

## 平成18年度科学研究費補助金（基盤研究（S））研究終了報告書

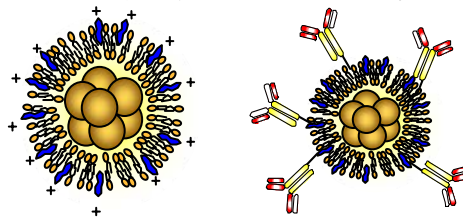
◆記入に当たっては、「平成18年度科学研究費補助金（基盤研究（S））研究終了報告書記入要領」を参照してください。

ローマ字	KOBAYASHI TAKESHI					
①研究代表者名 氏名	小林 猛			②所属研究機関・ 部局・職	中部大学・応用生物学部・教授	
③研究課題名	和文	MCL 温熱療法の免疫賦活機構の解明とガン治療への応用				
	英文	Elucidation of activation mechanism for immune response in hyperthermia using MCL and application to cancer therapy				
④研究経費 金額単位：千円	平成13年度	平成14年度	平成15年度	平成16年度	平成17年度	総合計
	25,000	24,500	23,100	11,800	10,600	95,000
⑤研究組織（研究代表者及び研究分担者） *平成18年3月31日現在						
氏名	所属研究機関・部局・職	現在の専門	役割分担（研究実施計画に対する分担事項）			
小林 猛	中部大学・応用生物学部・教授	医用工学	総括および温熱免疫誘導機構の解明			
若林 俊彦	名古屋大学・医学部附属病院・助教授	脳神経外科	腫瘍組織での炎症系の遺伝子発現解析			
本多 裕之	名古屋大学・大学院工学研究科・教授	生物工学	HSP-ペプチド複合体の食食およびクロスプライミングの解析			
井藤 彰	九州大学・大学院工学研究科・助教授	医用工学	温熱免疫のメカニズムを利用した新規免疫治療法の開発			
⑥当初の研究目的（交付申請書に記載した研究目的を簡潔に記入してください。）						
<p>申請者らは外科手術不要な新しい癌の治療法として、マグネタイト微粒子を発熱体とする温熱治療を提案しており、マグネタイト微粒子をカチオン性のリン脂質で被覆したマグネタイトカチオニックリポソーム（MCL）を作製し、ガン細胞に対する特異的な抗体をマグネトリポソームに結合させた素材（AML）も開発した。これらの素材は交番磁界を照射すると腫瘍組織のみを選択的に加温できるため、非常に高い治療効果が得られる。さらに我々は抗腫瘍免疫が強く誘導されることを見いだした。</p> <p>最近の免疫療法における熱ショックタンパク質（HSP）の重要な役割が解明されつつある。我々の方法は、腫瘍組織のみを内部から加温殺傷することで、腫瘍局所的な壊死に至らしめ、HSP-腫瘍抗原ペプチド複合体を大量に放出させることにより、腫瘍特異的免疫を効率的に誘導できる <i>in situ</i> での癌免疫療法とでもいふべき方法といえる。そこで、本研究では、磁性微粒子を用いたガン温熱療法の効果の飛躍的向上を目指して、温熱免疫の機序を HSP に着目して解明し、それを基盤に抗腫瘍免疫をさらに増強するサイトカイン療法や化学療法との併用療法を確立することを目的とする。</p>						

⑦ 研究成果の概要 (研究目的に対する研究成果を必要に応じて図表等を用いながら、簡潔に記入してください。)

1. MCLによる腫瘍組織の特異的加温による温熱療法の開発

マグネタイト微粒子をカチオン性のリン脂質で被覆したマグネタイトカチオニックリポソーム (MCL、左の図) を作製し、腫瘍組織だけを特異的に加温できることを明らかにした。この温熱療法の最大の特徴は、正常組織は加温せず、腫瘍組織だけを何度にも加温できる点である。そのため、繰り返し温熱療法を行うことができ、そのことによって治療効果も大きくなることである。ウサギの舌ガン (研究成果論文 2、同 14)、マウスのメラノーマ (研究成果論文 13) マウスの乳ガン (研究成果論文 16) および遺伝性メラノーママウス (研究成果論文 28)、ハムスターの骨肉腫 (研究成果論文 19)、ラットの前立腺ガン (研究成果論文 23)、ヌードマウスのヒト前立腺ガン (現在投稿中)、に対して腫瘍組織が退縮できることを示した。例えば、研究成果論文 28 では、遺伝的にメラノーマが自然発生してきて、その結果として死亡する RET マウスを自分で繁殖させて実験に使用した。このマウスのメラノーマに対して MCL による繰り返し温熱療法を行った。この繰り返し温熱療法を行うことによる腫瘍サイズの変化、生理学的な影響を詳しく調べ、繰り返し温熱療法が極めて効果的であることを明らかにした。



これまではマウスやラットの腫瘍細胞を使用して実験を行ってきた。熱で細胞を殺傷するという原理からヒトの腫瘍細胞でも同様に加温によって殺傷できるはずであるが、繰り返し温熱療法を行ってこのことを確認した。ヌードマウスを使用するので免疫賦活を調べることは出来ないが、温熱治療を実際に臨床的に行う準備のために実施した。熱抵抗性のある PC-3 細胞と熱抵抗性がない LNCaP 細胞を使用して、ヒト前立腺腫瘍が完全に退縮出来ることを実証した (現在投稿中)。

2. AML の開発と腫瘍組織へのターゲティング能の向上および温熱療法への応用

ガン細胞を認識するモノクローナル抗体を利用できる場合、この抗体をマグネトリポソームに結合させた素材 (AML、右の図) も開発した (研究成果論文 1)。マウスを使用した腎細胞ガンモデルの場合、AML の血中投与によって 55% が腫瘍組織に集積することを明らかにした (研究成果論文 4)。温熱療法により、素晴らしい効果が認められた。さらに、Her2 を発現しているヒト乳ガン細胞に対しても、抗体としてハーセプチンを結合させた AML が効果的であることを明らかにした (研究成果論文 21)。

3. 針状マグネタイトなどを用いた温熱療法への応用

マグネタイト微粒子を針状に加工した素材は、血流が早くて温度を上げにくい脳腫瘍に対しても有効であることを明らかにした (研究成果論文 9、10)。また、交番磁界照射装置ではなく、RF 交流電流を通電する通常の温熱療法でも、マグネタイト微粒子の利用が効果的であることを明らかにした (研究成果論文 7、8)。

4. 腫瘍組織の特異的加温による温熱療法による温熱免疫のメカニズムの解明

研究成果に示した論文 6 および 11 などの実験によって、以下のようなメカニズムによってガン細胞特有の温熱免疫活性が強く誘導されることを明らかにした。

温熱治療によって腫瘍組織だけが加温され、加温が厳しかった部位ではガン細胞は大量のヒートショックタンパク質を作りつつ、最後は壊死する。このときに腫瘍細胞特有のペプチド断片が生成し、これをヒートショックタンパク質がシャペロンする。このヒートショックタンパク質・ペプチド断片複合体が専門的抗原提示細胞に貪食され、細胞表面にペプチド断片の情報が提示されて免疫細胞 (NK、T 細胞) が活性化する。

また、これまで解明した温熱免疫のメカニズムの成果をまとめて、公表した (研究成果論文 20、22、27、29)。

5. 温熱免疫を増強する併用療法の開発

温熱免疫のメカニズムを増強するための方法を併用すれば、治療効果は高まる。そこで、ヒートショックタンパク質そのものを注射する (研究成果論文 18)、あるいはヒートショックタンパク質の遺伝子治療との併用 (研究成果論文 17)、樹状細胞を用いる細胞療法との併用 (研究成果論文 24、25)、TNF- $\alpha$  との併用 (研究成果論文 3、5)、GM-CSF あるいは IL-2 との併用 (研究成果論文 12) に関して研究し、それぞれ効果的であることがわかった。

⑧特記事項 (この研究において得られた独創性・新規性を格段に発展させる結果あるいは可能性、新たな知見、当該研究分野及び関連研究分野への影響等、特記すべき事項があれば記入してください。)

### 実際のガン治療を目指した開発状況

新しい治療法を開発する過程で、患者をどのようにして選択し、新しい治療法の効果を明らかにできるかが重要となる。既存の治療法が適用できる患者は、当然既存の治療法を選択するから、既存の治療法では効果がなかった患者に対してのみ、新しい治療法が患者や家族の同意を得て、実施されるのが普通である。その段階では、原発腫瘍は大きく、転移腫瘍もあるであろう。

このような状況を考慮して、マウスを用いて、直径 15 mm のサイズになった乳ガンモデルの温熱治療の実験を行った (研究成果論文 16)。6 週令のマウスの大きさは約 90 mm であるから、直径 15 mm のサイズの腫瘍はかなりに大きいことが理解できる。我々が開発した温熱治療法のメリットは、1) 原理的に全ての固形腫瘍に適用できること、2) 腫瘍部位のみを 43°C 以上に加温するので、温熱耐性となるガン細胞の存在があり得ないこと、3) 温熱治療の回数を増やすことによって治療効果が高まること、4) 原発腫瘍に特異的な抗腫瘍活性が向上すること、などである。抗ガン剤を使用する場合には、副作用がほとんど無い状況で全ての固形ガンに有効な薬は開発されておらず、また、薬剤耐性細胞が徐々に増えてくる、といったことも臨床的には問題となるから、1) と 2) のメリットは理解できよう。そこで、3) の効果に関して、実際に検討したわけである。その結果、温熱治療の回数はマウス毎に異なったが、実験に使用した 5 匹すべての腫瘍が完全に退縮することを示すことが出来た。さらに、退縮したマウスに同じ乳ガン細胞を注射しても腫瘍は生着しなかった。MCL を用いる温熱治療の効果は、我々が既に 1998 年に Japanese Journal of Cancer Research に発表していたので、論文としてのオリジナリティーは低いのであろうが、この治療法を実際に患者に適用するだけのインパクトがあり得ることを実証する意味においては、大変重要であった、と考えている。実際に、ガン治療の臨床家はこの実験結果を高く評価してくれる。

腫瘍組織の特異的な加温による温熱療法による温熱免疫のメカニズムを種々の実験結果から解明し、専門誌などにレビューとして発表した。しかし、ガン治療の臨床家からは、実際にヒトの場合、どの程度の効果があるのかわからない、という指摘を受けることが多い。マウスやラットとヒトは違って当然である。したがって、4) 原発腫瘍に特異的な抗腫瘍活性が向上すること、が転移腫瘍に効果的かは実際に患者に対して我々が開発した温熱療法を適用するまでは不明である。しかし、温熱免疫を増強する併用療法に関しては、種々の方法に関して検討した。

ヒートショックタンパク質の遺伝子治療との併用に関しては、現在の遺伝子治療の現状を考慮すると、実際の治療に適用することは難しいであろう。遺伝子組換え技術により、微生物を利用してヒトのタンパク質を大量生産することは容易である。ヒトのヒートショックタンパク質の毒性はほとんど無いので、ヒートショックタンパク質そのものを注射しながら温熱療法を行うことは効果があると考えられる。

温熱免疫のメカニズムを考慮すれば、樹状細胞を用いる細胞療法との併用も効果的であろう。実際に、マウスを用いたメラノーマの治療においては、この併用療法は大変効果的であった。しかし、患者の樹状細胞を取り出して、培養する、といった手間を考えると、一般の病院で行える治療法では無いであろう。IL-12 の作用メカニズムを考慮すると、IL-12 との併用療法は効果的であろうと推定できる。しかし、日本では IL-12 は臨床使用が認められていないので、GM-CSF あるいは IL-2 との併用療法が、簡便であり、最も治療効果も上がる併用療法となる、と結論出来よう。

我々が開発した温熱療法の実用化に関しては、MCL を使用するガンの温熱療法に関しては、日本化薬 (株) と第一高周波工業 (株) が興味を示してくれて、平成 16 年 1 月にベンチャー企業を作ってくれた。かなりの開発費をこの二社が負担してくれ、社員も合計 4 人を派遣してくれて、厚生労働省に対する臨床治験を申請すべく、開発を促進しています。AML を使用するガンの温熱療法に関しては、平成 16 年 4 月に文部科学省が公募した「がんトランスレーショナル・リサーチ事業」に採択されました。本年秋には、名大医学部乳腺外科で再発乳ガン患者に対して、信大医学部皮膚科で進行期のメラノーマ患者に対して、Phase I の治療を実施することとして、各種の準備をしています。

### 日本ハイパーサーミア学会での状況

我々の研究発表に刺激されて、3 年くらい前から、五つの研究グループが類似の温熱療法について、動物実験の結果を発表し出した。国際的にも、主としてアメリカとドイツで注目されている。

⑨研究成果の発表状況 (この研究費による成果の発表に限り、学術誌等に発表した論文(掲載が確定しているものを含む。)の全著者名、論文名、学協会誌名、巻(号)、最初と最後のページ、発表年(西暦)、及び国際会議、学会、特許等の発表状況について記入してください。なお、代表的な論文3件に○を、また研究代表者に下線を付してください。)

## 論文

- 1) Biao Le, Masashige Shinkai, Tamotsu Kitade, Hiroyuki Honda, Jun Yoshida, Toshihiko Wakabayashi and Takeshi Kobayashi : Preparation of tumor-specific magnetoliposomes and their application for hyperthermia, *Journal of Chemical Engineering of Japan*, 34(1), 66-72(2001)
- 2) Hideyuki Matsuno, Iwai Tohnai, Kenji Mitsudo, Yasushi Hayashi, Masafumi Ito, Masashige Shinkai, Takeshi Kobayashi, Jun Yoshida and Minoru Ueda : Interstitial hyperthermia using magnetite cationic liposomes inhibit to tumor growth of VX-7 transplanted tumor in rabbit tongue, *Japanese Journal of Hyperthermic Oncology*, 17(3), 141-149(2001)
- 3) Akira Ito, Masashige Shinkai, Hiroyuki Honda and Takeshi Kobayashi : Heat-inducible TNF- $\alpha$  gene therapy combined with hyperthermia using magnetic nanoparticles as a novel tumor-targeted therapy, *Cancer Gene Therapy*, 8(9), 649-654(2001)
- 4) Masashige Shinkai, Biao Le, Hiroyuki Honda, Kazuhiro Yoshikawa, Kazuhiro Shimizu, Shinsuke Saga, Toshihiko Wakabayashi, Jun Yoshida and Takeshi Kobayashi : Targeting hyperthermia for renal cell carcinoma using human MN antigen-specific magnetoliposomes, *Japanese Journal of Cancer Research*, 92(10), 1138-1145(2001)
- 5) Akira Ito, Masashige Shinkai, Kazumi Hakamada, Hiroyuki Honda and Takeshi Kobayashi : Radiation-inducible TNF- $\alpha$  gene expression under stress-inducible promoter *gadd153* for cancer therapy, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 92(6), 598-601(2001)
- 6) Akira Ito, Masashige Shinkai, Hiroyuki Honda, Toshihiko Wakabayashi, Jun Yoshida and Takeshi Kobayashi : Augmentation of MHC class I antigen presentation via heat shock protein expression by hyperthermia, *Cancer Immunology and Immunotherapy*, 50(10), 515-522(2001)
- 7) Masashige Shinkai, Kousuke Ueda, Shinji Ohtsu, Hiroyuki Honda, Kenjiro Kohri and Takeshi Kobayashi : Effect of functional magnetic particles on radiofrequency capacitive heating: an *in vivo* study, *Japanese Journal of Cancer Research*, 93(1), 103-108(2002)
- 8) Masashige Shinkai, Kousuke Ueda, Shinji Ohtsu, Hiroyuki Honda, Kenjiro Kohri, Jun-ichiro Inoue and Takeshi Kobayashi : Characteristics of particulate heating mediator in RF capacitive heating, *Japanese Journal of Hyperthermic Oncology*, 18(1), 33-40(2002)
- 9) Takanari Ohno, Toshihiko Wakabayashi, Atsuhito Takemura, Jun Yoshida, Akira Ito, Masashige Shinkai, Hiroyuki Honda and Takeshi Kobayashi : Effective solitary hyperthermia treatment of malignant glioma using stick type CMC-magnetite. *In vivo* study, *Journal of Neuro-Oncology*, 56(5), 233-239(2002)
- 10) Masashige Shinkai, Kengo Ueno, Hiroyuki Honda and Takeshi Kobayashi : Magnetite needle as heating mediator for intracellular hyperthermia of tumor, *Japanese Journal of Hyperthermia Oncology*, 18(4), 191-198(2002)
- 11) Akira Ito, Masashige Shinkai, Hiroyuki Honda, Kazuhiro Yoshikawa, Shinsuke Saga, Toshihiko Wakabayashi, Jun Yoshida and Takeshi Kobayashi : Heat shock protein 70 expression induces an antitumor immunity during intracellular hyperthermia using magnetite nanoparticles, *Cancer Immunology Immunotherapy*, 52(2), 80-88(2003)
- 12) Akira Ito, Kouji Tanaka, Kazuyoshi Kondo, Masashige Shinkai, Hiroyuki Honda, Kazuhiko Matsumoto, Toshiaki Saida and Takeshi Kobayashi : Tumor regression by combined immunotherapy and hyperthermia using magnetic nanoparticles in an experimental subcutaneous murine melanoma, *Cancer Science*, 94(3), 308-313(2003)
- 13) Masataka Suzuki, Masashige Shinkai, Hiroyuki Honda and Takeshi Kobayashi : Anticancer effect and immune induction by hyperthermia of malignant melanoma using magnetite cationic liposomes, *Melanoma Research*, 13(2), 129-135(2003)

- ⑨研究成果の発表状況(続き) (この研究費による成果の発表に限り、学術誌等に発表した論文(掲載が確定しているものを含む。)の全著者名、論文名、学協会誌名、巻(号)、最初と最後のページ、発表年(西暦)、及び国際会議、学会、特許等の発表状況について記入してください。なお、代表的な論文3件に○を、また研究代表者に下線を付してください。)

## 論文(続き)

- 14) Shigeaki Hamaguchi, Iwai Tohnai, Akira Ito, Kenji Mitsudo, Toshio Shigetomi, Masafumi Ito, Hiroyuki Honda, Takeshi Kobayashi and Minoru Ueda: Selective hyperthermia using magnetoliposomes to target cervical lymph node metastasis in a rabbit tongue tumor model, *Cancer Science*, 94(9), 834-839(2003)
- 15) Akira Ito, Yoko Nakahara, Kouji Tanaka, Yuko Kuga, Hiroyuki Honda and Takeshi Kobayashi : Time course of biodistribution and heat generation of magnetite cationic liposomes in mouse model, *Japanese Journal of Hyperthermic Oncology*, 19(3), 151-159(2003)
- 16) Akira Ito, Kouji Tanaka, Hiroyuki Honda, Shigeru Abe, Hideyo Yamaguchi and Takeshi Kobayashi: Complete regression of mouse mammary carcinoma with a size greater than 15 mm by frequent repeated hyperthermia using magnetite nanoparticles, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 96(4), 364-369(2003)
- 17) Akira Ito, Fumiko Matsuoka, Hiroyuki Honda and Takeshi Kobayashi: Heat shock protein 70 gene therapy combined with hyperthermia using magnetic nanoparticles, *Cancer Gene Therapy*, 10(12), 918-925(2003)
- 18) Akira Ito, Fumiko Matsuoka, Hiroyuki Honda and Takeshi Kobayashi: Antitumor effects of combined therapy of recombinant heat shock protein 70 and hyperthermia using magnetic nanoparticles in an experimental subcutaneous murine melanoma, *Cancer Immunology Immunotherapy*, 53(1), 26-32(2004)
- 19) Fumiko Matsuoka, Masashige Shinkai, Hiroyuki Honda, Tadahiko Kubo, Takashi Sugita and Takeshi Kobayashi: Hyperthermia using magnetite cationic liposomes for hamster osteosarcoma, *BioMagnetic Research and Technology*, 2:3, (2004)
- 20) 小林 猛: 温熱療法に伴う免疫賦活のメカニズム, 中部大学応用生物学部紀要, 3, 39-45(2004)
- 21) Akira Ito, Yuko Kuga, Hiroyuki Honda, Hiroyuki Kikkawa, Atsushi Horiuchi, Yuji Watanabe, Takeshi Kobayashi : Magnetite nanoparticle-loaded anti-HER2 immunoliposomes for combination of antibody therapy with hyperthermia, *Cancer Letters*, (212), 167-175(2004)
- 22) Akira Ito, Takeshi Kobayashi and Hiroyuki Honda : A mechanism of antitumor immunity induced by hyperthermia, *Japanese Journal of Hyperthermic Oncology*, 21(1), 1-11 (2005)
- 23) Noriyasu Kawai, Akira Ito, Yoko Nakahara, Mitsuru Futakuchi, Tomoyuki Shirai, Hiroyuki Honda, Takeshi Kobayashi and Kenjiro Kohri : Anticancer effect of hyperthermia on prostate cancer mediated by magnetite cationic liposomes and immune-response induction in transplanted syngeneic rats, *The Prostate*, (64), 373-381(2005)
- 24) Kouji Tanaka, Akira Ito, Takeshi Kobayashi, Tatsuyoshi Kawamura, Shinji Shimada, Kazuhiko Matsumoto, Toshiaki Saida and Hiroyuki Honda : Intratumoral injection of immature dendritic cells enhances antitumor effect of hyperthermia using magnetic nanoparticles, *International Journal of Cancer*, 116, 624-633(2005)
- 25) Kouji Tanaka, Akira Ito, Takeshi Kobayashi, Tatsuyoshi Kawamura, Shinji Shimada, Kazuhiko Matsumoto, Toshiaki Saida and Hiroyuki Honda : Heat immunotherapy using magnetic nanoparticles and dendritic cells for T-lymphoma, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 100(1), 112-115(2005)
- 26) Akira Ito, Masatake Fujioka, Kouji Tanaka, Takeshi Kobayashi and Hiroyuki Honda : Screening of cytokines to enhance vaccine effects of heat shock protein 70-rich tumor cell lysate, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 100(1), 36-42(2005)
- 27) Akira Ito, Masashige Shinkai, Hiroyuki Honda and Takeshi Kobayashi : Medical application of functionalized magnetic nanoparticles, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 100(1), 1-11(2005)

- ⑨研究成果の発表状況（続き）（この研究費による成果の発表に限り、学術誌等に発表した論文（掲載が確定しているものを含む。）の全著者名、論文名、学協会誌名、巻（号）、最初と最後のページ、発表年（西暦）、及び国際会議、学会、特許等の発表状況について記入してください。なお、代表的な論文3件に○を、また研究代表者に下線を付してください。）

#### 論文（続き）

- 28) Akira Ito, Yoko Nakahara, Masatake Fujioka, Takeshi Kobayashi, Kozue Takeda, Izumi Nakashima, Hiroyuki Honda : Complete regression of hereditary melanoma in a mouse model by repeated hyperthermia using magnetite cationic liposomes, Japanese Journal of Hyperthermic Oncology, 21(3), 139-149(2005)
- 29) Akira Ito, Hiroyuki Honda, Takeshi Kobayashi : Cancer immunotherapy based on intracellular hyperthermia using magnetite nanoparticles: a novel concept of "heat-controlled necrosis" with heat shock protein expression, Cancer Immunology Immunotherapy, 55(3), 320-328(2006)

#### 国際会議

代表的な国際会議での発表

K. Tanaka, A. Ito, Takeshi Kobayashi, T. Kawamura, S. Shimada, K. Matsumoto, H. Honda : Immunotherapy for melanoma using hyperthermia with magnetic nanoparticles and dendritic cells, 12th European Congress on Biotechnology, August 22 (2005)

その他、多くの国際会議で発表しました。

#### 学会

代表的な学会での発表

小林 猛：機能的磁性微粒子を用いた癌治療法、日本ハイパーサーミア学会第21回大会（特別講演）、2004.9.25

小林 猛、井藤 彰、本多裕之、斎田俊明：メラノーマに対する磁性微粒子を用いた温熱療法、第64回日本癌学会学術総会（シンポジウムでの講演）2005.9.16

その他、多くの学会で発表しました。

#### 特許

- 1) 小林 猛、井藤 彰、本多裕之：熱ショックタンパク質と磁性微粒子からなる悪性腫瘍の温熱治療剤、PCT/JP2003/03825 (2003.3.27)
- 2) 小林 猛、新海政重、本多裕之、瀧 千智、磁石配置方法及び磁気誘導方法、特許第3430253 (2003.7.28)
- 3) 小林 猛、井藤 彰、本多裕之：免疫賦活剤、PCT/JP2004/2065 (2004.2.23)
- 4) 井藤 彰、本多裕之、小林 猛：新規リポソーム、特願2004-049423 (2004.2.25)
- 5) Akira Ito, Hiroyuki Honda, Takeshi Kobayashi : Hyperthermia agent for malignant tumor comprising cytokine and magnetic fine particles、米国特許願10/815273 (2004.7.7)
- 6) 小林 猛、井藤 彰、本多裕之、斎田俊明、Soldano Ferrone : 抗HMW-MAA抗体を結合した磁性微粒子を含むリポソーム、特願2005-093846 (2005.3.29)