ターゲティングを用いたMRI造影剤

特集 分子イメージングとDDS

白石貢一・横山昌幸*

MRI contrast agents with targeting ability

In recent several years, the drug targeting methodology has been actively applied to MRI contrast agents, particularly to “selective MRI contrast agents” that can only enhance image contrasts at target sites. This situation is one part of reflection of fusion between DDS and molecular imaging fields. This review describes how and for what purpose drug targeting can be applied to developments of novel MRI contrast agents. This review is composed of the following contents: concept of selective MRI contrast agents, methodological differences between the targetings of drugs and contrast agents, mechanisms of selective contrasts, and the authors' study of polymeric micelle MRI contrast agents.

MRI 造影剤, 特に対象部位のみを選択的に画像化できる造影剤に, ターゲティング研究の成果が積極的に用いられはじめている. この状況は, DDS と分子イメージングが融合する領域で, 今後の大きな発展が期待される. 本総説は, DDS 側からみてこの融合領域にどのようにアプローチするかについて, 筆者らの研究例を盛り込んで解説した. 具体的には, 選択的 MRI 造影剤の概念, 薬物と造影剤の場合のターゲティングの相違点, 造影剤で選択性を得る方法, 高分子ミセルキャリアを用いた造影剤の研究例である.

Kouichi Shiraishi · Masayuki Yokoyama*

key words: targeting, MRI, contrast agent, molecular imaging, diagnosis

ターゲティングを用いた選択的造影剤

造影剤とは, 観察したい対象の画像コントラストを高めてより見やすく, 診断しやすい画像を得るために投与される化合物である. 最も単純な造影剤の使われ方は, X 線の血管造影剤が代表例である. カテーテルによって導かれた部位に造影剤を注入し, その部位の血流を造影剤の高い X 線吸収能によって可視化する. この場合, 造影剤の生体内動態・分布の要素はまったく問題にならず, 投与部位から速やかに近傍に拡散すればよいのである.

一方, 少数ではあるが造影剤が投与されたあとに特定の所に集積する, あるいは集積しないことを通して, 特定の部位のみを選択的に可視化する場合がある. 後述する脳腫瘍診断で用いる MRI 造影剤がこの例である.

本総説では, このようなターゲティングを用いた選択的造影剤を MRI に焦点を当てて, DDS ターゲティング技術との関連を述べる.

まずここで強調しておきたいことは, DDS と造影剤は歴史的にはまったく別個といってもよい発展の道をたどってきたことである. 後述する低分子の MRI 造影剤は Gd イオンのキレート化合物で, その設計の鍵は配位定数(いかに Gd イオンをしっかりと結合するか)と化合物の荷電による体内での浸透圧調節であった. この設計には DDS 的な観点は存在しない.

一方, DDS のターゲティング研究でも, 体内分布測定のための画像を撮ることはあっても, それを MRI 診断までに実用化しようとする研究は 1990 年代まではほとんどなかった. デキストラン¹⁾, アルブミン²⁾, リポソーム³⁾にキレート化合物を結合・内封させることによる高分子型の MRI 造影剤研究がわずかに行われていたにすぎない. 1990 年代になり, DDS を応用した MRI 造影剤研究数の増加を

* Yokoyama “Nano-medical polymer” project, Kanagawa Academy of Science and Technology 神奈川県科学技術アカデミー横山「高分子ナノメディカル」プロジェクト

表 1 選択的 MRI 造影剤の種類

造影剤の種類	造影剤	キャリア	ターゲット/作用
T ₁ 強調型	MS-325	アルブミン	アルブミンとの結合
	EGad	なし	β -ガラクトキシダーゼ
	Gd-bis-5-HT-DTPA	なし	ミエロペルオキシダーゼ
	MPEG-PL-Gd-DTPA	Poly(L-lysine)-PEG	EPR 効果
T ₂ 強調型	cRGD-CLIO(Cy5.5)	デキストランコーティング	$\alpha_v\beta_3$ インテグリン
	MnMEIO-herceptin	デキストランコーティング	HER2

みたが、わずかなものにとどまっていた。

この状況が一変するのは、最近 5 年ぐらいの“分子イメージング”研究開発の急速な発展である。分子イメージングとは「特定の細胞・組織・臓器が産生する分子、あるいはその分子によって誘起された現象を画像化すること」と定義される。一方、ターゲティングが「特定の細胞・組織・臓器に薬物を選択的に運搬して働かせること」であるので、原理的な類似性は明白である。リボソームや高分子ミセルキャリアによる抗がん剤の臨床試験が盛んになってきた 2000 年代のターゲティングの状況と分子イメージング研究の勃興が時代的に重なり合っている現在が、まさに選択的 MRI 造影剤を推し進める好機であると考えられる。

ただし、この好機を有効に活用するためには、薬物のターゲティングと造影剤のターゲティングとの間の相違点を正確に把握することが重要である、と筆者らは考えている。その相違点として考えられるのはつぎの 3 点であり、以下に具体例として抗がん剤のターゲティングとの比較を述べる。

1. 送達する量の問題

この量の側面には二つある。まず第 1 に、Gd イオンを利用した造影剤はかなり投与量が多いことである。代表的な MRI 造影剤の Magnevist の標準投与量は 55 mg/kg(最大は 165 mg/kg)とかなり多い(抗がん剤の投与量は臨床では体表面積(mg/m²)であらわされることが多いので比較には注意が必要である)。抗がん剤にくらべると 5~50 倍くらい大きな投与量である。これくらい投与量が大きいとキャリア自体の量も問題となる。投与に必要なキャリアの量が膨大になり、その高い粘度によってマウスへの投与時に問題がある例が散見される⁴⁾。

量に関する第 2 の点は、造影剤の場合には標的に

到達させるべき割合に具体的な目標値が設定できない場合がある。抗がん剤のターゲティングの場合には、投与量のうちどれくらいの割合ががんに送達されないとターゲティング効果が発揮されないという最低割合が存在する。がん以外の正常部位に到達したものは副作用を起こすので、がんへ到達する割合を高めることが重要なのである。造影剤の場合には、造影に必要な絶対量(投与量に対する割合でなく)が送達され、そのときに標的と見分けるべき部位の送達量が十分に低ければよい。この見分けるべき部位が血管(血液)である場合には、抗がん剤の場合の正常組織・臓器への分布は無視できることとなる。

2. キャリア設計

抗がん剤ターゲティングでは、キャリアの選択のみならず、抗がん剤とキャリアの重量比がターゲティング性能を決める重要な因子であることが広く認識されている。

しかし、これまでの MRI 造影剤研究では、たんにキャリアに結合さえすればキャリアの性能を 100%引き出せるという仮定に基づいて行われた研究が多く、造影剤構成比がその物理化学的性質の変化を通して体内動態・分布に及ぼす影響を検討した研究はほとんどない(モノクローナル抗体が実用的に得られるようになった 1980 年代に、抗がん剤を抗体に結合さえすれば必ずターゲティング効果が発揮されると信じられたことと類似する)。この側面からも、現時点で DDS ターゲティング技術が造影剤技術に寄与できることが多いと筆者らは信じている。

3. 毒性

治療と診断では許容される危険度が大きく異なる

のは自明なことである。抗がん剤治療ではかなり重篤な副作用の出現も、ある範囲内であれば許容されうるが、対象ががんであっても、診断では重篤な副作用は限りなくゼロに近づけることが求められる。

よって、キャリア自体の毒性も抗がん剤ターゲティングでは問題にならないレベルでも、MRI造影剤を対象とした場合には大きな問題となることがありうる。したがって、キャリア研究においても抗がん剤ターゲティングで得られた情報を生かしつつも、より広範な副作用解析が求められる。

MRI造影剤の原理と種類

MRI造影剤には T_1 強調型と T_2 強調型の大きく二つに分けることが出来る(表1)。 T_1 は縦緩和時間、 T_2 は横緩和時間とよばれ、どちらも造影剤近傍に存在する水分子のH(プロトン)の T_1 、 T_2 緩和時間を短くしてMRIの信号強度に影響を及ぼすパラメーターである。それぞれの T_1 、または T_2 緩和時間を短くし、画像を強調する能力は T_1 緩和能または T_2 緩和能という値で数値化されている。

T_1 強調型MRI造影剤は陽性造影剤とよばれ画像上を白くあらわす造影剤であるのに対して、 T_2 強調型MRI造影剤は画像上において黒く表現する陰性造影剤とよばれる。 T_1 強調型のMRI造影剤は、主にGdイオンを有する錯体化合物からなっている。Gdイオン自身は毒性が高く、そのままでは用いることは出来ないが、キレート化剤を用いて錯体化することによってその毒性を無毒化している。こういったキレート化剤の一部を高分子鎖に結合させると高分子型のMRI造影剤となる。

1. 低分子の選択的MRI造影剤

Gd-DTPA(マグネビスト)やGd-DOTA(マグネスコープ)は、全体として負のイオン性を有している(DTPAとDOTAはキレート化合物の種類を示す)。キレート化剤DOTAの四つのカルボキシル基のうち一つを変えたGd-HP-DO3A(プロハンス)は非イオン性のMRI造影剤であり、浸透圧が低く高投与量が可能となる。これらの造影剤は、静脈内投与によって血管にコントラストを与え、そして血

管から容易に浸透する組織にも同様にコントラストを与える。このことを利用して脳腫瘍を選択的に造影することが出来る。脳腫瘍は血管の漏洩性が亢進しており、通常、漏れないような薬剤でも血管外へ漏出する。その結果、脳腫瘍部に造影剤が到達し、選択的に脳腫瘍を強調して造影することが出来る。

一方、Gdイオンを囲むキレート化剤に芳香族環を導入することによって上述したMRI造影剤よりも脂溶性を高めることが出来る。Gd-BOPTAやGd-EOB-BOPTAはそういった例であり、肝細胞特異的MRI造影剤として用いられている。Gd-EOB-BOPTAのような肝細胞特異性MRI造影剤は、肝臓がんのヘパトサイトの減少により肝臓がんの検出にその効果を発揮する⁵⁾。こういった生体内の正常部位と病変部位との相違を造影剤が取り込まれる、または取り込まれないことによって造影する手法は従来から用いられてきた。

2. キャリアを用いた選択的MRI造影剤

キャリアを用いた造影剤として、まずあげられるのが T_2 強調型MRI造影剤、いわゆる磁性微粒子である。磁性微粒子はそのもの自身を投与するわけではなく、SPIO(super paramagnetic iron oxide)とよばれる5~35 nmの磁性酸化鉄や、USPIO(ultrasmall super paramagnetic iron oxide)とよばれる4~6 nmの磁性酸化鉄をそれぞれデキストランで7~8 nmの厚みにコーティングした粒子として加工されている。これらのMRI造影剤は主に肝臓の細網内皮系に取り込まれ、正常な肝臓の信号強度の低下させることで特異的な可視化を可能にしている。デキストランコーティングされた磁性微粒子はキャリアを有するMRI造影剤となる。最近では、このデキストランコーティングされた磁性微粒子のサイズを自由に制御し、 T_2 緩和能を変化させる研究も行われている。

アミノ化CLIO(cross linked iron oxide)とよばれる磁性微粒子は、デキストランコーティングされた磁性微粒子の外側にアミノ基を有し、種々の官能基を結合させることが可能な微粒子である。このアミノ化CLIOのアミノ基の一部にcRGD部位を、残ったアミノ基に蛍光標識を導入したcRGD-CLIO

(Cy5.5)は $\alpha_v\beta_3$ インテグリンをターゲットとして、腫瘍の血管新生や動脈硬化を検出する MRI 造影剤として *in vivo* 評価も報告もされている⁶⁾。

延世大学の J. Cheon 教授らは、磁性微粒子の性質・サイズを自由に制御できることを報告し、*in vivo* への応用を示した。磁性微粒子は通常、一般式 MOFe_2O_3 であらわされる。M の金属種をたとえば Mn, Co, Ni, Fe に変えると、その磁気モーメントが異なり、それぞれの持つ T_2 緩和能が異なる。また、それらの磁性微粒子は、そのサイズによっても磁気モーメントが異なり、同教授らは 4 nm, 6 nm, 9 nm, 12 nm とサイズの異なる MEIO (magnetic engineering iron oxide) とよばれる磁性微粒子を作製し、 T_2 緩和能が異なることを示した。この磁性微粒子にハーセプチンを結合させた MEIO は、HER2 感受性の MRI 造影剤となり、*in vivo* において Mn を有した MnMEIO-herceptin は、最大 35% 程度の T_2 緩和能の変化が観察されている⁷⁾。

T_1 強調型 MRI 造影剤の場合は、水との相互作用が T_1 短縮作用に影響を与える。一方で、Gd キレート合成高分子や蛋白に結合すると、それ自身が高分子量化し T_1 短縮作用、つまり画像コントラストをつけるための T_1 緩和能が向上する。これは高分子の運動性が低分子にくらべて落ち、水との相互作用が効率よく行われることが原因である。この第 1 世代といわれる高分子量化によって造影剤の感度(緩和能)を上げる試みは、いわゆる高分子型 MRI 造影剤(macromolecular MRI contrast agent)として、さまざまな高分子化された MRI 造影剤が合成された。

血管プール造影剤(blood pool agent)は、至適造影時間を長くすることによって血液プール相で高いコントラスト分解能と空間分解能の血管撮像を行うことが出来る。そのもの自身は低分子の Gd キレートである MS-325 は、投与後に血液中のアルブミンと結合して高分子量化され、血管からの漏出しにくくなる。MS-325 の高分子量化は血液中の滞留性が向上するばかりではなく、 T_1 緩和能が向上するという利点もある。このほかに分子量が約 17,000 の Gadomer-17 やデンドリマーを用いた MRI 造影剤

も同様に高分子化されることで、血中滞留性が向上するとともに T_1 緩和能が高まる血管プール造影剤として報告されている。

T_1 強調型 MRI 造影剤もキャリアを有する MRI 造影剤の研究が進められている。リボソームの内水層に Gd キレートを内包する手法や、Gd キレートの脂質を用いてリボソームやミセル(低分子からなるもの)を作製する。こういったリボソームやミセルの例は、外側にアクティブな抗体を結合させた例が多くみられる。

そういったなかでハーバード大学の R. Weissleder 教授らは、ポリリシン鎖のアミノ基に Gd キレートを部分的に導入し、残ったポリリシン鎖のアミノ基に PEG 鎖を導入した分子量 69 万の MPEG-PL-Gd-DTPA を用いて、明確に腫瘍選択的な MRI 造影剤を目的とした研究を報告した⁸⁾。側鎖に PEG 鎖を導入することで EPR 効果を十分に発揮できるほどの血中滞留性を持った MRI 造影剤であった。このポリマーの分子量の大きさに対応して血中半減期が長くなり、腫瘍に十分に集めるためには分子量 69 万のような大きな分子量が必要となる。その反面、血中濃度が高くなり、腫瘍・血液における Gd キレートの濃度比が小さくなってしまいがわっている。

3. 感度を増幅できる MRI 造影剤

最近では、さらに生体内の特定の細胞・組織・臓器で引き起こされる現象を、分子・細胞レベルで無侵襲で計測し、画像化する分子イメージングが活発に研究されている。分子イメージングの手法は、日本ばかりでなく世界的にも PET(positron emission tomography)や近赤外画像法のような測定方法が主流となり、分子イメージングの中核が形成されているといっても過言ではない。MRI は、生体内の分子分布情報をもとにして画像化する観点からすると分子イメージングに則った領域であり、さまざまな計測手段を持つ MRI は、これからの将来、そのブローブ開発とともにさらなる展開が期待される。

MRI は空間分解能と解像度に利点を持つ反面、PET や近赤外画像に対して検出感度という不利な点を有する。この欠点をいかに克服していくかが

図1 酵素による化学結合切断を利用した EGad 造影剤

MRI 造影剤を開発する研究者にとっての課題となっている。

こうしたなかで、MRI における検出感度を MRI 造影剤によって補うことは自然の流れのように思われる。Weissleder 教授らは分子イメージングの方向性を以下のように示している⁹⁾。

- ① 適切な体内動態で高い選択性を有する。
- ② 生体内に目的部位へのデリバリーを行える。
- ③ 感度を増幅できる。
- ④ 高感度、高速、高解像度でイメージングする。

このなかで③にあげた感度を増幅できるプローブ(造影剤)が MRI における欠点を補うことが出来ると考えられる。マサチューセッツ大学の A. Bogdanov 教授らも同様に、MRI プローブにおける感度増幅のための戦略(amplification strategy)を提唱している¹⁰⁾。

ここでは、ある特定酵素をターゲットとして MRI 造影剤の感度を向上させる“Sensitive MRI Contrast Agent”の研究例を以下にあげる。これらの研究は、病変部のバイオマーカーを主に造影剤の活性源として用いており、研究の初期段階ではあるが第2世代の MRI 造影剤の例といえる。

1997 年にノースイースタン大学の T. Meade 教授らは、 β -ガラクトキシダーゼに認識される MRI 造影剤、EGad を合成した(図1)¹¹⁾。この化合物 EGad 自身は Gd-DOTA がもとになっている化合物であるが、D-ガラクトピラノーゼによって、Gd イオンへの水のアクセスが制限されており、MRI 造影剤としての T_1 緩和能を十分に発揮することが

図2 酵素による酸化反応を利用した Gd-bis-5-HT-DTPA

図3 ウイルスによる磁性微粒子の凝集構造

出来ない。しかしながら、 β -ガラクトキシダーゼによって、この D-ガラクトピラノーゼ基が切断されると水のアクセスが容易に行われるようになり、MRI 造影剤としての活性を発揮する性質を有する造影剤である。また同教授らは、 Ca^{2+} や Zn^{2+} によって同様に水のアクセスを制御する化合物の合成に成功している^{12,13)}。

Bogdanov 教授らは、5-ヒドロキシトリプタミドをキレート化剤に導入した MRI 造影剤、Gd-bis-5-HT-DTPA を合成している。合成された Gd-bis-5-HT-DTPA は、炎症部位に特異的に産生するミエロペルオキシダーゼの酸化作用によってオリゴマー化され(～5 量体)、緩和能がおおよそ2倍程度に増大する。さらに、そのオリゴマーが蛋白質に結合することによって高分子量化し、 T_1 緩和能がはじめにくらべておおよそ5.6倍に向上する MRI 造影剤を合成した(図2)。このような酸化作用は、他の Gd-DTPA を用いた場合には確認されず、5-ヒドロキシトリプタミドを有する Gd-bis-5-HT-DTPA だけがミエロペルオキシダーゼの酸化力を受け、酸化カップリングを起こすことがわかっている¹⁴⁾。

上記に示した Meade 教授らの β -ガラクトキシダーゼ感受性 MRI 造影剤は *in vitro* の試験結果であるが、後者のミエロペルオキシダーゼ感受性 MRI 造影剤は *in vivo* においてもその造影効果の増大が確認されている。

磁性微粒子を用いて、その緩和能を変化させる

図4
ミセル構造形成・解離による
緩和能の制御

図5 高分子ミセルの形成・解離に基づく T₁ 短縮能の変化

MRS(magnetic relaxation switching)法の研究が進められている。MRS 法とは、磁性微粒子自身が有する T₂ 緩和時間をターゲット部位で特定の反応によって T₂ 緩和時間を早める、または遅くすることを目的とした方法である。具体的には、磁性微粒子をリバーシブルな反応を用いて自己凝集-解離を行う。先に述べたように、磁性微粒子はそのサイズによって磁気モーメントが変わる、つまり T₂ 緩和時間が変化する。DNA-DNA 間、または蛋白質-蛋白質間の相互作用や、酵素を使うことでそれらの反応を起こすことが出来る。たとえば、アデノウイルスを用いると、100 nm ほどのサイズを有するアデノウイルス 1 分子が磁性微粒子の凝集を引き起こし、

微粒子サイズがもとの 46 nm からおよそ 10 倍の 500 nm 以上に変化する(図3)。これにより磁性微粒子の T₂ 緩和時間は劇的に変化することが報告されている^{15,16)}。

以上にターゲット部位で造影効果を発揮する造影剤の例をキャリアの有無にかかわらずいくつかあげさせていただいた。今後、DDS ターゲティング技術のもと、キャリア設計とともにこうした造影剤の研究・開発が進められてゆくことであろう。

高分子ミセルを MRI 造影剤キャリアとした研究

最後に筆者らが行っている研究例を紹介させていただき、DDS と分子イメージングの接点を探ってみよう。

筆者らが設計した、高分子ミセルをキャリアとした MRI 造影剤は図4に示すような構造である。高分子ミセルはブロックコポリマー分子が多数会合してできる構造で、抗がん剤の場合はミセルの疎水性内核に抗がん剤を内封してターゲティングするとともに、疎水性場に薬物を保持することで薬物分子の体内での不活性化を抑制する効果もある^{17,18)}。MRI 造影剤においては、ミセル構造形成によってミセル内に位置する Gd キレートが周囲の水分子から隔離されることで、T₁ 緩和時間短縮能(緩和能)が抑制されることを意図する。

すなわち、ミセル形態で血液を循環している間は、血液の画像コントラストは抑制される一方、がん組織内でミセル構造からブロックコポリマーに解離すると、Gd キレートは周囲の水に自由に接触す

ることができ、 T_1 緩和能を発揮してがん組織をコントラスト高く映し出す。がん組織内では分子量1万程度のブロックコポリマーでもEPR効果によって長時間組織内にとどまるのであるが、血液内でミセル構造が解離して生じたブロックコポリマーは、その分子量が腎臓の分画分子量より小さいので速やかに排出されて、血液の画像バックグラウンドは低く保たれる。すなわち、抗がん剤ターゲティングの場合には、ミセル内核に抗がん剤を封じ込めて高分子ミセルの特性による選択的送達のみであったが、MRI造影剤の場合にはこの選択的送達に加えて、ミセル構造の解離現象を画像選択性を得る手段として活用するのである。

この高分子ミセルシステムで、ポリアスパラギン酸にGdキレート相结合させてミセル内核高分子鎖とし、ポリアリルアミンを反対荷電ホモポリマーとしたものの結果を図5に示す。ミセル構造の形成する場合としない場合で約4倍の T_1 短縮能の変化を得ることに成功した。この結果は、まだ*in vitro*のものであるが¹⁹⁾、今後は、*in vivo*でのターゲティングとがん選択画像取得の最適化に進んでゆく。

文 献

- 1) Wang SC, Brasch RC et al. : Evaluation of Gd-DTPA-labeled dextran as an intravascular MR contrast agent : Imaging characteristics in normal rat tissues. *Radiology* 175 : 483-488, 1990.
- 2) Schmiedel U, Brasch RC et al. : Magnetic resonance imaging of myocardial infarction using albumin-(Gd-DTPA), a macromolecular blood-volume contrast agent in a rat model. *Investigative Radiology* 22 : 713-721, 1987.
- 3) Unger E, Tilcock C et al. : Biodistribution and clearance of liposomal gadolinium-DTPA. *Investigative Radiology* 25 : 638-644, 1990.
- 4) Corot C, Meyer D et al. : Physical, chemical and biological evaluations of CMD-A2-Gd-DOTA. *Acta Radiologica* 38 : Supplement 412 : 91-99, 1997.
- 5) Modo M, Hoeehn M, Bulte JWM : Cellular imaging. *Molecular Imaging* 4 : 143-164, 2005.
- 6) Jaffer FA, Libby P, Weissleder R : Nanoparticle imaging of integrins on tumor cells. *Circulation* 116 : 1052-1061, 2007.
- 7) Lee JH, Huh YM, Jun YW, Seo JW, Jang JT et al. : Artificially engineered magnetic nanoparticles for ultra-sensitive molecular imaging. *Nature Medicine* 13 : 95-99, 2007.
- 8) Bogdanov Jr A, Wright SC, Marecos EM, Bogdanova A, Martin C et al. : A long-circulating co-polymer in "passive targeting" to solid tumors. *J Drug Targeting* 4 : 321-330, 1997.
- 9) Weissleder R, Mahmood U : Molecular imaging. *Radiology* 219 : 316-333, 2001.
- 10) Querol M, Bogdanov Jr A : Amplification strategies in MR imaging : activation and accumulation of sensing contrast agent. *J Magn Reson Imaging* 24 : 971-982, 2006.
- 11) Moats RA, Fraser SE, Meade TJ : A "smart" magnetic resonance imaging agent that reports on specific enzymatic activity. *Angew Chem Int Engl* 36 : 726-728, 1997.
- 12) Li WH, Fraser SE, Meade TJ : A calcium-sensitive magnetic resonance imaging contrast agent. *J Am Chem Soc* 121 : 1413-1414, 1999.
- 13) Major JL, Parigi G, Luchinat C, Meade TJ : The Synthesis and *in vitro* testing of a zinc-activated MRI contrast agent. *PNAS* 104 : 13881-13886, 2007.
- 14) Chen JW, Querol SM, Bogdanov Jr A, Weissleder R : Imaging of myeloperoxidase in mice by using novel amplifiable paramagnetic substrates. *Radiology* 240 : 473-481, 2006.
- 15) Perez JM, Josephson L, O'Loughlin T, Hogemann D, Weissleder R : Magnetic relaxation switches capable of sensing molecular interactions. *Nature Biotechnology* 20 : 816-820, 2002.
- 16) Perez JM, Simeone FJ, Saeki Y, Josephson L, Weissleder R : Viral-induced self-assembly of magnetic nanoparticles allows the detection of viral particles in biological media. *J Am Chem Soc* 125 : 10192-10193, 2003.
- 17) Yokoyama M et al. : Characterization and anti-cancer activity of micelle-forming polymeric anti-cancer drug, adriamycin-conjugated poly(ethylene glycol)-poly(aspartic acid) block copolymer. *Cancer Res* 50 : 1693-1700, 1990.
- 18) Opanasopit P et al. : Influence of serum and albumins from different species on stability of camptothecin-loaded micelles. *J Controlled Release* 104 : 313-321, 2005.
- 19) Nakamura E et al. : A polymeric micelle MRI contrast agent with changeable relaxivity. *J Controlled Release* 114 : 325-333, 2006.