

機関番号：24403

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2009 ～ 2010

課題番号：21700491

研究課題名 (和文) 癌転移に応答するドラッグデリバリーシステムの構築

研究課題名 (英文) Construction of drug delivery systems involving metastasis

研究代表者

児島 千恵 (KOJIMA CHIE)

大阪府立大学・21世紀科学研究機構・講師

研究者番号：50405346

研究成果の概要 (和文)：

我々は、薬物結合高分子を包埋したコラーゲンゲルが転移性腫瘍細胞に対して選択的な薬理活性を示すことを明らかにしてきた。本研究では、薬物結合高分子にポリグルタミン酸を用いると腫瘍細胞に対する選択性が向上すること、薬物結合高分子をコラーゲンペプチドで修飾すると薬理活性が向上することがわかった。これらの薬物結合高分子-コラーゲンハイブリッドゲルは転移性腫瘍細胞を標的としたドラッグデリバリー材料として有用であることが示唆された。

研究成果の概要 (英文)：

We have studied drug delivery system involving metastasis for cancer therapy. Collagen gels containing drug-conjugated dendrimer exhibited the selective drug action against highly metastatic breast tumor cells. In this study, drug-conjugated poly(glutamic acid) enhanced the selectivity in metastasis, and modification of collagen peptide was influenced on the drug action. Collagen peptide-modified dendrimer with anticancer drugs via hydrazone bond showed the antitumor growth activity. Therefore, this kind of material is useful for a novel type of drug delivery system.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,800,000円	540,000円	2,340,000円
2010年度	1,600,000円	480,000円	2,080,000円
年度			
年度			
年度			
総計	3,400,000円	1,020,000円	4,420,000円

研究分野：人間医工学

科研費の分科・細目：医用生体工学・生体材料学

キーワード：薬物輸送、ゲル、ナノ医療、高分子材料、乳癌

## 1. 研究開始当初の背景

厚生労働省の統計によると、日本の死因の第一位は悪性新生物（癌）であり、癌による死亡数は年々増加傾向にある。女性においては乳癌の罹患率が最も高いことから、児島は**乳癌治療**のための新しいドラッグデリバリーシステム (DDS) 材料として、**乳癌細胞の**

**転移能と連動した新しいDDS**に関する研究を行ってきた。ポリエチレングリコール (PEG) を修飾した dendrimer に抗癌剤を結合させた薬物結合高分子を包埋したコラーゲンゲルを作製した。その薬理活性を検討したところ、転移性の低い乳癌細胞に対して、転移性の高い乳癌細胞の方が高い薬理活性を示

した。しかし、その薬理活性や転移性細胞選択性は改善の必要があった。また、in vivo における抗腫瘍効果は明らかにはなっていなかった。

## 2. 研究の目的

本研究では、上記の転移性乳癌に対する新しい DDS 材料に関して、これを改善することによって、より効果的な薬物送達を実現することを目的とした。上記の DDS 材料はコラーゲンゲルと抗癌剤結合高分子からなる。これまでの研究では PEG を修飾した dendrimer に抗癌剤を結合させたものを用いてきたが、抗癌剤単独と比べて薬理活性が低いため、その改善が必要であった。上記の薬物結合高分子は、PEG 部分と dendrimer 部分に分けられる。本研究では、まず高分子の主鎖構造の影響と薬理活性や細胞選択性との関係について検討した。一方、PEG は非特異吸着を抑制する一方で、細胞との相互作用も抑制してしまう。そこで、dendrimer 表面に PEG の代わりに細胞接着性を示すコラーゲンペプチドを結合することで、薬理活性の向上を検討した。また、in vivo における抗腫瘍効果についても検討を行った。

## 3. 研究の方法

本研究では、以下の3項目について検討した。

### (1) 高分子構造が薬理活性に及ぼす影響の検討

ポリアミドアミン dendrimer の代わりに直鎖状のポリグルタミン酸を用い、ヒドロジド結合を介して抗がん剤アドリアマイシン (ADR) を結合させた。得られた化合物は NMR や UV-Vis スペクトルなどによって同定した。これを包埋したコラーゲンゲルを作製し、転移性が高い MDA-MB-231 細胞と転移性が低い MCF7 細胞に対する細胞毒性を MTT アッセイによって解析した。

### (2) コラーゲンペプチドによる薬理活性の改善

PEG に代えて、分子量 2k と 5k のコラーゲンペプチドを dendrimer の末端に結合させた抗癌剤結合 dendrimer を合成した。

(1) と同様の方法で解析した。

### (3) モデル動物における抗腫瘍効果の検証

$1 \times 10^6$  の MDA-MB-231 細胞をヌードマウスに導入し、担癌マウスを作製した。腫瘍が  $150\text{mm}^3$  になった段階で、2) で作製した DDS 材料を ADR 6mg/kg となるように患部に注入し、腫瘍サイズを経時的に追跡した。比較として、抗癌剤そのものを包埋したコラーゲンゲルおよび抗癌剤を含まないコラーゲンも合わせて検討した。なお、本研究項目は連携研究者の乾隆教授 (大阪府立大学、生命科学研究科) の協力を得て行った。本研究での実験動物の取り扱いにあたっては、大阪府立大

学生命環境科学部実験ガイドラインに基づいて施行して動物が受ける苦痛を最小限に留めた。

## 4. 研究成果

### (1) 高分子構造が薬理活性に及ぼす影響

16 分子の ADR が結合したポリグルタミン酸が作製できた。この高分子を包埋したコラーゲンゲルでは、dendrimer と比較して、抗癌剤の放出が著しく抑制されることがわかった。このハイブリッドゲルの細胞毒性を検討したところ、薬理活性は dendrimer と比べてむしろ減弱したが、転移性細胞に対する選択性は高くなった。これはゲルからの放出が抑制されることでゲルからの拡散が抑制され、転移性が低い細胞への薬理活性が低減したためと考えられる。

### (2) コラーゲンペプチドによる薬理活性の改善

分子量 2k と 5k のコラーゲンペプチドは dendrimer の末端に対して、それぞれ 83%、66% 結合することができた。ADR の結合量は 26 分子、29 分子であった。この高分子をハイブリッドしたコラーゲンゲルの細胞毒性を検討したところ、薬理活性が著しく向上し、ADR 単独と同程度まで改善した。これは、結合したコラーゲンペプチドの細胞接着性により、細胞との相互作用が向上したためと考えられる。

### (3) モデル動物における抗腫瘍効果

抗癌剤を含まないコラーゲンを投与した場合、12 日後に  $1500\text{mm}^3$  に達するのに対して、抗癌剤そのものを包埋したコラーゲンゲルでは、1 か月後に  $1500\text{mm}^3$  に達した。一方、2) で作製した DDS 材料では、1 か月後でも  $800\text{mm}^3$  足らずまでしか成長しなかった。以上より、本研究で作製した DDS 材料はこれまでの材料と比較してより効果的な DDS 材料であることがわかった。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 5 件)

- ① T. Suehiro, T. Tada, T. Waku, N. Tanaka, C. Hongo, S. Yamamoto, A. Nakahira, C. Kojima, Temperature-dependent higher order structures of the (Pro-Pro-Gly)<sub>10</sub>-modified dendrimer, *Biopolymers*, 95, 270-277 (2011). 査読有
- ② T. Suehiro, C. Kojima, S. Tsumura, A. Harada, K. Kono, Higher order structure of short collagen model peptides attached to dendrimers and linear polymers, *Biopolymers*, 93, 640-648

(2010). 査読有

- ③ C. Kojima, Design of stimuli-responsive dendrimers, *Expert Opin Drug Delivery*, 7, 307-319 (2010). 査読有
- ④ 児島千恵、 dendリマーを利用した機能性ナノバイオ材料、*化学と工業*、63、573、(2010)。査読無
- ⑤ C. Kojima, S. Tsumura, A. Harada, K. Kono, A collagen-mimic dendrimer capable of controlled release, *J. Am. Chem. Soc.*, 131, 6052-6053 (2009). 査読有

[学会発表] (計 20 件)

- ① Temperature-Sensitivity of Hydrogels Made from Collagen-Mimic Dendrimers, C. Kojima, T. Suehiro, ICBS2011, Tsukuba, Japan, 2011/3/18
- ② C. Kojima, Temperature-Dependent Self-Assembly of Collagen-Mimic Dendrimers with Pro-Hyp-Gly Repeats, 5th IPS, Kyoto, Japan, 2010/12/4
- ③ 児島千恵、末廣智幸、コラーゲン dendリマーを用いた温度応答性ハイドロゲルの作製、第 32 回日本バイオマテリアル学会大会、グランドプリンスホテル広島、平成 22 年 11 月 29 日
- ④ C. Kojima, PEGylated dendrimers for cancer therapy, 1st Annual Inaugurate Symposia on Cancer Drug Discovery, Beijing, China, 2010/10/25
- ⑤ C. Kojima, Controlled release from collagen-mimic nanoparticles, ICNAMS-2010, Kolhapur, India, 2010/10/21
- ⑥ 児島千恵、末廣智幸、山本真矢、多田朋子、和久友則、田中直毅、中平敦、コラーゲン dendリマーの高次構造形成性におけるペプチド鎖長と配列の影響、第 59 回高分子討論会、北海道大学、平成 22 年 9 月 15 日
- ⑦ 児島千恵、末廣智幸、 dendリマー表層に集積したコラーゲンモデルペプチドの高次構造形成性、第 20 回バイオ・高分子シンポジウム、東京大学、平成 22 年 7 月 28 日
- ⑧ C. Kojima, E. Nishisaka, M. Ogawa, T. Suehiro, A. Harada, Y. Magata, K. Kono, Drug Delivery to Metastatic Tumor Cells Using Collagen Peptide-Modified Dendrimers-Hybrid Gels, 第 59 回高分子学会年次大会、パシフィコ横浜、平成 22 年 5 月 26 日
- ⑨ C. Kojima, T. Suehiro, S. Tsumura, Higher order structure of collagen-mimic dendrimers, Gelsympo 2009, Osaka, Japan, 2009/12/2

- ⑩ 児島千恵、ドラッグデリバリーシステムへの応用のための dendリマーの表面修飾、第 19 回日本MRS学術シンポジウム、波止場会館、平成 21 年 12 月 8 日
- ⑪ 末廣智幸、児島千恵、(Pro-Pro-Gly)<sub>10</sub> ペプチド結合コラーゲン擬似 dendリマーの高次構造の温度依存性、第 19 回日本MRS学術シンポジウム、波止場会館、平成 21 年 12 月 8 日
- ⑫ 児島千恵、末廣智幸、津村清子、コラーゲン dendリマーで高次構造を誘起するためのペプチド鎖長と配列の最適化、第 31 回日本バイオマテリアル学会大会、京都テルサ、平成 21 年 11 月 17 日
- ⑬ 西阪瑛子、末廣智幸、児島千恵、原田敦史、河野健司、様々な薬物結合高分子を包埋したコラーゲングルによる転移性癌細胞への選択的薬理活性、第 58 回高分子討論会、熊本大学、平成 21 年 9 月 18 日
- ⑭ 児島千恵、津村清子、末廣智幸、原田敦史、河野健司、高分子への修飾によって誘起されるコラーゲンモデルペプチドの高次構造形成性、第 58 回高分子討論会、熊本大学、平成 21 年 9 月 16 日
- ⑮ 末廣智幸、津村清子、児島千恵、コラーゲンモデルペプチド結合 dendリマーにおけるペプチド鎖の伸長効果、第 58 回高分子討論会、熊本大学、平成 21 年 9 月 16 日
- ⑯ 末廣智幸、西阪瑛子、児島千恵、原田敦史、河野健司、コラーゲンペプチド修飾高分子を包埋したコラーゲングルの転移性腫瘍細胞に対する選択的細胞毒性、日本バイオマテリアル学会第 4 回関西若手研究発表会、大阪大学、平成 21 年 8 月 7 日
- ⑰ 児島千恵、西阪瑛子、末廣智幸、原田敦史、河野健司、癌細胞の転移に呼応して薬剤活性を示す dendリマーとコラーゲンのハイブリッドゲルの作製、第 38 回医用高分子シンポジウム、東京大学、平成 21 年 7 月 28 日
- ⑱ 西阪瑛子、末廣智幸、児島千恵、原田敦史、河野健司、抗癌剤結合ポリグルタミン酸包埋コラーゲングルの転移性癌細胞に対する毒性評価、第 25 回日本DDS学会学術集会、東京ドームホテル、平成 21 年 7 月 3 日
- ⑲ C. Kojima, S. Tsumura, A. Harada, K. Kono, Temperature-dependent functions of collagen model peptides-modified dendrimers, 第 58 回高分子学会年次大会、神戸国際会議場、平成 21 年 5 月 21 日
- ⑳ 末廣智幸、西阪瑛子、児島千恵、原田敦史、河野健司、コラーゲンペプチド修飾 dendリマーを包埋したゲルの調整とその転移性腫瘍細胞への細胞毒性、第 58 回高分子学会年次大会、神戸国際会議場、平成 21 年 5 月 21 日

〔産業財産権〕

○出願状況（1件）

名称：人工コラーゲンゲル

発明者：児島千恵、末廣智幸

権利者：大阪府立大学

種類：特許

番号：特願 2010-190820

出願年月日：平成 22 年 8 月 27 日

国内外の別：国内

〔その他〕

ホームページ：

<http://www.nanosq.21c.osakafu-u.ac.jp/t>

[tsl\\_lab/c\\_kojima/index.html](http://www.nanosq.21c.osakafu-u.ac.jp/tssl_lab/c_kojima/index.html)

受賞：Chie Kojima、Luis Moroder Award  
(5IPS)、Kyoto, Japan, 2010/12/9

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

児島 千恵 (KOJIMA CHIE)

大阪府立大学・21 世紀科学研究機構・講師

研究者番号：50405346

### (2) 連携研究者

乾 隆 (INUI TAKASHI)

大阪府立大学・生命環境科学研究科・教授

研究者番号：80352912