

生体内化学反応の遠隔磁氣的制御による 難治性疾患治療法の新規開発

東京電機大学工学部
研究員 中川 秀紀

はじめに

少子超高齢化社会となった我が国では難治性疾患に対する非侵襲的治療の需要が加速傾向にあり、介護が必要な高齢者・障害者を対象とした在宅医療、および新生児疾患に対する集中治療などにも対応可能な極めて安全性の高い新規医療技術の開発が強く望まれている。従来までの化学反応を利用する各種の治療法では高齢者や障害者に対する負担が大きく、すなわち磁場のような低エネルギーを介した生体内化学反応の遠隔磁氣的制御は今後の難治性疾患治療に応用可能な重要ステップとなりえる。本研究では生体医工学分野 (biomedical engineering) の基礎研究技術、特に光磁気重畳エネルギーによるラジカル対機構を付与した新規性かつ実現可能性の高い薬剤送達機構 (drug delivery system, DDS) の研究開発を進行させた。

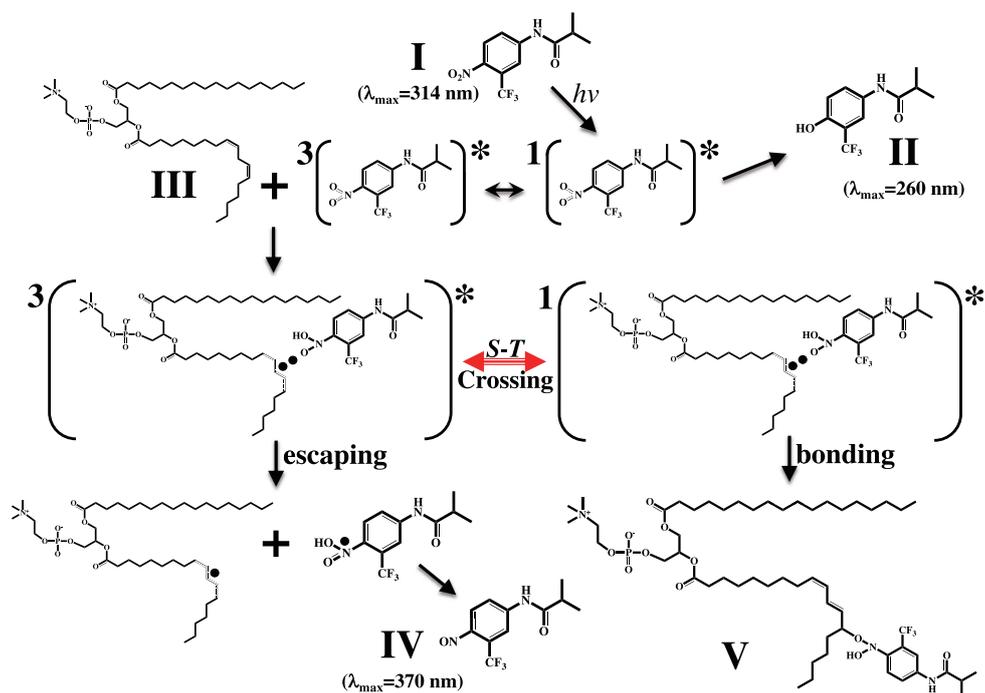


図 1. Estimation scheme for generations of SRP-deriving cage product and TRP-corresponding escape-product after excitation of anti-cancer flutamide in SLPC membrane. (I) flutamide, (II) radical pair-unrelated photoproduct, (III) SLPC, (IV) TRP-corresponding escape product, (V) SRP-deriving cage product.

スピン相関ラジカル対機構の概要

人工生体膜であるリポソーム体の脂質二重膜構造内において展開可能なスピン相関ラジカル対機構の概要を 図1 に示す⁽¹⁾。

磁界環境下の励起一重項状態 (singlet state, S) と励起三重項状態 (triplet state, T_0) の往復運動について、その状態関数 ϕ を次式で表すことができる。

$$\phi = \frac{C_S(\varphi_{\alpha\beta} - \varphi_{\beta\alpha}) + C_T(\varphi_{\alpha\beta} + \varphi_{\beta\alpha})}{\sqrt{2}}$$

ここで C_S , C_T は往復運動における励起一重項ラジカル対 (singlet radical pair, SRP)、励起三重項ラジカル対 (triplet radical pair, TRP) それぞれの時間係数、 $\varphi_{\alpha\beta}$, $\varphi_{\beta\alpha}$ はラジカル対の2個の不对電子の波動関数である。

磁界環境下のフリーラジカル散逸に相当する triplet 収率 Φ_T は次式で求められる。

$$\Phi_T = \frac{k_T |C_T|^2}{k_T |C_T|^2 + k_S (1 - |C_T|^2)}$$

ここで k_T は TRP 由来フリーラジカル散逸の速度定数、 k_S は SRP の共有結合による cage product 生成の速度定数、 $|C_T|^2$ は TRP の存在確率である。

なお、 $k_T = k_S = k$ の場合、triplet 収率 Φ_T は磁界強度の関数として次式のように近似される。

$$\Phi_T = k \int_0^\infty |C_T|^2 e^{-kt} dt$$

すなわち磁界強度、および Φ_T に相当する TRP 由来 escape product の量子収率を用いて TRP の存在確率 $|C_T|^2$ を算出することができる⁽²⁾。

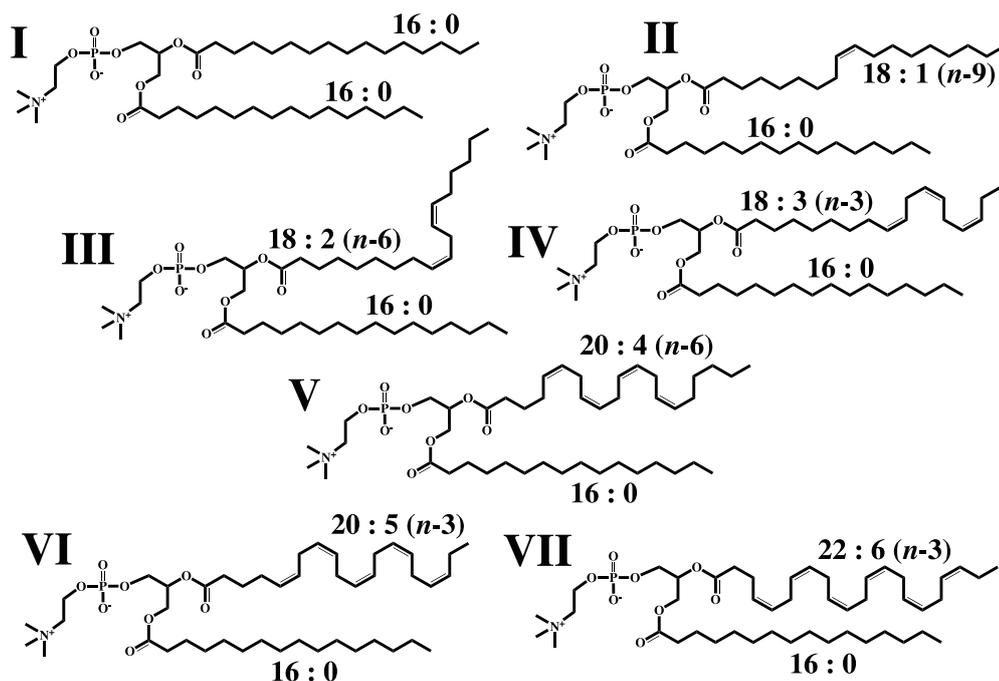


図2. Structures of liposomal membrane phospholipids. (I) 1,2-dipalmitoyl-*sn*-glycero-3-phosphocholine, DPPC, (II) 3-*sn*-phosphatidylcholine, PC, (III) 1-palmitoyl-2-linoleoyl-*sn*-glycero-3-phosphocholine, PLPC, (IV) 1-palmitoyl-2-linolenoyl-*sn*-glycero-3-phosphocholine, PLnPC, (V) 1-palmitoyl-2-arachidonoyl-*sn*-glycero-3-PC, PAPC, (VI) 1-palmitoyl-2-eicosapentaenoyl-*sn*-glycero-3-PC, PEPC, (VII) 1-palmitoyl-2-docosahexaenoyl-*sn*-glycero-3-phosphocholine, PDPC. The numbers show the structural properties of the constituent fatty acids. X : Y (Z) = carbon numbers : unsaturation degrees (a position from the terminal methyl) .

結 果

化学構造の異なる数種のリン脂質 (図2) を入手し、光励起性化合物を封入した機能性のリポソーム膜をポリカーボネート膜濾過法⁽¹⁾で調製した。リポソーム溶液への光照射にともなうフリーラジカル散逸の磁場依存性を図3に示す。地磁気環境下に対し、0.25 T磁界下では17-62%範囲におよぶラジカル散逸促進が観察され、特に PLPC (56%)、PAPC (62%)、PEPC (53%)、および PDPC (51%) を用いたリポソーム膜構成に対して顕著な磁場効果を与えた。

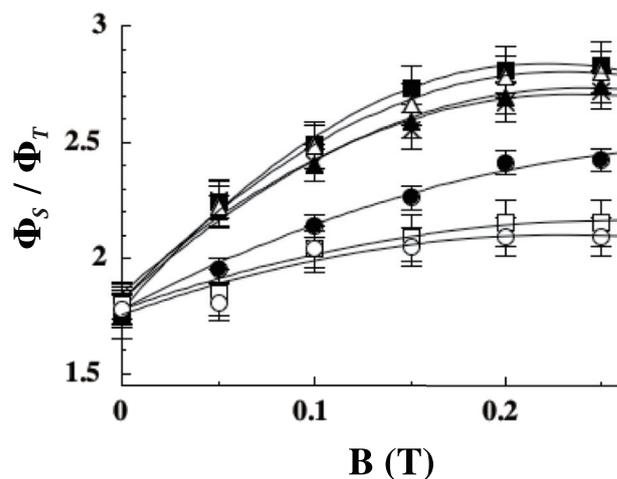


図3. Magnetic field dependence on quantum yield ratio after irradiation of FMLs. The Φ_T and the Φ_s show the triplet yield and the singlet yield, respectively. Data represent the means \pm SD of triplicate determinations. Open circles: DPPC. Open squares: PC. Open triangles: PLPC. Black filled circles: PnPC. Black filled squares: PnPC. Black filled triangles: PEPC. Cross: PDPC. The measurements were performed at the point of 10 min after the irradiation. The photoreaction products were not observed in all the liposomes without the irradiation.

光照射後の膜透過性亢進について ^{31}P -NMRで動力的解析した結果を図4に示す。PEPC膜およびPDPC膜は上記のフリーラジカル散逸において顕著な磁場効果を示したが、膜透過性亢進についてはPLnPCを下回る結果となった。

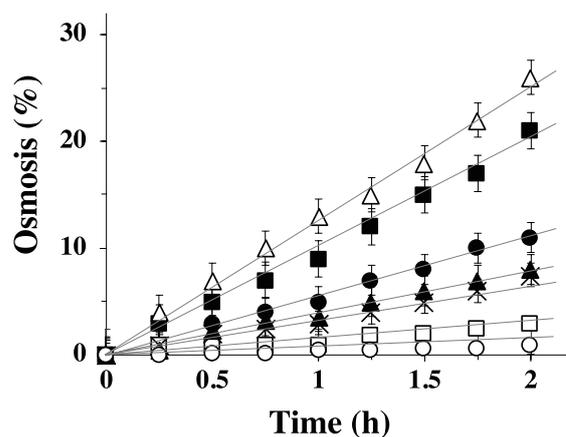


図4. Kinetics of Eu^{3+} osmosis into irradiated FMLs. Open circles: DPPC. Open squares: PC. Open triangles: PLPC. Black filled circles: PnPC. Black filled squares: PnPC. Black filled triangles: PEPC. Cross: PDPC. Data represent the means \pm SD of triplicate determinations. The ^{31}P -NMR spectra were measured using completely irradiated FML solutions. The osmotic actions were not observed in all the liposomes without the irradiation.

考 察

単なる励起光側の操作ではリポソーム膜内に生成するラジカル対の量子化学的存在比 (SRP : TRP = 1 : 3) を変えることはできないが、磁界環境下の *S-T* レベル系間交差⁽³⁻⁶⁾ により、その存在比を制御することが可能となる。膜リン脂質の化学構造的考察においては二重結合数の増加とともに顕著な磁場効果が観察される一方、PLPC (図1-III) よりもビスアリル位を多く有する PInPC (図1-IV) のリポソーム膜における磁場効果は比して高くはなかった (図3)。すなわちラジカルからの攻撃の受けやすさと磁場効果との関連性については異なる解釈が必要であり、ラジカル対の共有結合からの cage product (図1-V) の構造がフリーラジカル散逸において重要な役割を果たすといえる。

膜透過性解析の結果から、PEPC (図1-VI) および PDPC (図1-VII) のリポソーム膜内で生成した cage product の分子内占有面積は比較的小さいことが推測された (図4)。PInPC 膜よりも透過性が顕著に低下する一方、フリーラジカル散逸における磁場効果は高く、ラジカル対の寿命を延ばす脂質分子間の高粘度疎水性領域のみを cage product が乱しうる可能性が示された。すなわち SLPC 膜の高い磁場依存性は脂質二重膜構造のパッキング緩和による影響が極めて高く、PEPC および PDPC の両リポソームは高効率なフリーラジカル散逸能を示しつつ高い膜安定性も兼ねていると考察される。

スピン相関ラジカル対機構の反応場となる膜の環境構築は極めて重要であり、至適条件を見いだせば多くの生体内化学反応を外部磁場によって自在に制御しうる可能性がある。生体への実用には磁界強度を調整可能な電磁石コイルが不可欠であるが、出力性能の問題は装置全般の改良で容易に解決することができるとともに、極低侵襲的極細型ファイバーで対象臓器を光照射する手技も既に確立しつつある。今後も加速を続ける我が国の超高齢化にともなう在宅医療の増加、および緊急・遠隔医療などへの応用にも対応可能な医療技術に発展することが強く望まれる。

要 約

磁界印可によるリポソーム DDS 制御系の飛躍的向上を目指し、幾つかの物理化学的手法を用いて解析した結果、異なる膜環境におけるフリーラジカル散逸挙動についての重要知見を得ることができた。低エネルギー磁場を用いた本システムは、本来の生体内機能は乱すことなく恒常性を維持し、局所でのリポソーム内包薬剤徐放のみを遠隔磁氣的制御するものである。すなわち反応場依存性スピン相関ラジカル対機構を付与したりポソーム DDS 制御系の発展には、標的対象部位における化学反応の促進および低下を自在に制御しうる大きな可能性を秘めている。加えて本システムは大型の装置も必要とせず生体内局所での薬剤濃度を数百ミリテスラ程度の弱い磁場で遠隔的に制御することができ、光化学および電磁場を用いた DDS 研究分野の発展に大きく貢献することが期待できる。

謝 辞

第 45 回調査研究助成に採択していただき、低エネルギー磁場による極低侵襲的治療の確立に向けた各種の検討を進めることができました。このような機会を与えて下さった大和証券ヘルス財団・関係者の皆様方に厚く御礼申し上げます。

文 献

1. H. Nakagawa, M. Ohuchi, and T. Tadokoro, "Application of spin-correlated radical pair system to liposomal drug-delivery system under exposure to magnetic fields," *J. Magn. Magn. Mater.*, vol. 479, pp. 161-165, Jan. 2019.
2. H. Nakagawa, M. Ohuchi: Photomagnetic control of nanoparticles with radical pair system: A promising new area of liposomal drug-delivery system. *IEEE Trans. Magn.*, vol. 55, no. 2, pp. 5000104(1)-5000104 (4) , Sep. 2018.
3. W. W. Albuquerque, R. M. Costa, S. T. Fernandes, and A. L. Porto, "Evidences of the Static Magnetic Field Influence on Cellular Systems," *Prog. Biophys. Mol. Biol.*, vol. 121, pp. 16-28, 2016.
4. A. L. Buchachenko and D. A. Kuznetsov, "Magnetic Field Affects Enzymatic ATP Synthesis," *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 130, pp. 12868-12869, 2008.
5. T. T. Harkins and C. B. Grissom, "Magnetic Field Effects on B12 Ethanolamine Ammonia Lyase: Evidence for a Radical Mechanism," *Science*, vol. 263, pp. 958-960, 1994.
6. Hayashi H, "Chemical Reactions and Magnetic Fields," *IEEE Translat. J. Magn. Jap.*, vol. 7, pp. 586-590, 1992.

本研究に関連する発表等

< 学術論文誌 >

1. Hidenori Nakagawa, Mikio Ohuchi, Takashi Tadokoro: Application of spin-correlated radical pair system to liposomal drug-delivery system under exposure to magnetic fields. *J. Magn. Magn. Mater.*, vol. 479, pp. 161-165, Jan. 2019. (Digital Object Identifier: 10.1016/j.jmmm.2019.01.099)
2. Hidenori Nakagawa: Reaction field-dependent spin-correlated radical pair model: A new insight into liposomal drug-delivery system. *AIP Advances*, 2020 (in press)
3. Hidenori Nakagawa: Magnetic field effects on reaction field-dependent radical pair system. *AIP Advances*, 2020 (in press)
4. Hidenori Nakagawa, Takashi Tadokoro: Drug-release controlling nanoparticles with field-dependent spin-correlated radical pair system. *J. Magn. Magn. Mater.*, 2019 (in press)
5. Hidenori Nakagawa, Takashi Tadokoro: Extremely low frequency magnetic effects on forced metamorphosis of Mexican axolotls (*Ambystoma mexicanum*) . *AIP Advances*, 2020 (in press)

6. Hidenori Nakagawa, Masako Sugai, Shoogo Ueno: Practical application of extremely low frequency stimulation to early diagnosis system for detecting mild cognitive impairment. *AIP Advances*, 2020 (in press)

<口演発表>

1. Hidenori Nakagawa: Magnetic Field Effects on Reaction Field-Dependent Radical Pair System. 64th Annual Conference on Magnetism & Magnetic Materials, Las Vegas, USA, November, 2019.
2. Hidenori Nakagawa: Reaction Field-Dependent Spin-Correlated Radical Pair Model: A new Insight into Liposomal DDS. 64th Annual Conference on Magnetism & Magnetic Materials, Las Vegas, USA, November, 2019.
3. Hidenori Nakagawa, Masako Sugai, Shoogo Ueno: Practical Application of ELF stimulation to Early Diagnosis System for Detecting Mild Cognitive Impairment. 64th Annual Conference on Magnetism & Magnetic Materials, Las Vegas, USA, November, 2019.
4. Hidenori Nakagawa, Takashi Tadokoro: ELF Magnetic Effects on Forced Metamorphosis of Mexican Axolotls (*Ambystoma mexicanum*) . 64th Annual Conference on Magnetism & Magnetic Materials, Las Vegas, USA, November, 2019.
5. Hidenori Nakagawa, Takashi Tadokoro: Drug-Release Controlling Nanoparticles with Field-Dependent Spin-Correlated Radical Pair System. 10th Joint European Magnetic Symposia, Uppsala, Sweden, August, 2019.
6. Hiroko Kotani, Masako Sugai, Kasumi Kuramoto, Misa Kato, Maka Matsuno, Hidenori Nakagawa: Adaptation of Simple Game to Female Brain for Early Detection of Mild Cognitive Impairment Induced by Pregnancy and Childbearing. 7th International Conference on Serious Games and Applications for Health, Kyoto, Japan, August, 2019.
7. Hidenori Nakagawa, Shoogo Ueno: Human Reliability Measurements during Extremely Low Frequency Magnetic Stimuli. 2019 Joint MMM-Intermag Conference, Washington D.C., USA, January, 2019.
8. Hidenori Nakagawa, Shoogo Ueno: Quantitative Analysis of Unconsciousness in ELF-Inducing Flickering Light Sensation. 2019 Joint MMM-Intermag Conference, Washington D.C., USA, January, 2019.