C201

抗HER2抗体標識量子ドットを用いた マウス腫瘍内での単粒子イメージング

多田 寛[○] (東北大学腫瘍外科)、樋口秀男 (東北大学先進医工学機構)

渡邊朋信 (東北大学先進医工学機構)、大内憲明 (東北大学腫瘍外科)

In vivo imaging of single quantum dots conjugated with monoclonal anti-HER2 antibody in tumors of mice

Hiroshi TADA, Hideo HIGUCHI, Tomonobu WATANABE and Noriaki OHUCHI

ABSTRACT

Quantum dot (Qdot) is nanometer-sized crystals which improved brightness, resistance against photobleaching compared with organic dyes and fluorescent proteins. Therefore, Qdot is thought to become new adjuncts of fluorescent bioprobes for medical applications, especially for cancer imaging^{1,2}. We have used Qdot conjugated with monoclonal anti-HER2 (human epithelial growth factor type 2) antibody (Trastuzumab) for molecular imaging of breast cancer cells. We utilized poly ethylene glycol (PEG) coated Qdot-Trastuzumab complex to label a cell membrane of the HER2 overexpressing breast cancer cells. Using this complex, we established the *in vivo* fluorescent cancer imaging method. After injection of the Qdot-Trastuzumab complex to the human breast cancer xenograft mouse model, the accumulation of Qdot to the tumor tissue was clearly observed at subcellular resolution with the original 3D intravital microscopic system. Furthermore, We report the tracking of single particles of quantum dots conjugated with trastuzumab in living mice. This suggests that we can eventually develop a novel cancer imaging and drug tracking system.

Keywords: In vivo imaging, Quantum dot, Breast cancer

1. 緒 論

ナノメートルオーダーの粒子作製技術は目覚ましいものがあり、それらが持つ顕著な特性は、様々な分野への応用、特に医療分野への応用が期待されている^{1,2}。その技術によって作られた蛍光ナノ粒子である蛍光性量子ドット (quantum dot: 以下 Qdot) は、従来の有機系蛍光色素と比較し、蛍光強度が強い、耐光性が高いなどの優れた蛍光特性を持つため、今まで為しえなかった生体内での安定した蛍光イメージングが可能になると考えられる。

一方、生きたままの実験動物を用いた生体内イメージング、いわゆる *in vivo* イメージング法は、その迅速性、簡便性、汎用性から、生物学全般、特に癌研究における動物実験デザインを急速に変化させつつある。*in vivo* イメージングは、生体光学 (バイオフォトリクス) 技術が中心で、主に Green fluorescence protein (GFP) などの有機系蛍光色素やホタル由来の発光酵素であるルシフェラーゼを用いて行われてきた。それぞれ既に確立された手法であり、遺伝子導入可能などの種々の利点はあるが、これらの方法では、蛍光強度や褪色の問題から、生体内での安定した高解像度傾向イメージングは困難である。しかし、蛍光物質として Qdot を用いることでより安

定した高感度観察が可能になると考えられる。生体内での粒子の動きや局在を単粒子レベルで観察することができれば、従来は平均化してしか捕らえられなかった粒子の真の挙動をリアルタイムで追跡することが出来、この方法によってしか得られない粒子の真の挙動を捕らえることが可能である。

従来の生物・医療分野で行われてきたイメージング手法としては、X 線 CT や MRI、PET などがあり確立された優れた方法であるが、分解能では蛍光イメージング法が勝る。蛍光イメージングの中でも、Qdot を用いた方法が一番優れており、Qdot による蛍光法を用いた *in vivo* イメージングは、現在のところ最高感度の手法と思われる。それ故、本方法は生物学、腫瘍学、薬学の分野において非常に重要な手法に成り得ると思われる。

生体組織を高分解能でイメージングするため、我々は、ピエゾアクチュエーターを備えた対物レンズを用いて、ビデオフレームと同期させて顕微焦点を変化させられる共焦点顕微鏡システムを作製した。

今回我々は、これらの技術を組み合わせ、臨床医学の場で分子標的治療薬として使用され HER2 発現乳癌細胞に結合するトラスツズマブを Qdot に標識したものを HER2 発現乳癌担癌マウスに経静脈的に投与し、今まで為

しえなかった生体内での高感度 in vivo 蛍光イメージングを行った。

参考文献

- 1) Dahan, M. *et al. Sci.* 302 (2003), pp442-445
- 2) Gao X, Cui Y, Levenson RM, *et al. Nat. Biotechnol.* 22(2004), pp969-976.

2. 材料と方法

Qdot(Quantum dot® 800, Quantum dot 社, Hayward, CA) に、抗 HER2 モノクローナル抗体であるトラスツズマブを結合させて複合体 (QT-complex) を作製する。それを HER2 発現乳癌担癌ヌードマウス(Balb C nu/nu、移植乳癌細胞株: KPK-4)に投与し、高感度観察系を用いて、皮弁作製して腫瘍組織を直接観察し、腫瘍の QT-complex 単粒子のイメージングを行った。

3. 結果・考察

HER 2 発現乳癌担癌マウスモデルに、QT-complex を経静脈的に投与したあと、皮弁を通して、QT-complex 単粒子が乳癌細胞に結合していく様子を 0.033 秒・30nm の時間・空間分解能で追跡し得た。QT-complex 投与 6 時間後に腫瘍を観察したところ、細胞の輪郭外から細胞膜に結合した。その後、細胞膜上で多くの QT-complex の動きは制限されていたが、突然、細胞膜に沿って一方方向性に 400-700nm/sec の速度で動く様子も観察された (fig.1)。この挙動は、観察系によって生み出される 50 μ m 以下のノイズによる輝点の移動よりも大きな挙動であり、ノイズ以外によって生み出された動きであり、アクチンフィラメントなどのフレキシブルな細胞骨格に付着している HER 2 によるものであることを示す。

4. 結語

生体腫瘍内での Qdot-抗体単粒子の挙動を 0.033 秒・30nm の時間・空間分解能で追跡することに成功した。本研究により、in vivo で蛍光法による高分解能での薬物追跡が可能となった。

Fig. 1 生体内蛍光単粒子追跡