシェルナノロッドの作製

研究課題名（英文） Development of Au-Ag nanorods for application of hyperthermic treatment

研究代表者 沓沢 好一 (KUTSUZAWA KOICHI)

東京理科大学・総合研究機構・ポストドクトラル研究員

研究者番号：90572066

研究成果の概要（和文）：ナノテクノロジーは様々な分野で用いられている有効な技術である。特に、ナノマテリアルは診断、イメージングツール、治療のアプリケーションとしての利点を有している。金ナノ材料（金コロイドと金ナノロッド）は現在バイオテクノロジーとしてのイメージングツールや癌治療として注目されている。我々は、金ナノ粒子の癌治療への応用を検討している。そのため、はじめに界面化学技術を用い金ナノ粒子の安定化のため、生物、化学機能材料のポリマー合成の研究を行うことで、新しい分散剤を開発した。この分散剤（PEG-g-Py）はタンパク質非特異的吸着を抑制するポリエチレングリコール（PEG）とピリジン（Py）からなるコポリマーで金ナノロッドの安定性を維持するために利用されている。その上、金ナノロッドは熱変換効特性を持っている特徴を利用し、新しい分散剤の技術を組み合わせることで、我々は癌の温熱療法のための金銀コアシェルナノロッドを開発した。このナノロッドは、熱変換効率を高めるため金ナノロッドの周りに銀の薄膜をコートしたナノ粒子である。我々は PEG-g-Py でコートされた金銀コアシェルナノロッドの新規特性の研究を行った。さらに PEG-g-Py をコートした金銀コアシェルナノロッドの癌温熱療法へ適用できることを確認した。

研究成果の概要（英文）：Nanotechnology is useful tools for various fields. In particular, nanomaterials have advantage in application of diagnostic, imaging tools and therapeutic tools. Gold nanomaterials, gold colloid and gold nanorods, now were focused on imaging tool of biotechnology and cancer therapy. We have researched polymer synthesis of bio- and chemical- functional materials and developed new dispersing agent to stabilize gold nanoparticles. This dispersing agent which PEG-g-Py Graft copolymer made from pyridine and poly (ethylene glycol) (PEG) as protein adsorption-resistant pendant chains was used to stabilize gold nanorods. Moreover gold nanorods have potential of photothermal conversion property. We developed Silver thin layer coated gold nanorods (PEG-g-Py coated Gold-Silver nanorods) to increase the photothermal conversion efficiency for cancer photothermal therapy. We researched new materials characterization of PEG-g-Py coated Gold-Silver nanorods. We confirmed that PEG-g-Py coated Gold-Silver nanordos could apply cancer photothermal therapy.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
22年度	2,200,000	660,000	2,860,000
23年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

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：ナノバイオロジー・ナノメディスン

1. 研究開始当初の背景

癌は国内の死亡原因第一位の病気であり、これを解決するため様々な治療法が開発されている。中でもナノ粒子を用いた手法は最近注目されている。現在の抗癌剤単独での治療では、腫瘍への抗癌剤の蓄積が少ないことや副作用の問題がある、これを補う方法として糖などの天然高分子や合成高分子、高分子ミセルなどを用いて薬物を体内に導入する方法がある。抗癌剤を高分子でコートすることにより、薬剤を保護することができることや、癌組織に適切に導入、集積化することができるメリットがある。しかし、抗癌剤を使用することは少なからず、副作用を生じる可能性がある。高分子ミセルを用いた癌治療は日本で臨床研究が始まり研究が推進されているが、まだ一般的な治療の段階までは至っていない。抗癌剤とナノ粒子を用いる治療法では抗癌剤の知見とナノ粒子の知見という2つの段階で研究を推進する必要がある、実用化までの開発労力が大きい。このような背景のもと、現在の治療法と並行して新たな癌治療の方法を開発することは急務であり、生体内でも安全なものを用いて治療する方法を開発する必要がある。

抗癌剤を使用しない癌治療として最近注目されている方法が金ナノロッドを用いた癌の温熱療法である。金ナノロッドは棒状の形をした金ナノ粒子であり、ロッドの長さを調節することで吸収波長を自在に調節できるという特徴を有する。金ナノロッドが生体組織への透過性が高い近赤外に吸収をもつ特性を活かし、ナノサイズまで小さくした金ロッドを生体内に導入し、熱に変換することにより癌細胞を治療する方法である。抗癌剤を使用しないことや、ナノロッド表面はタンパク質を修飾することや化学修飾が容易にできるため、温熱効果を利用した抗癌剤のみならずバイオイメージングなどにも応用可能である。しかし、癌の温熱療法に使用する際に金ナノロッドでは熱変換効率が悪いので、実際に生体で応用可能であるか検討しなければならない。つまり、さらなる熱変換効率の向上が求められる。

2. 研究の目的

貴金属ナノ粒子である金ナノロッドは長さを調節することで近赤外領域に高い吸収をもたせることができる機能性材料である。我々は界面化学技術を用いることで金ナノロッドに熱変換効率の高い銀をコートした金銀コアシェルナノロッドを開発すること

が目的である。さらに PEG を主成分とする独自の分散剤で修飾することによって生体内での分散安定性が増加、近赤外光照射による熱変換効率の上昇、いずれにおいても従来型ナノロッドをしのぐ粒子を達成する。このナノ粒子を開発し、培養細胞に対して金銀コアシェルナノロッドの安全性の確認と癌細胞での温熱療法を行う予定である。本研究が開発されることにより、抗癌剤を用いることのない新たな癌治療法が確立されることが期待される。

3. 研究の方法

本研究は界面活性剤である CTAB 存在下で金ナノロッドを作製することからはじまる。金ナノロッドを作製後、金ナノロッドを遠心分離することにより CTAB を取り除き、PEG-g-Py を加えることで金ナノロッドに PEG-g-Py をコートする予定である。その後、銀をデポジットさせることで銀をコートした金銀コアシェルナノロッドを作製する。PEG-g-Py をコートした金銀コアシェルナノロッドは作製後に、粒子の安定性、顕微鏡観察により物性評価を行った。

物性評価後、近赤外光照射による温度応答変化を解析し、培養細胞へ金銀コアシェルナノロッドの投与を行った。さらに培養細胞でのタンパク質の変化と安全性の確認するため、細胞毒性実験を行い、癌細胞に対する抗腫瘍効果を解析した。

4. 研究成果

本研究の目的は、温熱療法に応用可能な金銀コアシェルナノロッドを作製することである。金銀コアシェルナノロッドを作製する手順として、①金ナノロッドを作製する。②次に当研究室で開発された分散安定剤を金ナノロッドにコートする。③最後に銀を金ナノロッドにコートすることで金銀コアシェルナノロッドを作製する。以上の手順が必要になる。①ナノロッドはすでに報告されている手法を参考にし、界面活性剤である CTAB を使用することで作製できることを確認した。作製した金ナノロッドの吸収波長を確認しつつ、作製時に最適な条件を検討した。②作製した金ナノロッドに当研究室で開発された分散安定剤である PEG-g-Py をコートすることで、分散安定性のよい金ナノロッドが作製できることを確認した。③PEG-g-Py をコートした金ナノロッドに銀をデポジットさせる量を条件検討することで、金銀コアシェルナノロッドを作製することに成功した。電子

顕微鏡による形状観察、粒子の安定性を解析することにより物性評価を行った。

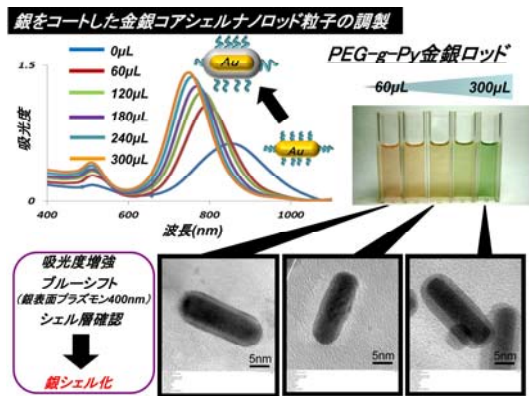


Fig.1 銀をコートした金銀コアシェルナノロッドの粒子の調製

Fig.1 から我々は金銀コアシェルナノロッドの調製に成功したことを確認した。吸光度の最大吸収波長が金ナノロッドより、ブルーシフトし銀がコートされていることが確認された。TEM 画像からは、金ナノロッドの周りに銀の薄膜がコートされていることが観察された。以上のことから、金銀コアシェルナノロッドが作製されたことが明らかとなった。

金銀コアシェルナノロッドの作製が確認されたので、粒子のフォトサーマル効果について検討した。

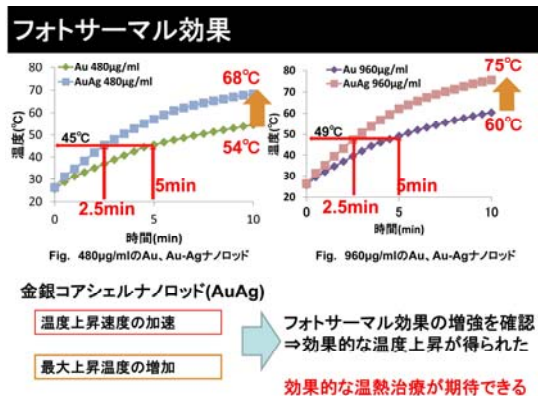


Fig.2 金銀コアシェルナノロッドのフォトサーマル効果

フォトサーマル効果を確認する際に使用する吸収波長は 800 nm の波長を用いた。この波長の近赤外光は「生体の窓」と呼ばれ、生体に対して、光が透過する性質をもつ。この特性は、金銀コアシェルナノロッドを癌の温熱療法に利用するのに都合がよい。そのため、金銀コアシェルナノロッドに対し、800 nm の波長の光をあて、フォトサーマル効果がみられるのか確認した。フォトサーマル実験では、

金ナノロッドと比較して、金銀コアシェルナノロッドでは温度上昇がみられた。さらに温度上昇も金ナノロッドより金銀コアシェルナノロッド用いると、濃度が上昇し温熱効果も向上していることが確認された。

温度上昇効果を確認後に培養細胞で安全性を確認することを行った。実験段階として、以下のようにいくつかにおいて確認した。

(i) レーザーを用いて近赤外光を細胞へ照射することにより細胞の影響を検討した。実際に用いるレーザー強度を検討する必要がある、近赤外光を照射することで細胞に対して影響がないことを確認した。ナノロッドにレーザーを当てない状態では、細胞に毒性が現れないことが確認された。あわせて、レーザー自体には影響がないことを確認した。

金銀コアシェルナノロッドの作製と安全性について確認することができた。

金銀コアシェルナノロッドによる細胞障害活性

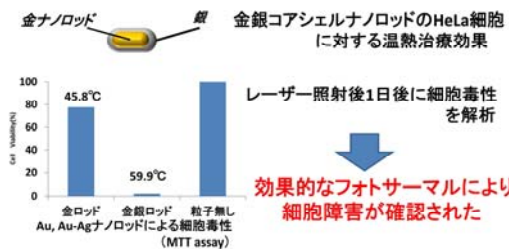


Fig.3 金銀コアシェルナノロッドの細胞障害活性

金銀コアシェルナノロッドの温熱効果による細胞毒性を確認することができた。今後は、生体内へ金銀コアシェルナノロッドを投与し、生体内での安全性と生体内分布を解析する。さらに胆癌マウスを作製し、生体内に金銀コアシェルナノロッドを投与し、癌組織に集積することを確認する。最後に癌組織に集積した金銀コアシェルナノロッドにレーザーを当てることで、フォトサーマル効果が発揮されるのかを解析する予定である。

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 0 件)

[学会発表] (計 6 件)

・査沢好二, 黒沢俊彦, 大塚英典 「Py-g-PEG で安定化された金銀コアシェルナノロッドの開発と癌温熱療法への応用」日本化学会第 91 春季年会 横浜 2011 年 3 月 26 日～3 月 29 日

・杓沢 好一, 黒沢 俊彦, 村松 佑紀, 大塚英典 「生体親和性分散剤で保護された金銀コアシェルナノロッドの開発と癌温熱療法への応用」 色材コンファレンス 2011 東京 2011年11月15～11月16日

・村松佑紀, 高橋理一, 黒沢俊彦, 杓沢好一, 大塚英典 「金銀コアシェルナノロッドの表面荷電制御による細胞取り込み能の検討」 第20回ポリマー材料フォーラム 東京 2011年11月24日～11月25日

・Kutsuzawa Koichi, Kurosawa Toshihiko, Otsuka Hidenori

Development of Py-g-PEG stabilized Silver on Gold core/shell nanorods and application for cancer thermal therapy 3rd Indo-Japanese International Joint Symposium on Overcoming Intractable Infectious Diseases

・ 黒沢 俊彦, 杓沢 好一, 大塚英典 「コアシェルナノロッドの合成と光学/分散特性」 2010年度色材研究発表会 東京 2010年11月4～5日

・ 黒沢 俊彦, 杓沢 好一, 大塚 英典 「Py-g-PEG で保護された金銀コアシェルナノロッドの作成とDDS への展開」 第59回高分子学会年次大会 横浜 2010年5月26日～28日

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計1件)

名称: 金-銀コアシェルナノロッド粒子及びその製造方法

発明者: 大塚英典, 杓沢好一

権利者: 東京理科大学

種類: 特許

番号: JPN2010-072288

出願年月日: 2010年12月10日

国内外の別: 外国

○取得状況(計0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

杓沢 好一 (KUTSUZAWA KOICHI)

東京理科大学・総合研究機構・ポストドクトラル研究員

研究者番号: 90572066

(2) 研究分担者

()

研究者番号:

(3) 連携研究者

()

研究者番号: