

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：17102

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24591098

研究課題名(和文)心不全に対する金ナノロッドを用いた心臓限局温熱療法の開発

研究課題名(英文) Targeted heart hyperthermia for heart failure using gold nano-rod

研究代表者

樋口 義洋 (Higuchi, Yoshihiro)

九州大学・大学病院・助教

研究者番号：40404032

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,200,000円

研究成果の概要(和文)：ナノ粒子である金ナノロッド(GNRs)を心不全マウスの静脈内に投与することにより心筋炎症部位にGNRsが集積することを初めて明らかにした。集積のメカニズムとしては心筋炎症部位での血管透過性の亢進と推測される。さらに、心臓に近赤外レーザーを照射し、心臓に集積したGNRsを発熱させることにより心筋に熱ショックプロテイン(HSP90)が発現した。GNRsはバイオイメージング、光温熱治療や薬物送達へ応用できる。GNRsを抗体修飾することにより、効率的に心不全心筋へ集積させることが可能となる。心臓限局温熱療法による心不全治療開発の基礎研究として意義のある研究と考えられた。

研究成果の概要(英文)：Gold nanorods (GNRs), rod-shaped gold nanoparticles, act as both contrast agents for in vivo bioimaging and thermal converters for photothermal therapy to treat inflammatory disorders. Pro-inflammatory cytokines play critical roles in the development of heart failure. We herein examined the delivery of GNRs into the inflammatory heart in a transgenic mouse (TG) model of inflammatory cardiomyopathy with the cardiac specific overexpression of TNF- α . We modified GNRs with polyethylene glycol (PEGylated GNRs) to avoid cytotoxicity and reduce the rapid clearance of nanoparticles from the blood. PEGylated GNRs were administered intravenously in TG and wild-type mice. A quantitative analysis of Au was performed using inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). Approximately twice more Au was detected in the TG heart. We herein demonstrated that PEGylated GNRs are prone to accumulate in the heart with inflammatory cardiomyopathy.

研究分野：循環器内科学

キーワード：金ナノロッド 心不全 温熱療法

1. 研究開始当初の背景

(1) 心不全に対する温熱療法として、鄭らが開発した「和温療法」が臨床応用されつつある (Miyata et al. *Circ J.* 2010)。和温療法とは、遠赤外線乾式サウナにより深部体温を約 1 上昇させることで、心不全患者の心機能や予後の改善を期待する治療法である。しかし、専用の乾式サウナ装置による全身温熱は制約が多い。心不全に対し全身温熱 (whole body hyperthermia) がよいか、心臓局所温熱 (targeted hyperthermia) が良いかは明らかではない。

(2) 金ナノロッドは棒状の金ナノ粒子であり、球状の金ナノ粒子と違い組織透過性の高い近赤外線領域 (800-900nm) に強い吸収域を持つ (図 1)。光エネルギーを熱に変換するフォトサーマル効果を示す他、粒子表面の様々な化学修飾が行えるため発光によるバイオイメージングや薬物のデリバリーシステムにも応用可能な新しい診断・治療を実現する機能性ナノ材料として期待されている。

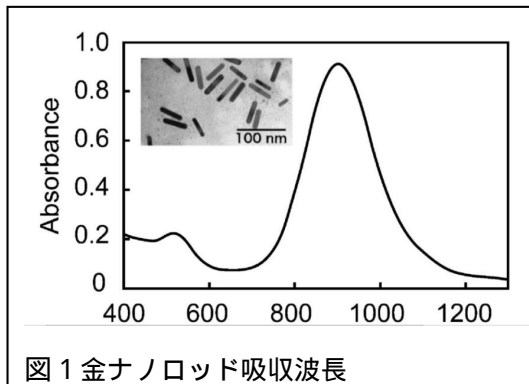


図 1 金ナノロッド吸収波長

2. 研究の目的

(1) 当研究目的は、金ナノロッドによる心臓局所温熱法をマウスを用いて開発することである。

(2) さらに心不全マウスを用いて、従来の全身温熱と心臓局所温熱の心不全治療効果の比較を行うことにより、心臓局所温熱療法が心不全の新たな治療法になり得るかを明らかにするものである。

3. 研究の方法

心不全マウス (心筋特異的 TNF- 過剰発現トランスジェニックマウス) の尾静脈から金ナノロッドを注入し心不全心筋への金ナノロッドの集積および温熱効果を確認するために下記の実験を行った。

(1) ポリエチレングリコール修飾した金ナノロッド (Au 1.66mM) を 6 か月齢の心不全マウスと正常マウスに尾静脈投与した (10 μ L/g 体重)。24 時間から 48 時間後に心臓と脾臓を取り出し、臓器に含まれる金重量を誘導結合プラズマ質量分析装置 (ICP-MS) にて測定した。

(2) 心臓の位置の体表面上から近赤外線レーザー照射により (図 2 a)、心臓に取り込まれた金ナノロッドが発熱し (図 2 b) 心筋内

に熱ショック蛋白 (HSP90) が発現するかを、高感度サーモメーターと Western bot により明らかにした。

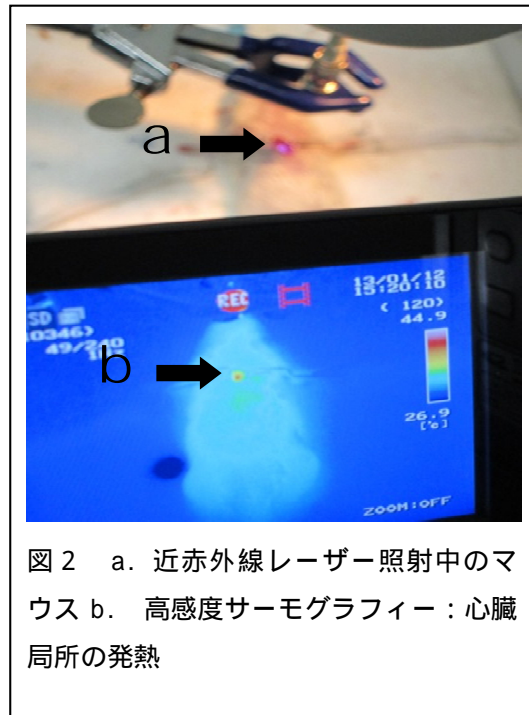
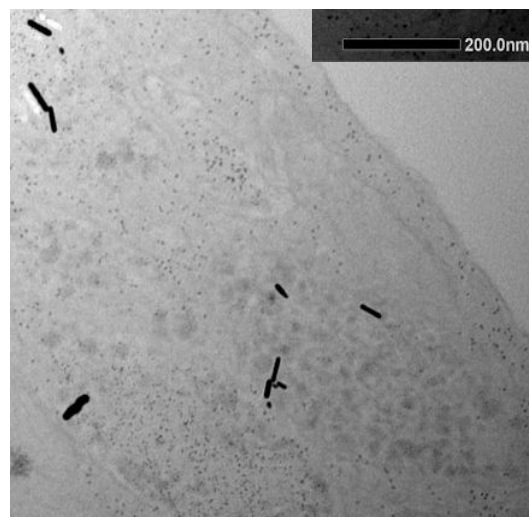


図 2 a. 近赤外線レーザー照射中のマウス b. 高感度サーモグラフィー：心臓局所の発熱

4. 研究成果

(1) 脾臓に含まれる金重量は心不全マウスと正常マウスで変化なかったが、心臓には心不全マウスの方が約 2 倍量の金の集積が認められた。正常 vs. 心不全マウス; 96.2 \pm 40.6 vs. 81.7 \pm 24.1 ng/mg (脾臓, $P > 0.05$), 22.2 \pm 8.6 vs. 42.3 \pm 25.3 ng/mg (心臓, $P < 0.05$)。さらに電顕像で金ナノロッドが心不全心筋内に存在していることを明らかにした (下記電顕像)。



(連携研究者：新留 琢郎より提供)

(2) 近赤外線レーザー (260mW) 10 分照射により金ナノロッド投与した心不全マウスの心

臓には HSP90 の発現が認められたが、同様の処置をした正常マウスの心臓には近赤外線レーザー照射しても HSP90 の発現は認められなかった(図3)。

以上、我々はポリエチレングリコール修飾した金ナノロッドが心不全マウスの炎症心筋に集積することを初めて明らかにした。集積のメカニズムとしては心筋炎症部位での血管透過性の亢進と推測される。さらに生体外からの近赤外線レーザー照射により心筋に温熱による生体反応(熱ショック蛋白の発現)を確認し得た。

図3 Western blot(HSP90)



W:正常マウス
TG:心不全マウス

本研究の意義:

金ナノロッドはバイオイメージング、Photothermal 治療や薬物 delivery へ応用できる。金ナノロッドを抗体修飾することにより、効率的に心不全心筋へ集積させることが可能となる。心臓限局温熱療法による心不全治療開発の基礎研究として意義のある研究と考えられた。

今後の展開:

乾式サウナによる全身温熱と金ナノロッドによる局所温熱のどちらが心不全にとって有用か心不全マウスを使用し明らかにする。さらに、金ナノロッドに抗体を接着し抗体療法と温熱療法の相乗効果による心不全治療を開発する。

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 1 件)

樋口 義洋、久保田 徹、小柳 雅孔、前田 豊樹、Arthur M Feldman、牧野 直樹
Upregulation of anticoagulant proteins, protein S and tissue factor pathway inhibitor, in the mouse myocardium with cardio-specific TNF- overexpression. Am J Physiol Heart CircPhysiol 査読あり 302: H2352-2362, 2012.

〔学会発表〕(計 3 件)

樋口 義洋、小柳 雅孔、久保田 徹、

牧野 直樹 Thrombomodulin Alpha Improved the Cardiac Function but not Hypertrophy in a Transgenic Mouse Model of Inflammatory Cardiomyopathy
第 77 回日本循環器学会学術集会 平成 25 年 3 月 17 日パシフィコ横浜

樋口 義洋、小柳 雅孔、久保田 徹、堀内 孝彦、塩沢 俊一 A Selective Inhibitor of c-Fos/Activator Protein-1 Inhibits IL-1 ; Production and Improves Heart Failure in Transgenic Mice with Cardiac-Specific TNF- Expression
第 78 回日本循環器学会学術集会 平成 26 年 3 月 22 日東京国際フォーラム

樋口 義洋、新留 琢郎、久保田 徹、小柳 雅孔、堀内 孝彦 Accumulation of gold nanorods in the failing heart of Transgenic Mice with a Cardiac-Specific TNF- Expression
第 79 回日本循環器学会学術集会 平成 27 年 4 月 26 日大阪国際会議場

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

取得状況(計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
取得年月日:
国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

樋口 義洋(HIGUCHI YOSHIHIRO)
九州大学病院別府病院・内科・助教
研究者番号: 40404032

(2)研究分担者

小柳 雅孔(KOYANAGI MASAMICHI)
九州大学病院別府病院・内科・助教

研究者番号：00325474

前田 豊樹 (MAEDA TOYOKI)
九州大学病院別府病院・内科・准教授
研究者番号：30264112

牧野 直樹 (MAKINO NAOKI)
九州大学病院別府病院・内科・名誉教授
研究者番号：60157170

(3)連携研究者

新留 琢郎 (NIIDOME TAKURO)
熊本大学・自然科学研究科・教授
研究者番号：20264210

(4)研究協力者

土田 啓子 (TSUCHIDA KEIKO)