

機能性ナノ粒子を用いた DDS 並びに腫瘍細胞動態の *in vivo* イメージング

大内 憲明^{*1)}, 武田 元博²⁾, 権田 幸祐²⁾

1) 医学系研究科 外科病態学講座
腫瘍外科学分野 教授

2) 医学系研究科 ナノ医科学寄附講座
E-mail: noriakio@mail.tains.tohoku.ac.jp



1. はじめに

ナノテクノロジーにより従来にはない優れた機能を持つナノ粒子が数多く作製され、医療を中心に数多くの分野で応用されている。ナノ粒子は様々な生体由来材料や人工材料等を用いて作られており、生体構造を模した物質、さらには全く新しい構造を持つ種々のナノ粒子が存在する。今日、医療分野においてこれら利用した診断から治療に至る新しい手法・技術が次々に開発されている。

現在の医療において、医療の個別化、すなわち個々の患者の病態に即した、最適かつ低侵襲の治療はあらゆる医療分野で求められている。医療の個別化を実現するためには高度な診断・治療技術が必須である。ナノテクノロジーは、新しい機能を持った材料の創製や装置の超微細化を可能としていることから、これまでの常識を超える精細な診断や病巣特異的な治療の実現に大きな期待が寄せられている。

医療応用可能なナノ粒子として、量子ドット、金コロイド、ヨウ化銀ビーズなどの無機物から、デンドリマー、リポソーム、高分子ミセルおよびウイルスの外殻タンパクのクラスターを利用した中空ナノ粒子などの有機物まで、極めて多彩なナノ材料がこれまでに作製されてきた。ナノ粒子は数百ナノメートル以下の大きさを持つ粒子と定義され、表面に付着した機能分子による機能付与ばかりでなく、大きさそのものが機能を持つ場合もある。人工的に作られたナノ粒子は、それぞれ様々な目的で作られており、例えば量子ドットは優れた蛍光特性を持ち、有機系蛍光色素の 20–30 倍もの蛍光強度、高い耐光性、励起波長の多様性などを示す。ヨウ化銀ビーズは X 線造影効果を持つ材料として作製されている。またデンドリマー[1]やリポソーム[2]、高分子ミセル等は薬剤を内包する空間を持つことから Drug Delivery System (DDS) に利用される[3]。

DDS とは、薬剤を目的とする標的臓器・部位へ輸送するシステムのことであり、例えばデンドリマーは樹枝状に伸びたポリマーの多数の枝の間に物質を挟み込み、一方、リポソームや高分子ミセル等は中空であるため、内部に薬剤を内包することによって DDS に利用される。薬剤を内包することによって、薬剤が病巣に到達するまで健常部位に対する副作用を軽減し、病巣で薬剤を放出することによって病巣での効果的薬物濃度上昇を狙うのである。

ナノテクノロジーの応用のひとつとして、Drug Delivery System (DDS) の評価が挙げられる。これは、最適な DDS を得るために設計されたナノ粒子を用いることで、病巣または標的臓器に効率的に薬剤を到達させ、薬効を高め、なおかつ副作用を減らすことができる。最適な DDS の開発には薬物の体内動態、すなわち到達経路を詳細に解明することが重要である。我々は、蛍光ナノ粒子を生体内 1 粒子レベルで計測する技術を開発し、それによって高い空間分解能、時間分解能での計測が可能となった。

現在、ナノテクノロジーは材料開発のみでなく、電子機器などの超小型化をも強力に推進しており、カプセル内視鏡や体内手術ロボットなど、これまで空想の世界でしか考えられなかった治療法の実用化が目前に迫っている。ナノテクノロジーによる新しい手法は、人工臓器や外科手術を始め、あらゆる医療分野での利用が期待され、医療技術を革新する潜在的力を持つ。このような時代の大きな変化を背景に、我々は機能性ナノ粒子を用いた新しい計測技術を開発し、医療への応用を検討してきた。

本稿では、我々の機能性ナノ粒子を用いた医療応用への取り組み、特に蛍光ナノ粒子計測法を中心に概説する。

2. 機能性ナノ粒子を用いたイメージング

2.1 腫瘍における粒子サイズのDDSに与える効果の検討

近年、分子1個を識別、追跡することで薬物動態を明らかにする手法が注目されている。従来、蛍光色素を用いた1分子計測は蛍光色素の蛍光強度不足や装置の感度不足のため計測が困難であった。最近になり、量子ドットと超高感度な受光素子が出現し、蛍光1粒子を高“時間・空間”分解能で計測することが可能となった。我々は生体内の薬物動態を1分子レベルで計測するため、超高感度蛍光計測システム(図1)を独自に開発した。装置は倒立顕微鏡、ニポ一板式共焦点ユニット、Electron multiplying charge-coupled device (EMCCD)カメラ、レーザー光源から成る。我々はこれまでの研究で乳がん細胞に発現したHER2タンパクに対する単クローン抗体trastuzumab(分子標的抗がん剤)と量子ドットの結合物(Q-T complex)を作製し、ヒト由来乳がん細胞株KPL-4 担がんマウスに対し超高感度蛍光計測システムを用い、静脈投与後のQ-T complexの体内動態について蛍光1粒子計測を試み、担癌マウスにおいて、Q-T complexの①血管内での挙動、②血管外への漏出、③細胞膜への結合、④細胞内への取り込み、⑤細胞内の動態をin vivoで捉えることに成功した。この中でQ-T complexはそれぞれの段階で特異な動き

を示すことが明らかになった。すなわち、血管内および血管外への漏出時には、ランダムな動きと急速な一方向の動きが組み合わせられた動きを示し、細胞内でも同様に微細でランダムな動きと急激で速い、核に向かう運動が観察された。細胞内での挙動はキネシンやダイニンなどの細胞内モータータンパクに結合しての能動的な輸送によることが強く示唆された。

今回、ヒト由来乳がん細胞株KPL-4を移植した担がんマウスに粒径20, 40, 100nmの蛍光ナノ粒子を静脈投与し、超高感度蛍光計測システムを用いてそれぞれのナノ粒子の腫瘍間質内の動態について蛍光1粒子計測を試みた。その結果、一分子挙動を生体内にて詳細に確認することができた。ナノ粒子の間質内の運動がランダム運動と末梢血管から遠位に向かう運動の複合運動であり、解析にて拡散と方向性を持った運動に分離定量化した。また粒径の増大、腫瘍内位置と拡散、方向性を持った運動の関連を定量化した。この結果から血管外漏出から腫瘍細胞へ至るまでの時間を算出し得た。末梢血管付近、腫瘍細胞間、血管と腫瘍細胞の間の中の間質についてそれぞれ観測した。血管付近ではどのサイズのナノ粒子も一定の方向に向かう流れを示し、血管と腫瘍細胞の間の中の間質においては粒径が小さいほど一定の方向に向かうベクトルが強く、逆に大きな粒子は拡散によると思われるランダムな方向の運動を示した。腫瘍細胞間では、20nmのナノ粒子がわずかに方向性を持つ動きを示したが、他の粒子はほぼランダムな動きを示した。

このように1粒子の動態を高感度に直接検出する手法は現在のところ我々のシステム以外にはなく、今後、薬剤の最適なDDS開発や生体内のシグナル伝達の解明に大きく寄与するものと考えられる。

2.2 転移性がん細胞動態のイメージング

がんの最も脅威な点の1つは転移能である。転移性がん細胞は、細胞運動によって原発巣から血管に移動した後、血管内に浸潤し血流に乗り他組織へ移動する。その後、他組織内で血管外へ浸潤し、再び腫瘍を形成する。すなわち、細胞の運動機能や浸潤機能は、がん転移において重要な役割を果たしている。これまで細胞運動や細胞浸潤の研究は、人工的な培養条件下(in vitro)の解析が主流であった。この実験系による活発な研究の結果、細胞は運動や浸潤時に糸状仮足、葉状仮足、浸潤突起などアクチン骨格系ダイナミクスに制御される仮足形成を細胞進行方向に行うことで細胞動態を巧みに調節していることが分かってきた。また、細胞の運動機能や浸潤

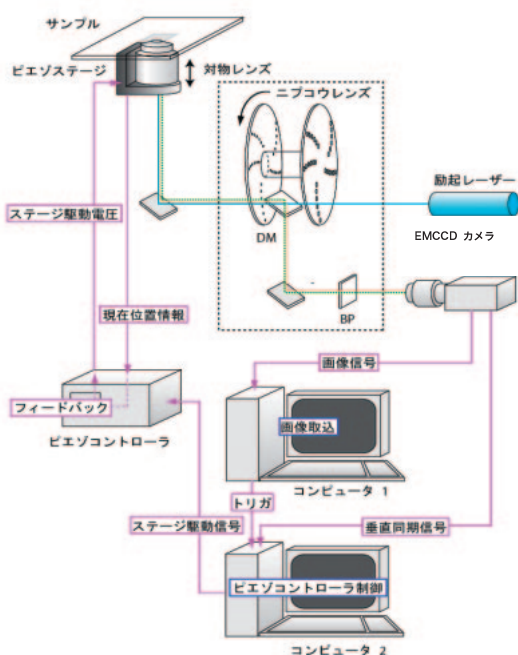


図1. 超高感度蛍光計測システム

機能に関わる多くのシグナル伝達蛋白質やその分子機能が分子生物学的手法を用いて明らかにされてきた。これらの研究は、人工的培養条件下におけるがん転移のモデル構築を助けると共に、がん転移を標的とした抗がん剤の創製にも貢献してきた。しかし、実際にがん転移が起こっている腫瘍組織(*in vivo*)には、「がん細胞の増殖や転移を助ける新生血管」、「細胞間の3次元的相互作用」、「生体内特有のイオン強度や粘性」など人工的にはとても再現仕切れない環境が存在する。よってがん転移の仕組みを本質的に理解し、がん治療へ効果的に応用するためには、生体内のがん転移を直接イメージングする技術(*in vivo*イメージング)が必要となる。

これまでに、LuciferaseやGFPを発現させたがん細胞を使ってマウスに腫瘍を作製し*in vivo*イメージングする方法が、最近10年の間に急速に発展してきた。Luciferaseを用いた方法は、既に製品化された装置を使ってマウス全体を非侵襲的に観察出来る利点がある一方で、細胞1個が見える分解能には達していない。そのため、個体全体のがん転移状態を観察するには優れているが、細胞レベルのイメージングには不向きである。また、GFPを用いた方法は、Condeelisらのグループが2光子顕微鏡を用いた観察法で先駆的な研究を行っている。この方法は1000nm前後の長波長のパルスレーザーを使用するため、腫瘍深部の観察には優れているが、1枚の画像取得に数秒程度を要し、また空間的精度も μm のレベルである。さらに、GFPの早い退色性が連続的長時間観察を妨げている。以上の理由から、上記のこれまでのイメージング法は、細胞膜がnmオーダーでダイナミックに伸縮する細胞運動・浸潤の観察に最適であるとは言えなかった。また、Condeelisらはマウスの腹部皮下に腫瘍を作製しがん転移の観察を試みているが、マウスの呼吸由来の振動を軽減し切れておらず、これが画像解析に大きく影響している。

本研究では、上記の問題点を解決するために、(1)蛍光材料、(2)転移性がん細胞の特異的ラベル法、(3)イメージング装置、(4)担がんマウス調製法、のそれぞれについて、他の研究には見られない独創性・新規性を有した工夫を行った。以下それぞれについて述べる。

(1)蛍光材料:

本研究では、直径約20nmの蛍光性ナノ粒子(量子ドット)を使った*in vivo*イメージングにより、がん細胞の転移機構を解明することを考案した(図2)。これまで、がん転移に関わる細胞運動や浸潤を量子ドットで*in vivo*イメージングした例はない。また、量子ドットは蛍光強度がGFPの数倍以上、消光までの寿

命はGFPの百倍以上もあり長時間の連続観察が可能であると供に、その高輝度性は高時間分解能(2ms)・高空間分解能(数nm)での粒子解析を可能にしている(BBRC 07')。すなわち、がん転移時のnmオーダーの細胞膜ダイナミクスを解析する上で、量子ドットはLuciferaseやGFPに比べ非常に優れた材料であることを示している。

(2)転移性がん細胞の特異的ラベル法:

本研究では、がん転移を研究するに当たり、乳がん焦点を当て研究を進めた。日本では年間約4万人が新たに乳がんを患い(女性第1位)、約1万人が乳がんで亡くなっている。また、最新のデーターから、女性の20人に1人が乳がんを患うと推計するデーターもある。よって乳がんの転移機構を理解し、効果的な治療法を開発することは、社会全体の切実な要望である。

乳がんにおける転移性がん細胞を特異的にラベルするために、乳がんのがん転移能活性化膜蛋白質に注目した。この膜蛋白質は、低転移性の乳がん培養細胞ではごく少量の発現しか観られないが、高転移性の乳がん培養細胞ではほとんどの細胞株で高発現しており、多くの研究者がこの膜蛋白質によって乳がん細胞の転移能が活性化されることを支持している。また、この膜蛋白質に関して、ヒト型とマウス型の間では、N末の細胞外部位の配列の一部に違いが観られるため、ヒト型を特異的に認識する抗体を用いれば、マウス生体内でヒトの転移性乳がん細胞を特異的に標識し、その細胞動態の観察が可能となる。我々は、ヒト型膜蛋白質の特異的な配列を認識するモノクローナル抗体を独自に作製し、この抗体と量子ドットを架橋したプローブが細胞膜上の膜蛋白質を特異的に蛍光ラベルできることを明らかにした(図2, 3)。よって、本抗体を用いた転移性がん細胞の特異的標識法は高い新規性を有していると考えられる。

(3)イメージング装置:

IX71 落射照明顕微鏡(オリンパス)に、532nm レーザー、横河社製共焦点ユニット、EM-CCD カメラ(アンドール)を組み合わせ、これに独自に開発したマウス観察用の低振動性ステージを取り付けて*in vivo*イメージング装置を開発した(図3)。イメージング画像は、共同研究者の渡邊(大阪大・免疫フロンティア研究所)によって開発された輝点解析用ソフトを用いて解析した。

(4)担がんマウス調製法:

本研究では腫瘍のがん細胞を観察する際、Condeelisらとは異なり、背中側皮下に腫瘍を調製し、低振動

性ステージ(図4)を用いて *in vivo* イメージングすることで、転移性がん細胞のダイナミクスを nm オーダーで解析することに成功した。

以上の(1)-(4)によってイメージング法の改良を行い、以下 *in vitro* と *in vivo* において、転移能活性化膜蛋白質抗体-量子ドットプローブ(図3)による細胞動態の解析を行った。

in vitro の細胞を細胞挙動に影響の無いプローブ濃度(5nM)で標識し、膜蛋白質動態を解析した結果、

「膜の非伸縮領域」において膜蛋白質はゆっくりとした拡散運動をしていた($2-3 \times 10^4 \text{ nm}^2/\text{s}$)。一方、膜伸縮運動が活発な葉状仮足上では、拡散速度が6倍に増加していた。細胞運動において、細胞体の平均運動速度が0.01nm/ms、糸状仮足の伸長速度が0.2nm/msであることを考えると、膜蛋白質の拡散速度は細胞体や仮足形成に付随した動きではなく、ほとんどが拡散運動に由来する動きであると考えられる。膜蛋白質は細胞膜を裏打ちするアクチン繊維によって囲い込まれており、これが膜蛋白質の拡散運動を制限している。また、膜伸縮運動はアクチン繊維の重合・脱重合をベースとしている。以上のことを考慮すると、①アクチン繊維の重合・脱重合が不活発な膜の非伸縮領域では、アクチンによる膜蛋白質の囲い込みがタイトなため膜蛋白質の拡散速度が遅くなり、②逆にアクチン繊維の重合・脱重合が活発な膜伸縮領域では、アクチンによる膜蛋白質の囲い込みがルーズなため拡散速度が早くなると考えられる。実際、楠見(京大)らはアクチン繊維を阻害剤で破壊すると膜蛋白質の拡散速度が増大することを報告している。即ち本成果から、膜蛋白質動態の解析は、細胞運動のアクチン繊維ダイナミクスを調べる良い指標となることが分かった。

次に、ヌードマウスの皮下にがん転移能活性化膜蛋白質発現細胞で腫瘍を作製した後、プローブ(血中濃度5nM)を静脈注入し独自のイメージング装置で観察した。血管壁をすり抜け間質を通過したプローブは腫瘍細胞の膜蛋白質を蛍光ラベルする。がん細胞は血管からの誘引物質(EGFなど)に引き寄せられ、血管方向へ向かって間質中を移動すると考えられている。そこで血管からの細胞位置に注目し、「血管から数百 μm 離れたがん細胞」と「血管近傍のがん細胞」の膜蛋白質の拡散性を調べた。その結果、血管から遠方の細胞の膜蛋白質は、細胞全体に渡りゆっくりとした拡散性を示したが、血管近傍の細胞ではそれよりも10倍速い拡散性を持つことが分かった。さらに血管近傍のがん細胞では、血管に向かって浸潤突起を形成しており、この構造上では膜蛋白質の

拡散性が、血管遠方細胞のそれに比べ、300倍以上に上昇する結果を得ることに成功した。以上の結果は、血管近傍の細胞は、遠方の細胞に比べ膜蛋白質がより動的な状態にあり、膜の局所的活性化によって仮足形成を行っていることを示している。*in vitro* の結果を考慮すると、血管近傍の細胞は、遠方の細胞に比べ細胞全体に渡りアクチン繊維の重合・脱重合活性が活発であり、その結果膜蛋白質の拡散性が增大していると予想される。

本研究では、独自の *in vivo* イメージング装置を用いてがん転移に重要な腫瘍細胞の膜動態をナノメーター、ミリ秒スケールでイメージングすることに成功した。その結果、血管近傍細胞は、遠方の細胞に比べ、アクチン繊維ダイナミクスが活発であり、これにより膜蛋白質の拡散性が增大している可能性が示唆された。

生きた個体中で、1細胞レベルでがんをイメージングし、がんの仕組みを探索することは、長年、がん研究者の大きな目標の1つであった。これまでは技術的な問題のため、このような分解能で腫瘍内の細胞を可視化し、細胞動態を議論することは出来なかった。しかし、本研究によって新たな *in vivo* イメージング法が確立し、*in vivo* における細胞動態の本質

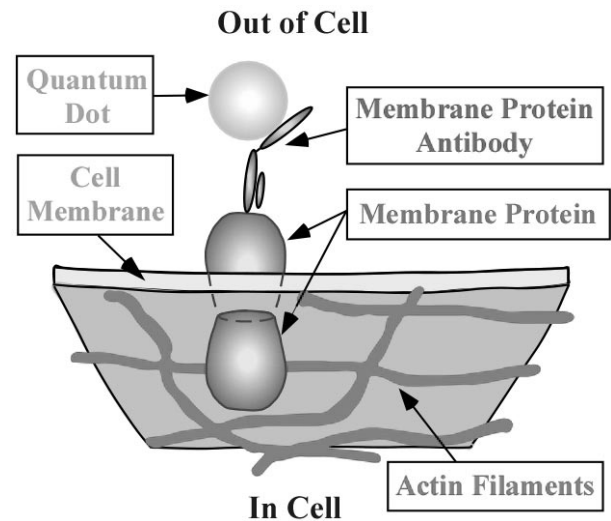


図2. 量子ドットを用いた細胞膜蛋白質標識法のモデル図。

膜蛋白質は細胞内裏打ち構造のアクチン繊維によって囲い込まれており、この区画化が膜蛋白質の動きを制限する。膜蛋白質は区画内をランダムに動きながら他の区画へホップし移動してゆく。膜蛋白質の細胞外領域を認識する抗体と蛍光性ナノ粒子を架橋したプローブで膜蛋白質を蛍光ラベルし、膜蛋白質の軌跡を解析した(抗体は単量体にした後、蛍光性ナノ粒子と架橋している)。

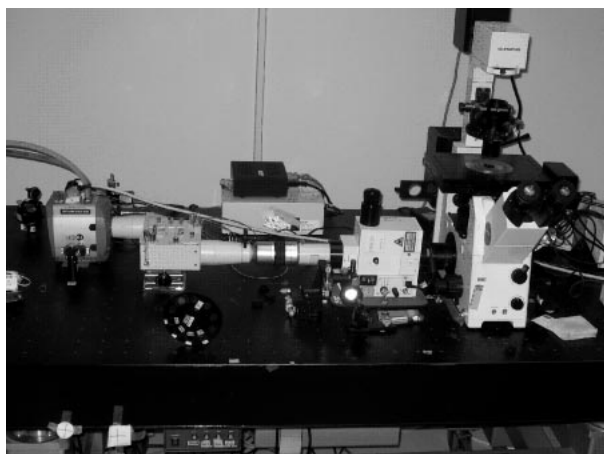


図3. イメージング装置

IX71 落射照明顕微鏡(オリンパス)に、532nm レーザー、横河社製共焦点ユニット、EM-CCD カメラ(アンドール)を組み合わせ、これに独自に開発したマウス観察用の低振動性ステージ(図5)を取り付けて *in vivo* イメージング装置を開発した。

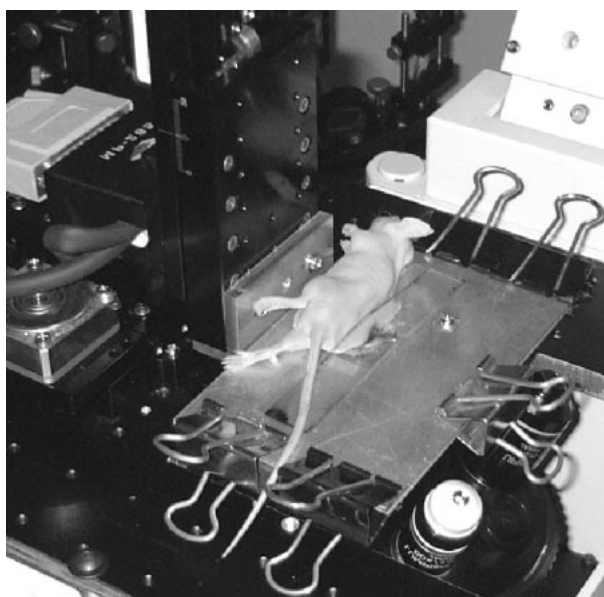


図4. マウス観察用低振動ステージ。

マウス観察用低振動ステージを独自開発し、図3のイメージング装置に装着した。

に迫ることが可能となった。本技術開発は、がんの研究領域に新たな突破口を開くことになり、多くのがん研究者が追随する領域になると予想される。また、がん研究に限らず、「免疫細胞の遊走」や「発生時の器官形成」など細胞運動に関わる他の生物学分野の研究者からも注目される方法になると考えられる。即ち、本研究の成果は医学・医療のみならず生命科学全般に波及する可能性を秘めていると考えている。

今後は、本研究によって開発された *in vivo* イメージング技術の精度をさらに発展させると共に、抗がん剤のがん転移への効果を1細胞レベルでリアルタイム観察する技術に応用したいと考えている。

2.3 ナノサイズシリカコーティングヨウ化銀ビーズを用いたX線造影イメージング

がん診療において病巣の局所の拡がり診断、病期診断を行う際、画像診断は非常に重要な役割を担っている。

近年、X線CTやMRI、PETなどの新しい画像診断が大きく進歩し、従来の単純X線写真に頼った診断法を一変させた。すなわちこれらの方法によって、従来得ることのできなかった三次元的情報が得られ、外科治療における立体的イメージが容易に得られ、治療の大きな助けとなったのである。画像診断は特に固形癌の診療において重要であり、がんの代謝機能を検出するPETの出現で質的診断を可能とする画像診断はさらにその重要性を増してきた。また画像診断は診断のみならず、外科治療・放射線治療等の局所治療を行う際にも有用で、外科切除や放射線照射範囲を決定するための重要な手段である。

我々は新規のX線造影剤として、粒径数十ナノメートルのヨウ化銀を核とし、シリカコーティングを施したナノ粒子を作製した。ナノサイズシリカコーティングヨウ化銀ビーズ作製はヨウ化銀ナノ粒子生成と、そのシリカコーティングから成る。

我々は液相法を利用してヨウ化銀粒子を作製している。ヨウ素源としてヨウ化カリウム (KI)、銀源として、過塩素酸銀 (AgClO_4) を用いる。それぞれの水溶液を作製し、まずヨウ化カリウム水溶液を攪拌しながら過塩素酸銀を添加してヨウ化銀コロイド液を作製した。この方法により約20nmの平均粒子径を持つヨウ化銀ナノ粒子を作製することができた。

ヨウ化銀ナノ粒子のシリカコーティングは液相を利用したゾル-ゲル法を用いて行った。上記のように作製したヨウ化銀コロイド液にシランカップリング剤である3-mercaptopropyltrimethoxysilane (MPS) を加え、15分後にエタノール、オルトケイ酸テトラエチル (Tetraethyl orthosilicate, TEOS)、塩基性触媒であるジメチルアミン (dimethyl amine, DMA) を順に添加する。MPS, TEOS, DMA それぞれの濃度を変え、最適な濃度条件を選定した。シリカ供給源であるTEOSの濃度はシリカ殻の厚さ調整に直接関係しており、2-4mMが最適であった。また触媒として用いるDMAはシリカ殻の生成に関わり、10-100mMの

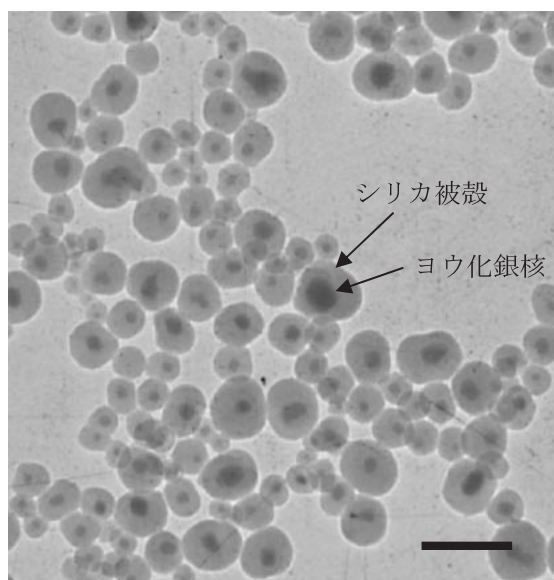


図5. シリカコーティングヨウ化銀ビーズの透過電子顕微鏡像

濃度で有効にシリカ殻が生成される。以上の条件で平均粒径約 60nm のシリカコーティングヨウ化銀ビーズを作製した。シリカコーティングヨウ化銀ビーズは電子顕微鏡による観察で、中心が高濃度で周辺が明るい特徴的な2重構造を示している(図5)。

次に、ナノサイズシリカコーティングヨウ化銀ビーズを、がん細胞を移植したラットに静脈注射し、腫瘍をX線CT撮影し、その造影効果を検討した。ナノサイズヨウ化銀ビーズは、投与直後は腫瘍の増影効果を示さないが、投与後約一時間後に増影効果を示された。増影効果は24時間程度まで増強しつつ持続し、その後徐々に減少、1週間後には増影効果が認められなくなる。このような長時間造影効果が持続する性質は従来の造影剤には見られないものであり、長時間の造影効果を必要とする、例えば手術前後のCT撮影による切除範囲の確認やCTガイド下の手術などに利用可能と考えられる。

また、現在用いられている造影剤は造影効果が短時間に限られているため、撮影前に造影剤を急速静注する必要があり、造影剤の血管外漏出なども起こり得るが、我々のシリカコーティングヨウ化銀ビーズ造影剤では造影効果の特性から急速静注の必要はないと考えられ、そのような有害事象の回避が期待できる。

現在、ナノ粒子を医療応用において、注目されているのが安全性である。現在医療応用が試みられているナノ粒子として、リボソームやポリマーを用い

た中空構造のもの、固体クラスターなどが挙げられる。前者は生体物質に近い材料が用いられ、後者は、これまでに安全性の確立されていないものが多い。そのため投与時の安全性と、体内での処理および排泄の確認が極めて重要である。我々は先の研究でナノサイズヨウ化銀ビーズ投与後の体内分布を検討した。その中で体内の物質排泄に関与する肝・腎、および最初に強い増強効果を示す脾を中心に透過電子顕微鏡(transmission electron microscope; TEM)で観察した。その結果、腎においては血管内にナノサイズヨウ化銀ビーズが観察されるのみであり、脾においては一定時間静脈洞にヨウ化銀ビーズが滞留するものの、免疫細胞への貪食は認められなかった。肝においては、肝細胞への取り込みが認められた。さらに誘導結合プラズマ法による元素分析を行ったところ、胆汁中に高濃度の銀を検出し、ヨウ化銀ビーズの胆汁排泄を示唆する結果が得られた。

シリカコーティングは、ヨウ化銀が生体に接触することで生じるアレルギーなどの有害事象を防ぐ目的で施している。シリカコーティングによって安全な排泄を確保できれば、急性毒性を防ぐのみでなく、長期安全性の点からも好ましいと言える。今後、医療応用するためには、成長や生殖面における安全性についても更なる検討を加える必要がある。

今回、シリカコーティングヨウ化銀ビーズにより、X線CT画像で長時間の腫瘍造影効果を得られることが示されたが、今後抗腫瘍抗体等、様々な機能性分子を結合させることで診断と治療を同時に行い得る薬剤の創製が期待でき、外科手術や治療効果判定など治療上極めて有用な利用が期待される。現在分子標的治療薬が次々と開発されており、これらはヨウ化銀ビーズに結合させる機能性分子として期待されている。

3. 機能性ナノ粒子による新しい画像計測法の展望

量子ドットは優れた蛍光マーカーであり、従来 *in vitro*、もしくは“多数の分子の集まり”でしか知ることのできなかつた DDS の情報を、我々の蛍光1粒子計測法により *in vivo* かつ1分子レベルで直接計測可能となった。1粒子の動態を個々に計測できることから、多数の粒子の動態に関するデータを統計学的に処理することで、極めて詳細な DDS のデータを取得可能である。特にがん組織においては粒子の大きさが DDS に大きな影響を与えることが明らかになり、今後のがん治療薬開発への応用が期待される。

更には薬剤のみでなく、生体内の情報伝達物質を標識することにより、シグナル伝達の解明に活用することも期待される。これにより、有効な病変到達性を持つ薬剤の開発や基礎医学研究に大きく貢献すると考えられる。

今回一定のサイズを持つ造影剤を担がんマウスに投与することで長時間の造影効果を得ることができた。これは extended permeability and retention (EPR) 効果によると考えられるが、長時間の造影効果を利用した新たな外科および放射線治療が期待される。更にナノ粒子の排泄経路の解明および完全な分解や排泄は、とりわけ長期安全性に深く関わると考えられる。ヨウ化銀ビーズは特異な二重構造から TEM で体内分布を確認可能なため、排泄経路を特定できる貴重なナノ粒子といえる。シリカコーティングは胆汁排泄経路をとることが示唆されたが、ヨウ化銀ビーズはポリマーや他の高分子でコーティングすることも可能であり、ナノ粒子の体内動態を検討する上でも非常に有用である。

以上のように、従来にないユニークな物性を持つナノ粒子を利用した新しい手法・技術は、創薬や外科手術、診断など様々な面から将来の医療に大きな変革をもたらすことが期待される。

4. おわりに

現在急速に発展しつつあるナノテクノロジーを医療に取り入れる橋渡し研究は、工学分野、および医学分野すべての研究者が一つの場に集まり、志を一つにしなければ推進することはできない。また、研究者がそれぞれ個別に他の分野を学んだとしても有効にナノ医療を推進することは不可能である。そのため複数領域の研究者が場を1つにして共通の言葉で話し合える環境、共通の言葉・知識を学ぶ組織の構築が次代の研究を担う人材育成上最も重要である。今回の研究を通じ、我々は理工学分野の研究者と場を一つにした研究を行うことで大学院生に異分野融合研究と教育の場を与えてきた。今後もこの研究グループによる研究を推進することで医学・工学双方の素養を持つ次の世代を担う研究者の育成を推進する予定である。

文 献

[1] Takeda M, Kobayashi M, Takayama M, Suzuki S, Ishida T, Ohnuki K, Moriya T, and Ohuchi N. Biophoton detection as a novel technique for cancer imaging. *Cancer Science* **95**, 656-661, 2004.

[2] Kobayashi Y, Misawa K, Kobayashi M, Takeda M, Konno M, Satake M, Kawazoe Y, Ohuchi N, and Kasuya A. Slica-coating of fluorescent polystyrene microspheres by a seeded polymerization technique and their photo-bleaching property. *Colloids and surfaces A: Physicochem Eng Aspects* **242**, 47-52, 2004.

[3] Kobayashi Y, Misawa K, Takeda M, Kobayashi M, Satake M, Kawazoe Y, Ohuchi N, Kasuya A, and Konno M. Slica-coating of AgI semiconductor nanoparticles. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* **251**, 197-201, 2004.

[4] Kasuya A, Sivamohan R, Barnakov YA, Dmitruk I M, Nirasawa T, Romanyuk VR, Kumar V, Mamykin SV, Tohji K, Jeyadevan B, Shinoda K, Kudo T, Terasaki O, Liu Z, Belosludov RV, Sundararajan V, and Kawazoe Y. Ultra-stable nanoparticles of CdSe revealed from mass spectrometry. *Nature Materials* **3**, 99-102, 2004.

[5] Nakajima M, Takeda M, Kobayashi M, Suzuki S, and Ohuchi N. Nano-sized fluorescent particle as a new tracer for sentinel node detection: An experimental model for decision of appropriate size and wavelength. *Cancer Science* **96**, 353-356, 2005.

[6] Zhou X, Kobayashi Y, Ohuchi N, Takeda M, and Kasuya A. Strong luminescence of CdSe nanoparticles by surface modification with gadmium (II) hydrous oxide. *International Journal of Modern Physics B* **19**, 2835-2840, 2005.

[7] Zhou X, Kobayashi Y, Romanyuk V, Ohuchi N, Takeda M, Tsunekawa S, and Kasuya A. Preparation of silica encapsulated CdSe quantum dots in aqueous solution with the improved optical properties. *Applied Surface Science* **242**, 281-286, 2005.

[8] Kasuya A, Noda Y, Dmitruk I, Romanyuk V, Tohji K, Kumar V, Belosludov R, Kawazoe Y, and Ohuchi N. Stoichiometric and ultra-stable nanoparticles of II-IV compound semiconductors. *Eur Physical Journal D* **34**, 39-41, 2005.

[9] Kobayashi Y, Misawa K, Kobayashi M, Takeda M, Konno M, Satake M, Kawazoe Y, Ohuchi N, and Kasuya A. Silica-coating of fluorescent polystyrene microspheres by a modified Stober method and their stability against photo-bleaching. *e-Polymers* **052**, 1-8, 2005.

[10] Li-Shishido S, Watanabe TM, Tada H, Higuchi H, and Ohuchi N. Reduction in nonfluorescence state of quantum dots on an immunofluorescence staining. *Biochem Biophys Res Com* **351**, 7-13, 2006.

[11] Tada H, Watanabe T, Higuchi H, and Ohuchi N. In vivo real-time tracking of single quantum dots conjugated with monoclonal anti-HER2 antibody in tumors of mice. *Cancer Res* **67**, 1138-44, 2007.

[12] Park YS, Liz-Marzán LM, Kasuya A, Kobayashi Y, Nagao D, Konno M, Mamykin S, Dmytruk A, Takeda M, and Ohuchi N. X-ray Absorption of the Gold Nanoparticles with Thin Silica Shell. *J Nanosci Nanotechnol* **6**, 3503-06, 2006.

[13] Mamykin S, Kasuya A, Dmytruk A, and Ohuchi N. Photocurrent of nanoassembled Si film in contact with electrolyte. *J Alloys Compounds* **434-435**, 718-720, 2007.

- [14]Park YS, Kasuya A, Dmytruk A, Yasuto N, Takeda M, Ohuchi N, Sato Y, Tohji K, Uo M, and Watari F. Concentrated colloids of silica-encapsulated gold nanoparticles: colloidal stability, cytotoxicity, and X-ray absorption. *J Nanosci Nanotech* 2007 (in press).
- [15]Park YS, Dmytruk A, Dmitruk I, Noda Y, Kasuya A, and Ohuchi N. Aqueous-phase synthesis of ultra-stable small CdSe nanoparticles. *J Nanosci Nanotech* 2007 (in press).
- [16]Kobayashi Y, Imai J, Nagao D, Takeda M, Ohuchi N, Kasuya A, and Konn M. Preparation of multilayered silica-Gd-silica core-shell particles and their magnetic resonance images. *Colloids and Surfaces A: Physicochem Eng Aspects* **308**, 14-19, 2007.
- [17]Ishida T, Takeda M, Suzuki A, Amari M, and Ohuchi N. Significance of irradiation in breast conserving treatment: comparison of local recurrence rates in irradiated and nonirradiated groups. *Int J Clin Oncol* **13**, 12-17, 2008.
- [18]Takeda M, Tada H, Higuchi H, Kobayashi Y, Kobayashi M, Sakurai Y, Ishida T, and Ohuchi N. In vivo single molecular imaging and sentinel node navigation by nano-technology for molecular targeting drug delivery system and tailor made medicine. *Breast cancer* **15**, 145-152, 2008.
- [19]Lima R, Wada S, Takeda M, Ishikawa T, Tsubota K, Imai Y, and Yamaguchi T. In vitro blood flow in a rectangular PDMS microchannel: experimental observations using a confocal micro-PIV system. *Biomed Microdevices* **10**, 153-167, 2008.
- [20]Kobayashi Y, Shimizu N, Misawa K, Takeda M, Ohuchi N, Kasuya A, and Konno M. Preparation of amine free silica coated AgI nanoparticles with modified Stöber method. *Surfaces Engineering* **24**, 248-252, 2008.
- [21]Kohno M, Takeda M, Niwano Y, Saito R, Emoto N, Tada M, Kanazawa T, Ohuchi N, and Yamada R. Early diagnosis of cancer by detecting the chemiluminescence of hematoporphyrins in peripheral blood lymphocytes. *Tohoku J Exp Med* **216**, 47-52, 2008.
- [22]中島護雄, 武田元博, 大内憲明. 蛍光ナノ粒子による癌センチネルリンパ節検出とナノ医療の展望. *日本機械学会誌* **109**, 90-93, 2006.
- [23]大内憲明, 武田元博, 中島護雄, 多田寛, 樋口秀男. 分子イメージング, DDSによる診断・機能評価. DDS 研究の現状と将来展望 (Pharm Tech Japan 21), 日本DDS学会編, Pharm Tech Japan, 59-62, 2005.
- [24]多田寛, 樋口秀男, 渡邊朋信, 大内憲明. 抗HER2 抗体標識量子ドットを用いたマウス腫瘍内での単粒子イメージング. *可視化情報* **26**, 181-182, 2006.
- [25]樋口秀男, 渡邊朋信, 多田寛, 武田元博, 大内憲明. バイオナノイメージングとナノ医療. *応用物理* **75**, 695-698, 2006.
- [26]大内憲明. 癌の診断と治療に向けたイメージング技術の進展: ナノテクノロジーのがん医療への期待. *バイオテクノロジージャーナル* **7**, 22-24, 2007.
- [27]樋口秀男, 渡邊朋信, 李松花, 多田寛, 大内憲明. 蛍光性量子ドットによるがん細胞の単一分子ナノイメージング. *バイオテクノロジージャーナル* **7**, 30-35, 2007.
- [28]武田元博, 小林芳男, 小林正樹, 桜井遊, 中島護雄, 大内憲明. ナノサイズセンシングクラスターの新規開発と外科治療への応用. *バイオテクノロジージャーナル* **7**, 36-40, 2007.
- [29]河合賢朗, 石田孝宣, 武田元博, 多田 寛, 大内憲明. 乳癌の集学的治療と化学療法. *外科治療* **98**, 241-249, 2008.
- [30]武田元博, 権田幸祐, 樋口秀男, 大内憲明. がん分子イメージングの新展開. *癌と化学療法* **35**, 1277-80, 2008.
- [31]武田元博, 桜井遊, 叢莉蔓, 小林芳男, 菅原旭浩, 大内憲明. 新規開発ナノサイズヨウ化銀ビーズを用いた X 線造影効果および体内動態の検討. *乳癌基礎研究* **17**, 57-60, 2008.