

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 9 日現在

機関番号：15401

研究種目：新学術領域研究（研究領域提案型）

研究期間：2010～2014

課題番号：22107011

研究課題名（和文）ナノ融合分子集合体による機能開拓とバイオ応用

研究課題名（英文）Function Exploration of Nano-Fusion Molecular Assemblies for Biomedical Applications

研究代表者

片桐 清文（KATAGIRI, Kiyofumi）

広島大学・工学（系）研究科（研究院）・准教授

研究者番号：30432248

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 60,300,000円

研究成果の概要（和文）：本研究ではバイオインスパイアードプロセスとして分子制御による精緻な設計に基づいて、ナノ融合分子集合体による動的融合機能材料の構築を行った。その応用展開として、バイオメディカル分野に焦点をあてた研究を展開した。具体的には、磁場に応答して内包物を放出するカプセル材料の開発、アップ近赤外光による光線力学療法用薬剤の開発、MRI造影剤やガン温熱療法用薬剤としての多糖ナノゲル-酸化鉄ナノ粒子ハイブリッドの開発、ならびにホウ素中性子捕捉療法に向けた高濃度無機ホウ素含有ナノ粒子の開発に成功した。

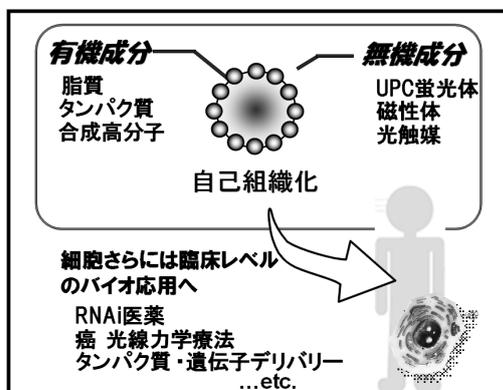
研究成果の概要（英文）：Biomimicry is used to produce materials found in nature, and is an attractive strategy for materials synthesis. Molecular control is key in this process, and biomolecules precisely control the crystallization of inorganic substances. In this project, environmentally friendly hybrid materials that are comparable to biotic materials will be synthesized by mimicking biomimicry. In this project, we have developed hierarchically structured materials by fusing and assembling flexible organic molecules. We have also developed novel dynamic functions that cannot be achieved by simple conjugation of soft and hard materials. We have successfully developed fusion materials for photodynamic therapy via NIR irradiation, magneto-responsive smart capsule, polysaccharide-iron oxide nanofusion materials as MRI contrast agent and magnetic hyperthermia therapy, and nanofusion particles for boron neutron capture therapy.

研究分野：材料化学

キーワード：融合マテリアル バイオメディカル材料 ドラッグデリバリー 光線力学療法 アップコンバージョン  
蛍光体 ナノ粒子

## 1. 研究開始当初の背景

生体内の無機物質合成プロセスであるバイオミネラリゼーションから着想を得て、人工材料の合成法を探索するバイオインスパイアード材料合成に関する研究が約 15 年前に欧米を中心に始まった (S. Mann, Nature, 1993)。従来の材料合成が高温、高真空などの高エネルギー消費型プロセスであるのに対し、生体では常温・常圧の水溶液プロセスであるため、これに倣うことで低環境負荷プロセスの実現が期待できるためであった。これまでに有機官能基との相互作用を利用し、その物理化学的性質の違いで無機環境との界面相互作用を誘起し結晶析出の制御を行うことで、バイオミネラリゼーションと類似した物質合成が可能であることが実証されている。しかし、ほとんどは材料として実用には至っていないのが現実である。これは合成物の品質が従来法で合成されたものに比べ劣っていたり、合成に要する時間が長かったりするため、歩留まりや生産効率で多くの問題を有しているためである。したがって、これまでのように実用材料の現在の合成法を置き換えるためでなく、全く新しいコンセプトの材料の合成法としてのバイオインスパイアード法を構築することが希求されている。このような背景から、本研究では材料の階層的複合化によって高度な機能を実現している生体システムを手本にしつつも、対象とするものをバイオミネラルやタンパク質など生体で使われている物質だけにとらわれることなく、幅広い材料の中から適切なものを選定して、分子制御による精緻な設計に基づいて、ナノ融合分子集合体による動的融合機能材料の構築を行い、新機能開拓のアプローチ法の確立を目指していく。とりわけ、その応用展開においては、バイオメディカル分野に焦点をあて、これまでの有機合成化学や分子生物学に基づく創薬等の研究とは全く異なるアプローチによる革新的研究方法的確立を目指す。



材料化学からのバイオ・メディカル分野への革新的アプローチ

図 1. ナノ融合分子集合体のバイオ応用

## 2. 研究の目的

ポストゲノム領域におけるプロテオーム創薬などを実現する上ではナノバイオ医療技術は必要不可欠であり、この観点から、従来のナノマテリアルとは一線を画するナノハイブリッドマテリアルの開発が待ち望まれている。しかしながら、現実的なこのようなハイブリッド材料をバイオメディカル分野へ応用しようとする取り組みは極めて少ないのが現状である。本研究では、目的達成に必要な特性を分類・抽出し、それに対応した材料を選択して組み合わせることで、バイオメディカル分野への応用展開が可能なスマートマテリアルを開発を行った。例えば、次世代医薬として注目されている RNAi (RNA 干渉) 医薬は世界各国でその開発競争が行われている。しかし、その実用化に大きな壁が存在することが浮き彫りになっている。この RNAi 医薬をはじめ、薬物を目的の患部に効率的に送達することが必要とされている。これはそれらの薬剤は希少な原材料から合成された高価なものであるにも関わらず、患部に到達するまでの過程で大部分が分解されてしまうケースも散見され、いまだ改善すべき点が多く存在する。そのため、体内における薬剤の分布の量的、空間的、時間的にコントロールにより、副作用の問題を解決することで、薬物投与の最適化を目指したアプローチであるドラッグデリバリーシステム (DDS) が注目を集めている。DDS においては (1) 体中での薬剤放出の制御、(2) 生体の薬剤吸収の改善 (生体膜透過促進)、(3) 生体内での薬剤の標的指向 (ターゲッティング) の 3 つの分野で研究開発が進められている。このうち、薬物放出の制御とターゲッティングを行うために薬物を入れておく“容器”にあたるカプセル材料の開発が特に精力的に行われている。特にターゲッティングによって、患部にカプセルを送達した後、外部からシグナルを送るとそれに応答してオンデマンドで薬物を放出するタイプのカプセルが必要とされており、このプロジェクトでは無機材料の機能と有機材料の機能を融合して磁場応答カプセルの開発を行った。また、ガン治療法として近年注目される光線力学療法の光感受性物質も融合マテリアルにより機能の向上を目指す。一重項酸素を発生させる光感受性物質にはポルフィリン系化合物やフラーレン等が用いられるが、これらは 500~700nm の可視光で励起される。これらの波長の光は生体組織への透過性が低いため、光照射法に課題がある。これに対し、1000nm 付近の近赤外光で励起して 550nm の発光をするアップコンバージョン蛍光特性がある無機ナノ粒子を組み合わせることで生体組織への透過性が高い近赤外光で一重項酸素を発生させるハイブリッド光感受性物質の開発を行った。そのほかにも、MRI 造影剤やガンの磁場温熱療法に利用可能な多

糖ナノゲル-磁性ナノ粒子の融合マテリアルや、ホウ素中性子捕捉療法用の薬剤として利用可能な融合マテリアルの開発を行った。これらにおいては薬効を有する新物質の設計・合成を行うのではなく、既存の物質の機能を巧みに融合してバイオメディカル分野に応用可能なナノ融合分子集合体構築の方法論を材料化学の立場から確立することを目指した。

### 3. 研究の方法

本研究では、光、磁場等に関する機能を有する材料として、無機材料を用いた。特に無機ナノ粒子を融合マテリアルを創出するためのユニットとして利用した。無機ナノ粒子は、オレイン酸などの疎水性有機分子で修飾することで、合成時の無機結晶の結晶成長を抑制することでナノ粒子化を実現するための役割があるだけでなく、ナノ粒子表面が有機鎖で覆われることで、有機材料との親和性をあげて、ナノレベルでの有機材料との構造と機能の融合を実現するための役割がある。これら疎水性有機分子被覆無機ナノ粒子は水熱合成法などの溶液プロセスを駆使して合成した。有機材料には生体適合性の付与と温度感受性などの機能を有する材料として、脂質、温度感受性高分子、多糖ナノゲルなどを用いた。水素結合や疎水性相互作用などの分子間相互作用を利用することで、ナノレベルの精緻な設計をした融合マテリアルを前述の疎水性有機分子被覆無機ナノ粒子とこれら有機材料を組み合わせることで創出した。

### 4. 研究成果

#### 4.1. 磁場応答オンデマンド放出機能を有するハイブリッドリポソームの開発

磁場は人体への透過性が高い一方で侵襲性が低く、MRIをはじめ、広く臨床応用されていることから、薬物放出のトリガーとなる外部場として有力である。本領域研究項目 A02 の大阪大学 青島教授らのグループでは 2-エトキシエトキシエチルビニルエーテル (EOEOVE)-オクタデシルビニルエーテル (ODVE) ブロック共重合体を複合化したリポソームが鋭敏な温度応答性を示すことを明らかにしている。そこで磁性ナノ粒子が交流磁場を印加すると、ヒステリシス損失などによって発熱することを利用し、温度応答性リポソームに磁性ナノ粒子を組み合わせることで、磁場印加に反応して内包物を放出する機能を有するハイブリッドリポソームの開発を行った (図 2)。色素を用いた放出実験より、磁場に反応して内包物を放出することが実証され、また放出速度を磁場強度や磁性ナノ粒子の量などでチューニングできることも明らかにした。

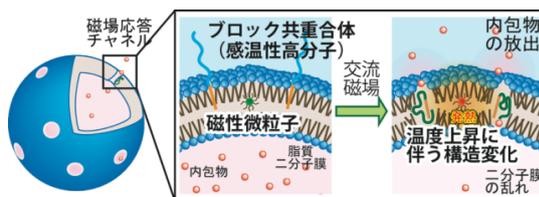


図 2. 磁場応答性ハイブリッドリポソームの交流磁場印加による内包物放出メカニズム

#### 4.2. 近赤外光による光線力学療法のための融合マテリアルの開発

近年、新たなガン治療法として光線力学療法 (PDT) が注目されている。PDT は腫瘍組織に光感受性物質を集積させ、光照射することで一重項酸素を発生させ、ガン細胞を死滅させる治療法である。現在臨床応用されている PDT では光源として可視光が用いられているが、生体透過性が低いため、表層の腫瘍への適用に限定されている。生体透過性の高い近赤外光を光源に用いることができれば、その適用範囲は飛躍的に広がると期待される。そこで本研究では、アップコンバージョン (UPC) 蛍光体を利用し、励起エネルギー移動に応用した近赤外光照射による一重項酸素発生が可能な融合マテリアルについて検討を行った。表面をオレイン酸で修飾した UPC 蛍光ナノ粒子を合成し、それに脂質を複合化してハイブリッドクラスターとすることで、水分散性と生体適合性を付与した。このクラスターに形成される疎水場に光感受性物質として  $C_{70}$  フラーレンを導入した (図 3)。脂質被覆 UPC ナノ粒子クラスターに  $C_{70}$  を導入する前後の UPC 蛍光スペクトルを測定した。その結果、 $C_{70}$  の導入量を増やすにつれて、 $C_{70}$  の吸収の存在する 600 nm 以下の蛍光ピークが消光していき、励起エネルギー移動が確認された。一重項酸素発生効率は一重項酸素によって退色する特性を有する色素である 9,10-Anthracenediyl-bis(methylene)dimalonic acid (ABDA) を用いて評価した。図 4 には、ABDA 存在下でナノハイブリッドクラスター分散水溶液に近赤外光照射した際の

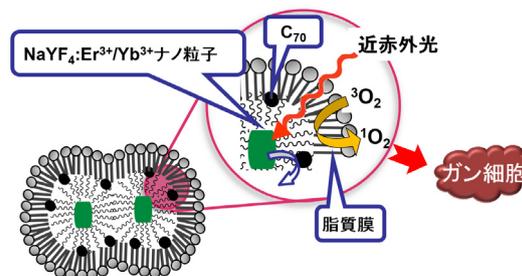


図 3. 近赤外光光線力学療法用ナノハイブリッドの模式図

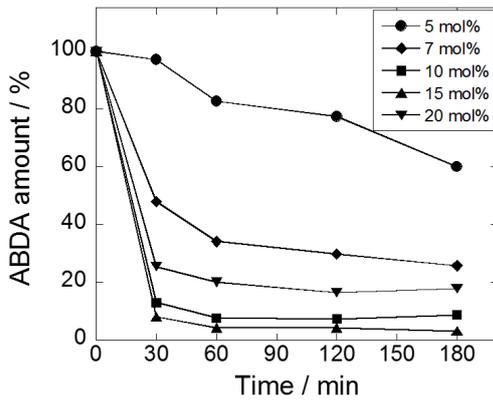


図 4. ナノハイブリッドクラスターへの近赤外光照射による一重項酸素発生に伴う ABDA の分解挙動

ABDA の濃度変化を示す。C<sub>70</sub> 導入量が 5 mol% の場合、ABDA は 3 時間の光照射でも 50 % 以上残存していた。これに対し、C<sub>70</sub> の導入量を多くするにつれ ABDA がより速く分解される傾向が確認され、とりわけ 10~15 mol% の場合には 30 分で 90 % 以上の ABDA が分解され、この C<sub>70</sub> 濃度において一重項酸素が高い効率で発生することが確認できた。

#### 4.3. 多糖ナノゲル-無機ナノ粒子ハイブリッドの合成とバイオ応用

多糖ナノゲルは水中での分散性や生体適合性に優れており、生体・医療分野で幅広い応用がなされている。一方、酸化鉄ナノ粒子は核磁気共鳴診断装置(MRI)の T<sub>2</sub> 造影剤やガン温熱療法(磁気ハイパーサーミア)といったバイオメディカル分野への応用が期待されている。本研究では、生体適合性と分散性に優れた多糖ナノゲルとハイブリッド化したナノ粒子の作製を行った。水熱処理によって表面がオレイン酸で被覆された酸化鉄ナノ粒子を合成した。この酸化鉄粒子をテトラヒドロフランに分散させ、CHP ナノゲル分散溶液にインジェクションすることによって酸

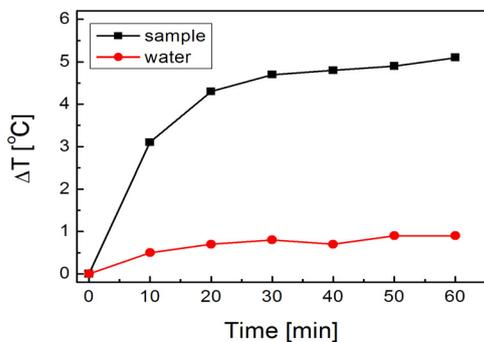


図 5. 交流磁場(360 kHz, 204 Oe)印加時の酸化鉄含有ナノゲルナノゲルハイブリッド分散溶液および水の温度変化

化鉄含有ナノゲルハイブリッド粒子を得た。作製された粒子は水中での高いコロイド安定性を示した。TEM 観察によれば酸化鉄ナノ粒子がクラスターを形成しナノゲルと複合化しており、そのクラスターサイズはインジェクションする酸化鉄ナノ粒子分散液濃度で制御できることが分かった。得られたハイブリッド粒子の MRI 造影能の評価を行ったところ、ハイブリッド粒子の緩和能は既存の T<sub>2</sub> 造影剤である Resovist と同等の緩和能を持つことが確認された。またこのハイブリッド粒子への交流磁場印加による発熱も確認され、磁気ハイパーサーミアへの応用の可能性も示された(図 5)。

#### 4.4. ホウ素中性子捕捉療法に向けた高濃度無機ホウ素含有ナノ粒子の合成

ホウ素中性子捕捉療法(BNCT)は 10B 同位体を含むホウ素薬剤を腫瘍付近に蓄積させ、体外から中性子を照射することで 10B によって α 線や Li イオン線を発生し腫瘍を攻撃するガン治療法の一つである。BNCT 用薬剤としてこれまでホウ素を含む有機分子が多く研究されてきたが、よりホウ素濃度を高くすることが望まれていた。本研究ではホウ素を高い濃度で含有できる無機ナノ粒子を作製し、BNCT 薬剤としての効果を検証した。均一沈殿法によってホウ酸イットリウムアモルファスナノ粒子を合成した。図 6 に示すように、5 nm 以下の超微粒子が得られた。この粒子に対し毒性を軽減させるコンドロイチン硫酸ナトリウムを被覆し、担がんマウスに静脈注射して導入後、腫瘍部位へ中性子線を照射した。図 5 に示すように従来のホウ素薬剤(ボロフェニルアラニン)に比べてより高い腫瘍増殖抑制効果を示した。ホウ素の高濃度化に有利な無機材料と、毒性軽減や腫瘍への集積効果をもつ有機分子との融合によって、バイオメディカル応用に有効な融合マテリアルの創成が可能と考えられる。

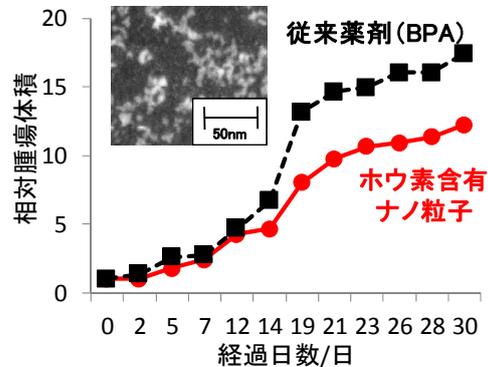


図 6. ホウ素高濃度含有無機ナノ粒子とその BNCT 腫瘍増殖抑制効果

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 28 件)

① \*K. Katagiri, S. Yamazaki, K. Inumaru, K. Koumoto, “Anti-Reflective Coatings Prepared via Layer-by-Layer Assembly of Mesoporous Silica Nanoparticles and Polyelectrolytes”, *Polym. J.*, **47**, 190–194 (2015). (査読有)

DOI: 10.1038/pj.2014.104

② \*K. Katagiri, K. Ohta, K. Sako, K. Inumaru, K. Hayashi, Y. Sasaki, K. Akiyoshi, “Development and Potential Theranostic Applications of a Self-assembled Hybrid of Magnetic Nanoparticle Clusters with Polysaccharide Nanogels”, *ChemPlusChem*, **79**, 1631–1637 (2014). (査読有)

DOI: 10.1002/cplu.201402159

③ \*K. Tomita, “Synthesis of Photofunctional Ceramics by Various Solution Processes”, *J. Ceram. Soc. Jpn.*, **121**, 841–846 (2013). (査読有)

DOI: 10.2109/jcersj2.121.841

④ \*K. Katagiri, H. Inami, K. Koumoto, K. Inumaru, K. Tomita, M. Kobayashi, M. Kakihana, “Preparation of Hollow TiO<sub>2</sub> Spheres of the Desired Polymorphs by Layer-by-Layer Assembly of a Water-Soluble Titanium Complex and Hydrothermal Treatment”, *Eur. J. Inorg. Chem.*, **2012**, 3267–3272 (2012). (査読有)

DOI: 10.1002/ejic.201200421

⑤ \*K. Katagiri, Y. Imai, K. Koumoto, T. Kaiden, K. Kono, S. Aoshima, “Magneto-responsive On-Demand Release of Hybrid Liposomes Formed with Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> Nanoparticles and Thermosensitive Block Copolymers”, *Small*, **7**, 1683–1689 (2011). (査読有)

DOI: 10.1002/sml.201002180

〔学会発表〕(計 161 件)

① K. Tomita, “Parallel Synthesis of Rare Earth Doped Complex Oxide Up Conversion Phosphors using Aqueous Solution Process”, *Materials Science & Technology 2014 (MS&T14)*, Pittsburgh, USA, October 15, 2014.

② K. Katagiri, “Nanoparticle-based colloidal hybrids for biomedical applications”, 10th Pacific Rim Conference on Ceramic and Glass Technology (PACRIM 10), San Diego, CA, USA, June 1–7, 2013.

③ K. Katagiri, “Stimuli-Responsive Smart Hybrid Capsules for On-Demand Delivery System”, 37th International Conference and Expo on Advanced Ceramics and Composites (ICACC’13), Daytona Beach, FL, USA, January 27–February 1, 2013.

④ K. Katagiri, “Colloidal Hybrid Materials Incorporating Magnetic Nanoparticles for Biomedical Application”, The Second International Conference on Small Science (ICSS 2012), Orlando, FL, USA, December 16–19, 2012.

⑤ 片桐清文, “液相プロセスと分子集合体を用いた新規ハイブリッド材料の開発”, 日本セラミックス協会 2011 年 年会, 浜松, 2011 年 3 月 16 日.

〔図書〕(計 7 件)

① 片桐清文, “オンデマンドで内包物を放出するハイブリッドスマートカプセル”, *マイクロ/ナノカプセルの調製、徐放性制御と応用事例*, 田崎裕人企画編集, pp. 50–56, 技術情報協会 (2014). (分担執筆)

② 片桐清文, “ナノハイブリッドのドラッグデリバリー材料への応用”, *ゾル-ゲル法の最新応用と展望*, 野上正行監修, pp. 309–315, シーエムシー出版 (2014). (分担執筆)

③ 富田恒之, 垣花真人, “水溶性原料の開発と材料合成への展開”, *ゾル-ゲル法の最新応用と展望*, シーエムシー出版, 野上正行監修, pp. 13–19 (2014). (分担執筆)

④ K. Katagiri, K. Koumoto “Organic-Inorganic Hybrid Materials Prepared through Supramolecular Assembly”, *Handbook of Advanced Ceramics, Second Edition: Materials, Applications, Processing and Properties*, Ed. Shigeyuki Somiya, Academic Press, pp. 1011–1023 (2013). (分担執筆)

⑤ K. Katagiri, “Functionalized organic-inorganic hybrid hollow spheres fabricated via bioinspired processing”, *Bio-Inspired Materials Synthesis*, Ed. Yanfeng Gao, pp. 123–142, Research Signpost, (2011). (分担執筆)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 3 件)

名称: アップコンバージョン型蛍光体およびその製造方法

発明者: 富田恒之, 播谷聖仁

権利者: 同上

種類: 特許

番号: 特願 2013-170551

出願年月日: 2013 年 8 月 20 日

国内外の別: 国内

名称: ホウ素中性子捕捉療法用組成物およびその製造方法

発明者: 長崎健, 富田恒之

権利者：同上  
種類：特許  
番号：特願 2013-44160  
出願年月日：2013 年 3 月 6 日  
国内外の別：国内

名称：アップコンバージョン型蛍光体  
発明者：成瀬則幸, 富田恒之  
権利者：同上  
種類：特許  
番号：特願 2011-201687  
出願年月日：2011 年 9 月 15 日  
国内外の別：国内

○取得状況（計 0 件）

〔その他〕  
ホームページ等  
<https://www.fusion-materials.org/>

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

片桐 清文 (KATAGIRI, Kiyofumi)  
広島大学・大学院工学研究院・准教授  
研究者番号：30432248

### (2)研究分担者

富田 恒之 (TOMITA, Koji)  
東海大学・理学部・講師  
研究者番号：00419235