

イメージングと温度応答 DDS を発揮する がん温熱治療用多機能マイクロビーズ

九州工業大学 大学院生命体工学研究科 宮崎敏樹

Multifunctional Microbeads for Cancer Hyperthermia that Exhibit Imaging and
Temperature-Responsive DDS

Toshiki MIYAZAKI

Graduate School of Life Science and Systems Engineering, Kyushu Institute of
Technology

マグネタイトなどの強磁性体は交流磁場照射下で発熱するので、体内深部に存在するがんの温熱治療に有用である。これらの強磁性体に、感度や時間分解能に優れた蛍光イメージングを付与できれば、マイクロビーズの生体内追跡が多様な環境下で実現でき、ターゲットとなる臓器以外への逸脱の有無を容易に判定できるようになる。さらに、マイクロビーズからの薬剤放出を温度で制御できれば、交流磁場照射による発熱に応答して薬剤徐放でき、イメージングと DDS を兼ね備えた革新的なインテリジェント医用材料が生まれる。本研究では、磁性マイクロビーズに温度応答性高分子と量子ドットを簡便な化学的 surface 修飾により固定化することで、この種のマイクロビーズ創成の可能性を探るものである。具体的には強磁性のフェライト粒子にカルボキシル基とアミノ基を側鎖に持つ自己組織化膜を形成させ、アミノ基側に量子ドット、カルボキシル基側に温度応答性の κ -カラギーナンを化学結合させた。その結果、 κ -カラギーナンがフェライトに固定化されていることが分かった。さらに表面修飾したフェライト粒子はブラックライト照射により緑色に発光し、イメージング機能を付与できた。

Since ferromagnetic materials such as magnetite generate heat under AC magnetic field irradiation, they are useful for hyperthermia treatment of cancers deep inside the body. If these ferromagnetic materials can be equipped with fluorescence imaging with excellent sensitivity and resolution, in vivo tracking of microbeads can be realized in various environments, and it will be easy to determine whether the microbeads have escaped to organs other than the target organs. Furthermore, if the drug release from the microbeads can be controlled by temperature, the drug can be released in response to the heat generated by the irradiation of an alternating magnetic field, thus creating innovative intelligent medical materials that combine imaging and DDS. In this study, we explore the possibility of creating this type of microbeads by immobilizing thermoresponsive polymers and quantum dots on magnetic microbeads using a simple chemical surface modification. Specifically, a self-assembled membrane with carboxyl and amino groups on the side chain was formed on ferrite particles with ferromagnetism, and quantum dots were chemically bonded to the amino group side and temperature-responsive κ -carrageenan to the carboxyl

group side. As a result, it was found that κ -carrageenan was immobilized on the ferrite. Furthermore, the surface-modified ferrite particles emitted green light when irradiated with black light, providing an imaging function.

背景と目的

マグネタイトなどの強磁性体は交流磁場照射下で発熱するので、体内深部に存在するがんの温熱治療に有用である [1,2]。さらに直径 20~30 ミクロン程度のマイクロビーズにしておけば、腫瘍部の毛細血管を塞いで栄養補給を遮断する塞栓効果も見込まれる。こうして予め腫瘍を小さくできれば、従来手術不可能だった重症例に対しても外科的に腫瘍を完全切除できる。さらに、抗がん剤の投与量を減らせるため、患者への身体的負担の少ない新規治療法としても有用である。磁性粒子は MRI 造影剤として働くので、これに加えて感度や時間分解能に優れた蛍光イメージングを発現すれば、マイクロビーズの生体内追跡が多様な環境下で実現でき、ターゲットとなる臓器以外への逸脱の有無を容易に判定できるようになる。さらに、マイクロビーズからの薬剤放出を温度で制御できれば、交流磁場照射による発熱に反応して薬剤徐放でき、イメージングと DDS を兼ね備えた革新的なインテリジェント医用材料が生まれる (図 1)。

しかし、温熱特性、イメージング、温度応答 DDS を併せ示すトリファンクショナルな材料は未だ開発されていない。本研究では、磁性マイクロビーズに温度応答性高分子と量子ドットを簡便な化学的表面修飾により固定化することで、この種のマイクロビーズ創成の可能性を探るものである。具体的には強磁性のフェライト粒子にカルボキシル基とアミノ基を側鎖に持つ自己組織化膜を形成させ、アミノ基側に量子ドット、カルボキシル基側に温度応答性の κ -カラギーナンを化学結合させる (図 2)

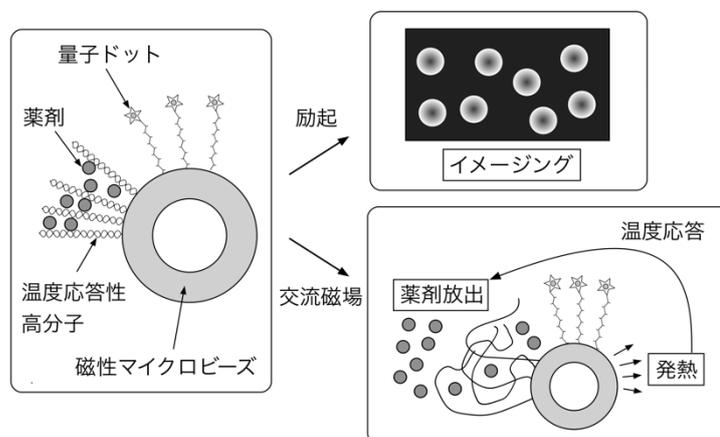


図 1 イメージングと温度応答 DDS を併せ示すマイクロビーズ。

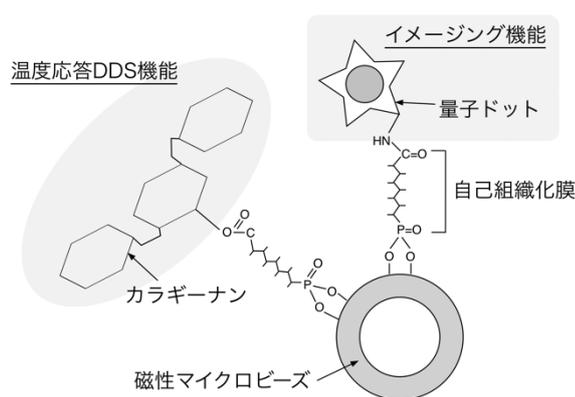


図 2 温度応答性高分子と量子ドットの固定化のイメージ。

実験方法

まずは、表面修飾の有用性を検討するため磁性マイクロビーズに代えて磁性ナノ粒子を用いた。マグネシウムフェライトを常圧焼成により合成した。目的の組成になるように、

Fe₂O₃, MgO を秤量し, めのう乳鉢で2時間混合した。その後, SiC 電気炉(フルテック FT-105)で大気中, 730°Cで22時間仮焼を行った。次に30分間めこの乳鉢で粉砕した。粉砕試料を, SiC 電気炉で大気中, 1200°Cで1時間焼成し炉冷することで試料作製を行った。得られた粉末0.1mgを1mMの10-CDPA (10-Carboxydecylphosphonic acid)および11-AUPA (11-Aminoundecylphosphonic acid)の混合溶液5mLに加え1日静置した。濾過し120°Cで乾燥した。引き続き0.1mg/mLカルボキシ基修飾CdSe/ZnS量子ドット, 1mg/mL κ -カラギーナン, 5mg/mL 1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド, 5mg/mL N-ヒドロキシコハク酸イミドを含む混合溶液10mLに浸漬して1日静置した。表面構造をフーリエ変換赤外分光分析(日本分光 FT/IR-6100)及び走査電子顕微鏡観察(日立 S-3500N)で調べた。さらに波長365nmのブラックライト(三共電気)を照射して発光挙動を調べた。

結果と考察

κ -カラギーナン, 10-CDPA, 11-AUPA 及び量子ドットを固定化する前後のSEM写真を図3に示す。いずれの試料においても角張った粒径300nm~3 μ m程度の微粒子が観察された。しかし, 固定化処理前後で粒子の形状に大きな変化は見られなかった。 κ -カラギーナン, 10-CDPA, 11-AUPA を固定化する前後の試料のFT-IRスペクトルを図4に示す。固定化前にはフェライト由来のFe-O結合に帰属されるバンドが現れたが, 固定化後にはそれに加えてP=O, O=S=O, C=Oに帰属されるバンドが認められた[3]。O=S=Oは κ -カラギーナンに, C=Oは10-CDPA, P=Oは10-CDPAあるいは11-AUPAに由来する。従ってこれらが固定化されていることを示唆している。

κ -カラギーナン, 10-CDPA, 11-AUPA 及び量子ドットを固定化した試料にブラックライトを照射した写真を図5に示す。試料の一部が緑色に発光していることが分かった。この

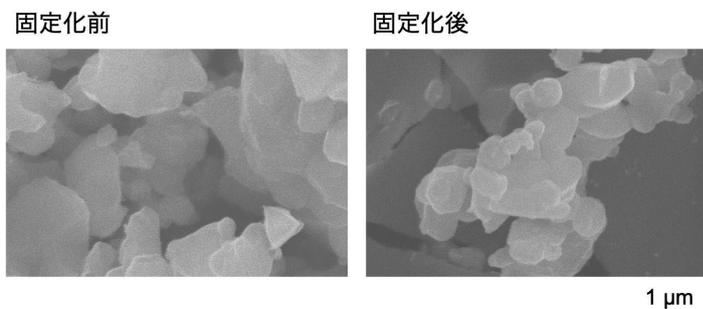


図3 κ -カラギーナン, 10-CDPA, 11-AUPA 及び量子ドットを固定化する前後のSEM写真。



図5 κ -カラギーナン, 10-CDPA, 11-AUPA 及び量子ドットを固定化した試料にブラックライトを照射した様子。

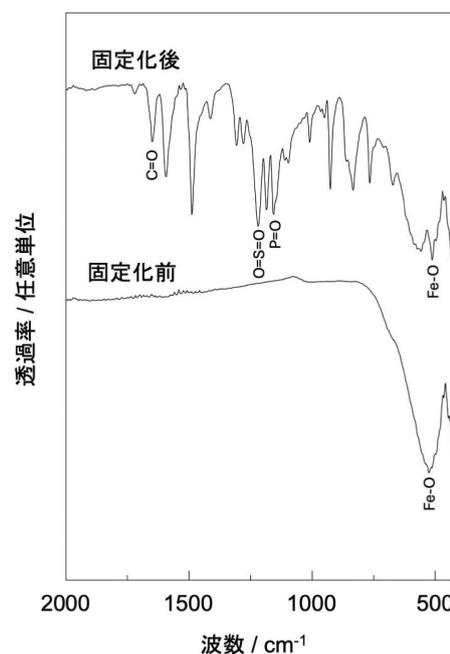


図4 κ -カラギーナン, 10-CDPA, 11-AUPA を固定化する前後の試料のFT-IRスペクトル。

量子ドットの発光波長は黄色～緑色領域である 550nm 付近なので実験結果に合致する。発光していない試料が見られたのは、量子ドット固定化が十分でない、あるいは逆に固定化量が多すぎて濃度消光を起こしたためと考えられる。

まとめ

簡便な化学的修飾を利用して、温度応答性高分子のカラギーナンと量子ドットを磁性微粒子表面に固定化することに成功した。今後は磁場照射の有無による薬剤徐放能の違いについて追究していきたい。

参考文献

1. M. Kawashita, “Ceramic microspheres for biomedical applications”, *Int. J. Appl. Ceram. Tech.*, 2, 173-183 (2005).
2. T. Miyazaki, “Organic modification of magnetite nanoparticles for biomedical applications”, pp. 77-82 in *Bioceramics: From Macro to Nanoscale*, ed. by A. Osaka and R. Narayan, Elsevier, 2020.
3. L.D. Hung, H.T.T. Nguyen, V.T.D. Trang, “Kappa carrageenan from the red alga *Kappaphycus striatus* cultivated at Vanphong Bay, Vietnam: physicochemical properties and structure”, *J. Appl. Phycol.*, **33**, 1819–1824 (2021).