

平成21年6月2日現在

研究種目：基盤研究(A)
研究期間：2006～2008
課題番号：18209019
研究課題名(和文) がん細胞に表面吸着/内部侵入する磁性ビーズの開発と診断・治療への応用
研究課題名(英文) Development and diagnosis/therapy application of magnetic beads exhibiting surface/uptake affinity to cancer cells
研究代表者
阿部 正紀 (ABE MASANORI)
東京工業大学・大学院理工学研究科・教授
研究代表者番号：70016624

研究成果の概要：

病原性のないウイルスの外殻を作っているたんぱく質に由来する分子を自己組織化させて“ナノカプセル”を合成する反応中にその内部にフェライト粒子を内包させた。このナノカプセル・フェライトビーズは、がん細胞の表面に特異的に吸着あるいは内部に取り込まれる性質があることが示唆されたので、これによって抗がんハイパーサーミア用の発熱体およびMR造影剤としての効率を高めることができると期待される。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	18,300,000	5,490,000	23,790,000
2007年度	12,000,000	3,600,000	15,600,000
2008年度	7,000,000	2,100,000	9,100,000
年度			
年度			
総計	37,300,000	11,190,000	48,490,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：境界医学・応用薬理学

キーワード：医用磁性ビーズ、ハイパーサーミア、MR造影、ナノカプセル

1. 研究開始当初の背景

磁性ビーズ(超微粒子)の磁界および電磁波に対する応答を利用するがん診断・治療技術として、磁性ビーズによるNMR吸収を利用した「がん診断用MR造影」と交流磁界によるビーズの発熱でがん細胞を殺傷する「抗がん磁気ハイパーサーミア」が提案されているが、現在までに実用化されていたのは、肝臓のクッパー細胞にフェライト・ナノビーズを貪食させる「肝臓用MR造影剤」のみである。長年にわたって研究されているにもかか

わらず、他のすべてがいまだ動物実験の段階にとどまっている理由は、①望みの平均粒径をもち粒径分布がすくないフェライト粒子の作製法、②フェライト粒子の表面に望みの機能性分子を強固に固定する方法、③フェライト粒子を選択的に、がん細胞の表面に吸着または内部に取り込ませる“がん細胞性指向性”を付与する技術、のいずれもが確立されていなかったからである。

2. 研究の目的

我々は、① 粒径分布が鋭いフェライト粒子を作製する独自の方法を開発し、② その表面に機能性有機分子を強固に固定する指導原理を発見しその有効性を実証し、③ ウイルスのカプシドたんぱく質を自己組織化してナノカプセルを作製することに成功し、それが強い細胞指向性を示すことが期待されており、④ フェライトビーズを用いた抗がんハイパーサーミアのための誘導磁気加熱に関する理論的・実験的研究により高い発熱効率を示すフェライト粒子発熱体を開発する方針を明らかにしており、⑤ がんの精密診断が可能な高精度 MR 画像診断技術を確立していた。本研究の目的は、我々が確立あるいは明らかにしていた上これらの技術および知見を結集して、がん細胞の表面に吸着あるいは内部に取り込まれる、すなわちがん細胞指向性をもったハイパーサーミア発熱体および MRI 造影剤として高効率で機能するフェライトビーズを開発するための基礎的研究を行うことにある。

3. 研究の方法

治療と診断のために体内で使用するフェライトビーズの表面は高い生体適合性を示すとともに水中に良く分散しなければならない。そのため水中でフェライト粒子を合成し、表面修飾を施した。

さらにこのフェライト粒子を、病原性・毒性のないウイルス Simian Virus 40 (SV 40) の外殻を構成する VP1 たんぱく質の五量体でカプセルを合成する反応の最中を内包させ、この五量体の腫瘍適合性および糖脂質ガングリオキシドによる細胞内への取り込み機能を利用してがん細胞の表面に特異的に吸着あるいは内部に取り込ませた。

こうして作製したナノカピセル・フェライトビーズに 100-900 MHz の交流磁界を印加して、ハイパーサーミア用の発熱体としての誘導磁気発熱効率を測定した。また最大 1.5T までの直流磁界を印加して MRI 信号測定と描画を行い、MR 造影剤としての効率を評価した。

4. 研究成果

(1) フェライトナノ粒子作製法の確立

Fe^{2+} と Fe^{3+} 水溶液中から、 $\text{Fe}^{2+} \rightarrow \text{Fe}^{3+}$ 酸化反応を利用してマグネタイト（およびマグヘマイト ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) の中間体である鉄フェライトの粒子を平均粒径を $d = 4\text{-}200$ nm の範囲で制御し、かつその変動係数 $\Delta d / d$ を 15% 以下におさえて作製する方法を確立

した。

このフェライトナノ粒子の表面はカルボキシル基 (COOH) と化学結合することを利用して、目的に応じた機能性高分子で表面修飾する技術をも開発した。

(2) フェライトナノ粒子の抗がんハイパーサーミア用発熱体としての特性

粒径が 8-80 nm のフェライト微粒子の 100-900 MHz の交流磁界に対する誘導磁気発熱効果は、果、粒径 18 nm のフェライト微粒子の発熱効率が全周波数領域で最も高くなる結果が得られ、ネール緩和とブラウン緩和による理論計算結果とも一致した。

(3) フェライトナノ粒子の MRI 造影効果

粒径 4-60 nm のフェライトの MR 画像および信号強度を計測した結果、粒径の小さいフェライトビーズでは、T1 強調により、陽画像が明確に観測され、粒径が小さくなるほど $R2/R1$ が 1 に近づくことがわかった。したがって、従来の Gd を用いた造影剤に取って代われる、より高性能な T1 強調・陽画の造影剤として用いることが可能であることが明らかになった。特に、0.3 T の磁界中での MRI 造影効果が、1.5 T の強力磁界を用いた場合よりも強い T1 画像信号を示す傾向が見られ、実用的観点からも有利であることがわかった。また、粒径の大きな (30-60 nm) フェライト粒子も T2 短縮・陰画の造影剤として使用可能であることを見出した。

(4) ナノカピセル・フェライトビーズの作製法の確立

SV40 カプシドたんぱく質である VP1 の五量体の自己組織化能力を活用してナノカプセルを合成する技術を確認するとともに、その内部に蛍光たんぱく質 (GFP) 融合たんぱく質あるいは粒径が 8-20 nm であるフェライト粒子を内包させることに成功した。

(5) ナノカピセル・フェライトビーズのがん細胞指向性と MR 造影効果

表面修飾を施した GFP 融合たんぱく質内包ナノカプセルは宿主細胞へ感染し、細胞内で蛍光を発することが観測された。またフェライト粒子を内包させ表面修飾を施したナノカプセルを、担がんマウスの尻尾から静脈注射したところ、標的とするがん細胞にのみ選択的に集積している MRI 画像が得られた。数時間経過するとその集積が増すので、ナノカプセルは血中対流性が良く、がん細胞指向性が高いことが示唆された。

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 20 件)

- ① M. Abe, N. Nishio, M. Hatakeyama, N. Hanyu, T. Tanaka, M. Tada, T. Nakagawa, A. Sandhu, H. Handa: Preparation and medical application of magnetic beads conjugated with bioactive molecules. Journal of Magnetism and Magnetic Materials, 321, pp645-649 (2009) 査読有
- ② NAKANISHI, A., Chapellie, B., Maekawa, N., Hiramoto, M., Kuge, T., Takahashi, R-H., Handa, H., and Imai, T: SV40 vectors carrying minimal sequence of viral origin with exchangeable capsids. Virology, 379, 110-117 (2008) 査読有
- ③ Takahashi, R-H., Kaneshashi, S-N., Inoue, T., Enomoto, T., Kawano, M-A., Tsukamoto, H., Takeshita, F., Imai, T., Ochiya, T., Kataoka, K., Yamaguchi, Y. and Handa, H.: Presentation of functional foreign peptides on the surface of SV40 virus-like particles. J. Biotechnol., 135, 385-392, (2008) 査読有
- ④ K. Nishio, M. Ikeda, N. Gokon, S. Tsubouchi, H. Narimatsu, Y. Mochizuki, S. Sakamoto, A. Sandhu, M. Abe, and H. Handa: Preparation of size-controlled (30-100nm) magnetite nanoparticles for biomedical applications. J. Magn. Magn. Mater., 310, 2408-2410 (2007) 査読有
- ⑤ Kosuke Nishio, Nobuyuki Gokon, Makoto Hasegawa, Yuji Ogura, Morihito Ikeda, Hiroki Narimatsu, Masaru Tada, Yuki Yamaguchi, Satoshi Sakamoto, Masanori Abe and Hiroshi Handa: Identification of a chemical substructure that is immobilized to ferrite nanoparticles (FP), Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 54, 2, 249-253 (2007) 査読有
- ⑥ Kosuke Nishio, Nobuyuki Gokon, Shingo Tsubouchi, Morihito Ikeda, Hiroki Narimatsu, Satoshi Sakamoto, Yasuo Izumi, Masanori Abe, and Hiroshi Handa: Direct Detection of Radox Reactions of Sulfur-containing Compounds on Ferrite Nanoparticle (FP) Surface, Chemistry Letters, 35, No.8, 974-975 (2006) 査読有

⑦ Kawano, M., Inoue, T., Tsukamoto, H., Takaya, T., Enomoto, T., Takahashi, R. U., Yokoyama, N., Yamamoto, N., Nakanishi, A., Imai, T., Wada, T., Kataoka, K. and Handa, H.: The VP2/VP3 minor capsid protein of SV40 promotes the in vitro assembly of the major capsid protein VP1 into particles, J. Biol. Chem., 281, 10164-10173 (2006) 査読有

⑧ K. Okawa, M. Sekine, M. Maeda, M. Tada, M. Abe, N. Matsushita, K. Nishio, and H. Handa: Heating ability of magnetite nanobeads with various sizes for magnetic hyperthermia at 120kHz, a noninvasive frequency, Journal of Applied Physics, 99, 08H102, 1-3 (2006) 査読有

[学会発表] (計 25 件)

① 阿部正紀, 多田大, 中川貴, 半田宏: 医用磁性ビーズの作製と応用, 第3回日本磁気科学会年次大会 弘前大学コミュニケーションセンター, プログラム・要旨集 P119-120 (2008年10月1日~2日)

② 永井宏宜, 田中俊行, 多田大, 中川貴, 阿部正紀: バイオメディカル応用を目指した単分散・球形フェライトナノ粒子の作製と粒径制御, 粉体粉末冶金協会平成20年度春季大会, 早稲田大学国際会議場, 1-35A 講演概要集 P180 (2008年5月27日~29日)

③ K. Okawa, T. Kanemaru, M. Tada, T. Nakagawa, Y. Hase, S. Nomura, M. Ikeda, K. Nishio, H. Handa, M. Abe: Heating ability of iron oxide nanoparticles at 120-900 kHz for magnetic anticancer hyperthermia, The 1st International Symposium on Advanced Magnetic Materials (ISAMMA2007), May 28-June 1, 2007, Jeju, Korea (invited).

[図書] (計 2 件)

① Hiroshi Handa, Masaaki Kawano, R. Holland Cheng: World scientific, STRUCTURE-BASED STUDY OF VIRAL REPLICATION, p. 609-p. 630 (2008) (総ページ数 664 ページ)

② 半田宏, 阿部正紀, 野田紘憲: 磁性ビーズのバイオ・環境技術への応用展開, シーエムシー出版, 144-182 (2006)

[産業財産権]

○ 出願状況 (計 2 件)

①

名称：改変されたウィ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, 金刺進之助, 高橋陵宇

権利者：東京工業大学

種類：特願

番号：2007-503799

出願年月日：2008/11/19

国内外の別：国内

②

名称：球状フェライトナノ粒子及びその製造方法

発明者：阿部正紀、半田宏、中川貴、多田大、嶋津隆一

権利者：東京工業大学

種類：特願

番号：2007-000649

出願年月日：2007/1/5

国内外の別：国内

○取得状況（計 0 件）

〔その他〕

6. 研究組織

(1) 研究代表者

阿部 正紀 (ABE MASANORI)

東京工業大学・大学院理工学研究科・教授

研究者番号：7 0 0 1 6 6 2 4

(2) 研究分担者

半田 宏 (HANDA HIROSHI)

東京工業大学・大学院生命理工学研究科・教授

教授

研究者番号：8 0 1 0 7 4 3 2

甲田 英一 (KOURA EIICHI)

東邦大学・医学部・教授

研究者番号：8 0 1 0 1 9 8 9