

機関番号：82502

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2008～2010

課題番号：20500415

研究課題名（和文）

量子ドットを用いた腫瘍画像診断のための複合ナノ・バイオプローブの開発

研究課題名（英文）

Nanobioprobes for Multimodal Imaging Diagnostics of Cancer in Experimental Animals

研究代表者

ルミアナ バカロバ (RUMIANA BAKALOVA)

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・主任研究員

研究者番号：30469936

研究成果の概要（和文）：

本実験計画の目的は、生体適合性が高いシリカによる量子ドットに腫瘍特異的な抗体を付加することで腫瘍に標的化し、高磁場MRIと生体蛍光イメージングの両方で腫瘍検出が可能なマルチ・プローブを作成することである。B72.3抗体を負荷したマルチモーダル量子ドットを製造し、尾静脈からマウスに投与し、Colon26皮下腫瘍モデルにて蛍光イメージングおよび7T MRIの両方で、同一個体に対して撮像することに成功した。今回の結果は、本手法の大腸癌早期診断に対する有用性を示唆した。

研究成果の概要（英文）：

The purpose of these experiments is to clarify whether this probe is appropriate for early diagnostics of colon cancer using combined fluorescence/MR imaging. We applied two multimodal quantum dot probes (QD-probe) for cancer imaging in experimental animals, using fluorescent imaging and magnetic resonance imaging. QD-probe (conjugated with PEG and B72.3 using carbodiimide) was injected into the tail vein of the mouse. 7T-MRI and optical imaging allows visualization of the tumor in the early stage. Our research has been reported as manuscripts in peer-reviewed journals and presentations on scientific conferences.

交付決定額

（金額単位：円）

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|--------|-----------|-----------|-----------|
| 2008年度 | 2,100,000 | 630,000 | 2,730,000 |
| 2009年度 | 900,000 | 270,000 | 1,170,000 |
| 2010年度 | 600,000 | 180,000 | 780,000 |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 総計 | 3,600,000 | 1,080,000 | 4,680,000 |

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：ナノバイオ材料・分子イメージング・複合画像

1. 研究開始当初の背景

半導体技術から派生した量子ドット・ナノ粒子は、有機色素の100倍の蛍光強度を持つ。この技術を用いた生体適用に関して、応用が望まれており、MRIと蛍光イメージングの両方で利用可能なマルチモーダル技術に関し

ても、進展が期待されていた。

2. 研究の目的

本実験計画の目的は、生体適合性が高いシリカによる量子ドットに腫瘍特異的な抗体やペプチドを付加することで腫瘍に標的化し、

高磁場 MRI と生体蛍光イメージングの両方で腫瘍検出が可能なマルチ・プローブを作成することである。その有用性を異なった腫瘍株やステージにおいて検討すると共に、超早期腫瘍の検出の可能性についても併せて検討した。

3. 研究の方法

初年度は、次のような動物実験モデルにて検討した。Nude mice (Balb6) に colon-26 cancer を皮下移植した。腫瘍は、移植後 5 日で約 2 mm に、10 日で約 5-6 mm に成長し、これらの両方について検討した。マウスは、1-1.5% の isoflurane にて持続的に麻酔され、蛍光イメージングおよび MRI が撮像された。シリカによりシールドされた量子ドットは carbodiimide 合成によりポリエチレングリコールと B72.3 が結合され、マウスの尾静脈より、蛍光イメージングに対しては 1.6 nmol QD/kg、MRI に対しては、1 umol QD/kg b.w. が投与された。投与直後、マウスは蛍光イメージングと MRI の両方でもう一度計測された。次年度以降は、マウス大腸癌モデル (colon-26) の異なったステージにおける、その発達を可視化した。B72.3 抗体を負荷したマルチモーダル量子ドットを製造し、担癌マウスに適用し、in vivo で観察した。イソフルレン麻酔下において、ナノバイオプローブを尾静脈からマウスに投与し、蛍光イメージング装置および 7T MRI の両方で、同一個体に対して撮像を行った。蛍光イメージングは、Caliper Life Sciences 社の IVIS Lumina を使用し、MRI は神戸製鋼社と Bruker 社製の 7T MRI と送受信ボリュウムコイルを使用した。

4. 研究成果

初年度、蛍光イメージングでは、colon26 細胞株移植 10 日後となる腫瘍系 5 mm を可視化する事が出来た。信号雑音比は、腫瘍部で 2.5 倍だった。MRI では、colon26 細胞株移植 5 日後となる腫瘍系 2 mm の早期腫瘍を可視化する事が出来た。次年度以降、蛍光イメージングと MRI の両方で、B72.3 抗体を負荷したマルチモーダル量子ドットによる標的化に成功した。この実験によって、このマルチ・プローブが、光と MRI の両方のイメージング手法の組み合わせで大腸癌の早期診断が可能になることが強く示唆された。本プローブは、まだ肝臓に多く集まるという問題点がある。その問題点を解決するためには、より大きな分子量の PEG を使うか、より長期間、PEG2000 の欠損がないようにプローブの安定性を維持する条件を見出す必要性など、今後、安全性や集積の特異性向上に関する更なる改良が必要と考えられた。

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 7 件)

- (1) Zhelev Z, Bakalova R, Aoki I, Gadjeva V, Kanno I. Imaging of cancer by redox-mediated mechanism: a radical diagnostic approach. *Mol Biosyst.* 2010 Dec;6(12):2386-8. Epub 2010 Oct 8. PubMed PMID: 20936212.
- (2) Zhelev Z, Matsumoto K, Gadjeva V, Bakalova R, Aoki I, Zheleva A, Anzai K. EPR signal reduction kinetic of several nitroxyl derivatives in blood in vitro and in vivo. *Gen Physiol Biophys.* 2009 Dec;28(4):356-62. PubMed PMID: 20097958.
- (3) Zhelev Z, Bakalova R, Aoki I, Matsumoto K, Gadjeva V, Anzai K, Kanno I. Nitroxyl radicals for labeling of conventional therapeutics and noninvasive magnetic resonance imaging of their permeability for blood-brain barrier: relationship between structure, blood clearance, and MRI signal dynamic in the brain. *Mol Pharm.* 2009 Mar-Apr;6(2):504-12. PubMed PMID: 19718801.
- (4) Zhelev Z, Bakalova R, Aoki I, Matsumoto KI, Gadjeva V, Anzai K, Kanno I. Nitroxyl Radicals for Labeling of Conventional Therapeutics and Noninvasive Magnetic Resonance Imaging of Their Permeability for Blood-Brain Barrier: Relationship between Structure, Blood Clearance, and MRI Signal Dynamic in the Brain. *Mol Pharm.* 2009 Feb 10. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 19206512.
- (5) Bakalova R, Zhelev Z, Gadjeva V. Quantum dots versus organic fluorophores in fluorescent deep-tissue imaging--merits and demerits. *Gen Physiol Biophys.* 2008 Dec;27(4):231-42. PubMed PMID: 19202196.
- (6) Zhelev Z, Bakalova R, Aoki I, Matsumoto K, Gadjeva V, Anzai K, Kanno I. Nitroxyl radicals as low toxic spin-labels for non-invasive

magnetic resonance imaging of blood-brain barrier permeability for conventional therapeutics. Chem Commun (Camb). 2009 Jan 7;(1):53-5. Epub 2008 Nov 13. PubMed PMID: 19081996

- (7) Bakalova R, Zhelev Z, Aoki I, Masamoto K, Mileva M, Obata T, Higuchi M, Gadjeva V, Kanno I. Multimodal silica-shelled quantum dots: direct intracellular delivery, photosensitization, toxic, and microcirculation effects. Bioconjug Chem. 2008 Jun;19(6):1135-42. Epub 2008 May 22. PubMed PMID: 18494515.

[学会発表] (計3件)

- (1) Zhelev Z., I. Aoki, R. Bakalova, V. Gadjeva, I. Kanno. - Multimodal quantum dots: Direct intracellular delivery, photosensitization, and cytotoxic effects, 5th International Conference on Nanoscience & Nanotechnologies (NN08), July 12-18, 2008, Thessaloniki, Greece (poster)
- (2) Zhelev Z., R. Bakalova, I. Aoki, M. Mileva, V. Gadjeva, I. Kanno. - Sensitization of cancer cells to radiation using hybrid nanoparticles: Activation of apoptotic factors, 5th International Conference on Nanoscience & Nanotechnologies (NN08), July 12-18, 2008, Thessaloniki, Greece (poster)
- (3) Bakalova R., Z. Zhelev, I. Aoki, K. Matsumoto, V. Gadjeva, I. Kanno. - Nanobioprobes for multimodal molecular imaging: Chemical design, spectral characteristics and biomedical applications, 5th International Conference on Nanoscience & Nanotechnologies (NN08), July 12-18, 2008, Thessaloniki, Greece (oral presentation)

[その他]

プレスリリースを行い、2009年1月31日・読売新聞夕刊、2009年2月18日 Japan Medicine 誌、2009年2月12日千葉日報、2009年2月20日・日本科学新聞他、各 web ニュースなど、多くに掲載された。また、2009年2月25日付けの Nature Publishing Group の

Asia material にハイライトされた。さらに、2009年5月18日、NIK 国際放送局からラジオジャパン・フォーカスという番組で、20カ国語に翻訳され、国際的に放送された。

6. 研究組織

(1) 研究代表者

ルミアナ バカロバ (RUMIANA BAKALOVA)
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・主任研究員
研究者番号：30469936

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

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

ジェレフ ジフコ (ZHIVKO ZHELEV)
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・主任技術員
研究者番号：60511532