

令和 5 年 6 月 12 日現在

機関番号：12608

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K05273

研究課題名(和文) 中空構造を持つ機能性ナノシートの創製と2次元ナノカプセルとしてのDDS応用

研究課題名(英文) Preparation of functional hollow nanosheets for DDS applications as a two-dimensional nanocapsule

研究代表者

井戸田 直和 (Idota, Naokazu)

東京工業大学・科学技術創成研究院・助教

研究者番号：60451796

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、層状六ニオブ酸塩の層間選択的な表面修飾・分子導入・層剥離によって中空構造を持つ機能性2層ナノシートを調製し、薬物送達システム用の2次元ナノカプセルとしての機能性を評価した。中空構造となるナノシート層間にはガドリニウムを担持させ、ナノシート表面には生体適合性ポリマーを修飾した。得られた試料は、水中での高い分散安定性を示し、顕著に水の磁気緩和時間が短縮したことから、造影剤ナノキャリアへ応用できる可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で開発した2層ナノシートは、層状化合物に特有の層間イオン交換性とナノシートの2次元性を併せ持つ新規なナノ材料であり、その中空かつ平面的な構造特性は過去にないDDSナノキャリアとして学術的な独創性を持つ。また、本研究で実現したナノ構造体の位置選択的な表面修飾は、ナノ材料に付与した機能を効果的に発揮するパターンニング技術としても利用価値があり、様々な分野におけるナノ材料の応用研究において波及できる技術である。

研究成果の概要(英文)：In this study, we prepared a functional double-layered nanosheet with a hollow structure by site-selective process of surface modification, molecular introduction, and exfoliation using layered hexaniobate. Functionalities of the nanosheets was evaluated to use as a two-dimensional nanocapsule for drug delivery systems. Gadolinium ions were loaded into the nanosheet interlayers, and biocompatible polymers were modified on the nanosheet surfaces. The obtained sample showed high dispersion stability in water and markedly shortened the magnetic relaxation time of water compared with the absence of nanosheets, suggesting the possibility of application as a contrast agent nanocarrier.

研究分野：複合材料工学、高分子化学、生体材料工学

キーワード：層状ニオブ酸塩 有機ホスホン酸 原子移動ラジカル重合 ガドリニウム 層間表面修飾 ナノシート

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 薬物を目的の患部に運び、任意のタイミングで薬効を発揮する薬物送達システム (DDS) は、夢の医薬製剤として有機系・無機系を問わず多くの DDS キャリアが提案されている。DDS キャリアの形態はナノ粒子が主流であるが、近年では細胞取込などの構造特性に着目したナノロッドやナノシートなど様々なナノ構造体も報告されている。中でもナノ構造体の内部が空洞である中空構造は内部に薬物を安定に保持でき、外殻に生体適合性や標的指向性などの機能を付与できるため、DDS キャリアにおいて優れた構造といえる。このような中空ナノ構造は、粒子形状ではリポソーム、ロッド形状ではナノチューブなどが報告されているが、平面性の高いナノシートの構造を維持したまま精密に中空化する DDS 研究は過去に例がない。

(2) 層状無機化合物である $K_4Nb_6O_{17}$ は、異なる反応性の層間と層間が交互に積層した構造であり、イオン交換によるインターカレーションや層を構成する $[Nb_6O_{17}]^{4-}$ 表面への有機修飾によって、様々な分子を選択的に層間に導入することができる。また、層間表面でのポリマー生長により片方の層間のみを選択的に剥離したナノシートとして回収することも可能である。この手法を応用して、層間へ選択的に有機分子を修飾した後、片方の層間を剥離させることで2層構造を持つ有機修飾ナノシートを合成できる。このような2層ナノシートは、中空構造のようにシート層間で薬物を安定に保持し、シートの高い比表面積の平面性によって大量の薬物導入が期待できる。また、外殻となるシート表面には様々な有機分子を導入できることから、生体適合性や標的指向性の機能付与も可能である。

2. 研究の目的

本研究では、 $K_4Nb_6O_{17}$ の層間選択的な表面修飾・分子導入・層剥離によって薬物を担持した有機修飾2層ナノシートを開発する。ナノシートに担持させる薬物としてガドリニウム (Gd) を用いる。Gd は、きわめて高い熱中性子捕獲断面積や水和水の短い緩和時間から、中性子捕捉療法の放射線増感剤や MRI 診断の造影剤における元素として利用されている。Gd は重金属毒性があるためキレート剤を用いた薬剤が市販されている一方、代謝によって体外に排泄されやすいため大量の薬剤を投与する必要があり毒性リスクには課題が残る。本研究では、2層ナノシートの層間に Gd イオンを担持させ、ナノシート表面に生体適合性を有する親水性ポリマーを修飾することで、DDS における2次元ナノキャリアとしての機能性を評価する (図1)。このような2次元ナノキャリアの実現により以下のような機能が期待できる。

- ・ 表面積の大きいナノシート層内への Gd の大量導入やカプセル化による毒性の抑制
- ・ ナノシート層間の微小空間に閉じ込められた Gd 周辺の水分子の緩和短縮効果
- ・ ナノシートの表面修飾やナノサイズ効果による組織選択的な標的指向性とステルス性

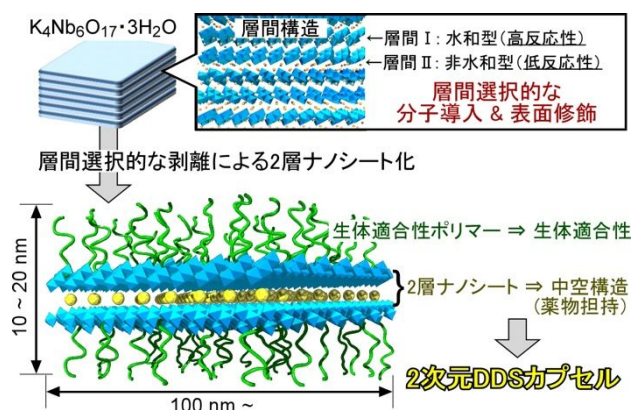
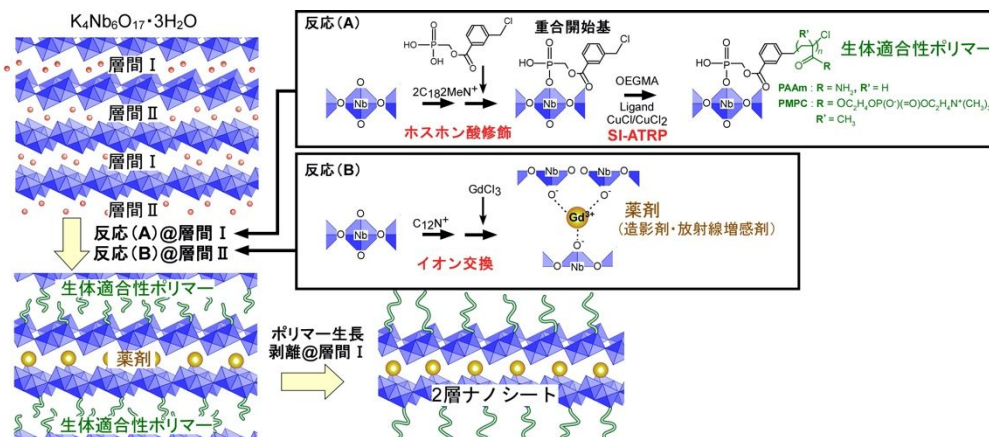


図1 層状六ニオブ酸塩を用いた2次元DDSカプセル

3. 研究の方法

K_2CO_3 と Nb_2O_5 の湿式混合・焼成により $K_4Nb_6O_{17}$ を合成し (NbO)、その層間表面への生体適合性ポリマー修飾と層間への薬物導入を行った (図2)。反応性の高い層間に嵩高いジオクタデシルジメチルアンモニウムイオンを導入して層間距離を一時的に拡張し ($2C_{18}$ -NbO)、重合開始基を持つホスホン酸誘導体と反応させることで層間の表面に重合開始基を修飾した (CPMP-NbO)。その後、反応性の低い層間にドデシルアンモニウムイオンを導入することで層間距離を一時的に拡張し (CPMP- C_{12} -NbO)、 $GdCl_3$ とイオン交換することで層間に Gd イオンを導入した (CPMP-Gd-NbO)。この試料を用いて表面開始原子移動ラジカル重合 (SI-ATRP) 法によりポリアクリルアミド (PAAm-Gd-NbO) またはポリ(2-メタクリロイルオキシエチルホスホリルコリン) (PMPC-Gd-NbO) を修飾した。ポリマー生長により積層の相互作用を弱めることで、自発的に層間を剥離した2層ナノシートを反応液の上澄みから回収した。各反応における

生成物について、X線回折 (XRD), 赤外分光 (IR), 固体核磁気共鳴 (NMR), 誘導結合プラズマ (ICP), 走査型電子顕微鏡 (SEM), 透過型電子顕微鏡 (TEM), 原子間力顕微鏡 (AFM), 動的分散 (DLS) により解析した。また、反応物を重水 (D_2O) に分散させた試料を用い、液体 NMR のスピン-格子緩和時間 (T_1) の測定から、2層ナノシートの導入による磁気緩和時間の短縮効果を評価した。



4. 研究成果

逐次的な $K_4Nb_6O_{17}$ 層間への分子導入および表面修飾を行った結果、それぞれの試料は、IR スペクトルから導入した有機分子の存在が確認され (図3)、ICP 測定結果から反応の進行に伴う層間の K 原子の減少と層間に修飾したホスホン酸誘導体由来の P 原子と層間に導入した Gd 原子の存在が確認された。これらの結果は、段階的に目的物質が層間に導入されていることを示している。また、XRD パターンから層間と層間を合わせた層間隔を示す (020) 面の d 値が変化した。高いアルキルアンモニウムを導入した試料 ($2C_{18_NbO}$, $CPMP_C_{12_NbO}$) では、NbO の層間隔 ($d = 1.85$ nm) から大きく拡大したのに対し、Gd イオンやホスホン酸誘導体に置換した試料ではそれらの値よりも小さくなり、層間や層間へ選択的に目的物質が導入されていることを示唆している。一方で、SI-ATRP によりポリマーを修飾した試料 ($PAAm_Gd_NbO$) では、層間隔を示す回折ピークが消失しており、積層構造の規則性が崩れたと考えられる。実際に SEM 観察から、層間へのホスホン酸誘導体の修飾と層間への Gd イオンの導入後では、未処理の NbO と同様の板状形態が観察されたのに対し、SI-ATRP 後にはシートが剥離して固まったような塊状形態が見られた。この結果から、SI-ATRP により積層した $K_4Nb_6O_{17}$ がナノシートへと剥離したことが示唆される。

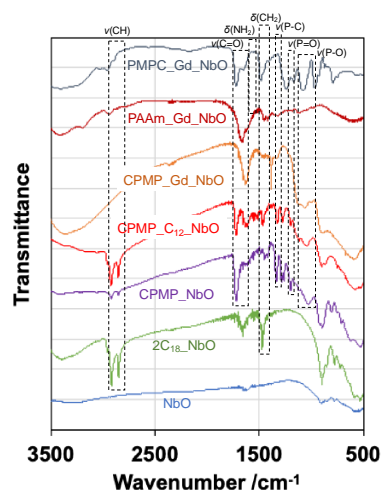


図3 層間反応後の試料のIRスペクトル

SI-ATRP により得られた試料の AFM および TEM 観察から、15 nm 程度の厚さのシート状形態が観察され (図4)、DLS 測定結果では 200 nm 程度の粒径を示した。これらの試料は、水中において長期にわたって分散性を維持していた。これは修飾したポリマーの親水性によって、NbO と水との親和性が向上したことに由来すると考えられる。このような親水性の生体適合ポリマーを持つ 100 nm オーダーのナノ構造体は、DDS ナノキャリアとして標的指向性やステルス性が数多く報告されており、この2層ナノシートも利用できる可能性がある。このナノシートの D_2O 分散液の NMR 測定から、 D_2O のみと比較して有意に T_1 が減少しており、緩和短縮効果が生じたと考えられる。緩和短縮効果は MRI 診断の画像信号を増強する役割があり、2層

ナノシートが Gd ナノキャリアへ応用できる可能性が示唆された。また、Gd イオン未導入のナノシートにおいても緩和短縮効果が見られており、ナノシート層間の制限された空間では水分子の運動性が抑制されて T_1 が減少していると考えられる。このようなナノシート層間と Gd イオンとの相乗効果により、効果的な緩和短縮効果が期待できる。

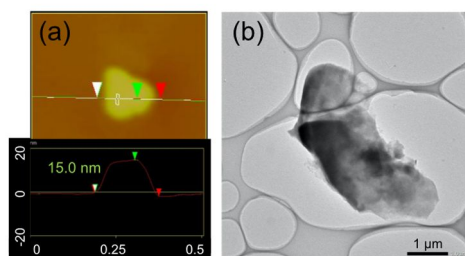


図4 Gd担持2層ナノシートの顕微鏡像.
(a) AFM, (b) TEM.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Kamibe Takuma, Regis Guegan, Kunitake Masashi, Tsukahara Takehiko, Idota Naokazu, Sugahara Yoshiyuki	4. 巻 51
2. 論文標題 Preparation of double-layered nanosheets containing pH-responsive polymer networks in the interlayers and their conversion into single-layered nanosheets through the cleavage of cross-linking points	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Dalton Transactions	6. 最初と最後の頁 6264 ~ 6274
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/d1dt04355b	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Suzuki Ryoko, Nagai Tomoki, Onitsuka Emika, Idota Naokazu, Kunitake Masashi, Nishimi Taisei, Sugahara Yoshiyuki	4. 巻 51
2. 論文標題 Preparation of water-dispersible Janus nanosheets from K4Nb6O17·3H2O and their behaviour as a two-dimensional surfactant on air-water and water-toluene interfaces	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Dalton Transactions	6. 最初と最後の頁 3625 ~ 3635
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/d1dt03647e	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Sugaya Takeshi, Regis Guegan, Idota Naokazu, Tsukahara Takehiko, Sugahara Yoshiyuki	4. 巻 36
2. 論文標題 Highly Efficient Surface Modification of Layered Perovskite Nanosheets with a Phosphorus Coupling Reagent Making Use of Microchannels	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Langmuir	6. 最初と最後の頁 7252 ~ 7258
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.langmuir.0c00560	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Suzuki Ryoko, Idota Naokazu, Nishimi Taisei, Sugahara Yoshiyuki	4. 巻 49
2. 論文標題 Dual-functional Janus Nanosheets with Cation Exchangeability and Thermo-responsiveness Prepared via Regioselective Modification of K4Nb6O17·3H2O	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Chemistry Letters	6. 最初と最後の頁 1058 ~ 1061
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1246/cl.200300	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計9件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 3件）

1. 発表者名 Takuma Kamibe, Regis Guegan, Masashi Kunitake, Takehiko Tsukahara, Naokazu Idota, Yoshiyuki a Sugahara
2. 発表標題 Preparation of double-layered nanosheets containing pH-responsive polymer networks in the interlayers and their conversion into single-layered nanosheets through cleavage of cross-linking points.
3. 学会等名 Pacifichem 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Shingo Machida, Naokazu Idota, Yoshiyuki Sugahara
2. 発表標題 Grafting reaction of trimethylphosphate onto interlayer surfaces of kaolinite.
3. 学会等名 Pacifichem 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Ryoko Suzuki, Mitsuhiro Sudo, Megumi Hirano, Naokazu Idota, Masashi Kunitake, Taisei Nishimi, Yoshiyuki Sugahara
2. 発表標題 Preparation of Janus nanosheets via regioselective interlayer surface modification of potassium hexaniobate and subsequent exfoliation
3. 学会等名 14th Pacific Rim Conference on Ceramic and Glass Technology (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 鈴木 涼子, 永井 友樹, 鬼束 優香, 井戸田 直和, 國武 雅司, 西見 大成, 菅原 義之
2. 発表標題 水分散性ヤヌスナノシートの作製とその界面活性
3. 学会等名 日本セラミックス協会 第34回秋季シンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山田 賢吾、井戸田 直和、山下 明泰
2. 発表標題 光酸発生剤を内包したpH応答性ハイドロゲルからの薬物の制御放出
3. 学会等名 化学工学会 第51回秋季大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 香村 惇夫、井戸田 直和、菅原 義之
2. 発表標題 ビリジン-N-オキソドを用いたテトラクロロ鉄(III)酸アニオンのマグネタイトナノ粒子への変換
3. 学会等名 第39回無機高分子研究討論会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Risa Inuizawa, Yusuke Shimizu, Atsuo Kamura, Naokazu Idota, Taisei Nishimi, Regis Guegan, Takehiko Tsukahara, Yoshiyuki Sugahara
2. 発表標題 Synthesis of magnetite nanoparticles using reverse micelle method in a microchannel
3. 学会等名 第60回 セラミックス基礎科学討論会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Shoya Fujita, Tomoki Nagai, Ryoko Suzuki, Regis Guegan, Naokazu Idota, Emika Onitsuka, Masashi Kunitake, Taisei Nishimi, Yoshiyuki Sugahara
2. 発表標題 Effect of lateral size on surfactant behavior of Janus nanosheets prepared from layered hexaniobate via regioselective interlayer surface modification
3. 学会等名 粉体粉末冶金協会 2022年度春季大会 (第129回講演大会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 井戸田直和、石川良祐、上邊卓麻、菅原義之、塚原剛彦
2. 発表標題 生体適合性ポリマーを修飾したGd担持2層ナノシートの創製
3. 学会等名 ナノ学会第21回大会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	菅原 義之 (Sugahara Yoshiyuki) (50196698)	早稲田大学・理工学術院・教授 (32689)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------