

2018年度生物工学奨励賞(照井賞) 受賞



機能性磁性ナノ粒子の開発と 医療技術への応用に関する 生物工学的研究



井藤 彰

Medical technology using functional magnetic nanoparticles

Akira Ito (Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineering, Kyushu University, 744 Motoooka, Nishi-ku, Fukuoka 819-0395) Seibutsu-kogaku 97: 122-129, 2019.

はじめに

磁性ナノ粒子は魅力的 (magnetic) な材料である。磁性ナノ粒子の磁気特性を利用して、これまでにさまざまな医療分野への応用技術が開発されてきた。2018年5月にコペンハーゲンで開催された磁性ナノ粒子の国際会議である International Conference on the Scientific and Clinical Applications of Magnetic Carriers¹⁾では、医療分野の応用として、標的細胞を分離する Magnetic Separation (磁気分離)、薬剤を磁気誘導で患部へ送達する Magnetic Drug Delivery/Magnetic Targeting、体内に導入された磁性ナノ粒子をイメージングする Magnetic Imaging、そして磁性ナノ粒子を交流磁場で発熱させる Hyperthermia (がん温熱療法) のセッションがオーガナイズされた。それらの分野を柱として、磁性ナノ粒子の医療応用に関する研究論文数は右肩上がりに増えている。

磁力は物質を透過して遠隔的に作用するため、磁力で細胞をハンドリングする磁気細胞操作は再生医療や細胞療法といった次世代医療におけるバイオプロセスに応用可能であると考えられる。また、磁性ナノ粒子を用いたがん温熱療法は、患者の体外から磁場照射を行うので非侵襲的な治療が可能であり、さらに温熱を利用した物理的な治療法であるため抗がん剤にみられるような副作用がない、といった利点がある。筆者らは磁性ナノ粒子の医療分野への応用として、目的に応じて機能化された磁

性ナノ粒子を開発し、機能性磁性ナノ粒子を用いた再生医療プロセスへの応用に関する研究や、がん温熱療法の臨床応用を目指した研究を行ってきた²⁾。本稿では、それらの研究成果の一部について紹介するとともに、将来展望について述べる。

機能性磁性ナノ粒子の開発

医療応用を目的とした場合には、使用する磁性ナノ粒子の安全性が最重要課題となる。生体適合性を考慮して、磁性ナノ粒子の中で一般的にもっとも多く使われているのは酸化鉄であるマグネタイト (Fe_3O_4) とマグヘマイト (Fe_2O_3) およびその混合物である。酸化鉄ナノ粒子の例として、リゾビスト[®]は magnetic imaging の手法の一つである核磁気共鳴画像法 (magnetic resonance imaging, MRI) の造影剤の主成分として薬事承認を受けている。リゾビスト[®]はドイツのシェーリング社が開発したフェルカルボトランであり、カルボキシデキストランで被覆された酸化鉄ナノ粒子の親水性コロイドからなる。磁性ナノ粒子の医療応用に関する実用化研究で世界中の研究者がリゾビスト[®]を使用しているが、現在、薬事承認を受けているのは日本とスウェーデンのみであり、リゾビスト[®]は日本における磁性ナノ粒子の医療応用研究の発展の大きな一因となっている。

磁性ナノ粒子表面をポリマーやリポソームで被覆することは、表面の電荷や親水性を変化させたり、タンパク質を結合させたりすることが可能とすることから、磁性

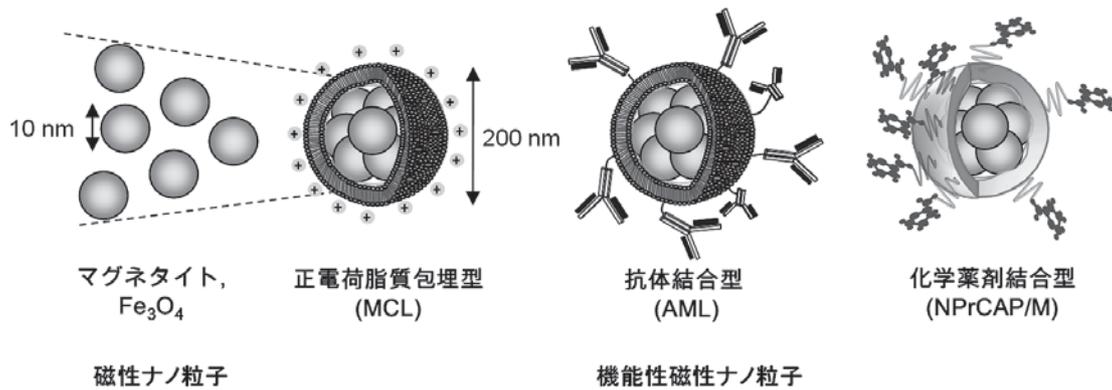


図1. 機能性磁性ナノ粒子

ナノ粒子に機能性を付与するために有用である。Shinkaiらは、直径10 nmほどのマグネタイトを、正電荷脂質を含むリン脂質膜で包埋することで、直径約200 nmの正電荷脂質包埋型磁性ナノ粒子 (magnetite cationic liposome, MCL) を開発した(図1)³⁾。MCLは正電荷をもっており、負電荷をもつ細胞表面に結合してエンドサイトーシスで細胞内に取り込まれる。細胞によるMCLの取り込み量は細胞の種類により異なるが、腫瘍細胞株で高い値を示す傾向にある。たとえば、細胞あたり100 pgのマグネタイト濃度でHepG2ヘパトーマ細胞に添加したところ、49 pg/cellの濃度で細胞に取り込まれた⁴⁾。一方、初代正常細胞において、間葉系幹細胞では21 pg/cellで細胞に取り込まれた⁵⁾。筆者らのこれまでの検討で、MCLは100 pg/cell以下の添加濃度において、ほとんどの細胞の増殖に対する影響を示さず、間葉系幹細胞⁵⁾や胚性幹細胞⁶⁾の分化能に影響がないことも分かっている。さらに、マウスを用いた急性毒性試験として、MCLを腹腔内に最大投与可能量として90 mg投与したとき、試験に用いた10匹すべてのマウスが生じた。全身投与されたMCLは投与数日後に肝臓と脾臓といった細網内皮系に蓄積したが、投与10日後にはそれぞれの臓器で検出されなかったことから、投与した磁性ナノ粒子は胆汁から体外に排出されたと考えられる⁷⁾。

一方、細胞特異的なターゲティングのためのナノ粒子表面修飾で、もっとも一般的な選択的リガンドは抗体である。Shinkaiらによって、中性の電荷をもつリポソームでマグネタイトを包埋し、さらに表面に細胞特異的な抗体を結合させた抗体結合型磁性ナノ粒子 (antibody-conjugated magnetoliposome, AML, 図1) が開発された⁸⁾。モノクローナル抗体は実際の患者に対して適用することを考えるとヒト化抗体を使用する必要があるが、近年の抗体医薬品開発の著しい発展によりヒト化抗体が

次々と開発され、細胞表面に結合するヒト化抗体も利用可能となってきた。筆者らは、HER2/neu/c-erbB2抗原に対するヒト化抗体であるハーセプチン[®] (トラスツズマブ) を表面に固定化したAMLを開発し、HER2陽性乳がん細胞への特異的な結合および取り込みを観察した⁹⁾。

さらに、筆者らは札幌医科大学皮膚科と共同で、皮膚がんの悪性黒色腫であるメラノーマに高効率に取り込まれて細胞を破壊するチロシン類似体である薬剤N-プロピオニル-4-S-システアミルフェノール (N-propionyl-4-S-cysteaminyphenol, NPrCAP) をマグネタイトに結合した機能性磁性ナノ粒子NPrCAP/Mを開発した(図1)¹⁰⁾。

再生医療プロセスの開発

京都大学・山中教授のiPS細胞のノーベル賞受賞から、自家iPS細胞を用いた網膜の加齢黄斑変性症の臨床研究などにより、日本における再生医療実用化への期待が高まっている。再生医療の実用化および産業化においては生物化学工学者の参入が必須であり、今後、再生医療で用いられる細胞製造のための工学的技術開発が発展していくと考えられる。筆者らは、標的細胞に磁性ナノ粒子を結合して磁気標識し、外部磁場によって細胞を操作する技術を再生医療における各プロセスに応用することで、磁力を用いた再生医療技術の開発を行ってきた(図2)。これまでに、AMLを用いたヒト骨髄からの間葉系幹細胞の磁気分離および希少細胞の磁気高密度培養による細胞増幅法の開発¹¹⁾、遺伝子導入ベクターを磁気標識して標的細胞に磁力で引き寄せることによる遺伝子導入法 (マグネトフェクション法) の開発¹²⁾、微小パターン化磁石を用いた血管内皮細胞などの磁気パーニング法の開発¹³⁾、さらに、磁気標識した細胞を磁力で積層していくことによる三次元組織構築法の開発¹⁴⁾を行ってきた。特筆すべきは磁力を用いた三次元組織構築プロセスで、特に骨格筋組織の構築を主として、磁力で筋芽細胞を集

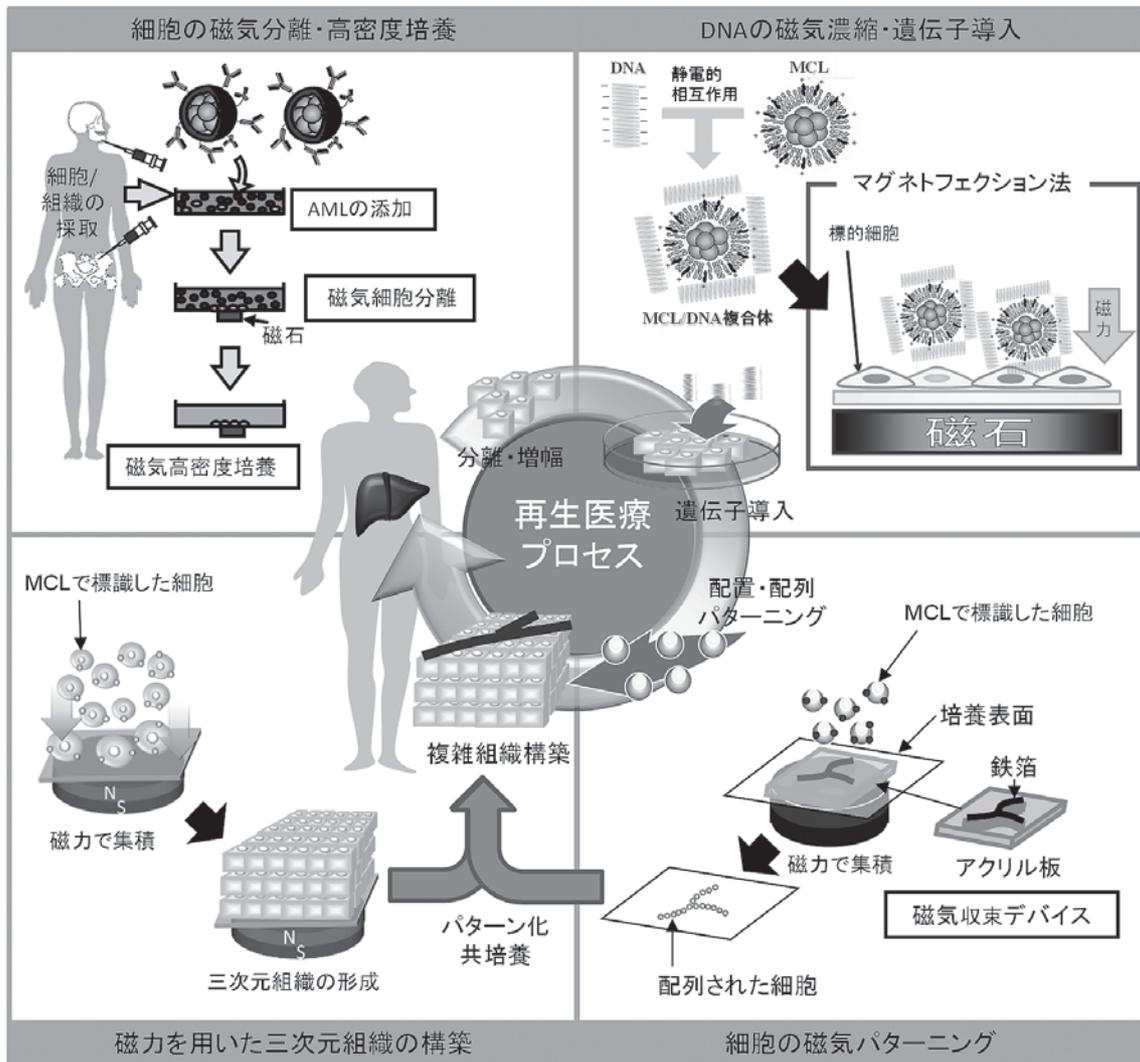


図2. 磁力を用いた再生医療プロセス

積ませて細胞が密で配向した骨格筋組織を作製することに成功し、「動く筋肉組織」を試験管内で作製した¹⁵⁾。次に骨格筋のティッシュエンジニアリングを中心に述べる。

骨格筋のティッシュエンジニアリング

化学工学者である Langer と外科医である Vacanti は、細胞と足場（スキャフォールド）および細胞成長因子の三者を組み合わせることによって人工的に生体組織を再構築する学理をティッシュエンジニアリングとして提唱した¹⁶⁾。筆者らは、*in vitro*における三次元生体組織構築に関する細胞の配置・配列技術について、機能性磁性ナノ粒子を用いた細胞の磁気誘導法の開発を行っており、磁力を用いたティッシュエンジニアリング技術として magnetic force-based tissue engineering (Mag-TE) 法と名付けた。骨格筋組織を *in vitro* で構築することが

できれば、再生医療における「再生治療」や「再生研究」をはじめ、動力素子としてのバイオアクチュエータや食肉などに広く応用することができる。骨格筋の幹細胞である筋衛星細胞は筋肉の損傷で筋芽細胞となり、細胞増殖し、細胞融合により多核化した筋管へ分化して成熟した筋繊維となる。重度の筋損傷や筋ジストロフィなどの筋疾患で、培養した筋衛星細胞や筋芽細胞を患部へ注入された既往研究はあるが、移植細胞の生着率が低く、十分な治療効果は得られていない。Mag-TE法により *in vitro* で生体内の骨格筋組織と同様な機能を有する人工筋組織を効率的に作製することができれば、再生医療における「再生治療」としての移植治療に威力を発揮すると思われる。一方で、生体と類似な筋組織は骨格筋再生のメカニズムに迫る「再生研究」に有用であり、さらにその応用として、筋疾患に作用する薬剤のスクリーニングに有用であると考えられる。細胞培養系を用いた *in*

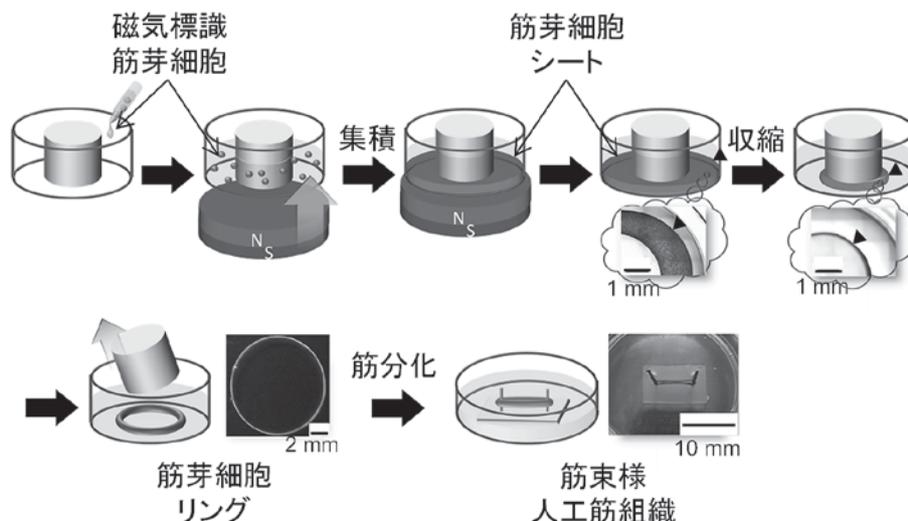


図3. 人工筋組織の作製

*in vitro*の実験は動物実験代替法として有用であり、マウスC2C12細胞などの筋衛星細胞由来の細胞株は筋管への分化能を保持しているため、機能を調べるためのモデル細胞として使用されてきた。また、iPS細胞を利用することで患者自身の細胞由来の筋芽細胞を用いた薬剤スクリーニングも可能である。さらに、筋組織は生体内での動力素子（アクチュエータ）としてみなすことができ、*in vitro*で動く筋組織を作製することができれば、バイオアクチュエータとして応用可能となる。最近Morimotoらは、ハイドロゲルに包埋した初代筋芽細胞を搭載した電気刺激で動く「バイオハイブリッドロボット」の作製に成功している¹⁷⁾。

筋肉は腱を介して骨とつながっており、骨に引っ張られることで長く配向してそれが収縮することで強い力を発揮する。骨格筋組織は筋繊維が束になった筋束（直径200 μm以下）が、さらに束になることで形成されている。筋束はI型コラーゲンを含む結合組織とラミニンやIV型コラーゲンを含む基底膜に覆われており、結合組織中に血管と神経のネットワークが存在する。筆者らは、*in vitro*で血管がない場合でも生存可能であり、機能を発揮できる筋束を骨格筋の最小単位と考え、Mag-TE法で*in vitro*における筋束の組織構築を目指した。

図3に人工筋組織の作製法を示す。磁力で細胞を積層するMag-TE法は、高密度の細胞からなる骨格筋組織の作製に威力を発揮する。一方、骨格筋は腱を介して骨に結合していることから、ティッシュエンジニアリングで筋組織を作製する場合にも人工的に腱のような構造物を使用して組織の収縮を留める必要がある。筆者らは作製する筋組織を輪ゴム状に成形して、2本の虫ピンで固定する方法をとった¹⁵⁾。マウス筋芽細胞株C2C12細胞に

100 pg/cellでMCLを添加したところ、6.4 pg/cellで細胞に取り込まれた。磁気標識した細胞を、細胞接着を抑えるために親水ゲルコートされた超低接着性培養表面をもつ培養ウェルの中心にポリカーボネート製の円柱を設置し、その培養ウェルの隙間にMCLで磁気標識した筋芽細胞を播種し、磁石を培養表面の下に設置したところ、細胞が磁力で培養底面に引き付けられて細胞シートが形成された。その後、磁力で保持しながら三次元培養を12時間行うことで、自己組織化により細胞シートは収縮して円柱に巻きついて、太さ120 μmの輪ゴム状の細胞組織が形成された。円柱に巻きついた状態で、骨格筋組織の細胞外マトリクスとして結合組織を模倣したI型コラーゲンと、基底膜成分としてラミニン、IV型コラーゲン、エンタクチンを含むマトリゲル®を添加してすぐに抜き取ることにより、細胞組織表面を薄くゲルコートした。さらに、筋管形成のための分化誘導培養を行うために2本の虫ピンで細胞組織を固定して7日間培養を行ったところ、虫ピン間の張力により一方向に配向した高密度の筋管からなる筋束様の三次元筋組織を作製することに成功した。骨格筋のティッシュエンジニアリングにおいて、コラーゲンなどのハイドロゲルに筋芽細胞を懸濁させて三次元組織を構築する方法は古くから行われてきたが、生体内の骨格筋組織では筋線維が90%で結合組織は10%程度であることから、ゲル包埋培養で作製された筋組織は細胞の割合に対して含まれるゲルの割合が過剰になる。筆者らはMag-TE法により、細胞密度が高く、一方向に配向した、周りが薄く細胞外マトリクスでコートされた直径200 μm程度の筋束様の組織を作製することに成功した¹⁵⁾。

ティッシュエンジニアリングで作製した筋を鍛える

筋肉のもっとも重要な機能は収縮して力を発生することである。Mag-TE法で筋束を模倣して作製した筋組織（以降、人工筋組織）は神経を含まないが、人工的な電気刺激パルスで収縮運動する¹⁵⁾。人工筋組織を電極で挟んで電気パルス刺激し、その時の収縮力を張力変換器で測定したところ、電気パルスの周波数に応じて人工筋組織はリズムカルに収縮を繰り返して力を発生した。電気パルスの印加周波数を5 Hz以上にすると強縮(Tetanus)とよばれる生体内と同様の生理現象が観察された。人工筋組織の単収縮(Twitch)による最大収縮力は1.1 mN/mm²であった¹⁵⁾。これらの結果から、筆者らは*in vitro*で「動く」骨格筋組織の構築に成功した。しかしながら、人工筋組織の収縮特性は、生体内の骨格筋と比較すると低いレベルであり、成体マウスの最大筋力の0.5%程度であった。

人工骨格筋組織の収縮力が低い理由として、組織内の筋繊維の成熟度が低いことがあげられる。生体内では中枢神経系から運動神経を介して筋肉に電気信号が伝わるが、人工筋組織では、言わば脱神経の状態であるために筋管が成熟しない可能性がある。さらに、宇宙飛行士が宇宙空間に一定期間滞在すると地上帰還時に立てないほど筋力が衰えることが知られており、筋力強化のために持続的な運動は必須のものと考えられる。このため、人工筋組織においても持続的に電気刺激して収縮運動させながら培養する、つまり筋力トレーニングさせることにより、筋力を高めることができると考えられる。筆者らは、印加電圧、パルス幅および周波数をパラメータとして電気刺激条件を変化させ、最適な電気刺激条件を探索した¹⁸⁾。人工筋組織は分化誘導4日目(day 4)から電気刺激に応答して収縮運動を始めることから、電気刺激培養開始をday 4とした。計27条件の電気刺激条件で培養を行ってday 7における最大収縮力を測定したところ、0.3 V/mm, 4 ms, 1 Hzで電気刺激培養した場合にもっとも収縮力の高い人工筋組織(47.2 μN)の誘導に成功した。この電気刺激条件における運動の負荷(発生する収縮力)を、最大収縮力に対して何%の収縮力を示すか(%Peak Twitch Force, %Pt)と定義すると25%Ptであった。さらに、筋力トレーニングの基礎として、筋肉の増強とともに負荷を変えることが効果的であると考え、day 7からトレーニングプログラム(電気刺激培養条件)を変更して効果を調べたところ、印加電圧とパルス幅が異なっても%Ptが同等の場合には同等のトレーニング効果があり、結果的として、day 4からday 7までは25%Pt、day 7からday 14までは50~60%Ptに負荷を高

めて電気刺激培養するともっとも効果的に人工筋組織の収縮力を高めることができ、day 14には約120 μNの収縮力を発揮した。これは電気刺激培養を行わなかった場合のコントロールと比較して約6倍の収縮力であった。

人工筋組織を用いた薬剤スクリーニングシステム

これまでの研究で、細胞形態変化(筋管の形成など)や筋関連遺伝子(ミオシン重鎖遺伝子, myosin heavy chain, MHCなど)の発現を調べる検討は多く行われてきたが、それら構造的特徴と遺伝子発現との集約である「収縮力」を指標とした機能評価を行った研究は少ない。筆者らは豊田中央研究所との共同研究により、ティッシュエンジニアリングで作製した筋組織が発生する収縮力を測定するシステムを構築し、今まで報告例の少なかった力学的評価を可能とした。さらに、筆者らは収縮力測定システムを利用して、Mag-TE法で作製した筋組織が、筋力を増強する薬剤のスクリーニングに有用であることを示した¹⁹⁾。その中で、興味深いことに、平面培養で太い筋管形成を誘導する薬剤であっても、人工筋組織の収縮力を必ずしも増強しないことが分かった。この結果は、二次元培養におけるMHC陽性の筋管細胞率を指標とした従来法では、必ずしも収縮力を増強する薬剤はスクリーニングできないことを意味することから、今後、三次元筋組織の収縮力測定が筋肉における薬剤スクリーニングのグローバルスタンダードになりえることを示唆する。

現在、iPS細胞における研究開発の目まぐるしい発展により、再生医療の実用化が推進されている。iPS細胞は患者の細胞から誘導可能であるため、病気の仕組みの解明や薬の開発における再生研究に有用である。今までに、iPS細胞を筋分化する手法は報告されているが、三次元筋組織まで構築し「動く」筋組織を誘導した例はほとんどない。筆者らは京都大学との共同研究で臨床研究「筋ジストロフィー患者由来iPS細胞を用いた人工筋組織の作製と機能評価」を九州大学臨床研究倫理審査委員会の承認を受けて開始している。筋ジストロフィーは、筋肉が委縮して筋力低下が進む遺伝性疾患である。共同研究者の堀田らのグループはゲノム編集技術を用いてジストロフィン遺伝子欠損を修復する技術を開発し、筋ジストロフィー患者由来のiPS細胞のジストロフィン遺伝子の修復に成功した²⁰⁾。筆者らは、筋ジストロフィー患者由来のiPS細胞を使用した人工筋組織の作製と収縮力測定を指標とした機能評価を行うことで、骨格筋における疾患特異的iPS細胞を活用した薬剤スクリーニングのための基盤技術を確立することを到達目標として、現在研究を行っている(図4)。

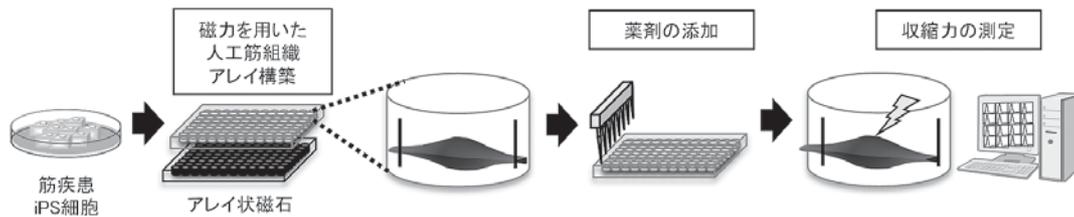


図4. 人工筋組織の収縮力を指標とした薬剤スクリーニング

がん温熱療法の開発

「薬で治らない病気は刃物（鉄，ナイフ）で治る。刃物で治らない病気は火（熱）で治る。しかし，火で治らない病気は不治であるとみなしてよい」と医学の父であるヒポクラテスの言葉として現在に伝わっている。現代において、「薬」としての抗がん剤の開発，そして「刃物」としての外科手術の技術がそれぞれ発展目覚ましいなか、「火」としてのがん温熱療法は未だがん治療の主要な選択肢にはなっていない。

がん温熱療法は，42.5°C以上でがん組織を加温して殺傷する治療法として，その原理が確立されている。腫瘍を加温する方法として，日本においては，患部が挟まれるように身体の表裏に一對の電極をセットし，身体内部に8 MHzの高周波の電流を流して，そのジュール熱により患部の温度を上昇させる方式の装置「サーモロンRF-8」が保険適用になっている。しかしながら，この方式では腫瘍特異的に加温することが難しく，腫瘍温度が42.5°Cに達する前に，体表面などがそれ以上に加温されてしまう問題がある。一方で，磁性ナノ粒子を発熱素子とした磁場誘導加温法は，ナノテクノロジーの生み出した腫瘍特異的ながん治療法として期待される。筆者らは，第一高周波工業株式会社との共同研究で磁場照射装置を開発し，粒子径10 nmのマグネタイトが100–200 kHzの高周波磁場で特異的に発熱することを見いだした。これまでに，皮膚がんであるメラノーマや乳がんのマウス皮下移植モデル，ヒト前立腺がんの無胸腺マウス皮下移植モデル，トランスジェニックマウスによるメラノーマ自然発症モデル，ウサギ舌がんモデルなどさまざまな前臨床研究を行い，95%を超える完全退縮率を達成してきた²¹⁾。

がん温熱療法の臨床研究

筆者らはこれらの高い治療効果に関して，治療後に抗腫瘍免疫が誘導されていることを見だし，熱ショックタンパク質（heat shock protein, HSP）に着目してそのメカニズムを詳細に調べた²²⁾。HSPは分子シャペロンの一つであり，細胞が熱に曝されると発現誘導されてタ

ンパク質変性を防ぐ性質があることから，細胞の温熱感受性を低減させる温熱耐性因子として，がん温熱療法では邪魔者と考えられていた。一方で腫瘍免疫においては，HSPは細胞内で腫瘍抗原ペプチドと結合して複合体を形成しており，さらに自然のアジュバントとして免疫細胞を活性化する働きがあることが知られていた。筆者らは，磁性ナノ粒子を用いたがん温熱療法により，がん細胞内のHSPが高発現し，さらに磁性ナノ粒子の発熱による腫瘍局所加温で温熱耐性が打破されてがん細胞が壊死することで，HSPと抗原ペプチドの複合体が細胞外に放出されることによって「危険信号」とともに腫瘍抗原が免疫系に認識され，抗腫瘍免疫が誘導されることを証明し，磁性ナノ粒子を用いたがん温熱療法は腫瘍局所で抗原を放出するがんワクチン療法と見なせることを提唱した²²⁾。

これらの前臨床研究におけるデータを基に，札幌医科大学皮膚科学教室において，メラノーマに対する臨床研究が開始され，安全性と有効性が確認された²³⁾。臨床研究のためには，機能性磁性ナノ粒子NPrCAP/Mとともに磁場照射装置の開発も進める必要があった。空芯コイルからなるソレノイド型装置の場合，患者はコイルの中に入って磁場照射される。その際に患者の身体に高電圧がかかることで危険性が考えられたため，臨床研究ではパンケーキ型の平板コイルを体表面に当てる方式の電氣的に安全なフェライトコア挿入ソレノイド型コイルが使用された。

がん温熱療法における免疫を増強するために

臨床研究は体表面の皮膚に存在するメラノーマ腫瘍に直接NPrCAP/Mを投与して高周波磁場を照射し，免疫が活性化する二週間後に加温した腫瘍を外科摘出して，リンパ節転移に対する縮小効果を観察するといったプロトコルで行われた。筆者らはこのプロトコルで誘導される抗腫瘍免疫を増強するために，外科切除した腫瘍内に浸潤してきたリンパ球を解析した²⁴⁾。がん細胞に対する細胞障害性T細胞の免疫応答はα鎖とβ鎖により構成されるT細胞受容体によって媒介される。β鎖の可変領域（Vβ）の中でも超可変領域と呼ばれるthird

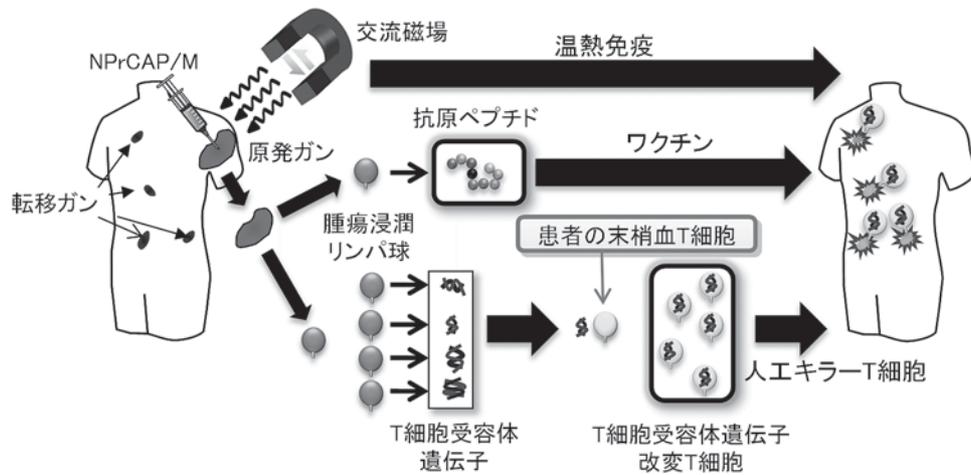


図5. NPrCAP/Mによるがん温熱療法と腫瘍浸潤リンパ球解析に基づく免疫増強法

complementarity-determining region (CDR3) をコードする遺伝子配列がT細胞受容体の多様性形成において重要である。B16マウスメラノーマ担癌マウスにNPrCAP/Mを用いたがん温熱療法を行い、腫瘍浸潤リンパ球のT細胞受容体V β ファミリーの多様性を解析したところ、腫瘍浸潤リンパ球のT細胞受容体は三種類に限定された。中でも特にV β 11の発現が再現性良く確認されたことから、V β 11を発現するT細胞が温熱療法により活性化され、B16メラノーマを攻撃するために腫瘍内に浸潤していると考えられる。さらに、これらのリンパ球のCDR3における遺伝子配列解析に成功した。次に、温熱療法後の腫瘍浸潤リンパ球における抗原特異性を調べるために、種々のメラノーマ抗原ペプチドを用いてインターフェロン(IFN)- γ 産生能を調べたところ、TRP-2ペプチドに腫瘍浸潤リンパ球が反応した。これらの結果から、NPrCAP/Mを用いた温熱療法によって数種類の腫瘍浸潤リンパ球が限定的に増幅され、特にV β 11陽性T細胞がB16メラノーマに対する免疫に重要であることが示唆された。また、TRP-2ペプチドの投与がNPrCAP/Mを用いたB16メラノーマに対する温熱療法の効果をブーストする効果があることが分かった。

おわりに

本稿では、機能的磁性ナノ粒子の開発とその医療分野への応用として、再生医療およびがん治療法の開発における筆者らの研究を紹介した。

再生医療分野への応用では、骨格筋のティッシュエンジニアリングを中心に述べた。in vitroにおける人工筋組織は、移植医療のみならず、創薬のための有用なツールとして、またバイオアクチュエータやバイオロボットの動力源として応用分野が非常に広く、今後も発展してい

くと考えられる。究極的には、作製した筋束の周りに神経と血管網を導入し、それらを束ねていくことで生体外においても生体と同等の筋肉組織を作ること为目标に研究を行っていきたい。

磁性ナノ粒子を用いたがん温熱療法は、長い間にわたって基礎研究レベルであったが、近年、機能的磁性ナノ粒子と磁場照射装置の両方の開発によって、筆者らのグループも含めて臨床応用が始まってきている。さらに、筆者らが明らかにしたHSP発現誘導をメカニズムとする抗腫瘍免疫の活性化は、原発がんのみを熱で殺傷する温熱療法の概念を変え、転移がんまで効果がある理想的な治療法となる可能性を示した。今後、腫瘍浸潤リンパ球の解析を基に、抗原ペプチドの同定とワクチン投与による免疫ブーストや、T細胞受容体遺伝子の同定と患者末梢血T細胞への遺伝子導入による人工キラーT細胞の構築およびその投与による新しい免疫ブースト法の開発(図5)によって、温熱療法で誘導される抗腫瘍免疫の効果が強く増幅されることが期待できる。この工学部発の新しいがん治療法の実用化を目指しつつ、今までのがん治療を変えるような強力な治療法を開発していきたい。

謝 辞

本研究は九州大学大学院工学研究院化学工学部門第三講座(上平研究室)と名古屋大学大学院工学研究科生物機能工学専攻第一講座(小林研究室および本多研究室)で行われたものです。上平正道先生(九州大学教授)、河邊佳典先生(九州大学助教)と研究室の学生の皆様に厚く御礼申し上げます。また、学生時代から磁性ナノ粒子の研究をご指導いただきました小林猛先生(名古屋大学名誉教授)、本多裕之先生(名古屋大学教授)、新海政重先生(当時、名古屋大学助手)と研究室の皆様に心より感謝申し上げます。再生医療の研究にあたっては、多くのご支援とご教授を頂きました上田実先生(名古屋大学

名誉教授), 各務秀明先生 (当時, 名古屋大学助教授), 畠賢一郎先生 (当時, 名古屋大学助教授) をはじめとする口腔外科の先生方に深く感謝いたします。骨格筋の研究に関しましては, 長森英二先生 (当時, 豊田中央研究所) のグループの先生方, 清水一憲先生 (名古屋大学准教授), 櫻井英俊先生 (京都大学准教授), 堀田秋津先生 (京都大学講師), 堀江正信先生 (京都大学助教) に御礼申し上げます。がん温熱療法の研究にあたっては, 吉田純先生 (当時, 名古屋大学教授), 若林俊彦先生 (名古屋大学教授) をはじめとする脳神経外科の先生方, 河合憲康先生 (名古屋市立大学准教授), 吉川和弘先生 (愛知医科大学特務教授), 藤内祝先生 (当時, 名古屋大学助教授), 中島泉先生 (当時, 名古屋大学教授), 堀石七生様をはじめとする戸田工業株式会社の皆様, 平山綱太郎様をはじめとする第一高周波工業株式会社の皆様, 森野富夫様をはじめとする日本化薬株式会社の皆様に深く感謝致します。がん温熱療法の臨床研究に関しましては, 神保孝一先生 (札幌医科大学名誉教授) をはじめとする皮膚科の先生方, 山本五郎様 (山本ビニター株式会社), 野原聡様をはじめとする名糖産業株式会社の皆様, 佐藤昇志先生 (札幌医科大学名誉教授), 田村保明先生 (当時, 札幌医科大学講師), 伊藤祥輔先生 (藤田保健衛生大学名誉教授), 若松一雅先生 (藤田保健衛生大学教授), 中山毅一先生 (岡山大学名誉教授) との共同研究によるものであり, 大変貴重な経験をさせていただき, 心より御礼申し上げます。

本稿における研究成果の一部は, 科研費17H03469の助成を受けて実施されたものです。

文 献

- 1) International Conference on the Scientific and Clinical Applications of Magnetic Carriers: <http://magneticmicrosphere.com/meeting-twelfth> (2018/8/1)
- 2) Ito, A., Shinkai, M., Honda, H., and Kobayashi, T.: *J. Biosci. Bioeng.*, **100**, 1–11 (2005).
- 3) Shinkai, M., Yanase, M., Honda, H., Wakabayashi, T., Yoshida, J., and Kobayashi, T.: *Jpn. J. Cancer Res.*, **87**, 1179–1183 (1996).
- 4) Ito, A., Jitsunobu, H., Kawabe, Y., and Kamihira, M.: *J. Biosci. Bioeng.*, **104**, 371–378 (2007).
- 5) Ito, A., Hibino, E., Honda, H., Hata, K., Kagami, H., Ueda, M., and Kobayashi, T.: *Biochem. Eng. J.*, **20**, 119–125 (2004).
- 6) Horie, M., Ito, A., Maki, T., Kawabe, Y., and Kamihira, M.: *J. Biosci. Bioeng.*, **112**, 184–187 (2011).
- 7) Ito, A., Nakahara, Y., Tanaka, K., Kuga, Y., Honda, H., and Kobayashi, T.: *Jpn. J. Hyperthermic Oncol.*, **19**, 151–159 (2003).
- 8) Shinkai, M., Le, B., Honda, H., Yoshikawa, K., Shimizu,

- K., Saga, S., Wakabayashi, T., Yoshida, J., and Kobayashi, T.: *Jpn. J. Cancer Res.*, **92**, 1138–1145 (2001).
- 9) Ito, A., Kuga, Y., Honda, H., Kikkawa, H., Horiuchi, A., Watanabe, Y., and Kobayashi, T.: *Cancer Lett.*, **212**, 167–175 (2004).
- 10) Ito, A., Fujioka, M., Yoshida, T., Wakamatsu, K., Ito, S., Yamashita, T., Jimbow, K., and Honda, H.: *Cancer Sci.*, **98**, 424–430 (2007).
- 11) Ito, A., Hibino, E., Shimizu, K., Kobayashi, T., Yamada, Y., Hibi, H., Ueda, M., and Honda, H.: *J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater.*, **75**, 320–327 (2005).
- 12) Ito, A., Takahashi, T., Kameyama, Y., Kawabe, Y., and Kamihira, M.: *Tissue Eng. Part C Methods*, **15**, 57–64 (2009).
- 13) Akiyama, H., Ito, A., Kawabe, Y., and Kamihira, M.: *Biomed. Microdevices*, **11**, 713–721 (2009).
- 14) Ito, A., Hayashida, M., Honda, H., Hata, K., Kagami, H., Ueda, M., and Kobayashi, T.: *Tissue Eng.*, **10**, 873–880 (2004).
- 15) Yamamoto, Y., Ito, A., Fujita, H., Nagamori, E., Kawabe, Y., and Kamihira, M.: *Tissue Eng. Part A*, **17**, 107–114 (2011).
- 16) Langer, R. and Vacanti, J. P.: *Science*, **260**, 920–926 (1993).
- 17) Morimoto, Y., Onoe, H., and Takeuchi, S.: *Sci. Robotics.*, **3**, eaat4440 (2018).
- 18) Ito, A., Yamamoto, Y., Sato, M., Ikeda, K., Yamamoto, M., Fujita, H., Nagamori, E., Kawabe, Y., and Kamihira, M.: *Sci. Rep.*, **4**, 4781 (2014).
- 19) Ikeda, K., Ito, A., Imada, R., Sato, M., Kawabe, Y., and Kamihira, M.: *Sci. Rep.*, **7**, 44570 (2017).
- 20) Li, H. L., Fujimoto, N., Sasakawa, N., Shirai, S., Ohkame, T., Sakuma, T., Tanaka, M., Amano, N., Watanabe, A., Sakurai, H., Yamamoto, T., Yamanaka, S., and Hotta, A.: *Stem Cell Rep.*, **4**, 143–154 (2015).
- 21) Ito, A. and Kobayashi, T.: *Thermal Med.*, **24**, 113–129 (2008).
- 22) Ito, A., Honda, H., and Kobayashi, T.: *Cancer Immunol. Immunother.*, **55**, 320–328 (2006).
- 23) Jimbow, K., Ishii-Osai, Y., Ito, S., Tamura, Y., Ito, A., Yoneta, A., Kamiya, T., Yamashita, T., Honda, H., Wakamatsu, K., Murase, K., Nohara, S., Nakayama, E., Hasegawa, T., Yamamoto, I., and Kobayashi, T.: *J. Skin Cancer*, **2013**, 742925 (2013).
- 24) Ito, A., Yamaguchi, M., Okamoto, N., Sanematsu, Y., Kawabe, Y., Wakamatsu, K., Ito, S., Honda, H., Kobayashi, T., Nakayama, E., Tamura, Y., Okura, M., Yamashita, T., Jimbow, K., and Kamihira, M.: *Nanomedicine (Lond)*, **8**, 891–902 (2013).