

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 7 日現在

機関番号：12602

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2014

課題番号：25670853

研究課題名(和文) ナノ磁性複合分子と生体埋込型ネオジウム磁石によるマイクロDDSの開発

研究課題名(英文) Development of a micro drug delivery system using the nanogel-Fe304 hybrid and biological implant neodymium magnet

研究代表者

森田 圭一 (MORITA, Keiichi)

東京医科歯科大学・硬組織疾患ゲノムセンター・特任講師

研究者番号：10396971

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：頭頸部がんなどで実際の治療に用いられている小線源による組織内照射を発展させた、簡便かつ効率的なドラッグデリバリーシステム(DDS)の開発を目的とし、ネオジウム磁石およびナノ磁性複合分子を開発した。ナノゲル-酸化鉄ハイブリッドにRhodamineでラベルした溶液を作成し、100 μm x 100 μm x 58 mmのマイクロ流路チップを使用し分子動態を検討したところ、ナノ粒子は流速の低い擬似血管では磁石に引き寄せられて凝集が起こるが、一度磁石付近に凝集したナノ粒子でも、そこに新たに比較的高速の流体が流れることによりナノ粒子は磁石付近から引き剥がされ、再び循環することが確認された。

研究成果の概要(英文)：This study aims to develop a simple and efficient drug delivery system evolved from interstitial radiotherapy performed in the actual treatment with head and neck cancers. First, we developed the 1 mm x 5 mm magnet in the equivalent standard of Au grain using interstitial radiotherapy. Moreover, a new type of magnet was also developed to remove the magnet from tissues after therapy. The dispersion of a cholesterol-bearing pullulan (CHP) nanogel-Fe304 nanoparticle (NP) hybrid was homogeneous, transparent, and lacked precipitation. The CHP nanogel-Fe304 NP hybrid was attracted to the side of the glass vessel nearest to a permanent magnet. Next, we fabricated a rhodamine-labeled CHP nanogel-Fe304 NP hybrid, and observed the movement of the particles in flow fluids using the microfluidic device. We observed that NPs aggregated and were attracted to the wall near the magnet in microfluidic channel. However, high-speed flow peeled the aggregated NPs from the wall.

研究分野：口腔腫瘍学

キーワード：ナノ磁性複合分子 ドラッグデリバリーシステム 口腔がん

1. 研究開始当初の背景

現在、各種癌における網羅的遺伝子解析の結果をもとにした分子標的薬を含む新規薬剤が次々に開発され、その効果が期待されている。しかし、現実には予想される治療効果が得られない薬剤も多く、原因としては薬剤耐性遺伝子変異細胞の出現や副作用の発現、投与経路の問題が考えられる。そのなかで、頭頸部がんを中心に超選択的動注化学放射線療法が一定の効果をあげているのは、分子標的といった特殊な薬剤の開発を超えて、薬剤の効率的な病変部到達が重要であることを示している。

一方我々のグループは、会合性高分子の自己組織化を利用したナノサイズのゲル「ナノゲル」や、有機無機ハイブリッド脂質からなるリポソーム「セラソーム」を作製し、これらをタンパク質のリフォールディングや安定化シャペロン技術として発展させ、遺伝子デリバリーキャリアとしての利用や癌免疫療法の DDS、骨形成のための再生医療材料などの医療への応用展開を行ってきた。現在では、ナノサイズの有機分子集合体としてのソフトナノ粒子と無機成分との分子制御による融合手法を確立し、有機成分としては多糖からなるナノゲル、リポソームなどを、無機成分としては、シロキサン、アパタイト、金属酸化物などを用いることが可能となっている。

2. 研究の目的

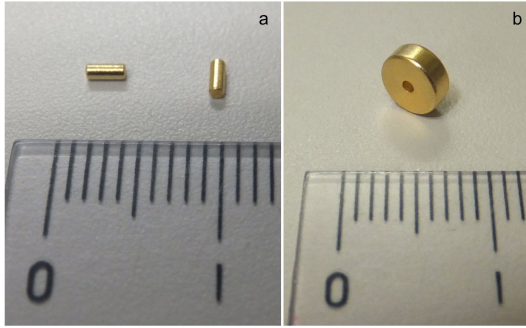
本研究では、頭頸部がんなどで実際の治療に用いられている小線源による組織内照射を発展させた簡便かつ効率的なドラッグデリバリーシステム(DDS)を開発し、遠隔転移巣を含む全身のあらゆる部位に適用できる発展型選択的放射線療法の実現を目的とした。本研究により、薬剤の能動的輸送が可能であることが検証されれば、さらなる毒性評価、大型実験動物における薬剤輸送動態

評価などを経て、最終的には針生検レベルの低侵襲な処置により、病変選択的放射線治療が可能になると考えられる。本研究の特色は、有機化学・コロイド科学的な手法を用いて有機無機ハイブリッドを作製し、合成化学的に合理的に設計された融合マテリアルを用いてバイオ応用展開を図る点にある。ナノ磁性粒子が生体内に埋込まれた磁石によって能動的に輸送されることを示した研究は、国内外を通して他に例がない。我々がすでに行った試験的研究において、ナノ粒子の微妙なサイズの違いにより静脈注射したナノ粒子は血管内を循環するわけではなく、受動的に細胞内に取り込まれる様相を示しており、磁力により目的部位に能動的に輸送することは容易には達成されず、粒子の大きさや化学的、電気的特性に関して詳細な検討が必要なが予測されている。一方、埋込磁石には、実際に組織内照射に用いる小線源の形状を再現したものおよびさらに発展的に埋入・治療終了後に容易に摘出可能とするための新規形状も検討する。

3. 研究の方法

本研究で使用する磁石として、ネオジウム磁石(Neo35)を用いた。本磁石は、残留磁束密度(Br)は1170-1220(mT)、保持力(HCb) ≥ 10.9 kOe と非常に強力な磁力が得られる。さらに、実際に口腔癌などで使用されている組織内照射用 Au グレインと同等の規格直径1mm×高さ5mmでの作成に成功した。およびさらに発展的に埋入・治療終了後に容易に摘出可能とするための新規形状、直径5.1mm×高さ2mm(孔の径1mm)のリング状のネオジウム磁石の開発も行った。

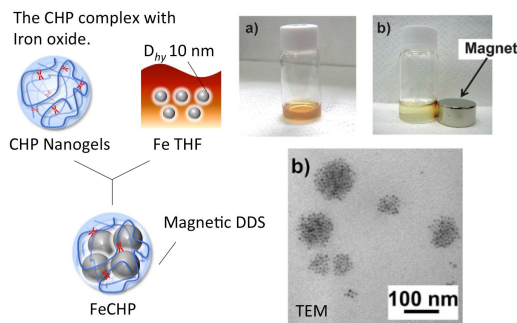
ナノ磁性複合分子は、有機化学・コロイド科学的な手法を用いて有機無機ハイブリッドを作製し、合成化学的に合理的に設計された融合マテリアルを開発した。



4. 研究成果

ナノゲル-酸化鉄ハイブリッドは、水溶液中で均一で透明に溶解しており、沈殿することはなかった。また、磁石を近づけるとその周囲に凝集することが確認された。さらに磁石を離すとふたたび溶液に散乱して溶解することから、作成したナノゲル-酸化鉄ハイブリッドは、水溶液中で微小粒子として安定で、かつ磁性を有していることが示された。

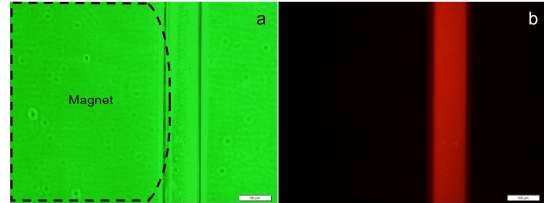
Hybrid of nanogel with magnetic nanoparticle



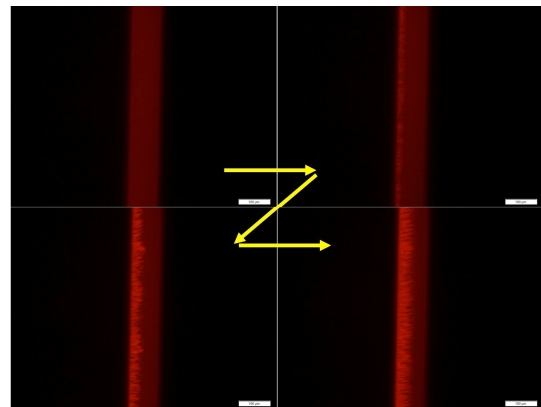
また、酸化鉄の濃度を 0.01、0.1 および 1.0 mg/mL でナノゲル-酸化鉄ハイブリッドを作成し透過型電子顕微鏡で観察したところ、0.1 mg/mL の場合に約 10 - 100 の酸化鉄ナノ粒子の凝集が観察され、その直径は 40-100 nm であることを確認した。

EPR 効果などの生体適合性を考慮して、この酸化鉄濃度を以後の研究に用いることとした。

次に、ナノゲル-酸化鉄ハイブリッドに Rhodamine でラベルした溶液 (ナノゲル; 1.0mg/mL、酸化鉄; 0.1mg/mL) を作成し、疑似血管としての $100 \mu\text{m} \times 100 \mu\text{m} \times 58 \text{mm}$ のマイクロ流路チップ (Product Code; 01-0171-0144-02, ASICON 社) を使用し、血液の流れを模した流体中の色素ナノ磁性ハイブリッド分子の動態を検討した。



ナノ粒子は流速の低い疑似血管では磁石に引き寄せられて凝集が起ることが確認された。しかし、一度磁石付近に凝集したナノ粒子でも、そこに新たに比較的高速の流体が流れることによりナノ粒子は磁石付近から引き剥がされ、再び循環してしまうことが確認された。



以上のことより、磁力による能動的輸送は容易には達成されないことが示唆された。しかし、粒子の大きさや化学的、電気的特性に加えて、EPR 効果などの腫瘍組織周囲の微小環境における血液動態を詳細に検討することにより、腫瘍細胞付近に埋め込まれた磁石に目的のナノ粒子を凝集できる可能性が考えられた。

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1件)

1. Kiyofumi Katagiri, Keiko Ohta, Kaori Sako, Kei Inumaru, Koichiro Hayashi, Yoshihiro Sasaki, Kazunari Akiyoshi: Development and Potential Theranostic Applications of a Self-Assembled Hybrid of Magnetic Nanoparticle Clusters with Polysaccharide Nanogels. Chem Plus Chem 査読あり 79, 1631-1637, 2014. DOI: 10.1002/cplu.201402159

[学会発表](計1件)

1. 佐々木 善浩, 竹谷 以紀, シクラ 駿, 澤田 晋一, 秋吉 一成: 無機微粒子テンプレート法による新規バイオマテリアルの開発. 第36回日本バイオマテリアル学会大会 2014年11月17 - 18日 東京

[図書](計0件)

6. 研究組織

(1)研究代表者

森田 圭一 (MORITA, Keiichi)

東京医科歯科大学・硬組織疾患ゲノムセンター・特任講師

研究者番号: 10396971

(2)研究分担者

佐々木 善浩 (SASAKI, Yoshihiro)

京都大学・工学研究科・准教授

研究者番号: 90314541