

革新技术! 体外からがん組織を深部まで観察できる 近赤外蛍光・有機シリカナノ粒子の作製に成功

~がん医療における“診断と治療の一体化（セラノスティクス）”の実現に一步前進~

山口大学大学院医学系研究科の中村教泰教授のグループは、徳島大学大学院医歯薬学研究部の安倍正博教授、九州大学歯学研究院の林幸壱朗准教授のグループと共同で、蛍光生体イメージングで体外からがん組織を深部まで観察できる近赤外蛍光・有機シリカナノ粒子の開発に成功した。

【発表のポイント】

- ・蛍光生体イメージング診断法を利用して体外からがん組織を深部まで観察できる近赤外蛍光・有機シリカナノ粒子の開発に成功した。
- ・がん組織の表面から深部までの深度を調整した観察と免疫細胞の体内動態の長期間の観察に成功した。
- ・独自開発した有機シリカナノ粒子において、アップコンバージョンを含む多彩な蛍光特性を発見した。

【概要】

蛍光生体イメージング診断法は、がんの早期発見や術中観察など医療や医学研究への活用が期待されています。本研究チームはがん組織を体外から観察できるだけでなく、励起光の波長を調整することにより表面から深部まで深さを調整しながらがん組織を観察することに成功しました。また本ナノ粒子は安全性も高く、生体内で長期間の観察が可能であることも実証されました。さらに免疫反応の生体外からの観察も行うことができました。重要な免疫細胞の一つであるマクロファージを生体内で標識して、異種細胞を移植したところ、移植部位にマクロファージが移動し、拒絶反応に寄与する様子が観察できました。これらの成果は、画像診断を含むがん研究や免疫学研究、再生医療への応用が期待できます。さらに本粒子の光学特性を検討し、近赤外蛍光に加えて可視蛍光、さらには近年注目されているアップコンバージョンと呼ばれる励起光より高エネルギーの光が発生する特性も発見されました。

米国では本研究成果と同様の近赤外蛍光シリカナノ粒子が、がん造影剤として既にヒト臨床試験が進められ、診断薬や治療薬としての開発が進んでいます。治療効果を持った近赤外蛍光・有機シリカナノ粒子の開発も進行しており、本研究成果はがん医療における“診断と治療の一体化（セラノスティクス）”の実現に繋がるものです。

本研究成果は、アメリカ化学会専門誌 Chemistry of Materials (IF; 9.567, DOI: 10.1021/acs.chemmater.0c01414) に 2020 年 8 月 24 日に公開されました。

【発表論文誌の情報】

タイトル: Near-Infrared Fluorescent Thiol-Organosilica Nanoparticles that are Functionalized with IR-820 and Their Applications for Long-Term Imaging of *in situ* Labeled Cells and Depth-dependent Tumor *in vivo* Imaging.

著者: Michihiro Nakamura, Koichiro Hayashi, Junna Nakamura, Chihiro Mochizuki, Takuya Murakami, Hirokazu Miki, Shuji Ozaki, Masahiro Abe

掲載誌: Chemistry of Materials

DOI: 10.1021/acs.chemmater.0c01414

【詳細な説明】

近年、ナノ医学の研究開発が世界で精力的に進められています。さらにナノ粒子の構造特性を活用し、多種多様な機能の付加が可能となり、医療用ナノマシンとしての研究が進展しています。ナノ粒子の高機能性、多機能性、そしてがん組織に集積する (enhanced permeability and retention: EPR) 効果などの利点から医学生物学分野におけるイメージングへの応用に向けた研究開発が発展しています。蛍光生体イメージングは、高い時間分解能、高感度、複数の蛍光プローブを使用した複数の対象物の同時観察が可能であり、既に多くの応用研究が進んでいます。我々はこれまで独自に、有機シリカ化合物 (3-メルカプトプロピルトリメトキシシラン等) のみから合成する有機シリカ粒子を発明し、国際特許を取得しています。有機シリカ粒子は、従来の無機物質のみからなる無機シリカ粒子と異なり、粒子の内部および表面にチオール基などの機能性官能基を豊富に含有しています。これにより、有機シリカ粒子は、蛍光色素などの様々な機能性分子を粒子内部と表面に結合することが可能になります。

本研究では、チオール有機シリカ化合物とシアニン系近赤外色素である IR-820 を用いて近赤外蛍光・有機シリカナノ粒子の作製を行いました。IR-820 は主に粒子内部に存在し、粒子内で光学的特性に変化が認められました。蛍光特性において複数の新たな蛍光ピークが出現し、広い範囲の近赤外領域で蛍光が発生することがわかりました。さらにアップコンバージョン (低いエネルギーの光が高いエネルギーに変換される現象) と

いう特殊な光学現象が有機シリカの構造自体から惹起されることを確認しました (図 1 (A))。そして粒子ががん組織に集積し、蛍光生体イメージングで観察できることを確認しました (図 1 (B, C))。

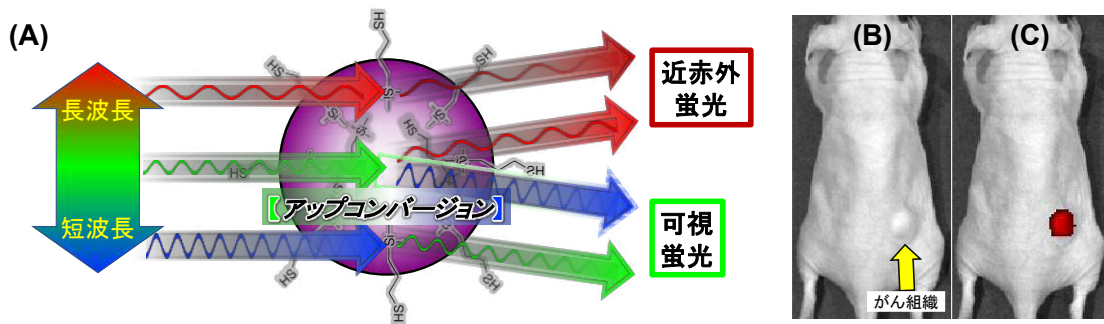


図 1. 赤外蛍光・有機シリカナノ粒子(A)とがん組織の蛍光生体イメージング。右腰部に形成されたがん組織(B)がナノ粒子の集積により蛍光を発している(C)。

近赤外蛍光・有機シリカナノ粒子による皮下異種移植腫瘍マウスの蛍光生体イメージングを詳細に行いました。粒子を静脈内投与し、EPR 効果によりがん組織に集積した粒子は近赤外領域の複数の励起波長を使用することで、深度依存的に観察することができました(図2)。短波長の励起光では表層に近い浅部のがん組織を高感度に検出できました。また励起光の波長を長くすると、より深部までがん組織を観察できると共に肝臓や脾臓などに存在するマクロファージに取り込まれた粒子の蛍光も検出でき、粒子の体内分布が観察できることも判明しました。本観察は4ヶ月におよび行うことができ、がん組織の消退に至るまで蛍光が確認されました。

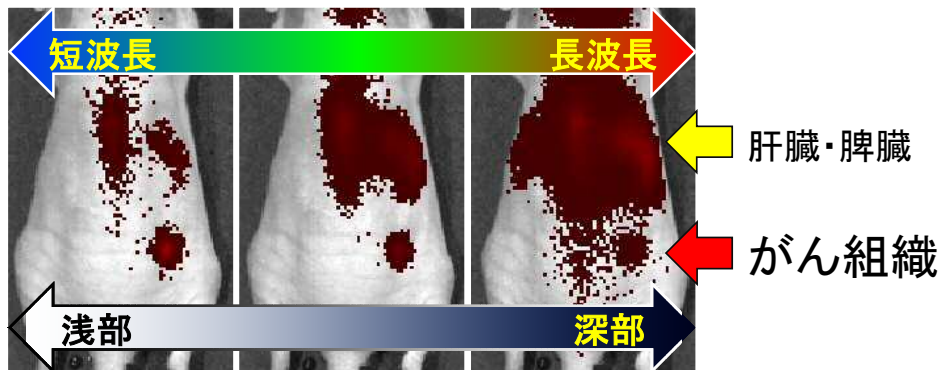


図 2. がん組織の深さ依存的蛍光生体イメージング。短波長の励起光では表層に近い浅部のがん組織を高感度に検出でき、長波長では、より深部までがん組織を観察できると共に肝臓や脾臓などに存在するマクロファージに取り込まれた粒子の蛍光も検出できた。

次に生体内で標識した細胞の蛍光生体イメージングを行いました。肝臓や脾臓に存在するマクロファージが血中のナノ粒子を効率よく取り込むことを利用し、粒子を静脈投与することにより生体内でマクロファージを標識しました(図3(A) 矢印(赤))。そして右腰部の皮下に異種細胞を移植しました(図3(A) 矢印(黄色))。

約2週間後、右腰部に蛍光が観察されました(図3(B))。さらに皮膚をはがして異種移植細胞を観察したところ、強い蛍光が観察できました(図3(C))。本結果は粒子で標識したマクロファージが、皮下に移植した異種移植細胞へ移動し、集積したこ

とを示し、異種細胞に対する拒絶反応に寄与した様子の観察に成功したことを意味します。

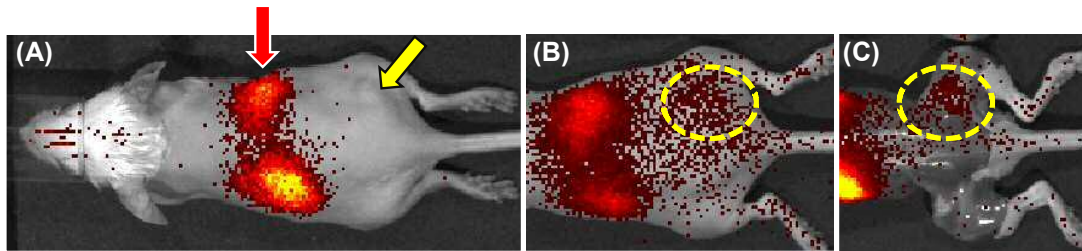


図3. 生体内標識した免疫細胞の蛍光生体イメージング。粒子の静脈投与により肝臓と脾臓に存在する免疫細胞のマクロファージを生体内で標識した(矢印(赤))。次に右腰部の皮下に異種細胞を移植した(矢印(黄色))。約2週間後、右腰部に蛍光が観察された(B)。さらに皮膚をはがして異種移植細胞を観察したところ、異種細胞に強い蛍光が観察できた(図3(C))。

近赤外蛍光・有機シリカナノ粒子は生体内での毒性も低く、これによる蛍光生体イメージングは、細胞動態の長期的な観察を可能とし、生体内での新たな生命現象の可視化・発見に大きな可能性を示しています。また、近年、シリカ粒子を用いた医薬の開発が進められています。放射線標識したマイクロサイズのシリカ粒子である TheraSphere® は肝がん放射線塞栓療法の治療薬として 1999 年に認可され海外で臨床応用されています。本粒子と同様に近赤外蛍光を持つシリカナノ粒子が現在、米国にて悪性黒色腫と悪性脳腫瘍の造影剤としてヒト臨床治験が行われています(米国臨床治験番号 NCT01266096)。新たな医薬品開発の材料としてシリカ粒子の応用が積極的に進められています。近赤外蛍光・有機シリカナノ粒子においては蛍光生体イメージングによる画像診断の機能だけでなく、治療効果の付加も可能であり、診断と治療が同時に行える “診断と治療の一体化(セラノスティクス)” が可能な医療用ナノ粒子としての開発も進められています。セラノスティクスは個別化医療、患者様に優しい革新的医療の実現につながります。中村教泰教授らの研究プロジェクトは「ナノ・セラノスティクス国際センター」設立を目指す課題として、令和元年山口大学研究拠点群形成プロジェクトに採択され、研究を加速しています。

【謝辞】

本研究は、日本学術振興会 基盤研究 B(20H03625)、基盤研究 C(21500409、25350530、16K01358)、挑戦的萌芽研究(19K22534)、平成 23 年度 研究成果最適展開支援プログラム (A-STEP) FS ステージ・シーズ顕在化タイプ) の支援を受けて行われました。

【用語解説】

ナノ粒子

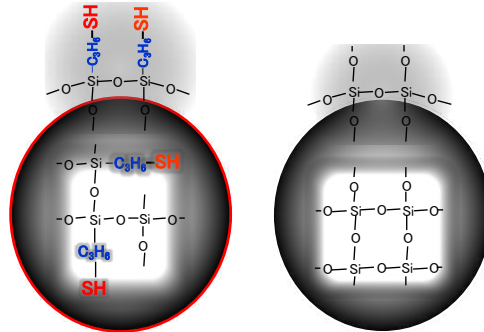
ナノメートルのオーダーの微小な粒子。ナノ粒子はサイズおよび形状に依存した、独

特の光学的、化学的、電氣的、磁氣的、特性を示します。蛍光材料、ウィルス感染診断、ドラッグデリバリー、新規造影剤、人工組織などへの応用も期待されている。

有機シリカ（ナノ）粒子

有機シリカ化合物から合成され、表面と内部に有機成分から成る機能的官能基を有するシリカ粒子。他の機能的ナノ粒子や従来型の無機シリカ粒子と比較して表面や内部に機能的分子等を結合させる多機能化する特性に優れている。

有機シリカ・ナノ粒子（無機）シリカ粒子（従来型）



蛍光生体イメージング

生きたまま個体の内部を蛍光によって観察し、細胞や分子の動態を直接的に可視化し、観察・解析する手法。

近赤外蛍光

生体を透過しやすい長波長（650 -1,000 nm）の領域の蛍光を指す。この波長の範囲は「生体の窓」とも呼ばれ、近赤外蛍光は可視蛍光では到達できない体内の深部まで透過できる。

アップコンバージョン

長波長光（小さなエネルギー）を短波長光（大きなエネルギー）に変換する現象を指す。近赤外領域のアップコンバージョンによる蛍光により、粒子の位置をより正確かつ特異的に観察できることが期待できる。

ナノ医学

ナノテクノロジーを医学に応用したもの。薬剤などを含有した多機能化したナノ粒子をナノマシンとして診断や治療などに応用する。

EPR（Enhanced Permeability and Retention）効果

がん組織に存在する血管は未熟であるため血管透過性が高く、ナノ粒子が通過し、が



ん組織に侵入しやすい。さらにはがん組織では毛細リンパ管による排泄機能が欠如しているために、侵入したナノ粒子が長く保持される。これらによりナノ粒子ががん組織に効率よく集積する効果のこと。およそ 50~200 nm 程度のサイズをもったナノ粒子が集積されやすいとされている。

セラノステイクス (Theranostics)

治療 (Therapeutics) と診断 (Diagnostics) を組み合わせた新しい医療技術のこと。がん組織など病巣をイメージングによって可視化、診断し、さらには病巣のみを狙った治療により副作用が少なく、患者に優しい医療を可能とする技術のこと。