

## 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 5 月 31 日現在

機関番号：12608

研究種目：基盤研究（A）

研究期間：2009～2011

課題番号：21241029

研究課題名（和文）次世代医療に向けた高機能性ナノキャリアの開発

研究課題名（英文）Development of high-performance nano-carrier for next generation medicine

研究代表者

半田 宏（HANDA HIROSHI）

東京工業大学・ソリューション研究機構・教授

研究者番号：80107432

研究成果の概要（和文）：SV40 外殻タンパク質 VP1 の自己集合化能を利用して、試験管内でナノカプセルを形成し、ナノカプセルの中へ生理活性物質を導入し、さらにナノカプセル表面を修飾・改変する技術を開発した。また、形状や性状やサイズの異なる構造体を VP1 五量体で被覆する技術を開発したので、VP1 五量体被覆により形成されるナノカプセルの応用展開される分野を大幅に拡大することが可能になり、新規 DDS 用キャリアとして極めて有用な高機能性ナノカプセルの基盤となる技術開発に成功した。

研究成果の概要（英文）：We have developed novel technologies on formation of nanocapsules through self-assembly activity of SV40 major capsid protein, introduction of biologically active agents into nanocapsules and modification or alteration of nanocapsule surface, and constructed high-performance nanocapsules used as an effective DDS carrier for medical application.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	12,800,000	3,840,000	16,640,000
2010 年度	11,600,000	3,480,000	15,080,000
2011 年度	11,600,000	3,480,000	15,080,000
年度			
年度			
総計	36,000,000	10,800,000	46,800,000

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：高機能性ナノカプセル、ウイルス外殻タンパク質、自己集合化、新規 DDS 用キャリア

## 1. 研究開始当初の背景

SV40 外殻タンパク質は自己集合化能、ウイルスゲノム包含能、宿主細胞識別・認識能、細胞内侵入能、細胞内物質運搬能など数多くの優れた機能を有する。それらの活性をうまく利用すると、新規 DDS 用キャリアの開発が期待される。そこで、外殻タンパク質である VP1 五量体の自己集合化能を利用して、試験管内

でのナノカプセルをはじめとする多様な構造体を形成する技術を開発し、さらに高度な技術を加味して、高機能性ナノカプセルを構築する基盤技術が開発されている。

## 2. 研究の目的

既に確立されているナノカプセルを形成する技術に、ナノカプセル中に生理活性物質を

導入し、さらにナノカプセル表面を修飾・改変する技術を開発し、標的細胞に選択的に目的物を運び込む高機能性 DDS 用キャリアを開発する。

### 3. 研究の方法

これまでの研究成果を基盤として、VP1 五量体によるナノカプセルの形成時に生理活性物質を添加してナノカプセル中に生理活性物質を導入する技術を開発する。さらに、VP1 をメルカプト基を含むシスチン残基で置換挿入した変異体を遺伝子工学的手法で作製し、それに化学的手法でメルカプト基を介してペプチドやタンパク質を付加して、表面を改変し、ナノカプセルの細胞指向性を改変することで、標的細胞に選択的に生理活性物質を運搬できる DDS 用キャリアを作製する。

### 4. 研究成果

ナノカプセル中に DNA やタンパク質など多様な生理活性物質を導入する技術を確立した。それら生理活性物質を内包したナノカプセルの表面にペプチドやタンパク質を化学結合する技術を開発した。それら技術を用いて、フェライトを内包したナノカプセルを作製し、その表面に上皮成長因子 (EGF) を化学結合した。それを EGFR 高発現と低発現がん細胞を持つ担がんマウスに静注すると、EGFR 高発現がん細胞に極めて選択的に集積することを MRI 解析により検出することに成功した。これは、作製した磁性ナノカプセルが MRI 造影剤として有用であることと、がん細胞への選択的な DDS ができることを示すものである。今後、抗原性や血中滞留性などの検討を含め、ヒトへの臨床展開に向けた応用研究を推進する。

### 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 12 件)

1.Okuda-Ashitaka, E., Minami, T., Tsubouchi, S., Kiyonari, H., Iwamatsu, A., Noda, T., Handa, H. and Ito, S. Identification of NIPSNAP1 as a nocistatin-interacting protein involving pain transmission. J. Biol. Chem., 287, 10403-10413, 2012.

2.akamoto, S., Hatakeyama, M., Ito, T. and Handa, H. Tools and methodologies capable of isolating and identifying a target molecule for a bioactive compound. (review) Bioorg. Med. Chem., 20, 1990-2001, 2012.

3.Enomoto, T., Kukimoto I., Kawano, M.,

Yamaguchi, Y., Berk, A. J. and Handa, H. *In vitro* reconstitution of SV40 particles that are composed of VP1/2/3 capsid proteins and nucleosomal DNA and direct efficient gene transfer. Virology, 420, 1-9, 2011.

4.Kitai, Y., Fukuda, H., Enomoto, T., Asakawa, Y., Suzuki, T., Inouye, S. and Handa, H. Cell selective targeting of a simian virus 40 virus-like particle conjugated to epidermal growth factor. J. Biotechnol., 155, 251-256, 2011.

5.Hatakeyama, M., Kishi, H., Kita, Y., Imai, K., Nishio, K., Karasawa, S., Masaike, Y., Akamoto, S., Sandhu, A., Tanimoto, A., Gomi, T., Kohda, E., Abe, M. and Handa, H. A two-step ligand exchange reaction generates highly water-dispersed magnetic nanoparticles for biomedical applications. J. Mater. Chem., 21, 5959-5966, 2011.

6.Sandhu, A., Handa, H. and Abe, M. Synthesis and applications of magnetic nanoparticles for biorecognition and point of care medical diagnostics. (review) Nanotechnology, 21, 442001-442022, 2010.

7.Ito, T., Ando, H., Suzuki, T., Ogura, T., Hotta, K., Imamura, Y., Yamaguchi, Y. and Handa, H. Identification of a primary target of thalidomide teratogenicity. Science, 327, 1345-1350, 2010.

8.Park, S. Y., Handa, H. and Sandhu, A. Magneto-optical biosensing platform based on light scattering from self-assembled chains of functionalized rotating magnetic beads. Nano Lett., 10, 446-451, 2010.

9.Kawano, M-K., Xing, L., Tsukamoto, H., Inoue, T., Handa, H. and Cheng, R. H. Calcium-bridge triggers capsid disassembly in the cell entry process of simian virus 40. J. Biol. Chem., 284, 34703-34712, 2009.

10.Chen, Y., Yamaguchi, Y., Tsugeno, Y., Yamamoto, J., Yamada, t., Nakamura, M., Hisatake, K. and Handa, H. DSIF, the Paf1 complex, and Tat-SF1 have non-redundant, cooperative roles in RNA polymerase II elongation. Genes Dev., 23, 2765-2777, 2009.

11.Yung, T.M.C., Narita, T., Komori, T.,

Yamaguchi, Y. and Handa, H. Cellular dynamics of the negative transcription elongation factor NELF. Exp. Cell Res., 315, 1693-1705, 2009.

12. Sakamoto, S., Kabe, Y., Hatakeyama, M., Yamaguchi, Y. and Handa, H. Development and application of high-performance affinity beads: toward chemical biology and drug discovery (review). Chem. Rec., 9, 66-85, 2009.

[学会発表](計9件)

1. Masaaki Kawano, Tatsuya Suda, Toshitaka Akatsuka, Hiroahi Handa and Masanori Matsui "Development of a novel platform for CTL-based influenza vaccine using virus like particles of simian virus 40" International Union of Microbiological Societies 2011 Congress 2011.9.13 Sapporo Convention Center
2. Teruya Enomoto, Yuki Yamaguchi, Iwao Kukimoto, Arnold J. Berk, Hiroshi Handa "In vitro reconstitution of SV40 particles that are composed of VP1/2/3 capsid proteins and nucleosomal DNA and direct efficient gene transfer" International Centre for Genetic Engineering and Biotechnology 2011.7.19-24 Stazione Marittima Congress Centre, Trieste, Italy
3. 半田宏 「ウイルスカプシドタンパク質を利用したDDS用医療材料の創製」 DDS学会 2011.6.9 東京大学 本郷キャンパス
4. 半田宏 「ウイルスカプシドタンパク質の自己集合化によるナノカプセル形成技術の開発と応用」 分子ロボティクス研究会 2010.4.16 東工大 田町キャンパス
5. 土井浩司、榎本輝也、半田宏 「ウイルス外殻タンパク質を利用したDDSキャリアの開発」 日本分子生物学会 2009.12.9-12 パシフィコ横浜
6. 福田元、榎本輝也、土井浩二、青木伊知男、半田宏 「MRI造影剤としての腫瘍標的化フェライト封入ウイルス様粒子の加工」 日本分子生物学会 2009.12.9-12 パシフィコ横浜
7. 榎本輝也、川野雅章、井上隆昌、高橋陵宇、半田宏 「SV40 カプシドタンパク質の自己集合化による遺伝子導入用ナノカプセルの構築」 日本ウイルス学会 2009.10.25-27 都市センターホテル
8. 土井浩司、高橋陵宇、榎本輝也、半田宏 遺伝子治療を目指した表面改変型 SV40 様粒子の開発」 日本ウイルス学会 2009.10.25-27 都市センターホテル
9. 福田元、榎本輝也、高橋陵宇、土井浩二、

澤田航、半田宏 「フェライトを包含したSV40ウイルス様粒子による癌診断プローブ開発」 日本ウイルス学会 2009.10.25-27 都市センターホテル

[図書](計5件)

1. 畠山士、半田宏 シーエムシー出版 「ナノ融合による先進バイオデバイス (高性能性ナノ磁性粒子と医療・バイオへの応用)」 2011 8-17
2. Masaaki Kawano, Li Xing, Kit S. Lam, Hiroshi Handa, Tatsuo Miyamura, Susan Barnett, Indresh K. Srivastava, and R. Holland Cheng Jhon Wiley & Sons. Inc. "Development of Vaccines: From Discovery to Clinical Testing (Design Platforms of Nanocapsules for Human Therapeutics or Vaccines) 2011 125- 140
3. 壺内信吾, 西尾広介, 池田森人, 成松宏樹, 郷右近展之, 半田宏 シーエムシー出版 「ナノ粒子・マイクロ粒子の調製と応用技術 (創薬に向けた磁気アフェニティビーズの創製)」 2010 219-228
4. 半田宏、和田忠士、坂本聡 株式会社テクノシステム 「MEMS/NEMS 工学全集 (診断学, 1. MEMSと診断他)」 2009 212-217
5. 半田宏 工学図書株式会社 「バイオ研究のフロンティア 医療・診断をめざす先端バイオテクノロジー (1. 機能性ナノ磁性ビーズ)」 2009 1-12

[産業財産権]

出願状況(計5件)

1. 名称: 細胞傷害性T細胞誘導剤  
発明者: 半田宏、川野雅章、松井政則  
権利者: 東京工業大学・埼玉医科大学  
種類: 特許  
番号: 特願 2011-191208(基礎出願番号:  
特願 2011-10784)  
出願年月日: 2011/9/2 (基礎出願日:  
2011/5/13)  
国内外の別: 国内
2. 名称: 標識磁性粒子を用いた被検物質の検出方法、及び被検物質の検出システム  
発明者: 半田宏、坂本聡、河田慎太郎、内藤靖之、凸版{平瀬匠、勝又優、土屋真紀子、星野昭裕、入江新司、中山雅人}  
権利者: 東京工業大学・凸版印刷株式会社  
種類: 特許  
番号: 特願 2011-053415  
出願年月日: 2011/3/10  
国内外の別: 国内
3. 名称: ポリマー被覆フェライト微粒子および製造方法  
発明者: 半田宏、畠山士、坂本聡、岸寛  
権利者: 東京工業大学  
種類: 特許

番号：PCT/JP2010/006364  
(特願 2009-249902)

出願年月日：28.10.2010 (2009/10/30)"  
国内外の別：国外

4. 名称：ウイルス外殻タンパク質被覆構造体  
及びその製造方法

発明者：半田宏、土井浩司、榎本輝也、川  
野雅章

権利者：東京工業大学

種類：特許

番号：PCT/JP2010/064667  
(特願 2009-207632)

出願年月日：30.08.2010(2009/9/9)  
国内外の別：国外

5. 名称：磁気温熱療法用発熱体および製造方  
法

発明者：阿部正紀、中川貴、多田大、山本  
修平、半田宏

権利者：東京工業大学

種類：特許

番号：特願 2009-181597

出願年月日：2009/8/4

国内外の別：国内

取得状況(計3件)

1. 名称：ポリマー被覆強磁性粒子の製造方法  
及びポリマー被覆強磁性粒子  
(Process for producing  
polymer-coated ferromagnetic  
particle, and polymer-coated  
ferromagnetic particle)

発明者：半田宏、西尾広介、郷右近展之、  
阿部正紀

権利者：東京工業大学

種類：特許

番号：(英・仏)2000484  
(独)602006026149.7"

取得年月日：2011年11月30日

国内外の別：国外

2. 名称：改変されたウイルスカプシドタンパ  
ク質及びその使用

発明者：半田宏、中西章、金刺進之介、高  
橋陵宇

権利者：東京工業大学

種類：特許

番号：特許第4819792号

取得年月日：2011(H23)/09/09

国内外の別：国内

3. 名称：生理的条件化でのウイルス粒子様構  
造体及びその形成方法

発明者：半田宏、中西章、川野雅章

権利者：東京工業大学

種類：特許

番号：特許第4734608号

取得年月日：2011(H23)/05/13

国内外の別：国内

6. 研究組織

(1)研究代表者

半田 宏 (HANDA HIROSHI)

東京工業大学・ソリューション研究機構・  
教授

研究者番号：80107432

(2)研究分担者

・落合 孝広 (OCHIAI TAKAHIRO)

国立がんセンター(研究所及び東病院臨床  
開発センター)・がん転移研究室・独立室  
長

研究者番号：60192530

・青木 伊知男 (AOKI ICHIO)

独立行政法人放射線医学総合研究所・分子  
イメージング研究センター・チームリーダ  
ー

研究者番号：10319519