

れた環境状態の把握や Drug Screening が容易となり、さらに Cellular Forces 測定は新しい Implant material や Tissue engineering scaffold materials の開発にも有用である。

この Cellular Forces を測定する Cell Force Sensor の Design Criteria としては、(1)微小な力(nN レベル)を測定できる位の感度、解像力がある事、(2)生体適合性が良い事、(3)作成が容易で cost effective である事、(4)非侵襲的である事、(5)細胞当たりの contact point が多い事、(6)Decoupled dimensional force の測定も可能である事などが必要である。現在我々が開発中の Cell Force Sensor は 1) Combination Beam Array 2) Cell Active Area 3) Anchor Area で構成され、材質は生体適合性の良いポリマーであり、測定方式は非侵襲的な Optical Detection である。この Cell Force Sensor を使い PPMA 上の WS1 skin Fibroblast の nN レベルの Cell Force の測定が可能であったと述べた。

次に Cleveland Clinic の Dr. Zborowski は Magnetic cell separation using nanoparticles for clinical applications について報告した。現在この Magnetic cell separation の技術は臨床で、Stem cell transplantation の分野や循環中の腫瘍細胞を検知する事で癌の早期発見法として使われている。我々が行っている Magnetic cell separation の方法は、標的とする細胞に付着している CD34 の様な surface antigen と反応するモノクローナル抗体に、磁力を付加した iron nanoparticle と蛍光色素で標識したフィコエリトリン（赤色色素）を付着させたものを投与し、抗原抗体反応によりそれを標的とする細胞に付着させ、磁場の力でそれを吸着分離する方法である。標的とする細胞に magnetic nanoparticle を付けて吸着分離する Positive selection 法と、標的としない細胞に magnetic nanoparticle を付けて吸着分離する Negative enrichment 法の二種類あり、Positive selection 法は特異的でありかつ広く応用可能であるが侵襲的であり、また Negative enrichment 法は非侵襲的であるが高価格である。

最近乳癌の患者において、Magnetic cell separation 法で循環血液中の癌細胞数を調べた結果、7.5ml 中に癌細胞が 5 個以上あった群の予後は、5 個以下の群と Kaplan-Meier 法で生存率を比較した結果、前者は後者より統計学上有意に生存率が低かったとの報告があり、今後この方法は癌患者の予後判定に有用な検査法となるであろうと述べた。また従来の Magnetic cell separation 法は S と N の 2 極で分離するが、最近我々は Magnetic cell separation をさらに高速化、高感度化した 4 極の磁場(S が 2 極、N が 2 極)を持つ Quadrupole Magnetic Field (QMS)を開発し実験にてその有効性を確認したと述べた。

最後に University of California の Dr. Fletcher は Microfabricated Tools for Drug Delivery and Cell Mechanics について報告した。皮膚からの Drug delivery の歴史は古く 1940 年台にすでに、Liquid Jet-Injection の概念が報告されており、1999 年には Epidermal Powder Delivery、その後も 1990 年から 2000 年台に於いては、Topical Methods として、Tape stripping, Micropore, Colloidal carrier, Ultrasound, Adjuvant patch, Electroporation, Microneedle 等が報告されている。最近では Jet injection 法が開発され臨床応用され、ある程度は満足のいく結果が得られているが、皮膚が傷ついて出血する例や

薬量と深達度が予測不能という欠点がある。なぜ Jet injection 法では薬量と深達度を制御する事が難しいかと云うと、皮膚の角質層は皮下の軟部組織より硬く、また角質層の厚さは部位や環境によって大きなばらつきがある、現在使われている Jet injection 法の注入速度は一定であるため、この硬い角質層を通過させるため注入速度を上げると、皮下の軟部組織には強すぎるため組織を傷つけたり薬量が多く入り過ぎたり、予想外に深くまで注入してしまう結果になる。

そこで最近我々はこの Jet injection 法の欠点を改善するために、コンピューターの印刷技術である Piezoelectric Inkjet 法からヒントを得て、新しく Piezoelectric microjet injector 法を開発した。この方法の利点は Jet velocity(m/s)で薬液の深達度の制御が可能となる点である。先端部の形状として、Short taper glass nozzle type, Long taper glass nozzle type, Microfabricated silicon nozzle の三種類あり、今後の臨床応用が期待されると述べた。

#### 【まとめ】

本会議は Materials, Medicine, and Nanotechnology Summit という会議の題名が示す様に、Nanotechnology をいかに臨床の現場にフィードバックするかという事に焦点をおいた大変有意義な会議であった。今まさに後世に於いて、“21 世紀の医療革命”と云われるであろう Nanotechnology and Nanomedicine に対して、特に Minimally Invasive Surgery への Nanotechnology の応用などに Cleveland Clinic の基礎研究部門と臨床部門とが協力して、その総力をかけて取り組み、それが実際に臨床の現場で展開されつつあると云う熱気を感じた。日本も Nanotechnology それ自体の基礎的研究では世界をリードしている分野もあるが、それが臨床の現場にフィードバック出来ているかと考えると、まだほとんどの Nanotechnology に関する基礎的研究は研究段階で止まっているのが現状である。このままでは、日本医学界全体の臨床医療に於ける Nanotechnology and Nanomedicine の技術が、米国のたった一つの私立病院にさえ太刀打ち出来ない状況になってしまう危険があると感じた。

#### (5) Public Meeting on Nanotechnology Materials in FDA Regulated Products (規制関連)

報告者 箭内 博行 財団法人医療機器センター研究開発専門役

#### 【はじめに】

ナノテクノロジーの医療応用が活発に行われている米国の許認可における考え方として、

前回「ナノテクノロジーに対する米国 FDA の取り組み」を報告した。

ほぼ 1 年が経過し、ナノメディシン研究がさらに進んできたこともあり、現在 FDA は内部の全てのセンターの代表者から構成される NanoTechnology Interest Group (NTIG) を組織し、ナノテク製品の規制要件、試験検査方法などを検討している。さらに内部に Internal Nanotechnology Task Force を組織し、ナノテク製品が健康・公衆衛生にどのようなインパクトを及ぼすのかを詳細に検討すべく、2006 年 10 月 10 日に「Public Meeting on Nanotechnology Materials in FDA Regulated Products (以下、ナノテク会議)」という公開会議を開催した。

### 【ナノテク会議の概要】

ナノテク会議は、FDA が規制する製品または製品分類に関連する特定の安全問題または規制問題が存在するか否かを知るためのものである。つまり FDA がこれからナノテク素材の含まれる製品をどのように扱ったらよいか、その方針を策定する参考に一般からの意見を聞くというものであった。また、FDA がこの種の製品の取り扱いについて本格的に考える人材を集めて政策を立てるとというのが趣旨である。

参加者は、(出席者リストが配布されていないので正確には不明であるものの) 500 名程度であった。これはナノテク会議の前日に「事前登録者が会場定員数の 500 人に達したので、当日登録の人も考えて他の部屋にスクリーンを用意して聴講できるようにする」との連絡が入ったことからである。ただし、実際にはそのセットアップは必要でなく、会場の席も幾分空いていた。東洋人系の方は中国・台湾人、韓国人、日本人に見える出席者などを含め 10% ぐらいであった。ただし、米国の研究者・科学者の世界では東洋系が割合多くいるため、日本からの参加者かどうかは実際には不明である。なお、公式に日本代表という立場の人はいなかった。

以下はナノテク会議のプログラム。

9 : 00 ~ 9 : 15

Welcome · FDA Task Force Co-chairs

9 : 15 ~ 10 : 00

National/Regional Perspectives

Dr. Celia Merzbacher · U.S. Office of Science and Technology Policy

“U.S. National Nanotechnology Initiative: Multi-agency Approach for Environment, Health, and Safety Research”

Dr. Philippe Martin · European Commission

“Reaping the benefits of nanotechnologies while managing their risks: European

initiatives”

Dr. Delara Karkan · Health Canada

“Current State of Nanotechnology Initiatives at Health Canada”

10：00～16：25

(事前登録者によるプレゼン)

- General science, policy, or use of nanotechnology materials in FDA-regulated products
- Science, policy, or nanotechnology material use in cosmetics, personal care products, or topically applied products
- Science, policy, or nanotechnology material use in drugs, biologics, or devices
- Science, policy, or nanotechnology material use in food products

16：25～17：25

(当日登録者によるプレゼン)

Presentations from on-site registrants

17：25～17：34

Closing remarks -- FDA Task Force Co-chairs

まず始めに FDA Task Force の Co-chairs が挨拶し、続いて医療関係に拘らず、広く全般的なナノテクに対する政府政策について米国と EU 政府とカナダ代表が講演した。

引き続き、事前登録者が 8 分ずつそれぞれのテーマ毎（化粧品、医薬品、生物製剤、医療機器、食品など）に意見や提案の発表を行い、最後に当日登録者が同様に意見や提案の発表を行った。これらの発表者は、規制はそのままが良いというのと、規制を強化してほしいという意見を述べる代表者が半々ぐらいに混ざってあったようである。団体・シンクタンクなどでは、消費者団体、環境保護団体、ナノテク基準作成関連団体、米国の国際ビジネス協議会（USCIB：United States Council for International Business）、化粧品製造業者の団体（CTFA）、米国先進医療技術工業会（AdvaMed）、規制の有効性を分析して議会に助言するシンクタンク（CRE）、国際的技術評価グループ（ICTA）、カナダの社会経済的インパクトを研究するグループ、環境ビジネス情報会社（INTERTOX）など、研究者側としては、国立癌研究所、オレゴン大学、ミシガン大学、メリーランド大学、オーストラリアのクイーンズランド大学など、企業側としては、化粧品の素材製造業者、造影剤製造企業（Kereos, Inc.、図 3-1-19）、ナノデバイス製造業者、化学製品の会社（BASF）、


リコーなどであった（略称・通称で紹介された団体等も多く、立場が不明な発表者も多く見受けられた）。

**KEREOS**

ターゲット療法および、悪性腫瘍と心臓血管疾患を検知する分子造影剤の開発

**製品パイプライン開発**

**KI-0001: 腫瘍検知のためのMRI造影剤**




臨床試験で証明済みのターゲット-リガンドを使って、KI-0001は、大きさ1mm程度の小腫瘍の検出に欠くことができない血管新生シグナルを、MRIベースでイメージ化

**KI-1001: 固形癌をターゲットとした化学療法剤**

血管新生のバイオマーカーをターゲットにするよう設計されたKI-1001は、腫瘍部位に特異的に抗癌剤を強力に投薬する

**KI-0002: 不安定プラークの検知のためのMRI造影剤**




不安定な動脈硬化性プラークの診断と予防

KI-0002は、非侵襲的なMRIベースで心臓発作の主要な原因の診断を可能とする

**製品パイプライン技術**

ligand-targeted emulsion technologies

乳剤「微粒子」は、脂質単分子膜で覆われたペルフルオロカーボンの核からなる。この脂質層は、粒子を安定させることに加えて、ターゲットのリガンド（配位子）と有効分子量に実質無制限な固着部位をもたらす



"Targeted nanoparticles" 粒子径平均約250nmの水中油型乳剤

**特徴**

- モノクローナル抗体、疾患バイオマーカーの小分子リガンドと他のターゲット-リガンドの特異性が、疾患部位を乳剤粒子の高い特異性に直線的に反映
- わずか10~100程度のターゲット-リガンドが、疾患部位に個々の乳剤粒子を結合させるのに必要とされるのに対して、各粒子は分子量100,000以上の分子の運搬が可能
- 生体適合性: 乳剤粒子は、安全かつ効果的に設計され、分布、代謝作用、排泄に関する潜在的な問題を防ぐよう設計されている

**KEREOS** 4041 Forest Park Ave. St. Louis, MO 63108 USA <http://www.kereos.com>

共同研究: Philips Medical Systems社(分子造影剤、KEREOS製品最適化のためのハード&ソフト)、Visualsonics社(高周波超音波を用いた分子イメージング)、他に、ワシントン大学医学部大学院 / Barnes-Jewish Hospital / Dow Chemical社 / 米国立癌研究所など

図 3.1-19 Kereos 社の技術概要

<http://nano.jaame.or.jp/medicine/index.html> より

この中で最も議論が過熱したのは、化粧品（日焼け止め用乳液など含め）など既に市販されているナノ素材を含む製品が市販前の申請手続きなく消費者の手に入っていることで、消費者や環境保護団体から規制体制を変える要求が強くあった。ナノ素材が皮膚の細胞を通過して血液にまで浸透するのではという可能性とそのリスクについてである。化粧品団体（CTFA）は現状の市販後の取り締まりだけで十分と強く反論していた。また CTFA は2006年10月にナノテク白書として”The Use of Nanotechnology in Personal Care Products”を発行し、FDAに許可されたナノ粒子を含む日焼け止めクリーム（二酸化チタンと酸化亜鉛）の安全性が十分確立されていることを訴えている。

既に市販されているいくつかのナノテク製品については、The Project on Emerging Nanotechnologies (<http://www.nanotechproject.org/>) のウェブサイト; Inventory of Nanotechnology Consumer Products (ナノテク製品情報) で確認することができる。The Project on Emerging Nanotechnologies は、米国において、Woodrow Wilson International Center for Scholars と Pew Charitable Trusts との協力により、2005年4月スタートしたもので、このプロジェクトは商業ベースから完全に独立した形で、研究者、政府、産業、NGO、政策担当者、更には市民と対話の機会を提供することを目的としている。

ナノテク会議において、各者が共通で理解していた点が1つある。それは「FDAがナノテク製品を安全に消費者の手に入るようにするためには、予算の増加をして、それに当たる職員を確保する必要がある」という点である。

【結語】

これまでも FDA はナノテクノロジーをベースとした製品をいくつか承認している。2005 年 2 月に最初に認可 (510 (k)) した製品は Angstrom Medical 社の技術で nanocrystalline hydroxyapatite (ナノ結晶ヒドロキシアパタイト) をベースとする骨空隙充填剤 NanOss (図 3.1-20) である。

また、2005 年 12 月には、AcryMed 社の ON-Q® SilverSoaker™ Antimicrobial Catheter が認可 (510 (k)) された。ON-Q は、AcryMed 社のナノ技術によるコーティング SilverGard (図 3.1-21) を使用したカテーテルである。SilverGard は、抗菌性表面処理技術で、10nm 間隔で均一とされる。

**Angstrom Medica**

**骨再生可能な整形外科用製品のベースとなるナノ結晶化生体材料を開発**

独自のナノ結晶化技術NanOss™を開発  
(ヒドロキシアパタイトの構成成分であるリン酸とカルシウムを分子レベルで操作しナノ構造とした)  
ナノ構造のリン酸カルシウム研究に対してNIHが45万ドル出資  
ハーバード医学部との共同研究で、骨への遺伝子デリバリーのためナノ構造リン酸カルシウム生体材料を開発

「NanOss™」

- ・ ナノ結晶ヒドロキシアパタイト技術をベースにした骨空隙充填剤としてFDAの認可を受けている
- ・ ヒトの骨に類似した生体類似ナノ構造材料(人工合成骨)で、ヒトの骨の微細構造、成分、パフォーマンスを再生できる初の生体類似ナノ構造生体材料
- ・ 結晶性ヒドロキシアパタイト(リン酸とカルシウム成分)で構成される
- ・ 時間とともに高度に骨を誘導し作り直す
- ・ ステンレス製スチールに近い強度を持つ
- ・ 骨折、同種移植片(ドナー骨)、スポーツ医学、外傷性障害など、整形外科製品へ適用可能

<NanOss™を応用した製品開発>

- 1) 構造的NanOss: 構造的に体重を支える医療器具
- 2) NanOss注射剤: 注射可能で吸熱性をもつ体重を支える骨セメント
- 3) 生理活性コーティング剤: プログラム制御可能な生体活性コーティング剤 (単独で作用、あるいは薬物動員成分のキャリアなど)

150-A New Boston Street  
Woburn, Massachusetts, USA  
<http://www.angstrommedica.com>

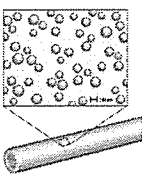
図 3.1-20 Angstrom Medical 社の技術概要

<http://nano.jaame.or.jp/medicine/index.html> より

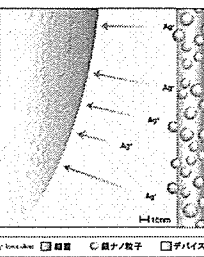
**AcryMed**

**銀ナノ粒子コーティングによる抗菌技術**

**SilverGard™**  
デバイスを銀ナノ粒子でコーティングすることで抗菌する技術

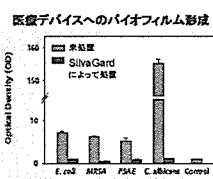


化学的に形成した約10 nmの銀ナノ粒子溶液中にデバイスを入れ、デバイス表面に粒子を沈着させてコーティングする



デバイスにコーティングした銀粒子層の外層から銀イオンが放出し、銀イオンが細菌を殺菌する

医療デバイスへのバイオフィルム形成



菌株	コントロール	SilverGard によって阻害
E.coli	~10	~5
MRSA	~10	~5
PSSE	~10	~5
C.albicans	~10	~5
Control	~10	~10

医療デバイスを銀ナノ粒子でコーティングすることで、抗菌効果が得られる。また、銀イオンは広い抗菌スペクトルを持つ

5500 SW Nimbus Ave.  
Beaverton, Oregon USA  
<http://www.acrymed.com/>

図 3.1-21 AcryMed 社の技術概要

<http://nano.jaame.or.jp/medicine/index.html> より

今後もナノテク製品の登場は容易に想像されるものであり、ナノテク会議は、研究者側、企業側、規制側、社会側のそれぞれが不利益を被ることがないよう公平に透明性をもって議論する場となることを狙ったものである。

この会議の発表者の提案や意見は、今後も2006年11月中旬まで受け付ける分も含めて、その後に全てインターネット上で発表される予定である。意見の受入を締め切った後に実際の方針の打ち出しを行い、現在ある法律の下にナノテクノロジーの方針を盛り込むか、新たな法律が必要になるかを検討することになる。既に市販されている製品もあることから急がれる課題であるものの、議会を含めた議論が必要であるため1年以内に結論が下されることもなさそうである。

(6)  $\mu$  TAS2006 ; The 10th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (ナノデバイス関連)

報告者	加地 範匡	名古屋大学大学院工学研究科 化学・生物工学専攻 応用化学分野無機材料・計測化学講座助手
	渡慶次 学	名古屋大学大学院工学研究科 化学・生物工学専攻 応用化学分野無機材料・計測化学講座助教授
	馬場 嘉信	名古屋大学大学院工学研究科 化学・生物工学専攻 応用化学分野無機材料・計測化学講座教授

2006年11月5日(日)～10日(木)に日本の東京にて開催された $\mu$ TAS2006(The 10th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences)に参加し、当該分野の動向調査を行ったので、以下にその概要を示す。

本会議は、半導体微細加工技術を利用したマイクロ・ナノテクノロジーの基礎と、バイオ・化学への応用に関する会議であり、MEMS や NEMS に代表されるような微細加工技術・材料化学を専門とする研究者と、分析化学・細胞生物学者や臨床検査を専門とするライフサイエンス分野の研究者が一堂に会するのが特徴である。1994年にオランダのエンスヘーデで開催されたのを機に隔年で開催されていたが、2000年以降はこの分野の急速な発展を受けて毎年開催されるようになり、今回が10回目の開催となった。

1994年：エンスヘーデ (オランダ)

1996年：バーゼル (スイス)

- 1998年：バンフ（カナダ）
- 2000年：エンスヘーデ（オランダ）
- 2001年：モントレー（アメリカ）
- 2002年：奈良（日本）
- 2003年：スコobarレー（アメリカ）
- 2004年：マルメ（スウェーデン）
- 2005年：ボストン（アメリカ）
- 2006年：東京（日本）

第1回の会議では、30件程度の研究発表と160名程度の参加者によるワークショップ形式で始まったμTASであるが、その後、発表件数・参加者数ともに年々増加の一途をたどり、今回は発表申込件数881件、発表件数539件、参加者数は1013名にもものぼった（図3.1-22）。

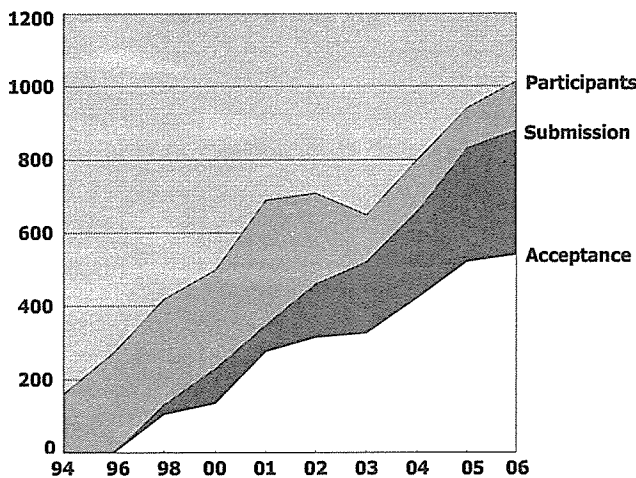


図 3.1-22 uTAS 会議における発表申込件数 (Submission)、発表件数 (Acceptance)、参加者数 (Participants) の年次変化

また、今回は、10回記念会議にちなみ、μTASの歴史を振り返るために、70～80年代のチップの実物の展示が行われた。これは、各開発者からのご厚意により貸与されたものであり、それぞれのチップを説明するためのパネルも含めて、ポスター会場内の一角にそのブースが設けられ、多くの人を集めていた。

本会議においては、発表者は会議の約半年前に、あらかじめ2ページのアブストラクトを提出する。この提出されたアブストラクトは、米欧亜の当該分野の第一人者15名からなるプログラム委員会による厳正な審査を経て発表の許諾、口頭発表かポスター発表かが通知され、発表を許された者だけが3ページ相当のプロシーディングを作成し、会議にて発表するという過程を経る。2000年当初の採択率は80%弱であったが、年々審査が厳しくなっており、今回のμTAS2006においては881件のアブストラクトが投稿されたのに対して、539件が採択されたにとどまり、採択率はわずか61%であった。このような採択状況の中、さらに口頭発表に選ばれるのはわずか66件であり、発表申込者のうち8%弱しか採択されないという非常に狭き門となっている。このように本会議では、世界的に非常にレベルの高い発



表のみが許されており、本会議に参加することは、当該分野の研究状況の最先端を知る上で非常に重要である。また、本会議の発表者が作成するプロシーディングは、本として出版され（近年は分量が多いためpdf版のCD-Rも付属している）、本会議参加者全員に配布されるため、当該分野の最新情報を得ることが可能である。

このように本会議では、世界的に高いレベルにある発表のみが許される会議であることから、参加者数も年々増加しており、2000年には450名程度であったが、2002年には700名、2004年には800名を超え、本年はとうとう1000名を突破した。このように本会議は、マイクロ・ナノテクノロジーを基礎としてバイオ・化学分析への応用を目指した国際会議として、世界で最も権威がある最大規模の会議の一つとして注目されている。

本会議が開催され始めた当初は、ヨーロッパと北米からの発表が多数を占めていたが、2004年に日本からの発表件数がアメリカの発表件数を上回ってからはアメリカとトップを争っており、日本の当該分野における研究アクティビティの高さを示す結果となっている。これらのことは、文部科学省の支援を受けた日本における大学・研究機関の研究が進展したことのみならず、経済産業省、厚生労働省、農林水産省の国プロの進展による産学官連携型の研究が、着実に実を結びつつあると思われる。また $\mu$ TAS2006においては、合計24ヶ国からの発表申込があり、韓国や台湾、シンガポールといったアジア諸国からの発表件数の増加が著しかった。（図3.1-23）これは、各国での研究体制が整ってきたこと、また、韓国三星電子などの半導体メーカーがライフサイエンス分野へ参入してきたことが大きな理由と思われる。

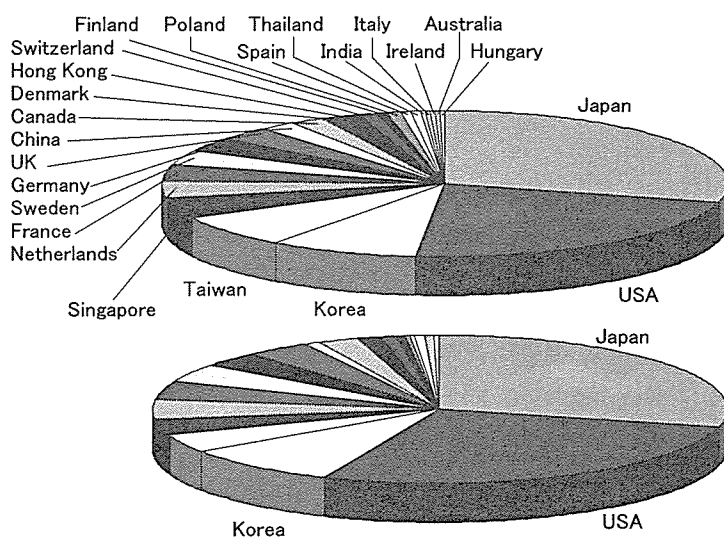


図 3.1-23 各国の発表申込割合（上）と発表割合（下）

$\mu$ TAS2006では、全19分野にわたって発表を募集した。以前はマイクロ・ナノデバイスを作製する工程に関する発表も多く見受けられたが、近年のマイクロ・ナノテクノロジーの発展により、作製したデバイスを化学分析やバイオ計測へ実際に応用する研究が多く見受

けられた。また、ナノスケールの加工も可能になってきたことから、このような極微細な空間での検出技術に関する研究も多く見受けられるようになった。(図3.1-24)

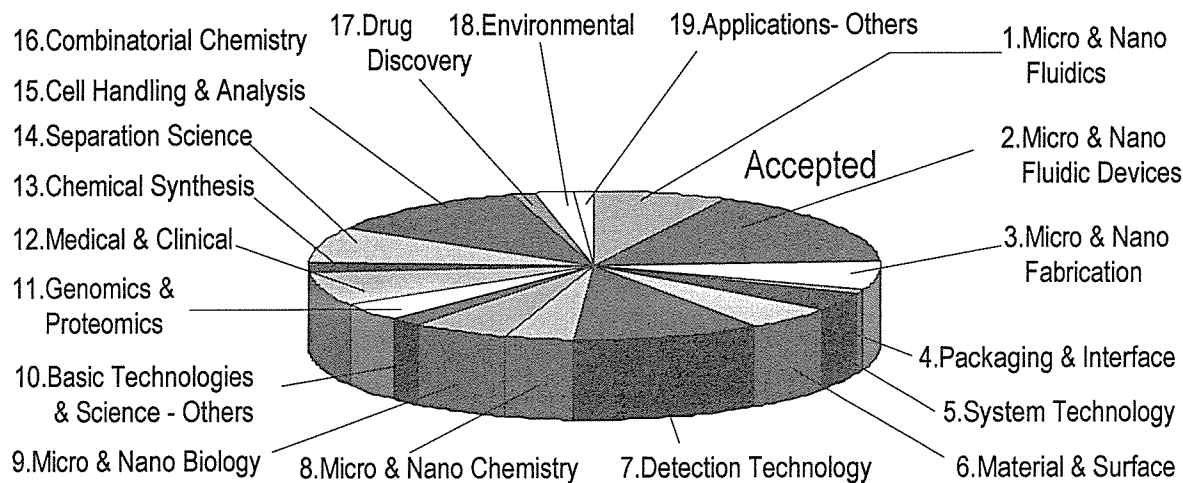


図 3.1-24 発表分野割合

μTAS2006の全体構成は下記のようになっており、デバイス作製技術からよりアプリケーションよりの内容へととなっている。

- 1 1月6日(月) プレナリースピーチ1 (Edward S. Yeung, Iowa State University and DOE Ames Lab., USA)  
 マイクロ・ナノ生物学  
 マイクロ・ナノファブリケーション  
 細胞操作・解析1 (エレクトロポレーション)  
 粒子1  
 プレナリースピーチ2 (Scott Manalis, Massachusetts Institute of Technology, USA)  
 マイクロ流体デバイス1  
 粒子2
- 1 1月7日(火) プレナリースピーチ3 (Viola Vogel, ETH Zurich, Switzerland)  
 ナノ流体  
 材料と界面 (細胞同定と膜チップ)  
 マイクロ流体  
 ナノ流体2 (現象論)  
 プレナリースピーチ4 (Shinji Hasebe, Kyoto University, Japan)  
 ナノ流体3 (分離)

化学合成

11月8日(水) プレナリースピーチ5 (Shigeru Terabe, University of Hyogo, Emeritus Professor, Japan)

分離1

液滴

分離2

マイクロ流体デバイス2 (電気/磁気による流体操作)

プレナリースピーチ6 (Kenji Yasuda, Medical and Dental University of Tokyo, Japan)

細胞操作・解析2 (細胞培養)

パッケージングとインターフェース

11月9日(木) 医学と臨床

システムバイオロジー

プロテオミクス

検出技術

プレナリースピーチ7 (Mathias Uhlen, KTH, Stockholm, Sweden)

この中で特に新規性・独創性の高かった下記8件の発表について、その詳細を報告する。

- ▶ 単一細胞内単一DNA分子の遺伝子解析
- ▶ パターン化された異方性ナノふるい構造を用いた生体分子の分離
- ▶ 血液細胞の水力学的分離のためのマイクロフルイディクデバイス
- ▶ 在宅医療のための診断チップ
- ▶ 分子手術のためのDNAナノスタンプング
- ▶ 多段階連続マイクロ化学合成と分離
- ▶ ナノリッターレベルのサンガーDNAシーケンシングのためのマイクロバイオプロセッサ
- ▶ 温度・フロー・グルコースセンサーを集積化した心臓血管のモニタリングのためのらせん状ポリマーチューブ

(1) 単一細胞内単一DNA分子の遺伝子解析 (Uppsala University)

ミトコンドリアは細胞内で生命維持のために重要な役割を果たしているだけでなく、その遺伝子異常と加齢や糖尿病、神経変性などとの関連も示唆されている。しかしながら、現在開発されているミトコンドリアの変異マーカーは、細胞全体のミトコンドリア機能が低下した状態を検出するのみであり、個々のミトコンドリア遺伝子の異常とその分布を解明することは不可能である。そこで本研究では、遺伝子配列の一塩基の違いを検出できるパドロックプローブ法とその信号を増幅して可視化する Rolling Circle Amplification

(RCA) 法を適用し、個々のミトコンドリア遺伝子について、細胞内での一塩基遺伝子解析をマイクロチップ上で実現し、3243 番目の塩基が変異しているミトコンドリア DNA を検出することに成功した。さらに、マイクロチップの特色である、流路内での多相流形成によって、細胞の一部にのみ遺伝子毒性のある mytomicinC を作用させ、その効果をパドロックプローブと RCA 法で検出する実験も行った。薬物の作用部位では、ミトコンドリア DNA が変性し、ミトコンドリア DNA が検出されなかった。これらの実験は、基礎的な細胞生物学の分野だけでなく、癌や糖尿病などの医学の分野での研究にも応用できることが期待される。

## (2) パターン化された異方性ナノふるい構造を用いた生体分子の分離 (Massachusetts Institute of Technology)

混合物の中から特定の生体分子を分離・精製することは、生物学および生物工学の分野では重要である。現在は多孔質媒体による分離が主流であるが、最近、自己組織化ビーズアレイのコロイドテンプレートや微細加工技術によって作製されたパターン化されたふるい構造などが注目されている。しかし、これまで報告されているものは、長鎖 DNA のみで、短鎖 DNA や他の生体高分子などへの適応例は報告されていない。本研究では、ユニークなふるい構造を作製し、二つの異なるふるい効果 (Ogston ふるいとエントロピートラップ) を利用して、多様なサイズの生体分子を分離することに成功した。分離対象分子のサイズが流路の狭くなっている部分 (55nm) より小さい場合は、Ogston ふるい効果で小さな分子が先に通過するのに対して、逆に大きい場合は、エントロピートラップ効果で大きな分子が先に通過する。その結果、前者の場合は小さな分子が大きく偏向されるのに対して、後者の場合は大きな分子が大きく偏向される。PCR マーカー (50-766bp、長さ: 16-150nm) の分離では、Ogston ふるい効果によって短鎖 DNA は大きく偏向される。一方、 $\lambda$ DNA-Hind III digest (2.027-23.13kbp、慣性半径: 140-520nm) の分離では、エントロピートラップ効果によって長鎖 DNA の方が大きく偏向する。さらに、この異方性ナノふるい構造は異なる分子量を持つタンパク質も Ogston ふるい効果で分離することができる。

## (3) 血液細胞の水力学的分離のためのマイクロfluidic デバイス (Osaka Prefecture University)

細胞の物理的特性あるいは化学的特性によって分離する技術は、生物学や医学研究の分野では基本的な技術の 1 つである。蛍光ラベルに基づく細胞分離 (セルソーター) などマイクロfluidics 技術を用いた細胞分離法が多数報告されているが、それらは汎用性がそれほど高くない。本研究では、分岐構造を持つ流路と分岐流路への流体の流れによってサイズの異なる細胞を連続的に効率良く分離・濃縮する技術を開発した。メイン流路の片側に作製された 80 本の分岐流路を再びメイン流路に戻すことで、メイン流路を流れる細胞を流路の片側に濃縮される。その後、最初の分岐流路とは逆側に作製された分岐流路に

よってサイズの異なる細胞が分離される。このデバイスを用いて血液細胞を分離したところ、赤血球と白血球の回収率がそれぞれ 99.97%と～98%で、約 30 倍の濃縮を行うことに成功した。本研究で開発されたデバイスは、複雑な化学操作や物理操作をすることなく、流路構造と流体の流れのみを利用してサイズの異なる細胞を分離することができ、様々なバイオ応用に有用である。

#### (4) 在宅医療のための診断チップ (National Institute for Materials Science)

在宅診断が可能な簡易診断システムの開発が期待されている。簡易診断システムを実現するためには、低浸襲採血、自動分析・診断技術の開発が必要である。本研究では、無痛針による微量 (6 $\mu$ L) 血液の採取、遠心力によるプロセッシング (血球分離、校正液・血漿搬送、血漿と凍結乾燥試薬の混合)、比色法による検出が可能な診断システムを開発した。採血に用いた無痛針は、外径 0.15mm のステンレス製管で、管の内壁を超平滑化し、先端を 10 度研磨したものをを用いた。チップは 3 層構造をしており、遠心力により、血球分離、校正液・血漿搬送、血漿と凍結乾燥試薬との混合・反応を行わせることができる。反応による呈色をチップに取り付けられた LED によって検出する。さらに、静脈の位置を測定するために、近赤外光照射による血管の可視化技術および針と皮膚表面間の電位測定に基づく電子採血法を開発した。開発した診断システムの性能を評価するために、中性脂肪値の高い人にメバロチン (高脂血症治療薬：三共製薬) を 4 ヶ月間投与し、中性脂肪値を測定した。また、同システムを用いて、総コレステロール、HDL コレステロールも測定することができる。

#### (5) 分子手術のための DNA ナノスタンピング (The University of Tokyo, Japan)

分子手術とは、物理的手段により分子を空間的解像度をもって加工することをいう。過去の分子手術の例として、DNA 切断酵素を表面に修飾した微粒子を光ピンセットにより操作することで、伸張固定した DNA の意図する場所を自在に切断する方法がある。しかしながらこの方法では、DNA を固体表面上に吸着させて伸張固定していたため、酵素が作用する際に固体表面から立体障害を受けることにより、その活性が失活することが知られていた。そこで、大きな溝 (マイクロチャネル) を作成し、その壁面に DNA の両端を固定して宙吊り状態にすることで、立体障害による酵素活性の阻害を低減する方法が開発された。ただ、この方法においても、DNA は自身が有する弾性により壁面から離れて巻き戻る現象が多く観察され、分子手術を意図するままに施すことは難しかった。そこで本研究では、マイクロスケールの凹凸構造を利用して DNA を多点で伸張固定することにより、安定に伸張させた状態で凹部でのみ酵素が反応するような系を構築した。はじめに、従来通り DNA を電極間で伸張固定した後、PDMS (ポリジメチルジロキサン) にて作製した凹 (幅 1.5  $\mu$ m、深さ 1.5  $\mu$ m) 凸 (幅 3.0  $\mu$ m) 構造の表面をアミノシラン化したものを接着させることにより、電極間で伸張した DNA を、PDMS 側に伸張状態のまま転写した。制限酵素としては、

DNA の塩基配列とは無関係に切断活性を有する DNaseI と、GCGC の 4 塩基配列を認識する HhaI を用いた。DNaseI を作用させた場合、即座に凹部に位置する DNA の消化が始まり、数分後には、DNA が吸着した凸部でも消化が生じ、全ての場所で DNA が消化された。これに対して HhaI では、凹部でのみ DNA の消化が生じ、20 分以上経過しても凸部での消化は観察されなかった。これらの差異は、制限酵素が認識部位に到達するまでに DNA の溝をなぞる必要があるかどうか、すなわち作用機序によるものと考えられる。このようなマイクロスケールの凹凸構造を利用することで、制限酵素の活性を調節することが可能であり、将来はファイバーFISH 法への応用などが期待でき、分子手術の実現を支える重要な技術と考えられる。

#### (6) 多段階連続マイクロ化学合成と分離(Massachusetts Institute of Technology, USA)

これまで、2つの反応の間に分離過程を含む多段階連続マイクロ化学合成に関する研究が数多くなされてきた。本研究では、多段階連続マイクロ化学合成を、連続液液相分離装置とマイクロリアクターを組み合わせたシステムを構築した。多段階マイクロ化学合成のモデル系としては、イソシアネートのクルチウス転位反応を用いたカルバメート合成を適用した。この反応は、液液相分離を必要とする酸塩化物とアジ化ナトリウムの相間移動反応と、イソシアネート生成時に発生する窒素ガスの除去（気液相分離）、イソシアネートとアルコールの液液反応からなっている。これらの反応のためのリアクターと液液相分離、気液相分離装置を、それぞれシリコン基板に作製し、各リアクター同士をチューブで接続することにより多段階連続マイクロ化学合成を行った。液液相分離、気液相分離装置ともに、溶液と気体の表面エネルギーの差異（基板に対する親水性の差異）に基づいて分離が達成できるように最適化した。この装置を用いることにより最終的に、メチルフェニルカルバメート、エチルフェニルカルバメート、ベンジルフェニルカルバメートを並行して合成することに成功し、これらの最終生成物は NMR 測定により同定した。本研究により、従来のバッチ合成系を、連続的にマイクロスケールで行うことが可能であることが実証された。

#### (7) ナノリッターレベルのサンガーDNA シークエンシングのためのマイクロバイオプロセッサー(University of California, Berkeley, USA)

全ゲノムのシーケンスを解読することは、疾病やがん、進化といった種形成を明らかにする上でますますその必要性が高まっている。現在、DNA のシーケエンシングにおいて、長鎖 DNA を正確に読めるという点でサンガー法を上回る他の方法はない。そこで本研究では、マイクロfluidicsを用いることにより、究極の低コスト・高効率のサンガーシーケエンシングを実現するバイオプロセッサーの開発を目的とした。このバイオプロセッサーは、ひとつのプロセッサーに二つの独立した DNA シークエンシングシステムが左右対称に配置されており、3枚のホトリソグラフィーによりパターンを作製した直径 100 mm

のガラスウエハーと、1枚のPDMS層から構成されている。1番上のガラスウエハーは、電気泳動用チャンネルからなり、上から2番目のガラスウエハーは、測温抵抗体 (RTDs: Resistance Temperature Detector) を組み込んだ反応チャンバー、その次にPDMS膜を一番下のウエハーと挟み込むことで、3次元の相互連結構造とマイクロバルブ/ポンプを構築する。本研究では、以前に開発したエネルギー移動ダイターミネータサンガーシークエンシング法を用いており、シークエンシングのための試薬は、1 fL の DNA テンプレートを 250 nL の反応チャンバー内で調製した (95°C で 12 s, 60°C で 55 s を合計 35 サイクル)。この反応溶液は、マイクロバルブによりアフィニティー媒体を充填したユニットへ送られ、30°C にて電場の印加によりアフィニティー媒体へ捕捉・濃縮される。その後、70°C にて捕捉されていた DNA はアフィニティー媒体から放出され、電気泳動により分離・検出される。各条件を最適化することにより、最終的には 100 amol 程度の DNA テンプレートから、556 塩基を 99% の精度で 35 分で解読することが可能となった。

(8) 温度・フロー・グルコースセンサーを集積化した心臓血管のモニタリングのためのらせん状ポリマーチューブ (University of Cincinnati, USA)

多くの疾病は体温と血流を変えるため、体温や血流を計測することで多くの病理学的情報を得ることができる。本研究は、より良い診断と治療のために、温度・フロー・グルコースセンサーをカテーテル上に集積化することを目的としている。従来より、市販されているカテーテル上にマイクロリアクターや配線を貼り付けて集積化する試みは行われてきたが、非常にコストのかかるものであった。そこで本研究では、平面なポリマーシートの上にマイクロセンサーを作製し、らせん状に巻くことで3次元のチューブ構造を構築した。この柔軟性に富んだポリマーマイクロチューブは、血管中に挿入しても血管壁を損傷したり、血流を妨げる恐れがないという利点がある。Ti/Au でできた測温抵抗体 (RTDs: Resistance Temperature Detector) を温度センサーとして作製した。また、この RTD とは別にフローセンサーとして RTD を作製し、熱の循環を感知することで流速を計測するフローセンサーとした。グルコースセンサーとしては、グルコースオキシダーゼによる測定原理を利用したものを作製した。これらのセンサーを 25  $\mu\text{m}$  厚のカプトン膜上に作製し、らせん状に巻いて外径 880  $\mu\text{m}$  のチューブを作製した。このチューブを血流のモデル系として異なる粘性をもつ砂糖水を用いて実験を行ったところ、25°C から 45°C、2 ml/min から 10 ml/min、20 mg/dL から 120 mg/mL までの範囲内で精度良く測定することが可能であった。このように多数のセンサーを搭載した「スマート」チューブを開発することで、心臓血管モニタリングなど、心筋梗塞をはじめとした多くの疾病モニタリングに役立つことが期待される。

まとめ

ナノテクノロジーの発展により、ナノメートルサイズの構造体を自在に作製できる時代

に突入した現在、それらのデバイスの応用例は多岐にわたってきた。しかしながら、創薬や医療現場への応用には、まだまだ研究しなければならない点が数多く残されているのも事実である。今回のアジアからの発表件数とその質を見ても明らかなように、出遅れが指摘されていたこの分野でも、日本を含めた韓国や台湾の諸国も米欧と対等に競争できるまでの研究レベルに到達していると思われる。このような状況の中で世界のリーダー的存在となるには、どの分野をいかに戦略的に研究していくかを国家レベルで検討していく必要があると思われた。

今回の本会議は、キュリー研究所のJ. -L. Viovy教授のチェアにより、2007年10月7日（日）～11日（木）に、フランスのパリにて開催される予定である。  
(<http://www.microtas2007.org/>) 来年は、本年以上の発表件数・参加者が期待される。論文投稿の締切は、2007年3月20日となっているので、是非多数の発表申込をお願いしたい。

#### (7) その他

欧州では、医療ナノテクノロジー投資会議；Investing in Medical Nanotechnologies Conference が2006年12月13～14日に英国ロンドンで開催された。この会議は、世界の画像診断メーカーのビッグ3やナノメディシンベンチャー、英国の医療技術評価機関NICE、欧州医薬品審査庁EMAや欧州投資銀行EIBなどがディスカッションを行うもので、以下がプログラムである。各講演抄録は、<http://www.nanomednet.org/conference/index.htm> から入手可能である。

#### **Session1: The promise of Nanomedicine**

**Chair:** Otilia Saxl, CEO, [The Institute of Nanotechnology](#)

#### **Keynote /Introductory Presentation**

Prof. Sir Michael Rawlins, Chairman, [National Institute of Clinical Excellence](#),  
UK

#### **Nanomedicine: opportunities and roadblocks**

Dr. Paul Smit, Senior Vice President, [Philips Medical Systems](#)

#### **The Role of Nanotechnology in Healthcare- Keynote Presentation**

Dr. Leonard Fass, Director, Academic Relations, [GE Healthcare](#)

#### **Nanotechnology enabled medicine**

Dr. Arne Hengerer, Director, Molecular MRI, [Siemens Medical Solutions](#)

#### **Session 2: Small Company Presentations – Nanotechnology in Drug Delivery, Implants,**



## **Devices and Regenerative Medicine**

### **Nanobiotechnology at the Interface**

Dr. Dale Athey, Managing Director, Orla Protein Technologies Ltd

### **Functional Nanocoatings for Surface Biotechnology**

Dr. Jas Pal Badyal, Surface Innovation Technologies

### **Future non-biofouling materials by nanoscale surface modification**

Dr. Tessa ten Cate, TNO Science & Industry

### **Carbon coated nanomagnets for biomedical applications**

Dr. Rüdiger Klingeler, Institute for Solid State Research at IFW, Dresden, Germany

### **Anti-cancer therapy using novel gene delivery technology**

Dr. Andreas Schatzlein, Founder and CSO Nanomerics

### **Nanomedicine and infectious diseases: the use of nanoviricides™ in the treatment of acute and chronic viral illnesses**

Dr. Eugene Seymour, Chief Executive Officer, Nanoviricides, Inc, USA

### **Nanoparticle mediated cell killing gives unique safety for cell based therapies.**

Dr. Martin Roland Jensen, Nannovation Biotech

### **Neuronal regeneration using Nanotope technology**

Dr. Chris Anzalone, CEO, Nanotope

## **Session 3: Medical Nanotechnology- Patents, Regulation, Risks, Safety and Society**

### **Nanotechnology and risk: Insurability challenges and requirements for success**

Dr. Thomas K Epprecht, Senior Risk Specialist, Swiss Reinsurance Company

### **EMA's reflection on nanotechnology-based medicinal products for Human Use**

Dr. Marisa Papaluca Amati, Deputy Head of Sector, European Medicines Agency (EMA)

### **Lead Aerosol Size Distribution and Occupational Health**

Dr. Robert Muir, Director and Cofounder, Innospan

## **Session 4: Converging Technologies for Healthcare Applications**

**Chair:** Prof. Shervanthi Homer Vanniasinkam

### **Keynote Presentation**

Dr Philippe Cleuziat, Technological Marketing Director, Biomerieux

### **Bionanotechnology in Australia**

Dr. Bob Irving, Scientific and Commercial Director, Nanotechnology Victoria Pty Ltd, Australia

**Clinical Applications of Nanobiotechnology: Possibilities and Promises**

Prof. Shervanthi Homer Vanniasinkam

**Session: 5 Small Company Presentations – Nanotechnology in Diagnostics, Imaging**

**Chair:** Dr. Kamal Hossain, Director, National Physical Laboratory

**Novel Piezoelectric film technology for diagnostic applications**

Dr. Neil Butler, CEO, Vivacta

**Electronic Nose Technology for the early detection of TB**

Dr. Tim Gibson, R&D Director, Scensive Technologies Limited

**Anti-viral nanomaterial targeted at pandemic viruses**

Dr Paul W Reip, Founder and CTO, QinetiQ Nanomaterials Ltd

**Nanoplex™ Biotags: A Transformational Optical Detection Platform for Clinical and Point-Of-Care Diagnostics**

Dr. Peter Corish, Applications Manager Biodiagnostics Oxonica Healthcare

**Endomagnetics: Making Magnets Work for Healthcare**

Prof. Q A Pankhurst, Deputy Director, London Centre for Nanotechnology

**Label-free screening of bio-molecular interactions**

Dr. Mathew Cooper, Founder and CSO, Akubio Ltd.

**New Diagnostic Tests Based On Nanoparticles Functionalised By the Hand-In-Glove Method**

Dr. Maryam Mehrabi, University of Liverpool

**Session 6: Investing in Medical Nanotechnologies- Evaluation, Finances and Challenges**

**Moderator -** Del Stark, CEO, European Nanotechnology Trade Alliance

**Medical Nanotechnology: Business Models, Financing and Valuation- Keynote Presentation**

Dr. Ogan Gurel, CEO, Duravest inc

**EIB financing of Research, Development and Innovation Projects- Keynote Presentation**

Dr. Kim Kreilgaard, Head of Division, European Investment Bank

**Are you ready for investment?**

Paula Knee, Senior Project Leader, Quotec Ltd

**Reputation and Investment Risk**

Dr. John Browne, Strategic Advantage

**The Role of Technology Roadmaps in Making Investment Decisions in Nanotechnology**  
Dr. Malcolm Wilkinson, Managing Director, Technology for Industry Ltd

また、Future Medicine シリーズ (Future Medicine Ltd) から専門学術誌 nanomedicine が 2006 年 1 月号より発刊されている。欧州のナノメディシン関係者が中心となっているようで、現在、February 2007, Volume 2, Number 1 までが刊行されている。Research Article 及び Technology Report よりいくつかの論文タイトル等を抜粋した。

Potential biomedical applications of the scanned nanopipette

David Klenerman<sup>1</sup> & Yuri Korchev<sup>2</sup>

<sup>1</sup>University of Cambridge, Department of Chemistry

<sup>2</sup>Imperial College London

(June 2006, Vol. 1, No. 1, Pages 107-114)

Biomedical interfaces: titanium surface technology for implants and cell carriers

Martin Schuler, Diana Trentin, Marcus Textor & Samuele GP Tosatti

Laboratory for Surface Science and Technology, BioInterfaceGroup, Department of Materials, ETH Zurich

(December 2006, Vol. 1, No. 4, Pages 449-463)

Sol-gel production of bioactive nanocoatings for medical applications. Part 1: an introduction

Besim Ben-Nissan<sup>1</sup> & Andy H Choi

Department of Chemistry, Materials and Forensic Science, University of Technology, Sydney

(October 2006, Vol. 1, No. 3, Pages 311-319)

Aligned core-shell nanofibers delivering bioactive proteins

IC Liao<sup>1</sup>, SY Chew<sup>2</sup> & KW Leong<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Biomedical Engineering, Duke University

<sup>2</sup>Department of Materials Science & Engineering, Johns Hopkins University

(December 2006, Vol. 1, No. 4, Pages 465-471)

Laser-induced explosion of gold nanoparticles: potential role for nanophotothermolysis of cancer

Renat R Letfullin<sup>1</sup>, Charles Joenathan<sup>1</sup>, Thomas F George<sup>2</sup> & Vladimir P Zharov<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Department of Physics and Optical Engineering, Rose-Hulman Institute of Technology

<sup>2</sup>Office of the Chancellor and Center for Molecular Electronics, Departments of Chemistry & Biochemistry and Physics & Astronomy, University of Missouri at St Louis,

<sup>1</sup>University Boulevard, St Louis

<sup>3</sup>Phillips Classic Laser Laboratories, University of Arkansas for Medical Sciences

(December 2006, Vol. 1, No. 4, Pages 473-480)

Visualization and dynamic size evaluation of nanoparticles in solution by single optical fiber-illuminated video microscope analysis

Masashi Suzuto<sup>1</sup>, Akitoshi Nakamura<sup>1</sup>, Yuko Yamanishi<sup>1</sup>, Etsuko Suzaki<sup>2</sup>, Katsuko Kataoka<sup>2</sup> & Tsutomu Masujima<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Analytical Molecular Medicine and Devices Laboratory, Graduate School of Biomedical Sciences, Hiroshima University

<sup>2</sup>Department of Histology and Cell Biology, Graduate School of Biomedical Sciences, Hiroshima University

(February 2007, Vol. 2, No. 1, Pages 63-70)

Quantum dot-based sensor for improved detection of apoptotic cells

Florence Koepfel, Jyoti K Jaiswal & Sanford M Simon

The Rockefeller University

(February 2007, Vol. 2, No. 1, Pages 71-78)