

図 3.1-30 マイクロチャンネル内において A、B 液が混合された後、液滴が形成される。

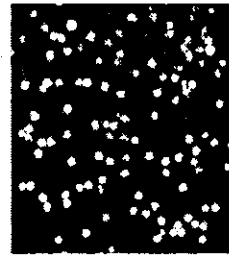


図 3.1-31 GFPが発現した液滴の蛍光画像。

⑥ 高アスペクト比ナノプリント技術により作製したナノピラーを用いた免疫アッセイチップ (Hitachi Ltd., Japan)

本研究においては、免疫アッセイにおける基板として高アスペクト比のナノピラー構造を用いることにより、超高感度化を達成した。ナノピラー構造は、高アスペクト比ナノプリント技術によりポリスチレン上に作製し、直径 95nm - 1 $\mu$ m、高さ 1 $\mu$ m - 4.1 $\mu$ m のサイズのものを作製することに成功した (図 3.1-32)。これらのナノピラーの表面積は、通常の平面基板と比較すると非常に大きく、例えば直径 95 nm、高さ 4.1  $\mu$ m のものであれば、その表面積は 7.7 倍にもなる。このナノピラー上に、 $\alpha$ -fetoprotein (AFP) をコーティング後、ビオチン化 AFP 抗体と蛍光標識ストレプトアビジン (streptavidin-FITC) にて免疫アッセイを行ったところ、直径 95 nm のナノピラー構造上の蛍光強度は、平面基板のそれと比べて 34 倍も強く観察され、直径 95 nm のナノピラーでは、300 pg/ml レベルで AFP を検出可能であることがわかった (図 3.1-33)。

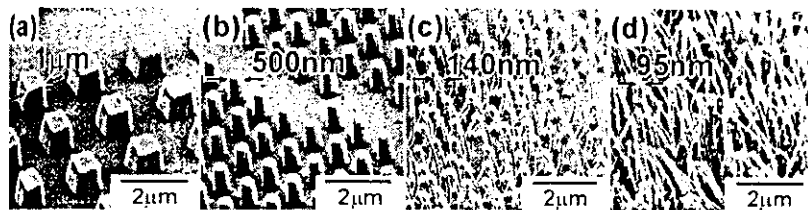


図 3.1-32 ポリスチレン製ナノピラーの電子顕微鏡写真。それぞれ、高さ(a)(b) 1  $\mu$ m, (c) 3.2  $\mu$ m, (d) 4.1  $\mu$ m。

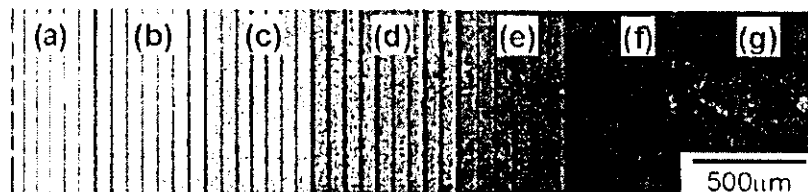


図 3.1-33 ナノピラー構造上で $\alpha$ -fetoprotein の免疫アッセイを行った結果。それぞれのナノピラーの直径は、(a) 95 nm, (b) 100 nm, (c) 110 nm, (d) 140 nm, (e) 500 nm, (f) 1  $\mu$ m, (g) ナノピラーなし。

⑦ 穿通センサー付きマイクロ注射針による針入度測定 (University of Twente, The Netherlands)

半導体の微細加工技術により作製した無痛針は、体表面からの無痛ドラッグデリバリーや血液サンプリングを行う際に、患者の負担を軽減する観点から必要不可欠である。無痛針は、非常に抵抗の大きい最上層の角質層を貫通しなければその機能を発揮しないが、実際にどの程度の深さまで貫通しているのかを見積もることは不可能であった。そこで本研究では、高さ 150  $\mu\text{m}$  のマイクロ針を 81 (9 x 9) 個アレイ化したマイクロ針アレイのそれぞれ電極を配置して (図 3.1-34) 皮膚のインピーダンスを測定することにより、その貫通の深さのモニタリングを行った。その結果、角質層を貫通して真皮に到達したときに大きなインピーダンスの変化が観測され、マイクロ針の貫通程度をモニタリングすることができた (図 3.1-35)。この技術は、血中濃度を一定に保つ必要のある薬物のモニタリングや、定期的な血液のサンプリングを可能とするものである。

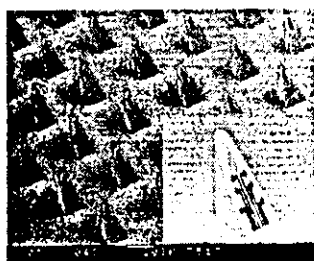


図 3.1-34 傾斜面に電極回路を集積化した穿通センサー付きマイクロ注射針アレイ。

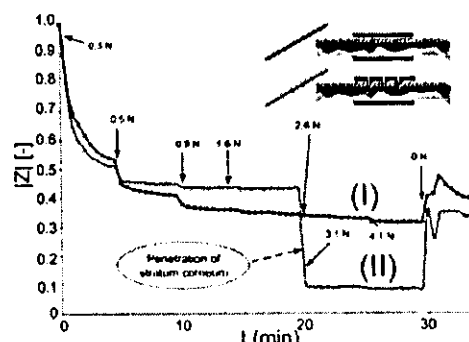


図 3.1-35 マイクロ針アレイを徐々に加圧していった際の貫通度を、インピーダンス変化により計測した結果。角質層を貫通し真皮に到達した際に、インピーダンスの大きな変化が観察された。

⑧ チャンネル間マイクロ構造による全血からの血漿の分離と解析 (The University of Tokyo, Japan)

血液検査は、健康診断・疾病診断において最も身近であり有力な方法である。しかしながら、現在の方法では、検査に時間を要するとともに、エイズに代表されるような感染性の血液を扱うのに危険が伴う。これらの問題を解決するために、マイクロ流体デバイスが応用されているが、その中には遠心操作を必要としたり高度な微細加工技術を要するなど、汎用性に欠けるものも少なくない。本研究では、マイクロチャンネルの中央部分にマイクロポアのような深さの浅い部分を多数設けることで、血球成分はその部分で滞留するが血漿成分は通過するという原理を利用し、遠心操作なしで血球・血漿成分の分画を可能とし

た(図 3.1-36、3.1-37、3.1-38)。さらに、分画後の血漿成分を免疫アッセイチップと接続することにより、全血中のヒト $\alpha$ -fetoprotein を 5-600 ng/mL で検出することに成功した(図 3.1-39)。

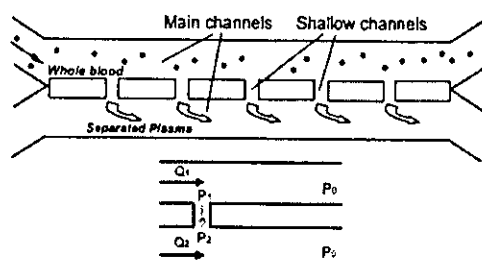


図 3.1-36 全血から血漿を分離するための直交流フィルター様マイクロ構造体とその分離原理。2つのチャンネル間の圧力差により分離が達成される。

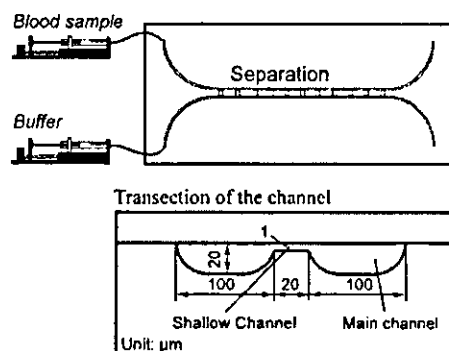


図 3.1-37 マイクロチャンネルの概観とそのサイズ。

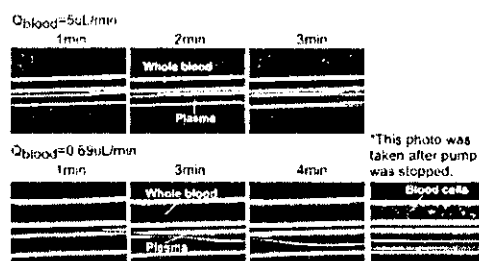


図 3.1-38 全血からの血漿分離過程。

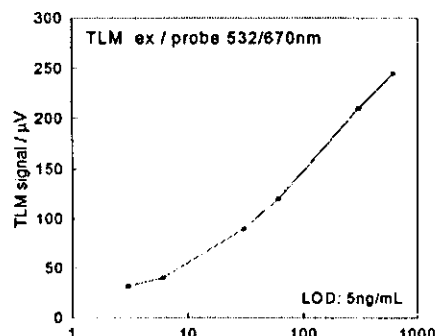


図 3.1-39 免疫アッセイチップと接続し、熱レンズ顕微鏡により検出した分画後の $\alpha$ -fetoprotein。

⑨ ディスクによる全血の連続的遠心分離 (Institute of Microsystem Technology, Germany)

医療診断システムにおける重要な課題は、患者の全血から診断結果を得るまでに至る全ての過程を集積化・自動化することである。本研究においては、3段階のマイクロ流体構造により、全血から血漿を連続的に分離し定量するディスクを開発した。このディスクは、全血を計量する metering chamber、decant chamber へ送液するための drain channel、血漿のみを分取する decant chamber の3つの部分からなり、ディスクの回転数を調整することによりこれらの操作を連続的に行う(図 3.1-40)。これにより、5  $\mu$ l の全血から 2  $\mu$ l の血漿を、ディスク回転数 40 Hz にて 20 秒以内に得ることに成功した(図 3.1-41)。

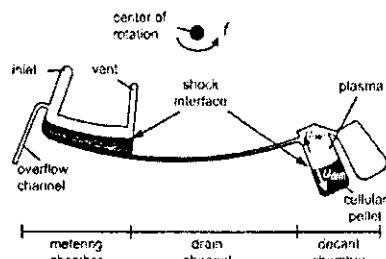


図 3.1-40 全血から血漿を分離する3段階のマイクロ流体構造。全血は、metering chamberにて計量された後、drain channel を通って decant chamber に移り、血漿が分取される。

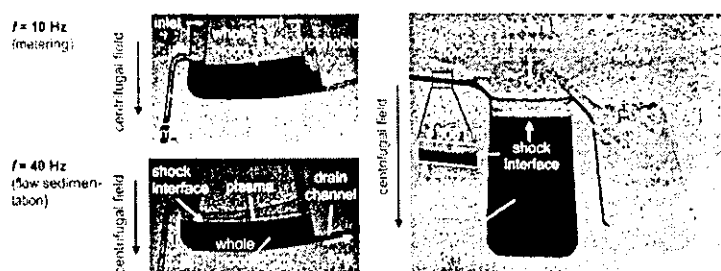


図 3.1-41 回転数 10 Hz にて全血が 5  $\mu$ l 計量された後、回転数を 40 Hz にまで上げることにより drain channel を経て decant chamber へ輸送され、血漿が分取される。

## $\mu$ TAS2004 のまとめ

コンピュータの CPU の 90 nm プロセスに代表される半導体の超微細加工技術が、いまや分子・原子レベルにまで達しようとしている現在、このトップダウン型のアプローチで作成したマイクロ・ナノシステムを化学・生化学分析に応用する試みが活発に行われている。 $\mu$ TAS2004 においても、このようなナノテクノロジーを応用した研究が多く報告されたが、特筆すべきは従来のマイクロスケールのシステムと、モータータンパク質であるキネシンやリポソームといった生物由来のナノスケールシステムを融合させることにより、 $\mu$ TAS を実現しようとした試みが提案されていたことである。また、ポストゲノム時代を反映して、DNA やタンパク質そのものを解析対象とした研究から、細胞における多種類の生体高分子間の相互作用を解析することを目的とした研究へと移行してきていることが感じられた。今回の日本からの発表件数の多さを見ても明らかのように、出遅れが指摘されていたこの分野において、ようやく日本はアメリカ・ヨーロッパと対等に競争できるまでの研究レベルに達してきたことがうかがえた。

### (4) NanoMedicine SUMMIT 2004

2004 年 10 月 24 日～26 日に米国オハイオ州クリーブランド（インターコンチネンタルホテル）にて開催された NanoMedicine SUMMIT 2004 の動向を調査した。

NanoMedicine SUMMIT は、近年のナノテクノロジー研究の進歩を臨床医療および生物医学研究に応用させる革新的な治療戦略の探求を目的とし、ナノテクノロジーの専門家と、循環器、神経、腫瘍及び整形外科領域の基礎研究者と臨床医を一同に介して、ナノテク

ロジーの臨床応用・機会などを議論する会議で今回（2004年）が1回目となった。

特に、最先端の生物医学的ナノテクノロジーを浮き彫りにし、生物医学研究のためのナノスケール機器の仕様について議論し、臨床技術にまだ解決策がなくナノバイオテクノロジーによる解決の機運が熟した臨床ニーズを明確化しようというものである。言い換えれば、研究が進むナノテク及びナノバイオロジーが近い将来医療現場に導入されるのを見据えて、臨床側のニーズを確認する専門家会議である。そのコンセプトは、本プロジェクトで2003年から実施しているナノメディシンフォーラムに類似していると言える。

（主要なテーマ）

- ・ 現在のナノテクノロジー研究に特徴的な用語および概念を理解する。
- ・ ナノファブリケーション戦略におけるトップダウン方式とボトムアップ方式の違いを認識する。
- ・ 生物医学研究に役立つ開発中のナノツールを認識する。
- ・ 疾患を診断・治療する現在の臨床手法の限界を検討する。
- ・ 満たされていない臨床ニーズに対処するナノテクノロジーの可能性を評価する。
- ・ ナノテクノロジーが医療にもたらすソリューションで、インパクトの強いものは何かを明らかにする。
- ・ ナノテクノロジーを臨床医療に応用する戦略をたてる。

参加者は約250名で、2割が病院関係（クリーブランドクリニック関係が中心）、2割が大学関係（コーネル大学が中心）、3割が企業（メドトロニック、ガイダント、ボストン・サイエンティフィック、メルク、ファイザー、J&J、GEなど）、1割が国立研究機関（NASAが多い）、残りが投資家・法律関係者などであった。

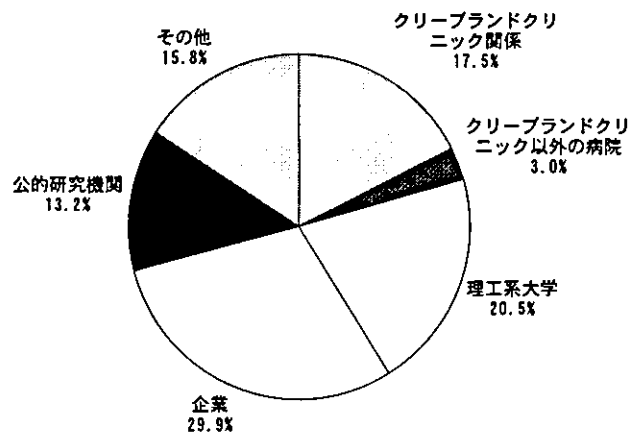


図 3.1-42 NanoMedicine SUMMIT の参加者傾向

(Summit Directors)

- Shuvo Roy, BioMEMS Laboratory, Lerner Research Institute, The Cleveland Clinic
- Harold G. Craighead, Nanobiotechnology Center, Cornell University
- Alexis R. Abramson, Nanoengineering Laboratory, Department of Mechanical and Aerospace Engineering, Case Western Reserve University
- Mark Brandt, Managing Partner, The Maple Fund

(プログラム)

10月24日

プレビュー・セッション

Edward Benzel – 脊椎疾患

10月25日

序言

Shuvo Roy

John Anderson

Paul DiCorleto

最高水準の技術 – パネル・セッション

Harold G. Craighead – ナノテクノロジー概要

Derek Raghavan – がんの診断・治療

循環器領域でのチャレンジ

Marc Penn – 細胞移植

Nicholas Smedira – 心臓補助装置

Jose Navia – 低侵襲手術

医療機器産業 – パネル・フォーラム

Youseph Yazdi, corporate director of science and technology for Johnson & Johnson

Joseph Smith, chief medical officer of cardiac rhythm management for Guidant Corp

Michael Helmus, vice president of advanced biomaterials and corporate research for Boston Scientific Corp

Paul Citron, vice president of science and technology for Medtronic Inc.

ナノスケール診断

Arun Majumdar – マイクロカンチレバーによるバイオセンサー

Michael Roukes – 一分子検出

James R. Heath – ハイスループットアッセイ

## ナノ粒子

Pamela B. Davis – 遺伝子治療

Maciej Zborowski – 磁気細胞分離

Shuming Nie – クアंटムドット

10月26日

## ドラッグ・デリバリー

Mauro Ferrari – 注射用粒子

Tejal A. Desai – シリコンマイクロシステム

James R. Baker Jr. – デンドリマー治療

## ナノスケール・バイオロジー

Barbara A. Baird – 細胞表面相互作用

Eckhard Jankowsky – Ribonucleoprotein Machineries

Chad A. Mirkin – バイオバーコードアッセイ

## 医薬品産業 – パネル・フォーラム

Yazdi, corporate director of science and technology for Johnson & Johnson

Mostafa Analoui, senior director and global head of computational medicine and clinical technology for Pfizer Global Research and Development

Stephen de Laszlo, director of strategic platform technologies and external scientific affairs for Merck Research Laboratories

Margaret Blohm of GE Medical

## 臨床的可能性

H. David Humes – 腎不全

Edward V. Maytin – Wound Healing

Steven A. Toms – 脳腫瘍

Mark Luciano – 脳水腫

以下、一部を抜粋して紹介する。

脊椎疾患のセッションでは、クリーブランドクリニックの Edward Benzel (MD) が脊椎外科治療の歴史を紹介した後、2010～2030 年の間に歪みを生体内で測定するマイクロ測定装置 (図 3.1-43)、2020～2050 年の間に測定と生体活性物質の投与・調節などを行うマイクロ変調装置 (図 3.1-44) が臨床で使用されるとの見方を示していた。Edward Benzel 自身は臨床適用の時期に対し、生体適合性、外科技術、経済性、FDA の認可等の観点からやや慎重・長期展望の認識のようである。

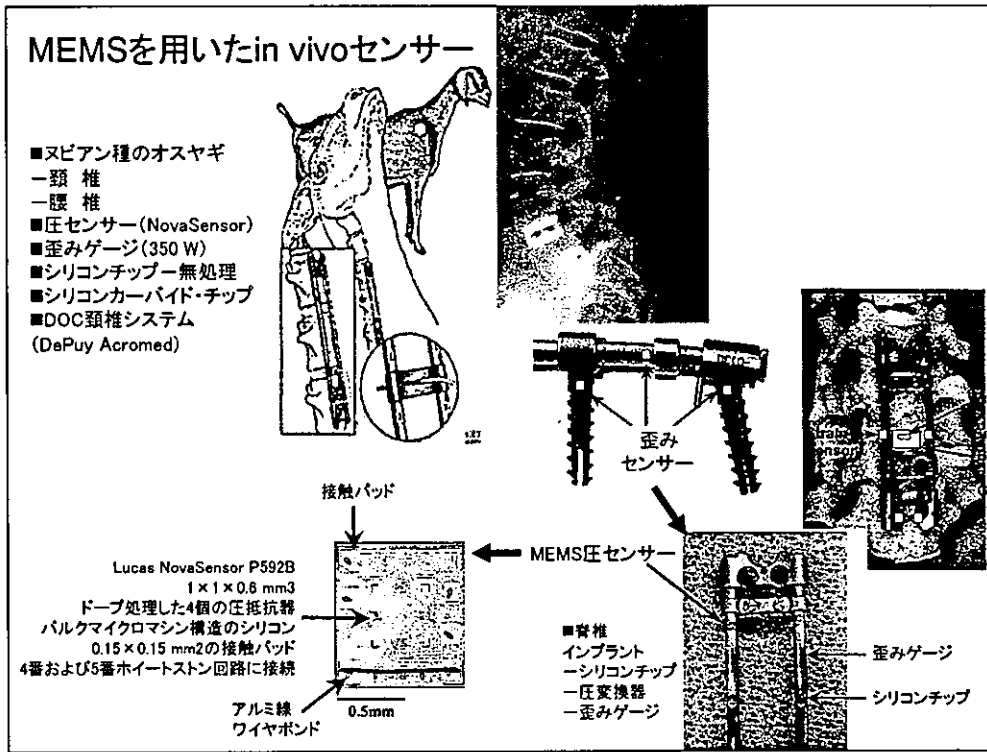


図 3.1-43 マイクロ測定装置

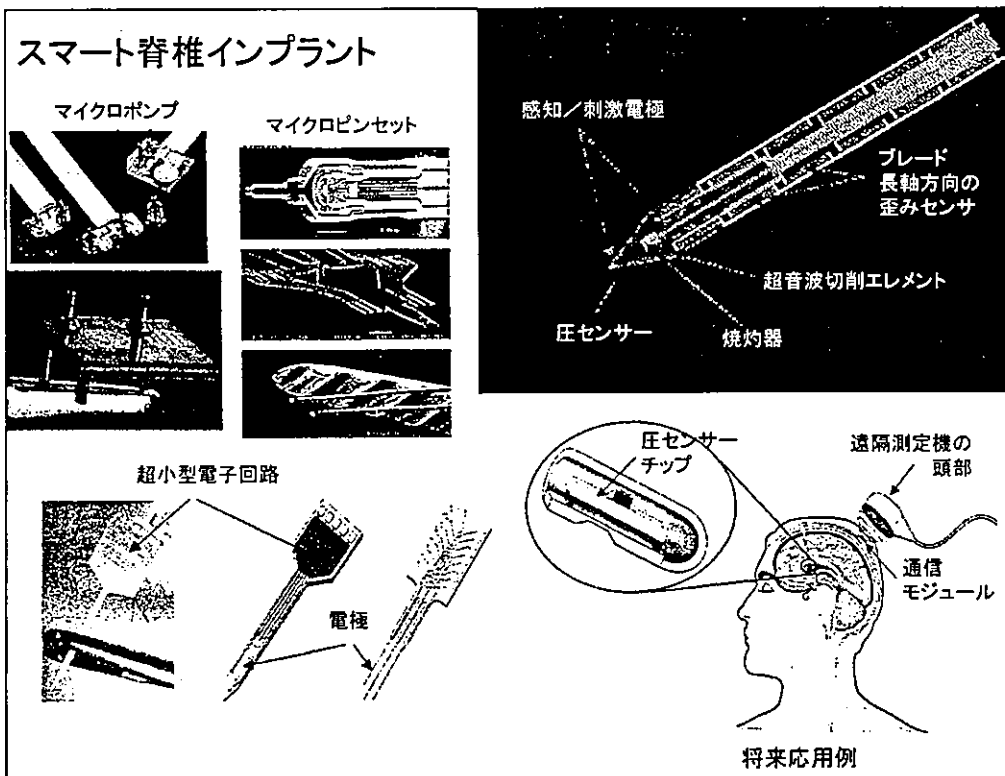


図 3.1-44 マイクロ変調装置



がんの診断・治療法のセッションでは、クリーブランドクリニックの Derek Raghavan (MD, Ph.D) が膀胱がんの化学療法の問題点を取り上げ、量子ドットによるクローンマッピングや細胞障害性反応をより正確に定量的に測定するためのナノスケールの埋込型装置の開発の必要性を述べた。

ナノ粒子：遺伝子治療のセッションでは、ケースウエスタンリザーブ大学の Pamela B. Davis (MD, Ph.D) が肺の遺伝子治療用 DNA ナノ粒子を取り上げ、遺伝子治療用 DNA ナノ粒子の作製法や肺治療におけるこの技術の将来の用途について議論された。結論として、DNA ナノ粒子は、①化学的に均一かつ安定で、複製および検証が可能な構造を有している。②in vitro および in vivo で表面から気道上皮に侵入する。③非分裂細胞の核に侵入し、発現される。④in vivo でマウスの鼻および下部気道上皮に導入される。⑤CF 異常の部分的修正に十分な量。⑥局所炎症を引き起こさない。⑦in vivo でヒト鼻上皮に導入され、局所炎症を引き起こさない。⑧局所宿主反応を引き起こさず、反復投与可能。⑨活性を損なうことなくエアゾール化可能、とした。また局所毒性については、現在のところ安全であるとの認識を示している (図 3.1-45)。

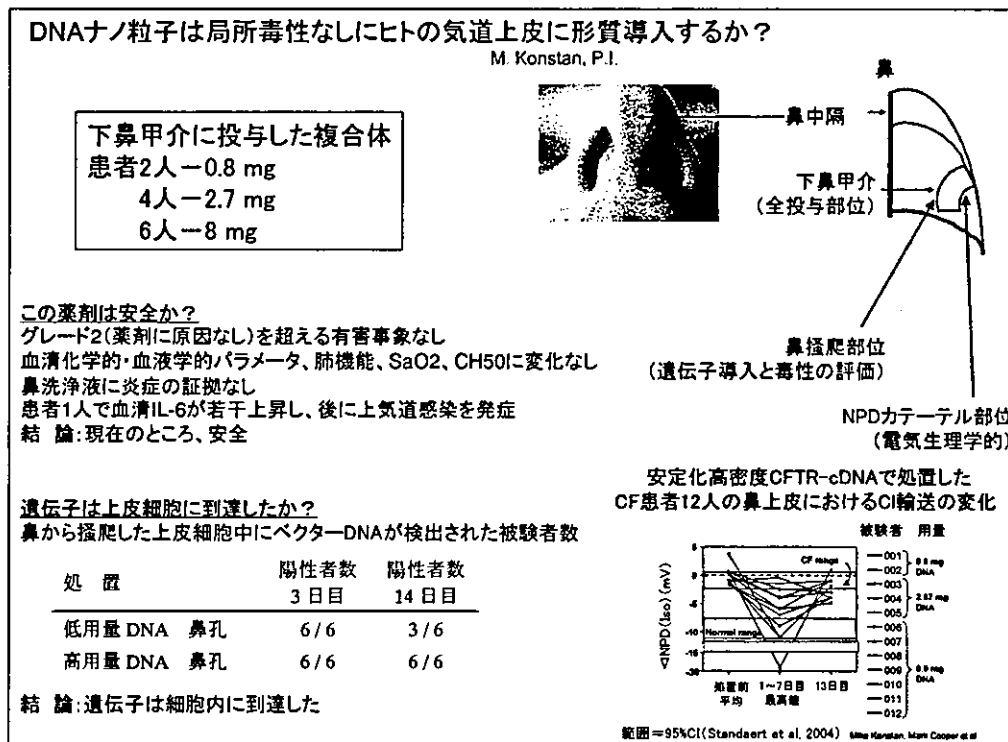


図 3.1-45 DNA ナノ粒子による局所毒性と有効性

薬物搬送: デンドリマーによる治療のセッションでは、ミシガン大学の Dr. James R. Baker, Jr. (MD) : ナノキュアコーポレーションのチーフサイエンスオフィサーがナノキュアコー

ポレーションで開発中の高感度ナノセンサー装置について紹介した。高感度ナノセンサー装置は、標的を部位へ、そして細胞内へ搬送（DDS）し、記録に残すイメージング機能を有する。そして細胞内で、病態生理学的変化を感知し、変化に基づいた治療物質を選択、非侵襲的外部トリガーが治療物質を放出する。さらに、治療に対する反応の記録ものである（図 3.1-46）。ナノキュアコーポレーションは、米国立がん研究所（NCI）から現在 680 万ドル、NASA から 200 万ドル、ミシガン州から 124 万ドルの補助金を獲得している。現在、動物を用いた最終的な有効性・毒性試験が進行中で、第 I 相試験を 2 年以内に開始する予定。治験許可申請などのため、FDA との協議も既に開始している。また、大量生産のために 2 社の製造業者を決定済みとのこと。

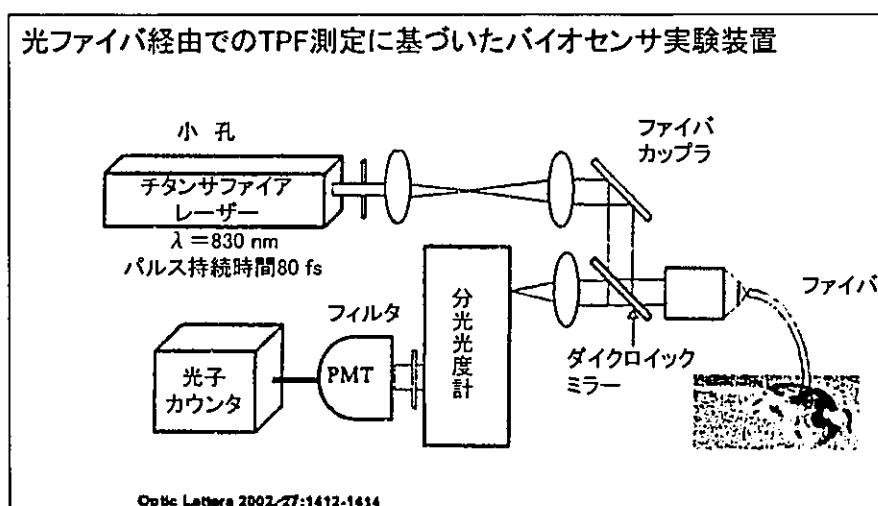


図 3.1-46 高感度ナノセンサー装置

脳腫瘍のセッションでは、クリーブランドクリニックの Steven A. Toms (MD, MPH) がグリオーマ（原発性脳腫瘍）における外科的・化学的治療法の問題点を取り上げ、量子ドット及び光学イメージングの適用可能性を述べている。

ナノメディシンサミットが他の国際会議と最も異なる点は、ナノテクの最新技術の紹介に重点をおくことよりも、臨床使用の視点からのディスカッションにフォーカスしたことである。プログラムは技術ベースのもの以外に疾患ベースのセッションや臨床機会を議論するセッションが設けられており、実際の臨床使用を想定した内容となっていた。参加者の 2 割が病院関係者という点も納得できる。

一方、産業界からの参加が 3 割で、医療機器・医薬品産業のパネル・フォーラムのパネリストがいずれも産業界をリードしている大手企業の役員クラスであったことも注目される。一研究者ではなく企業トップ自らが参加し発言することは、企業側が実用化や製品化を現実論として見据えている結果とも言える。

(5) Cancer Nanotechnology Symposia

2004年10月27日に米国オハイオ州クリーブランド（インターコンチネンタルホテル）にて開催された Cancer Nanotechnology Symposia の動向を調査した（ナノメディシンサミットの翌日、場所も同じ）。

テーマ：共同研究を阻む障壁を乗り越える（*Overcoming Barriers to Collaboration*）

Cancer Nanotechnology Symposia は、米国 NIH の研究機関である国立がん研究所（*National Cancer Institute : NCI*）が主催し、これまでも数回開催されている。

2004年1月28日	メリーランド州ベセスダ ナノテクノロジーと癌研究のインタフェース構築のために
2004年3月3日	カリフォルニア州ラ・ホラ ナノテクノロジー：癌の視覚化とターゲティング
2004年3月4日	シアトル 癌の早期発見と治療に飛躍的な進歩をもたらす成功要因としての のナノテクノロジー
2004年5月22日	カリフォルニア州ロサンゼルス バイオ NEMS
2004年8月11～13日	カリフォルニア州サンフランシスコ
2004年10月27日	オハイオ州クリーブランド 共同研究を阻む障壁を乗り越える
2005年2月22日	ワシントン 分子医学のためのナノテクノロジー・プラットフォーム
2005年5月10～11日	カリフォルニア州アナハイム (予定) 癌の予防、診断、治療のためのナノテクノロジー

10月27日の Cancer Nanotechnology Symposia は、癌とナノテクノロジーの共通部分について一連のテクニカル・プレゼンテーションを行うために、オハイオ州北部および中央部や米国中西部の複数の研究施設と癌診療所などの広範囲の専門知識を持った科学者と臨床医により開催された。これらのプレゼンテーションは、ナノテクノロジー研究者とがん研究者に互いの専門分野における最先端技術のアイデアを与えることと、両グループが共同研究するためのアイデアを生み出すことの2つを念頭に置いてプログラムされた。

なお、NCIは、「がんナノテクノロジー計画 (*Cancer Nanotechnology Plan*)」を2004年1月に発表しており、2004年9月13日には、「がん領域におけるナノテク研究アライアンス (*NCI Alliance for Nanotechnology in Cancer*)」を発表し、今後5年間で1億4430万ドルを投入する予定としている。このアライアンス・プログラムで興味深いのは、ナノテクと医療を理解する人材の育成を重要テーマとしていること、さらに興味深いのは、技術の標準化機関である国立標準技術研究所 (*National Institute of Standards and Technology : NIST*) 及び医療産業の許認可機関である医薬食品庁 (*Food and Drug Administration : FDA*) と協力して、標準化と市場化、安全性の確保を目指していることである。

参考HP : <http://nano.cancer.gov/index.asp>

#### (プレナリーセッション)

会議は、クリーブランドクリニックでBioMEMS研究所の共同所長を務めるDr. Shuvo Roy、癌ナノテクノロジーに関するNCI特別顧問であるDr. Mauro Ferrari、ケース・ウェスタン・リザーブ大学のCASE総合癌センターとクリーブランド・アイルランド癌センター大学病院の両方の院長を務めるDr. Stanton Gerson、ならびにクリーブランド・クリニック・タウシグ癌センター所長であるDr. Derek Raghavanの歓迎の挨拶で始まった。Dr. Ferrariは、この会議の背景として、新たに開始された「癌におけるナノテクノロジーのためのアライアンス」に聴衆の注意を向けさせ、これが、癌の治療と診断の多くの領域にナノテクノロジーを溶け込ませるために計画された1億4400万ドルのプログラムであることを説明した。一方、Dr. Gersonは、クリーブランド地域で既に進行中の生物医学ナノテクノロジーに広範囲にわたる努力が払われていることを出席者に思い起こさせた。Dr. Raghavanは、この2日間にわたってクリーブランドで開催されるこの会議とバイオナノメディシンに関するイベントとのつながりについてコメントした。

#### (癌の概要)

これらのはじめの挨拶に続いて、ヴァンダービルト・イングラム総合癌センター所長のDr. Harold L. Mosesが、複数のシグナルと経路の変化で特徴付けられる疾患として癌の概要を説明した。同氏の言うところによれば、これらの経路を理解すれば、癌の治療法が変わってくるであろう。Gleevac (訳注: 本邦ではGlivec グリベック) などの新世代の薬剤がこれを証明している。同氏はまた、トランスレーショナルな臨床研究で進行中の努力によって、現在の「捜し出して破壊する」パラダイムから「標的として制御する」方法へと癌の発見と治療が変わっていくと予測した。Dr. Mosesは、特に心疾患と比較するとき、癌の死亡率低下にはあまり成功していないと一部が認めているという聞きなれた批判のいく

つかについてコメントしたのち、分子診断学が進歩し続けていることから、癌のごく初期、つまりほとんどの癌が治療可能な段階で、癌の治療ができるようになり、また何より癌の発生を防ぐことさえおそらく可能になることで、癌の死亡率は劇的に減少するだろうと述べた。

続いて同氏は、現在ほとんどの癌治療の効果が低い理由を簡単に検討した。癌細胞は、遺伝子的にも発生機構学的にも正常細胞と異なっていると同氏は述べた。また癌細胞の出現にはおそらく4~6段階の律速段階つまり変異が関与しているが、この数は10に及ぶこともあると述べた。ひとつの細胞の構造が異常になる前に数個の変異が必要であることがはっきりしている。癌が複数のプロセスの異常に関係していることを示す確かな証拠があるにもかかわらず、癌の治療薬が承認されるには、ひとつのプロセスだけに効果があるものでなければならない。さらに同氏は、多くの経路が重複しており、これらをいっしょにノックアウトしなければ効果がないと付け加えている。また、抗癌薬をテストする前臨床モデルの大半は、これまで予測的な価値がほとんどなかった。遺伝子操作に基づき短鎖干渉RNA (siRNA) を用いた新しいマウスモデルは、ヒトの癌のモデルとしてより正確であることから有望視されている。

より適切な臨床試験も必要であり、特に分子を標的とする新世代の薬剤には重要である。同氏はひとつの例として、EGFR 阻害薬の初期の臨床試験が失敗していたことを引用した。試験結果は否定的なものであったが、患者を参加させた医師たちは、この薬から確実に利益を得た患者群がいることを目の当たりにしていた。なぜ悪いデータなのか？患者に遺伝的不均一性があることが認識されていなかったのである。薬が奏効した患者全員にEGFR 遺伝子の変異が起こっており、非奏効者には変異が起こっている者がひとりもいなかった。試験の進行中にこれをモニタリングする手段がなかったため、臨床試験のプロセスを調整してこの問題に対処する方法がなかったのである。

臨床試験を改善するひとつの試みとして、Dr. Moses は、臨床試験プロセスに分子の測定と解析を組み込んだ新しい臨床試験手順を開発するために、AACI、AACR および ASCO を巻き込んだ共同努力の陣頭指揮を執っている。産業界の代表者、癌センターの代表者、権利擁護団体の指導者、NCI と FDA の役人、および癌に関連する学会を呼び集めて実施された最近の研究会では、多段階アプローチを考え出した。このアプローチとは、最初は患者あたり4万~5万ドルのコストで、選出した学術研究センター、産業界およびNCI が関係する小規模のきめ細かい一段階試験から開始することになるが、分子プロファイリングを試験の一部として行うことになるというものである。コストは高いが、このタイプの試験は抗癌薬の臨床試験を実施するのに適切で経済的に正当化できる方法であると、出資者全員が認めていると同氏は説明した。このような試験で収集されると考えられるデータのタイプの一例

として、同氏は、健常者と肺腫瘍の患者を識別でき、肺癌の種類も識別できる MALDI に基づいたプロテオミクス測定法の概要を紹介した。この測定法によるデータから、まだ同定されていないが、リンパ節転移を確実に確認できる可能性のある 2 つのタンパク質も見つかった。12 カ月以内に死亡すると考えられる患者を特定できる 15 本のピークも確認された。進行中の臨床試験の一部としてこうしたデータを収集すれば、診断、疾患分類、治療効果の予測および予後に直ちに利益をもたらすことになると考えられる。このような研究から得られる長期利益として考えられるのは、標的の同定や治療法の選択が可能になることである。

同氏は、結腸内視鏡、PAP スミアおよび皮膚検査で早期に診断された患者では治療が成功していることからわかるように、初期癌は確実に治すことができると述べながら、早期発見の重要性に話を戻した。続いて同氏はプロテオミクスの可能性について検討し、これを利用すれば、実施が容易でそれほど高価でなく、早期発見が可能なさまざまな測定法が開発できると述べた。同氏は最後に、2010 年における癌の臨床評価がどんなものになるか、同氏のビジョンについて話した。X 癌の患者が診察を受けにやってくると、癌の総合的な診察を受けることになる。この診察には、腫瘍、ストロマおよび血液に関するプロテオミクスを用いた癌生検とナノスケールの画像検査が含まれている。これらの測定結果に基づいて医師は、95%の持続性効果に達する多剤標的療法を選ぶことができる。2015 年までには、医師が癌のリスク因子を持った患者についてプロテオミクスとゲノミクス解析を依頼し、標的を定めた予防薬を受ける必要のある患者を特定できるようになるだろうと、同氏は期待した。さらに 2020 年までには、こうした検査法のコストが下がり、すべての患者に行えるようになるだろうと付け加えた。

#### (ナノテクノロジーの概要)

続いて、ノースウエスタン大学ナノテクノロジー研究所所長の Dr. Chad Mirkin が、科学と工学のナノテクノロジー革命に油を注いだツールと技術について概要を述べた。一般にこのようなツールと技術の開発はナノテクノロジー研究者の関心を大いに集めており、開発の初期段階ではあるが生物医学に応用されているものもある。複数の専門分野がかかわるこの領域は、おそらく薬物送達分野に最初に影響を及ぼすと考えられ、その後診断に応用されるようになるだろうと、同氏は述べた。

Dr. Mirkin は、1~100 ナノメートル長さの構造体の制御方法を開発した同氏らのグループの研究を再検討しながら、100 nm 未満の構造体がマイクロエレクトロニクスの製造者と化学者の専門技術の間にどのように収まったかについて語ったが、これは生物学の範疇でもある。同氏は続いて、ディップペンナノリソグラフィと呼ばれる技術について述べた。

この技術は原子間力顕微鏡の技術を書き込みツールに発展させたもので、このツールによって同氏のグループは、1分子単位の構造体の作製スピードを速めることができたのである。同氏のグループは、この技術を改良してさまざまな材料を印刷し、さらに、3インチのシリコン片上に120万もの素子を配列させたアレイを作製した。ディップペンナノリソグラフィを使用すれば、生物のパターンを再現した生物学的ナノアレイを作製できるはずである。このようなアレイを使用すれば、「正常な」または変化したストロマを模倣した多価表面上で、受容体分布、タンパク質-タンパク質相互作用、細胞-細胞接着および多価相互作用のほか、癌細胞の遊走さえも研究できる可能性がある。

同氏は、ナノテクノロジーが診断学にとって重要な技術になる理由を考察した。まず最初に、新しい特性を持った新しい材料が、高い感度と選択性を低コストで提供できるようになる点が挙げられる。ナノテクノロジーは、高価な試薬や組織試料を多量に必要とせず、有益な結果を得るために酵素の増幅が必要ない手のひらサイズまで小型化した治療装置の開発を可能にすると考えられる。実際に、同氏のグループは、銀染色法、吸光法、電気的増幅法、ラマン分光法およびレーザー回折格子など、広範囲の検出技術を用いてナノスケールのさまざまな生物測定法を開発している。同氏は、ナノスフィア社がこの装置の商品化を目指して開発を続けていることを付け加えた。

同氏は、オリゴヌクレオチドで機能化したナノ粒子プローブのユニークな特性について話を進めた。このようなプローブの優れた特質のなかで同氏が挙げたのは、高い安定性、光退色に対する抵抗性、目的に合わせた化学的な調整のしやすさ、さまざまなタイプの機能化を支持できる能力であった。次世代のナノ粒子はバイオバーコードを備えており、これによって微量の成分を検出できる新世代の高感度で特異的な安価の診断法を確立できるだろうと同氏は予測した。同氏のグループは既に、アトモルレベルで前立腺特異抗原 (PSA) を検出できるシステムを実証しており、このシステムはPSAの約20コピーに相当する。対照的に現在のPSAの臨床測定法は、感度の限界が約3ピコモルである。このような感度であれば、PSAは乳癌の有用なマーカーとなり、治療後の前立腺癌の再発を追跡するためのマーカーともなり得る。同氏は、DNAを検出する同様のシステムは、わずか10コピーの一定のDNA断片を特定でき、増幅なしでzeptomol範囲の感度をもつことを付け加えた。

最後に同氏は、こうしたナノテクノロジーによるツールの主な特質を強調した。その一つ目は、タンパク質マーカーに対するこれまでにない高い感度である。これによって研究者は一定のタンパク質の量が微量であっても探索できることになり、新たに発見した微量のタンパク質を疾患のマーカーとして使用できることになる。二つ目は、こうしたナノスケールのツールは、ひとつの溶液中に複数のタンパク質標的が含まれていたとしても、これらの同時検出に適応できる点である。総合すれば、こうした特性が、単一の細胞からの

タンパク質と DNA を研究する新しい方法を生み出すことになるだろう。

続いて行われた質疑応答では、ひとりの出席者から、ナノ粒子を主流の癌研究に導入する際の主な制限要因は何かとの質問があった。Dr. Mirkin はこれに答えて、ナノスケール粒子を作製して特性を決定する適切な設備がないことであると述べた。同氏は、材料を作製して普及させる企業をつくることでこの問題に取り組んできた。Nanotechnology Characterization Laboratory が特性決定の障害を取り払う重要な役割を担うことになるだろう。

聴衆の別の研究者が、ナノスケールの検査法は平均的な市民が家庭で使えるような程度まで進歩するだろうかと質問した。Dr. Mirkin は、4 年前であればこの質問にノーと答えたであろうと述べた。だが今日では、実際にその可能性があると感じているが、そのためにはさらに研究を重ねて適切な診断の標的を特定する必要がある。Dr. Moses がこれに付け加えて、このような検査法が利用可能になるときは、この領域は、癌の分子的风险を根拠にした差別をどのように防ぐかという質問に答えられるようになっていなければならないと述べた。

#### (コミュニケーションの橋渡し)

このセッションは、ケース・ウエスタン・リザーブ大学の Dr. Nancy Olenick とラーナー研究所の BioMEMS 研究所共同所長の Dr. Aaron Fleischman が共同で司会を務め、最初にラーナー研究所の Dr. Andrei Gudkov が p53 と NF- $\kappa$ B に関するプレゼンテーションを行った。この 2 つの分子は、腫瘍細胞のアポトーシスの引金を引く重要な役割を果たし、腫瘍に対する治療効果を高め得る治療基盤を形成すると考えられる分子である。例として同氏は、年間 2 万 5 千人の新たな罹患者を生み出し、1 万 7 千人の死亡原因となっている治療の困難な腎細胞癌について討議した。一連の化合物のスクリーニングによって同氏らは、1943 年以來、防腐剤として使用されている 9-アミノアクリジン薬であるキナクリンが、*in vitro* および *in vivo* 測定法のいずれでも p53 を再活性化させ得ることを見出した。同時にこの薬剤は、NF- $\kappa$ B の阻害薬でもある。

こうしたタンパク質が癌治療に役立つもうひとつの方法は、健康な組織の p53 のスイッチを切って化学療法の副作用を避けることにあると考えられる。この目的のため、Dr. Gudkov とそのグループは、放射線損傷から保護する可能性のある小分子を探索し、その結果、見つけ出すことができたが、これらの分子は胃腸の過敏症に関係する予期しない問題を引き起こした。そこで同氏らのグループは NF- $\kappa$ B 阻害薬を調査することにし、腸内細菌が分泌するタンパク質であるフラジェリンが有望であることを見出した。毒性をなくして安定させた改良版によって、放射線療法による通常の損傷から正常マウスを保護するこ



とができた。

続いて米国立癌研究所の Lance Liotta が、Dr. Moses のビジョンを実現することを目的としたマイクロテクノロジーを用いた NCI/FDA の現在進行中の共同イニシアチブについて述べた。Dr. Moses のビジョンとは、個々の患者に合わせて調整した最適な治療法を選択するため、治療法の成功をモニターするため、そして疾患の早期診断と治療に関連する毒性に早期に警告を発するために、バイオマーカーを使用するというものである。現在のプログラムは 2 つのアプローチを展開している。プロテオミクス・チップを使用した血液プロファイリングとレーザー・キャプチャー・マイクロダイセクションである。いずれも有望ではあるものの、広く応用できるようになるには克服しなければならない重要な技術的課題がある。血清プロテオミクスに対しての主な問題は、特異性—正常細胞や他の疾患に侵された細胞と癌細胞を識別すること—と、重要なマーカータンパク質を微量で検出するための感受性である。

Dr. Liotta は、最初の用途は一般市民のスクリーニングのためではなく、スパイラル CT のように他の診断法の特異性を改善するためのフォローアップスクリーニング法として使用されることになるだろうと述べた。既に同氏と同氏のチームは、前癌性膀胱癌の存在と良好な相関を示す血清プロテオミック・パターンを特定できていると付け加えた。研究の新たな手段は、血液中の他のタンパク質によって運ばれるタンパク質を検討することであり、このタンパク質は微量のタンパク質の濃縮機として作用する。同氏のグループは、この方法で 2000 余の新しいタンパク質を見出しており、現在、これらのタンパク質に診断に有益な情報が含まれているかどうか検討を試みている。ナノスケールの収穫デバイスがあれば、血液中のこうした微量タンパク質の感度と収集を改善できるはずであると、同氏は考えている。

癌は組織の微小環境の産物であるため、針生検とロボットを使用した自動マイクロダイセクションをプロテオミックアレイと標識化量子ドットと組み合わせて用いれば、腫瘍領域全体の特徴を描く新しい方法を確立できる。すぐに手に入るテクノロジーを使用しながら Dr. Liotta のグループは、2 細胞レベルでタンパク質を検出できるようになったため、プロテオミック・プロファイルを見分けることができるようになり、治療抵抗性を招く新しい生物化学経路を明らかにした。同氏のグループは、この経路を迂回できる薬剤を既に開発しており、同氏は、この薬剤が抵抗性の患者を奏効者に変えることができるかどうか試験を行いたいと考えている。

続いて、ニューメキシコ大学癌研究治療センター所長の Dr. Cheryl Willman が分子プロファイリングを利用して癌を分類する方法について話した。同氏は、充実性腫瘍でさえも

くわすかな幹細胞のクローン成長の結果であることから、白血病は癌「幹細胞」生物学の素晴らしいモデル疾患であると述べた。同氏の説明によれば、ヒトの白血病は骨髄の造血幹細胞のクローン膨張に由来する。急性白血病は、はっきり識別できる遺伝子変異によって特徴付けられる何百ものさまざまな癌であり、その大半が細胞内タンパク質に影響を及ぼし、さらに、白血病細胞は生き残るために骨髄ストロマと血管系への接着依存性を有し、これによって充実性腫瘍細胞と似た状態になる、と同氏は付け加えた。周囲細胞に接着するこの能力が、この悪性細胞の撲滅を困難にしている。実際、白血病患者が寛解に達した場合でさえ、患者にはかなりの数の白血病細胞が残っている。

同氏らは、サンディヤ国立研究所で開発された <http://hsc.unm.edu/crtc/willmanresearch> で入手できるデータマイニング・視覚化ソフトウェアを使用することで、小児白血病、小児 ALL および成人 AML の 3 種類の白血病の大規模患者集団から得たデータを解析することができた。NCI Director's Challenge の援助の下で行われたこの努力によって、3 つの白血病群は病理診断結果と良好な相関を示さないことが明らかにされた。3 つの白血病は、病理診断ではなく、このプロジェクトの進行中に特定された 3 つの生化学的経路に従えば、より適切に分類できるようであった。さらに、VxInsight という名称の視覚化ソフトウェアの使用によって、互いに異なる遺伝子発現のクラスターが明らかにされ、これらのクラスターは寛解および致死性白血病と明瞭な関連性を示していた。同氏は、この研究の次の段階では、遺伝子発現プロファイリングからタンパク質に基づいたプロファイリングに移行する計画であると話を結んだ。

続いて Dr. Fleishman が、ナノ磁気タグ、流体力学、磁気学、マイクロフルイディクスおよび電気工学を必要とし、2500 万個の細胞の中から 1 つの細胞を確認できる感度よりも高い感度で細胞を識別できる ID チップの開発を目的とした学際的プロジェクトについて討議した。このチップは、磁場を利用して細胞を区別するもので、磁気ナノ粒子で標識される。現在、開発の計画段階であり、成形された磁場を作る加工法の開発研究が行われている。Dr. Fleishman のグループは、MEMS 技術を使用して、高解像度で侵襲性がほとんどない超音波画像を得るために使用できるマイクロスケールの超音波振動子も開発している。

午前の部の最後から 2 番目の話題では、ワシントン大学ナノテクノロジー・センターの Dr. Miquin Zhang が、ナノテクノロジーを用いて脳の癌の診断と治療に関連した問題を解決する同氏のグループの研究を検討した。同氏によれば、粒子サイズが 20 nm 未満を維持していなければ血液脳関門の通過が難しいことなど、このタイプの研究には多くの障害が存在するという。20 nm は市販されているナノ粒子の約半分の大きさである。このため、同氏のグループは、互いに凝集しないという特性を付加した 10 nm ナノ粒子を開発することに相当な時間を割いてきた。具体的には、ポリエチレングリコール (PEG) と赤外領域の蛍

光色素のほか、神経膠腫細胞を標的とすると思われるクロトキシンを含んだナノ粒子構造体を開発した。この粒子は血液脳関門を通過し、動物モデルの神経膠腫細胞に達してこれと結合することができた。

同氏は次に、ある物質とナノ粒子を連結させる同氏のグループの研究を紹介した。この物質は、処理した腫瘍細胞が *in vivo* でアポトーシスを起こしていることを示す可能性があるという。同氏のグループは、試験的にアポトーシスの検出指標として認められている Annexin V を使用した。実際にこのナノ粒子は、化学療法の実行後に進行するアポトーシスを明確に表していた。最後に同氏は、腫瘍を標的とするナノ粒子に結合させたメトトレキサートを腫瘍細胞に特異的に送達する方法について述べた。腫瘍細胞に到達すると、pH の変化によってナノ粒子からメトトレキサートが放出される。このような方法をとれば、正常細胞への毒性は最小限にとどめられるはずである。

午前の部の最後には、セントルイスにあるワシントン大学医学部の Gregory Lanza が同氏のグループの研究を再検討した。これは、フルオロカーボンをベースにしたナノ粒子を用いて MRI 造影剤を送達する研究で、NCI の Unconventional Innovations Program (UIP) の一環として行われた研究であった。同氏のグループは、 $\alpha_v\beta_3$  を標的とし何万というガドリニウムイオンを組み込んだナノ粒子を用いており、マウスでは 2 mm の腫瘍を、ウサギでは 3 mm の腫瘍を検出できることを示した。同氏は、この粒子は腫瘍を取り囲む血管新生を検出していると説明し、腫瘍は非常に小さく、従来の MRI スキャンでは発見できないだろうと語った。

続いて同氏は、同じナノ粒子を使用して最大積載量の治療薬を腫瘍に特異的に送達する方法について討議した。これらの粒子は脂質でコーティングしてあるため、標的細胞と融合するはずである。粒子の核の中ではなく脂質単層の中に薬剤を入れておけば、2つの細胞が互いに接触するとき起こる脂質交換プロセスを介して、薬剤を細胞に入れることができる。薬剤は、標的細胞との接触がなければ粒子の脂質層にとどまっているため、全身循環に薬剤が放出されるとしてもほんのわずかであろう。同氏は、ガドリニウムを粒子の核に付加したことで、同じナノ粒子で画像化と投与が可能になるだろうと語った。

セッションの終わりに、発表者全員が、この発展途上の領域には共同研究のための素晴らしい機会が存在すると述べた。実際に、特に産業界との共同研究なくしては、こうした努力も、有益な時間枠で成功する可能性がかなり低くなるだろう。

#### (協力関係に向けて)

昼食後に、米国立ヒトゲノム研究所の技術開発コーディネーターである Dr. Jeffery

Schloss がナノテクノロジーに関する NIH の将来展望について語り、これに続いて、ラーナー研究所の癌生物学部部長で議長を務める Bryan Williams による簡単な前置きから午後のセッションが開始された。次に、ケース・ウエスタン・リザーブ大学の標的治療のための生分子・ナノスケール工学センター所長 Dr. Jinming Gao がナノテクノロジーと癌研究者との共同研究を阻む障壁について語った。同氏は、患者の治療を改善したいという願望と、新しい知識を得ることを目的とした科学とテクノロジーの進歩を対比させ、研究の動機に違いがあると述べた。時間的な障壁—科学の進歩が臨床の進歩に形を変えるには医師が期待するよりも長い時間がかかる—と空間的な障壁—2 つの研究者グループはたいていは別々の機関に所属している—も共同研究を困難にする原因であり、コミュニケーション不足と、現在の医療が抱える問題と現時点で利用可能なテクノロジーについて共通の理解がないことも障壁になっている。

有効な協力関係を作り出すためには、共通のビジョンを確立し、異なる領域での努力の中から相乗効果を生み出すことが必要であると、Dr. Gao は説明した。違いを伝え合うことは、特に基礎研究から臨床に橋渡しするトランスレーショナルな研究に焦点が置かれる場合は、チームに互いを信頼する雰囲気を生み出すと、同氏は付け加えた。2 万ドル程度の小額の試験的な助成金でも、共同セミナーのように共同研究を促進するために大きな成果をあげると同氏は述べた。共同研究者の研究所で実務研修を受けるか、あるいは複数の部門からの共同助言を受ける学生大使は、共同研究を円滑に進め実り多いものにするうえで大きな役割を果たすことができる。癌センターとケース・ウエスタン・リザーブ大学の研究者からなる地元の協会「標的治療のための生分子・ナノスケール工学 (BioNETT)」は、このような仕組みを利用してナノスケールのミセルを開発しており、このミセルは、腫瘍を標的としてこれらを画像化し、制御した方法で治療薬を送達するものである。

次に、ミシガン大学生物医学工学センターの共同所長を務める James Baker, Jr. が、NCI の UIP プログラムから資金提供を受けて行われた別の取り組みについて語った。これは、多機能の画像化、検出および治療のできるデバイスとして高分子デンドリマーを開発することを目的とした研究であった。同氏はまず、臨床領域で成功するためにはナノテクノロジーが独特の能力を提供しなければならないと述べた。In vivo に応用するためには材料は生体適合性でなければならない、製品は結果の改善を提供し、医療サービスの利用を減らし、コストを抑えるものでなければならない。乗り越えなければならないハードルは高いが、不可能ではない。

続いて同氏は、同氏らが開発中のデンドリマーについて説明した。これらは大きさが非常に明確な小さい粒子 (10~12 nm) で、体循環に入らずに細胞内に侵入できる。これらの