

令和 6 年 5 月 15 日現在

機関番号：17601

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K14473

研究課題名（和文）腫瘍組織特有環境にตอบสนองして薬剤放出する金属ペプチド構造体キャリアの開発

研究課題名（英文）Development of metal-peptide frameworks carriers releasing drugs in response to the tumor microenvironment

研究代表者

稲田 飛鳥（Inada, Asuka）

宮崎大学・工学部・助教

研究者番号：10803835

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：がんの投薬治療は様々な副作用をもたらす、患者に大きな負担を与えるため、早期治療と副作用低減には、患部に薬物を効率的に送達できることや、患部到達後に薬物を速やかに放出できることが求められる。そのために、本研究では新たに生体分子を用い、また、還元条件で崩壊する金属有機構造体を創製し、薬物送達キャリアとしての応用を試みた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

がんの投薬治療は様々な副作用をもたらす、患者に大きな負担を与える。早期治療と副作用低減には、患部に薬物を効率的に送達する標的指向性、および到達後に薬物を速やかに放出する放出制御性を有する薬物送達キャリアの開発が求められる。本研究では、これらの要件に加えて、さらに大担持容量、高安定性、および高生分解性を兼ね備えた、グルタチオン応答型の金属有機構造体を創製し、抗がん剤送達キャリアとしての利用を検討した。本研究で創製した送達キャリアは実際にpH応答性と還元応答性を持つことが確認され、次世代の薬物送達キャリアとして利用できることが期待される。

研究成果の概要（英文）：Since cancer drug therapy causes various side effects and places a heavy burden on patients, efficient drug delivery to the affected area and rapid drug release after reaching the affected area are required for early treatment and reduction of side effects. In this study, we have developed new biomolecules and metal-organic structures that disintegrate under reducing conditions, and attempted to apply them as drug delivery carriers.

研究分野：バイオ機能応用

キーワード：金属有機構造体 薬物送達システム DDS ペプチド 還元応答性

1. 研究開始当初の背景

がんの克服は 21 世紀医療の最大の課題の 1 つとされ、抗がん剤の投与による化学療法は有望ながん治療法の 1 つである。抗がん剤を患部にのみ選択的かつ集中的に送達できる薬物送達システム (DDS) は長らく注目され、多くの手法が提案されてきた。正常細胞に影響を及ぼして重篤な副作用をもたらす抗がん剤の DDS において重要視されてきたのは、腫瘍部へ選択的に抗がん剤を送達する標的指向性と、患部送達後に担体に保持されていた薬物の放出制御性である。標的指向性については、高分子やナノ粒子ががん組織に集積しやすい EPR 効果や、がん組織に特異的に結合する RGD 配列ペプチドを導入した高分子キャリア等が利用されてきた。他方、放出制御性については、がん特有の条件である、酸性度、酵素活性、酸化還元特性等を利用した刺激応答性の抗がん剤キャリアが近年注目されており、特に pH 刺激に応答して内包する抗がん剤を放出するキャリアの開発が盛んに行われている。しかしながら、これらの刺激応答性キャリアは薬剤担持容量が低いことや、血中での安定性が低いこと、生分解性が低い等の問題があり、現時点で実用化には至っていない。

2. 研究の目的

抗がん剤送達システムにおける理想的なキャリアは、正常細胞に影響を与えず、腫瘍細胞にのみ選択的・集中的に抗がん剤を送達する標的指向性、到達後は速やかに保持している薬物を放出する放出制御性に加えて、大担持容量、高安定性、高生分解性であることが求められる。そのため、これらの要素を全て満たすキャリア開発が達成されれば、がん治療に向けた次世代型の抗がん剤送達キャリアとしての可能性が拓かれる。本研究では、上記の課題をするために、がん細胞への取り込みをトリガーとして、内部空間に包接する抗がん剤を速やかに放出するペプチドやアミノ酸を配位子とした金属有機構造体キャリアの開発を目的とする。

本研究では、がん細胞内に豊富に存在する抗酸化物質であるグルタチオンに着目し、薬物放出トリガーとして利用する。システイン 2 分子がジスルフィド結合したシスチンを配位子とした金属有機構造体を創製する。グルタチオンの還元作用でジスルフィド結合は開裂するため、このキャリアはがん細胞内に取り込まれることで崩壊し、内部に包接していた抗がん剤を速やかに放出することが期待される。

3. 研究の方法

システイン 2 分子がジスルフィド結合した L-シスチンを配位子として、金属イオン(銅、ニッケル、亜鉛)と錯体形成反応をさせることにより、金属と L-シスチンの複合体を合成した。Tris(hydroxymethyl)aminomethane を蒸留水に溶解させ、塩酸を加え、pH 8 に調整した Tris-HCl 緩衝液を調製した。また、蒸留水と水酸化ナトリウム水溶液を用いて pH 12 の 50 mM の L-Cystine 溶液を調製した。一方で、金属塩化物(NiCl₂・6H₂O、CuCl₂・2H₂O、ZnCl₂) はメタノールに溶解させ、100 mM の溶液を調製した。Tris-HCl 緩衝液 470 mL に L-Cystine 溶液 (50 mM、pH 12) 20 mL を加え、混合し、さらにこの溶液に金属塩化物のメタノール溶液 10 mL を滴下した。析出した固体をそれぞれろ過し、風乾させた、物性評価を行った。また、金属イオン(銅、ニッケル、亜鉛)と L-シスチンの錯体形成反応で得られた複合体の薬物送達キャリアとしての評価も行った。モデル薬物としては、クルクミン (Cur) を用いた。Cur を包接した CysMOF (Cur@Ni、Cu、Zn-CysMOF) の 3 種類を用いて、キャリアからのクルクミンの放出速度評価を行った。pH 5.4 と pH 7.4 のがん細胞に豊富に存在するとされる還元物質のグルタチオン (GSH) を含む PBS に Cur@CysMOF を透析チューブ内に入れた。この透析膜を 30 % MeOH の PBS (pH 5.4、7.4) 30 mL 中に入れ、37 °C、最大 24 時間攪拌し、その間一定時間ごとに透析膜外部の溶液の分析することで、クルクミンの溶出速度を評価した。

4. 研究成果

得られた固体の粉末 X 線回折を測定したところ、ニッケルを除く銅と亜鉛の構造体については、結晶構造を示す複数のピークが確認され、金属と L-シスチンの複合体の合成の成功が示唆された。ニッケルを含む複合体はアモルファスであることが示唆された (図 1)。これらの形態は走査型電子顕微鏡によっても確認された (図 2) これらの複合体に Cur を含浸させ、内包させて薬物とキャリアの複合体を調製した。Cur@CysMOF は、pH 5.4 条件下でクルクミンを放出することが確認できた。pH の変化によって、CysMOF は崩壊し、

薬物を放出することが示唆された。pH 5.4 条件下では、5%程度グルタチオン存在下の方が薬物放出量は大きくなることが確認された。また、pH 7.4 の条件では、グルタチオン存在下であってもクルクミンはほとんど放出されず、pH 5.4 条件では、グルタチオン存在下においてのみ 24 時間後に約 19%の薬物放出が確認された。したがって、グルタチオン及び、pH にたいして応答性を有する薬物送達キャリアの開発に成功した。

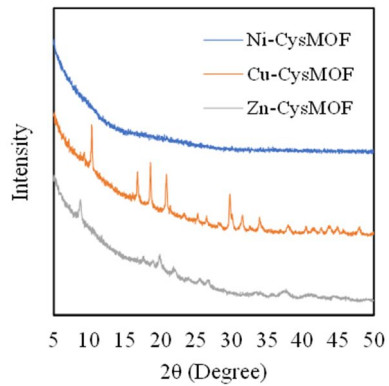


図 1 . シスチン-金属複合体の XRD パターン.

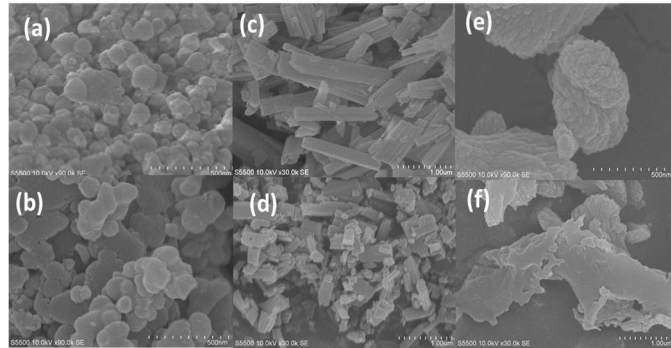


図 2 . 創製した CysMOF の各種金属イオンの電子顕微鏡像. (a) Ni-CysMOF, (b) Cur@Ni-CysMOF at x 90k magnification, (c) Cu-CysMOF and (d) Cur@Cu-CysMOF at x30k magnification, (e) Zn-CysMOF at x90k magnification, (f)Cur@Zn-CysMOF at x30k magnification.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Inada Asuka, Hitotsumatsu Makoto, Oshima Tatsuya	4. 巻 56
2. 論文標題 Development of Amphiphilic Short Peptides to Control Drug Inclusivity through Metal Complexation Reactions	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Chemical Engineering of Japan	6. 最初と最後の頁 19291
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/00219592.2023.2219291	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 Inada Asuka, Motomura Aki, Oshima Tatsuya	4. 巻 30
2. 論文標題 Water Based Synthesis of Sheet Like Supramolecular Metallohydrogel Organized by Using a Native Ultrashort Peptide Sequence	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Chemistry - A European Journal	6. 最初と最後の頁 e202303160
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/chem.202303160	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 Inada Asuka, Hitotsumatsu Makoto, Oshima Tatsuya	4. 巻 56
2. 論文標題 Development of Amphiphilic Short Peptides to Control Drug Inclusivity through Metal Complexation Reactions	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Chemical Engineering of Japan	6. 最初と最後の頁 2219291
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/00219592.2023.2219291	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 Oshima Tatsuya, Iwakiri Yuhi, Inada Asuka	4. 巻 220
2. 論文標題 Development of solvents for Au(III) extraction in hydrochloric acid media based on ion solvation with reference to the Hansen solubility parameters: Success of dicyclohexylketone	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Hydrometallurgy	6. 最初と最後の頁 106106 ~ 106106
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.hydromet.2023.106106	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 Inada Asuka, Nozaki Yuina, Sawao Ayane, Oshima Tatsuya	4. 巻 49
2. 論文標題 消化ペプチドとの複合化による β -クリプトキサンチンの水分散性およびCaco-2細胞膜透過性の改善	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 KAGAKU KOGAKU RONBUNSHU	6. 最初と最後の頁 170 ~ 174
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1252/kakoronbunshu.49.170	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 Inada Asuka, Sawao Ayane, Takahashi Koki, Oshima Tatsuya	4. 巻 87
2. 論文標題 Enhanced water dispersibility and Caco 2 cell monolayer permeability of quercetin by complexation with casein hydrolysate	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Food Science	6. 最初と最後の頁 1174 ~ 1183
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1750-3841.16049	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 Oshima Tatsuya, Asano Tokiya, Inada Asuka, Ohto Keisuke, Jumina	4. 巻 102
2. 論文標題 Development of aromatic ethers as solvents for a calix[6]arene derivative and extraction of amino acids and proteins	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry	6. 最初と最後の頁 507 ~ 514
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10847-022-01132-7	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25件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 篠田瑞希, 大島達也, 稲田飛鳥
2. 発表標題 Cu(II)存在下で金属配位性ペプチドと複合化したパクリタキセルにおけるHeLa細胞毒性の評価
3. 学会等名 化学工学会第54会秋季大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 星原尚斗, 稲田飛鳥, 大島達也
2. 発表標題 DDSキャリアを指向した金属-ペプチド錯体ナノ粒子の開発
3. 学会等名 化学工学会第54会秋季大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 谷口愛里, 大島達也, 稲田飛鳥
2. 発表標題 カカオバターを担体としたクルクミン包括微粒子の調製と分散性・吸収性の評価
3. 学会等名 化学工学会第54会秋季大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 本村章, 稲田飛鳥, 大島達也
2. 発表標題 短鎖ペプチドと銅イオンの錯体形成に基づくメタロ超分子ゲルの開発
3. 学会等名 化学工学会第54会秋季大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 大島達也, 稲田飛鳥
2. 発表標題 ペプチドで「溶かす」～薬・栄養を体に届ける～
3. 学会等名 化学工学会第54会秋季大会 (招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 稲田飛鳥, 本村章, 大島達也
2. 発表標題 金属イオンと短鎖ペプチドで形成される自己集合体の物性評価
3. 学会等名 化学工学会第54会秋季大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 本村章, 稲田飛鳥, 大榮薫, 大島達也
2. 発表標題 短鎖ペプチドと銅イオンの錯体形成に基づくハイドロゲルの開発
3. 学会等名 第60回化学関連支部合同九州大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 星原尚斗, 稲田飛鳥, 大榮薫, 大島達也
2. 発表標題 配位子にペプチドを用いた多孔性金属錯体の開発とDDSキャリアへの応用
3. 学会等名 第60回化学関連支部合同九州大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 谷口愛里沙, 大島達也, 稲田飛鳥
2. 発表標題 乳化法を用いた油脂分散体の調製と内包したクルクミンのバイオアベイラビリティ評価
3. 学会等名 第60回化学関連支部合同九州大会
4. 発表年 2023年

1 . 発表者名 N. Hoshihara, T. Oshima, A. Inada
2 . 発表標題 Development of nanoparticles formed between metal ions and peptides and application to DDS carriers
3 . 学会等名 The 34th International Symposium on Chemical Engineering (ISChE 2023)
4 . 発表年 2023年

1 . 発表者名 A. Motomura, T. Oshima, A. Inada
2 . 発表標題 Development of Short Peptide Metallohydrogels Self-Assembled by Copper Ions
3 . 学会等名 The 34th International Symposium on Chemical Engineering (ISChE 2023)
4 . 発表年 2023年

1 . 発表者名 M. Shinoda, A. Sawao, A. Inada, T. Oshima
2 . 発表標題 Development of amphiphilic tetrapeptides as dispersants for paclitaxel
3 . 学会等名 The 34th International Symposium on Chemical Engineering (ISChE 2023)
4 . 発表年 2023年

1 . 発表者名 A. Taniguchi, A. Inada, T. Oshima
2 . 発表標題 Enhanced bioaccessibility of curcumin by incorporation in a nanoparticle formulation using cocoa butter
3 . 学会等名 The 34th International Symposium on Chemical Engineering (ISChE 2023)
4 . 発表年 2023年

1. 発表者名 A. Inada
2. 発表標題 Self-Assembly of Short Peptide by Metal Ions and Application of their Structures to DDS Carriers
3. 学会等名 The 28th BEST conference & International Symposium of Biotechnology and Bioengineering joint Symposium of Young Asian Biological Engineer's Community (YABEC 2023)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 橋詰満衣、岩切雄飛、稲田飛鳥、大榮薫、大島達也
2. 発表標題 Ga()、Se()へのイオン溶媒和抽出剤として有用な新規溶媒の探索
3. 学会等名 第59回化学関連支部合同九州大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 篠田瑞希、稲田飛鳥、大島達也
2. 発表標題 金属錯生成ペプチドを導入した脂肪酸の開発とパクリタキセルの高分散化
3. 学会等名 第59回化学関連支部合同九州大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 篠田 瑞希、澤尾 綾音、稲田 飛鳥、大島 達也
2. 発表標題 標的指向性と金属錯生成能を兼ね備えた両親媒性ペプチドキャリアの開発
3. 学会等名 化学工学会第53会秋季大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 大島 達也、稲田 飛鳥、小野 愛華、野崎 唯那、山本 建次、赤木 剛、下池 正彦
2. 発表標題 クリプトキサンチンの経口吸収性改善に向けた各種製剤の比較検討
3. 学会等名 化学工学会第53会秋季大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 稲田 飛鳥、芳中 広奈、大柴 薫、大島 達也
2. 発表標題 還元条件下で崩壊する金属有機構造体の開発と抗がん剤デリバリーシステムへの応用
3. 学会等名 化学工学会第53会秋季大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 澤尾 綾音、大島 達也、稲田 飛鳥
2. 発表標題 パクリタキセルの可溶化剤となる新規テトラペプチド誘導体の開発
3. 学会等名 化学工学会第53会秋季大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 笹貫 一馬、稲田 飛鳥、大島 達也
2. 発表標題 配位子にペプチドを用いた金属有機構造体の開発
3. 学会等名 化学工学会第53会秋季大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 岩切 雄飛、稲田 飛鳥、大榮 薫、大島 達也
2. 発表標題 機械学習におけるAu(III)へのイオン溶媒和抽出能力の予測精度に寄与する記述子の探索
3. 学会等名 化学工学会第53会秋季大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 橋詰 満衣、岩切 雄飛、稲田 飛鳥、大榮 薫、大島 達也
2. 発表標題 Ga()へのイオン溶媒和抽出剤探索における機械学習の検討
3. 学会等名 化学工学会第53会秋季大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 大島達也、橋詰満衣、岩切雄飛、稲田飛鳥、大榮薫
2. 発表標題 塩酸系でのGa(III)の溶媒和抽出に適した溶媒の構造要件検討
3. 学会等名 第41回溶媒抽出討論会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 大島 達也、三宅 晃太、稲田 飛鳥、大榮 薫
2. 発表標題 溶媒和抽出にて極性に基づく予測を超えたAu(III)抽出能力を示す新規溶媒の開発
3. 学会等名 化学工学会第88年会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計2件

産業財産権の名称 金属有機構造体形成用配位子，並びにこれを用いた金属有機構造体およびその製造方法	発明者 稲田飛鳥	権利者 国立大学法人 宮崎大学
産業財産権の種類、番号 特許、2022-134763	出願年 2022年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 メタロ超分子ペプチドゲル形成用配位子	発明者 稲田飛鳥	権利者 国立大学法人 宮崎大学
産業財産権の種類、番号 特許、2023-030933	出願年 2023年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

大島・大榮・稲田研究室 https://www.chem.miyazaki-u.ac.jp/~chemeng/
--

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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------