

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 21 日現在

機関番号：15501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2016

課題番号：25350530

研究課題名(和文)多戦略治療と診断の一体化を可能とするマルチ・セラノステックナノ粒子の創製

研究課題名(英文)Creation of multi-theranostics nanoparticle for multi-strategic therpnosis

研究代表者

中村 教泰 (NAKAMURA, Michihiro)

山口大学・医学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：10314858

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：申請者が開発した有機シリカ粒子は多機能化能に優れており、マルチモーダルイメージングなどに応用可能な新規な多機能イメージングプローブの開発に成功している。本研究では有機シリカ粒子に薬理効果を付加し、診断と治療の一体化が可能となるセラノステック粒子の作製を行った。一つの粒子に機序の異なる複数の薬理効果を付加し多戦略治療を可能とするマルチ・セラノステック粒子の作製に成功した。マルチ・セラノステック有機シリカナノ粒子は一細胞イメージングによる細胞障害活性の評価が可能であり、腫瘍細胞への効果が確認できた。さらに、治療法を検討し、腫瘍移植マウスに対して粒子の集積の改善と治療効果の発現が確認できた。

研究成果の概要(英文)：We developed novel type of silica nanoparticles, organosilica nanoparticles that are both structurally and functionally different from typical ones and have advantages for multifunctionalization. We have prepared multifunctionalized organosilica nanoparticles for multimodal imaging. In this study we prepared theranostic organosilica nanoparticles enable to combine diagnostics and therapy. We could theranostic organosilica nanoparticles with various pharmacological effects. Multi-theranostic organosilica nanoparticles showed cytotoxic activity on single cell imaging. Improved accumulation of multi-theranostics organosilica nanoparticles in tumor tissue were confirmed using near-infrared in vivo imaging. Furthermore multi-theranostics organosilica nanoparticles revealed therapeutic effects using tumor-bearing mice.

研究分野：ナノ医療

キーワード：有機シリカ粒子 セラノステックス 光線力学療法 磁場温熱療法 光線温熱療法 診断と治療の一体化 マルチモーダルイメージング ナノ医療

1. 研究開始当初の背景

申請者らはシランカップリング剤を唯一の材料として合成される「有機シリカ粒子」を発明した。この粒子は作製した時点で内部および表面に有機成分を含む有機無機ハイブリット粒子となっている。蛍光色素など機能性物質を内包する内部機能化や、抗体による表面機能化など多機能性に優れている。

さらに機能性ナノ粒子と有機シリカ粒子を融合させた「有機シリカ多機能ナノ粒子」の開発に成功した。これは機能性粒子(量子ドット、金粒子、磁性体粒子など)の表面を有機シリカで層状に被覆し、多機能ナノ粒子としたものである。粒子は核となる機能性ナノ粒子の固有の機能と有機シリカ粒子の優れた内部・表面機能化の融合を実現している。加えて粒子内に含有させた機能性物質は新機能を発現することも見出ししている。これら特性を活用して様々なイメージングプローブの開発を進めている。さらに蛍光イメージングとX線CT、MRI (Magnetic resonance imaging) など複数の機能の一体化によるマルチモーダルイメージングプローブとしての開発に成功した。

これらの研究成果を踏まえ、本研究ではマルチモーダルイメージングが可能な多機能有機シリカナノ粒子に薬理効果を付加し、“診断と治療の一体化(セラノスティクス)”が可能な粒子を作製した。さらに一つの粒子で複数の薬理効果を持つ“マルチ・セラノスティック粒子”の創製への展開を行った。

2. 研究の目的

有機シリカナノ粒子に薬理効果を付加し、診断と治療の一体化が可能なセラノスティック粒子の作製を目標とする。さらに一つの粒子に機序の異なる複数の薬理効果を付加し多戦略治療を可能とするマルチ・セラノスティック粒子へと発展させる。有機シリカ粒子特有の分子構造を活用して薬理効果のユニークな付加技術を開発する。マルチモーダルイメージングと複数の薬理効果の発現が可能なマルチ・セラノスティック有機シリカナノ粒子の創製を行い、患者に優しい革新的治療や新規な研究技術の開発を目指す。

3. 研究の方法

まず一つの薬理効果を持つモノ・セラノスティック粒子の開発を進めた。有機シリカ粒子に対して光線力学的治療効果、磁場温熱治療効果、その他、有機シリカ粒子の分子構造を利用した応答性薬剤放出機構や金ナノ粒子による薬理効果の付加を検討し、その最適化を行なった。薬理効果は培養細胞や腫瘍移植マウスを用いて評価した。次にマルチ・セラノスティック粒子の開発を開始した。光線力学的治療効果と磁場温熱治療効果などの二種の薬理効果を一体化したマルチ・セラノスティック粒子の開発・評価を行った。さらに他の薬理効果の付加を行い高度なマル

チ・セラノスティック粒子の開発を行った。培養細胞や腫瘍移植マウスを用いてマルチ・セラノスティクスの有効性を実証した。

4. 研究成果

モノ・セラノスティック粒子の開発を進め、多機能有機シリカ粒子に対して光線力学的治療効果、磁場温熱治療効果、応答性薬剤放出機構や金ナノ粒子による各薬理効果の単独の付加について有効な成果が得られた。光線力学的治療効果の付加にて光増感剤を内部や表面に結合させた多種の有機シリカ粒子を作製し検討を行った。その結果、570 nm, 620 nm, 710 nm の励起光、すなわち可視光から近赤外光までの広い波長域の励起光にて細胞障害を発揮し得る粒子の作製に成功した。また細胞障害において一細胞に対してリアルタイムで評価する方法も確立することができた。その結果、短時間の光照射で細胞死に至る細胞、また極めて低濃度の粒子においても細胞死に至る細胞が観察できた(図1)。光線力学的効果の強い粒子の作製に成功したと共に一細胞レベルの新しい評価法も確立することができた。

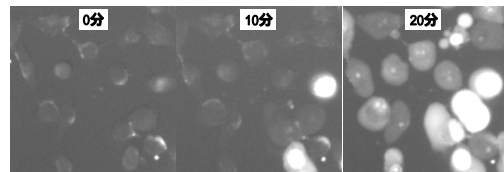


図1. 粒子による培養細胞の殺傷。薬剤放出と光温熱効果によって全ての細胞が死滅した。(プロピジウムヨードを用いて死傷した細胞の核は強い蛍光を示している。)

磁場温熱治療効果の付加では、粒子の表面に磁性粒子を配置させるなど、新しい構造の粒子の開発に成功した。金ナノ粒子による効果について光温熱治療効果と放射線増感効果の検討も培養細胞に対して粒子の取り込みの検討から行なうことができた。さらに多種の抗がん剤について有機シリカ粒子への含有と応答性薬剤放出機構について検討を行い、培養細胞を用いて抗がん剤の放出と薬理効果の発現を確認した。

モノ・セラノスティック粒子の開発における成果をもとに多種の薬理効果を持つマルチ・セラノスティック粒子の開発を行った。光線力学的治療効果、光線温熱治療効果、磁場温熱治療効果、応答性薬剤放出による薬理効果の付加について機能的、構造的な観点から検討し作製した。複数の薬理効果を発揮できると共にマルチモーダルイメージングが可能な粒子の作製に成功した(図2)。作製した粒子を用いて培養細胞と腫瘍移植マウスを用いた実験を行った。in vitro における一細胞イメージングと解析により有効性を認めた。さらに in vivo においては粒子の投与方法を検討することにより粒子の腫瘍部位での集積性の向上を近赤外蛍光生体イメージ

ングで確認することができた。さらに近赤外光線を用いた光線力学的効果と光線温熱効果、さらには抗がん剤のリリースによるマルチ・セラノスティック粒子の多戦略治療効果の有効性を認めた。

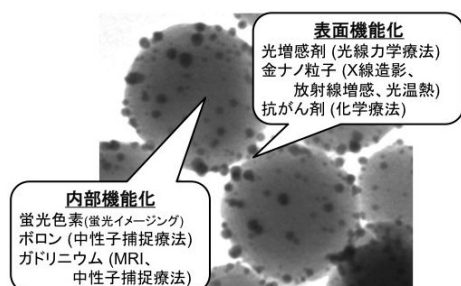


図2. マルチ・セラノスティック粒子

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11件)

M. Nakamura, K. Hayashi, H. Kubo, M. Harada, T. Yogo (2017) Mesoscopic Multimodal Imaging Provides New Insight to Tumor Tissue Evaluation: An Example of Macrophage Imaging of Hepatic Tumor using Organosilica Nanoparticles. Scientific Reports, 7, 3953. DOI: 10.1038/s41598-017-04043-7. 査読有。

M. Nakamura, K. Hayashi, H. Kubo, T. Kanadani, M. Harada, T. Yogo. (2017) Relaxometric property of organosilica nanoparticles internally functionalized with iron oxide and fluorescent dye for multimodal imaging. Journal of Colloid and Interface Science. 492(15) 127-135. DOI: 10.1016/j.jcis.2017.01.004. 査読有。

K. Hayashi, T. Maruhashi, M. Nakamura, W. Sakamoto, T. Yogo. (2016) One-Pot Synthesis of Dual Stimulus-responsive Degradable Hollow Hybrid Nanoparticles for Image-guided Trimodality Therapy. Advanced Functional Materials, 26(47), 8613-8622. 査読有。

H. Hashimoto, R. Tanino, M. Nakamura, Y. Fujita. (2015) Surface Treatment of Zinc Oxide Nanoparticles by Silica Coating and Evaluation of Their Dispersibility and Photoluminescent Properties. e-Journal of Surface Science and Nanotechnology, 13, 451-454. DOI: 10.1380/ejssnt.2015.451. 査読有。

M. Nakamura, K. Hayashi, M. Nakano, T. Kanadani, K. Miyamoto, T. Kori, K. Horikawa (2015) Identification of polyethylene glycol-resistant macrophages on stealth imaging in vitro using fluorescent organosilica

nanoparticles. ACS Nano, 9(2), 1058-1071. DOI:10.1021/nn502319. 査読有。

K. Hayashi, M. Nakamura, H. Miki, S. Ozaki, M. Abe, T. Matsumoto, T. Kori, K. Ishimura. (2014) Photostable iodinated silica/porphyrin hybrid nanoparticles with heavy-atom effect for wide-field photodynamic/photothermal therapy using single light source. Advanced Functional Materials, 24(4), 503 - 513. DOI:10.1002/adfm.201301771. 査読有。

K. Hayashi, M. Nakamura, H. Miki, S. Ozaki, M. Abe, T. Matsumoto, W. Sakamoto, T. Yogo, K. Ishimura. (2014) Magnetically responsive smart nanoparticles for cancer treatment with a combination of magnetic hyperthermia and remote-control drug release. Theranostics, 4(8), 834 - 844. DOI: 10.7150/thno.9199 査読有。

K. Hayashi, M. Nakamura, H. Miki, S. Ozaki, M. Abe, T. Matsumoto, K. Ishimura. (2013) Gold Nanoparticle Cluster/Plasmon-Enhanced Fluorescent Silica Core-Shell Nanoparticles for X-Ray Computed Tomography/Fluorescence Dual-Mode Imaging of Tumors, Chemical Communications, 49, 5334-5336. DOI: 10.1039/C3CC41876F. 査読有。

K. Hayashi, M. Nakamura, W. Sakamoto, T. Yogo, H. Miki, S. Ozaki, M. Abe, T. Matsumoto, K. Ishimura. (2013) Superparamagnetic Nanoparticle Clusters for Cancer Theranostics Combining Magnetic Resonance Imaging and Hyperthermia Treatment. Theranostics. 3(6), 366-376. DOI:10.7150/thno.5860. 査読有。

K. Hayashi, M. Nakamura, K. Ishimura. (2013) Near-Infrared Fluorescent Silica-Coated Gold Nanoparticle Clusters/Near-Infrared Fluorescent Silica Core-Shell Nanoparticles for X-Ray Computed Tomography/Optical Dual Modal Imaging of Lymphatic System. Advanced Healthcare Materials. 2(5), 756-763. DOI: 10.1002/adhm.201200238. 査読有。

M. Nakamura, K. Miyamoto, K. Hayashi, A. Awaad, M. Ochiai, K. Ishimura. (2013) Time-lapse fluorescence imaging and quantitative single cell and endosomal analysis of peritoneal macrophages using fluorescent organosilica nanoparticles. Nanomedicine: NBM, 9(2), 274-283. DOI: 10.1016/j.nano.2012.05.018. 査読有。

[学会発表](計24件)

M. Nakamura, (2016年11月25日) Photo-biomedical Application of Multifunctional Organosilica

Nanoparticles. 10th Anniversary International Symposium on Nanomedicine (ISNM2016). At Auditorium of National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (茨城県・つくば市)

中村 教泰.(2016年10月23日)多機能有機シリカナノ粒子の医学生物学的応用. 日本解剖学会第71回中国・四国支部学術集会, 岡山大学 鹿田キャンパス (岡山県・岡山市)

中村 教泰.(2016年6月30日)シリカナノ粒子の高機能セラノスティック (シンポジウム: 次世代 DDS のためのマテリアル戦略). 第32回日本 DDS 学会学術集会. グランシップ (静岡県コンベンションアーツセンター) (静岡県・静岡市)

M. Nakamura. (2016年5月12日) Multifunctionalized Organosilica Nanoparticles for Single Cell Imaging, Analysis and Characterization. The 4th Japan-China Symposium on Nanomedicine. 北九州国際会議場 (福岡県・北九州市)

中村 教泰.(2016年3月28日) 蛍光ナノ粒子を用いたマクロファージ取り込みのタイムラプスイメージング 蛍光ナノ粒子を用いたマクロファージ取り込みのタイムラプスイメージング. 第121回日本解剖学会総会全国学術集会、ビッグパレットふくしま (福島県・郡山市)

M. Nakamura. (2015年12月11日) In Vivo Macrophage Imaging using Near-infrared Fluorescent Organosilica Nanoparticles. 9th Internal Symposium on Nanomedicine. Mie University (三重県・津市)

M. Nakamura. (2015年11月28日). Organosilica Nanoparticles for Biomedical Applications. International Symposium on EcoTopia Science 2015 (ISETS'15). Nagoya University (愛知県・名古屋市)

中村 教泰.(2015年10月24日) 蛍光ナノ粒子を用いたマクロファージ取り込みのタイムラプスイメージング. 日本解剖学会第70回中国・四国支部学術集会、愛媛大学城北キャンパス南加記念ホール(愛媛県・松山市)

H. Miki. (2015年9月23日) Effective impairment of myeloma progenitors by hyperthermia: augmentation with bortezomib and Pim inhibition in combination. 15th International Myeloma Workshop, Rome (Italy)

中村 教泰.(2015年7月29日) 有機シリカ粒子技術と BNCT セラノスティックスへの展開, 第1回徳島ナノメディスン・シンポジウム, 徳島大学藤井節郎記念ホール (徳島県・徳島市)

M. Nakamura. (2015年6月20日) Multifunctionalized Organosilica Nanoparticles for Single Cell Imaging,

Analysis and Characterization. 3rd China-Japan Symposium on Nanomedicine. Institute of Basic Medical Sciences, Chinese Academy of Medical Sciences, Peking Union Medical College, Beijing (China)

三木 浩和.(2015年5月16日) 温熱療法は薬剤耐性骨髄腫前駆細胞を効率的に障害する. 第40回日本骨髄腫学会学術集会, くまもと森都心プラザ(熊本県・熊本市)

M. Nakano. (2015年3月22日) Single cell imaging and analysis for macrophage uptake of nanoparticles using fluorescent organosilica nanoparticles. 249th ACS National Meeting & Exposition, Denver (USA)

M. Nakamura. (2015年3月22日) Syntheses, characterization, and biomedical applications of fluorescent organosilica nanoparticles. 249th ACS National Meeting & Exposition, Denver (USA)

K. Atagi. (2015年3月21日) Preparation of near-infrared organosilica nanoparticle and its application to in vivo fluorescent imaging., 第120回日本解剖学会総会・全国学術集会 (兵庫県・神戸市)

F. Koga. (2015年3月21日) Development of organosilica nanoparticle for photodynamic therapy (PDT) and single cell analysis of PDT effect, 第120回日本解剖学会総会・全国学術集会(兵庫県・神戸市)

M. Iseki. (2015年3月21日) Time-lapse imaging of endosome acidification using pH-responsive fluorescent organosilica nanoparticles., 第120回日本解剖学会総会・全国学術集会, 神戸国際会議場 (兵庫県・神戸市)

M. Nakamura. (2015年3月3日) Multimodal imaging using multifunctional nanoparticles. NCAP (Nanocancer Asia Pacific Network) at APAN39, Fukuoka International Congress Center (福岡県・福岡市)

M. Nakamura. (2014年12月6日) Single Cell Imaging and Analysis using Fluorescent Organosilica Nanoparticles. 8th International Symposium on Nanomedicine (ISNM2014), Ehime University (愛媛県・松山市)

M. Nakamura. (2014年5月17日) Single Cell Imaging and Analysis using Fluorescent Organosilica Nanoparticles. The Second Japan-China Symposium on Nanomedicine, Hiroshima University (広島県・広島市)

② M. Nakamura. (2013年11月7日) Organosilica Nanoparticles for

Multimodal imaging. 7th International Symposium on Nanomedicine (ISNM2013), Kyushu Institute of Technology (福岡県・北九州市)

- ② 林 幸彦朗. (2013年7月4日) 超常磁性ナノ粒子クラスターを用いたMRI及びハイパーサーミア, 第29回日本DDS学会学術集会, 京都テルサ (京都府・京都市)
- ③ 林 幸彦朗. (2013年06月08日) 超常磁性ナノ粒子クラスターの合成とMRI/ハイパーサーミアセラノスティクスへの応用, ナノ学会第11回大会, 東京工業大学 百年記念館 (東京都・目黒区)
- ④ 中村 教泰. (2013年5月30日) 有機シリカ・マルチ蛍光ナノプローブによるSeamless 蛍光イメージング. 第7回日本分子イメージング学会総会・学術集会, 横浜赤レンガ倉庫1号館(神奈川県・横浜市)

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計8件)

名称: Nanofunctional silica particles and manufacturing method thereof.

発明者: Michihiro Nakamura

権利者: Michihiro Nakamura

種類: 特許

番号: 米国特許第 9265729 号

出願年月日: 2008年12月8日

取得年月日: 2016年2月23日

国内外の別: 国外

名称: Fluorescent silica nano-particle, fluorescent nano-material, and biochip and assay using the same.

発明者: Hideki Aizawa, Michio Ohkubo, Michihiro Nakamura, H. Miyoshi.

権利者: 徳島大学、株式会社古河電気工業

種類: 特許

番号: 米国特許第 9260656 号

出願年月日: 2007年9月14日

取得年月日: 2016年2月16日

国内外の別: 国外

名称: ナノ機能性シリカ粒子およびその製造方法.

発明者: 中村 教泰

権利者: 中村 教泰

種類: 特許

番号: 特許第 5709292 号

出願年月日: 2008年12月8日

取得年月日: 2015年3月13日

国内外の別: 国内

名称: System and method of

quantitatively determining a biomolecule, system and method of detecting and separating a cell by flow cytometry, and fluorescent silica particles for use in the same, and kit comprising plural kinds of the silica particles in combination. 発明者: Hideki Aizawa, Michio Ohkubo, Michihiro Nakamura, H. Miyoshi.

権利者: 徳島大学、株式会社古河電気工業

種類: 特許

番号: 米国特許第 8796040 号

出願年月日: 2008年8月22日

取得年月日: 2014年8月5日

国内外の別: 国外

名称: Method for production of novel nano silica particle and use of the nano silica particle.

発明者: Michihiro Nakamura

権利者: Michihiro Nakamura

種類: 特許

番号: 欧州特許第 2032010 号

出願年月日: 2007年6月7日

取得年月日: 2014年4月23日

国内外の別: 国外

名称: 蛍光色素化合物含有コロイドシリカ粒子の製造方法およびこれを用いた定量方法. 発明者: 會澤英樹、大久保典雄、中村 教泰、三好弘一

権利者: 徳島大学、株式会社古河電気工業

種類: 特許

番号: 特許第 5356204 号

出願年月日: 2009年12月15日

取得年月日: 2013年9月6日

国内外の別: 国内

名称: 新規なナノシリカ粒子の製造方法と用途.

発明者: 中村 教泰

権利者: 中村 教泰

種類: 特許

番号: 第 5311340 号

出願年月日: 2007年6月7日

取得年月日: 2013年7月12日

国内外の別: 国内

名称: Method for production of novel nano silica particle and use of the nano silica particle.

発明者: Michihiro Nakamura

権利者: Michihiro Nakamura

種類: 特許

番号: 米国特許第 8455255 号

出願年月日: 2007年6月7日

取得年月日: 2013年6月4日

国内外の別: 国外

〔その他〕

ホームページ等

・所属機関ホームページ

http://www.med.yamaguchi-u.ac.jp/medicine/chair/basic_00.html

<http://ds.cc.yamaguchi-u.ac.jp/~org-ana/t/>

・研究紹介ホームページ

<http://organosilica.com/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中村 教泰 (NAKAMURA, Michihiro)

山口大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：10314858

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし

(4) 研究協力者

なし