

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年5月20日現在

機関番号：14401

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2012

課題番号：23650287

研究課題名（和文）有機ナノ結晶型DDSにおける有機ナノ結晶と血清タンパク質の相互作用の解明

研究課題名（英文）Investigation of the interaction between organic nanocrystals and blood serum for the development of the organic nanocrystal-based drug delivery system

研究代表者

馬場耕一（BABA KOICHI）

大阪大学・大学院医学系研究科・特任講師（常勤）

研究者番号：00436172

研究成果の概要（和文）：新規な有機ナノ結晶型ドラッグデリバリーシステム（DDS）を開発するために、有機ナノ結晶と血清成分の相互作用の解明を実施した。先ず、構造的に様々な異なる有機色素に対し、結晶サイズ10nm～1μm程度の範囲において結晶サイズを制御することに成功した。続いて、有機ナノ結晶の血清成分への溶解について検証したところ、様々な有機色素ナノ結晶が血清成分と作用し溶解することで分子的な蛍光を発することを見出した。バルク結晶には見られないナノ結晶特有の現象である。引き続き電気泳動等を用いて血清成分とナノ結晶の相互作用の詳細な検討を続ける。生体での検証において、ステロイド薬剤ナノ結晶水分散液や蛍光色素ナノ結晶水分散液を作製しマウスに投与した。特に眼球からの投与に対し、高速クロマトグラフ（HPLC）による定量評価の結果、ナノサイズ効果による薬剤や色素の眼組織内移行性の向上が認められた。経皮的にもナノ結晶は体内に浸透していくことが推測されたが、詳細検討中である。本研究課題の遂行において、有機ナノ結晶は血中で血清成分をキャリアとした新しいタイプのドラッグデリバリーの可能性が期待できる。引き続き有機ナノ結晶型DDSの発展的研究を進める予定である。有機ナノ結晶の作製法において、スプレードライヤー法を用いたことで、ステロイドナノ結晶およびカルパインインヒビターナノ結晶の作製に成功した（論文2報）。有機ナノ結晶を用いたドラッグデリバリーシステムの新展開について招待講演を行った。

研究成果の概要（英文）：In this project, we succeeded in preparing several kinds of fluorescent organic nanocrystals with the particle size around several tenth nanometers to one micron meter. We found that numerous types of organic nanocrystals were revealed to be dissolved in serum component, resulting in showing molecular fluorescence. This phenomenon was only observed in the state of nanocrystals, but not in bulk crystals. This means that the organic nanocrystals are able to take systemic administration because of their solubility in the serum components. The detailed information of the interaction between organic nanocrystals and serum component by electrophoresis analysis will be revealed continuously. In the viewpoint of nanocrystal administration into model animals, the enhanced penetration of drug and dye into organ such as ocular was revealed by HPLC analysis. We believe that the using organic nanocrystals are candidate for the new class of drug delivery system.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,000,000	900,000	3,900,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：人間医工学・生体材料学

キーワード：薬物送達

1. 研究開始当初の背景

近年ナノテクノロジーの発展に伴いナノ粒子を使用したドラッグデリバリーシステム（DDS）の研究開発が急速な進展を見せている。ナノ粒子DDSはドラッグ内包とターゲティングを兼ね備えた高分子ミセルや脂質二重膜（リポソーム）等のキャリアの使用を基盤技術とする。キャリアDDSに成功例がある中、キャリアの使用はキャリア毒性、薬剤低内包量、薬剤リーク、粒子分散不安定性、製剤上のコスト高・安全性など多くの課題を抱える。そのためキャリアフリーな新しいタイプのDDSの研究開発は大変興味深い。近年、申請者らは薬剤をナノ結晶化したキャリアフリーのDDSで優れた抗がん作用を得ることに世界で初めて成功し新法として報告した（K. Baba et. al, Mol. Pharmaceutics, 4, 289, 2007）。薬理活性な薬剤がナノ結晶化することで一度薬理不活性となり、その薬理不活性なナノ結晶薬剤が生体内投与後、血清成分と作用して溶解し再び薬理活性となる現象を発見した。血清成分中のタンパク質との相互作用により溶解したナノ結晶薬剤が患部に送達されたと推測するが、この現象の詳細は十分に明らかでない。また粒子径の大きいマイクロサイズの有機結晶にはみられない有機ナノ結晶特有のナノサイズ効果による現象である。今後、研究を進展させるためには、有機ナノ結晶型DDSにおける有機ナノ結晶と血清成分の相互作用の解明に加え、有機ナノ結晶の体内分布を明らかにする必要がある。

2. 研究の目的

従来のドラッグデリバリーシステム（DDS）と一線を画す、全く新しい手法・概念に基づいた有機ナノ結晶を用いた新規DDSの開発を目指しその基礎研究に取り組む。本研究課題では先行する申請者らの研究で発見された、「薬理不活性なナノ結晶薬剤がナ

ノサイズ効果により血清成分に溶解し薬理活性を発現する現象」の原理を蛍光性有機ナノ結晶を用いて解明することで、最もシンプルで安全な新規DDSの研究開発に向け、その可能性を探求する。

3. 研究の方法

平成 23 年度

① 蛍光性有機化合物の結晶を種類別（分子間結合力・官能基別）に分類・選択し、有機ナノ結晶の作製法、再沈法を主にナノ結晶化した。結晶サイズを制御した（サイズ 10nm-1 μm 程度）。またナノ結晶作製にスプレードライヤー法も併用した。

② 有機ナノ結晶と血清成分との相互作用を電気泳動により解析した。

平成 24 年度

① 動物実験により蛍光性有機ナノ結晶および薬剤ナノ結晶の組織浸透性を高速液体クロマトグラフィー（HPLC）により定量的に評価し総括とした。

4. 研究成果

構造的に様々に異なる有機色素に対し結晶サイズ 10 nm - 1 μm 程度の範囲において結晶サイズを制御することに成功した。有機ナノ結晶の血清成分への溶解について、様々な有機色素ナノ結晶が血清成分と作用することで溶解し分子的な蛍光を発することを見出した。バルク結晶には見られない現象である。引き続き電気泳動等を用いて詳細を検討中である。

ステロイド薬剤ナノ結晶水分散液や蛍光色素ナノ粒子水分散液を作製しマウスに投与した。特に眼球からの投与で高速クロマトグラフィー（HPLC）による定量評価の結果、ナノサイズ効果による薬剤や色素の眼組織内移行性の向上が認められた。経皮的にも

ナノ粒子は体内に浸透してくことが推測されたが、詳細検討中である。

本研究成果をもとに、引き続き有機ナノ結晶型DDSの発展的研究を進める予定である。有機ナノ結晶が血清成分中に溶解する現象は、薬剤などを有機ナノ結晶化することで、薬剤ナノ結晶の血中への投与を可能とさせる新しい薬剤投与方法を提案することになる。

有機ナノ結晶と血清成分が相互作用するメカニズムを解明した研究例は無く、極めて新しい知見の端緒を得ることに成功した。本知見は新規DDS法の研究開発に大変役立つ可能性が高く、また学術的にも新たな分野を開く可能性を秘めており、大変意義深い。

有機ナノ結晶の作製において、スプレードライヤー法を用いたステロイドナノ結晶およびカルパインインヒビターナノ結晶の作製に成功した(論文2報)。有機ナノ結晶を用いたドラッグデリバリーシステムの新展開について招待講演を行った。

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3件)

著者名

(1) Koichi Baba, Kohji Nishida; Steroid Nanocrystals Prepared Using the Nano Spray Dryer B-90; Pharmaceutics; 5; 2013; pp107-114.

(2) Koichi Baba, Kohji Nishida; Calpain inhibitor nanocrystals prepared using Nano Spray Dryer; Nanoscale Research Letters; 7; 2012; p436.

(3) Koichi Baba, Kohji Nishida; Single-Molecule Tracking in Living Cells Using Single Quantum Dot Applications; Theranostics; 2; pp655-667.

[学会発表] (計4件)

(1) Koichi Baba; A method for enhancing the ocular penetration of eye drops using nanoparticle formulation as a potential drug delivery system in ophthalmology; The 27th Asia Pacific Academy of Ophthalmology Congress (招待講演); 2012年04月15日; BEXCO, Busan, Korea.

(2) 馬場耕一; 第六回 DDS 熊本シンポジウム; 「有機ナノ結晶の新展開: 材料化学からバイオ分野へー作製技術とアプリケーション」(招待講演); 2012年3月6日; 熊本大学薬学部宮本記念館コンベンションホール; 熊本.

(3) 馬場耕一; 有機ナノ結晶の現在と製剤への応用; 創薬フォーラム: 48回 薬剤学懇談会研究討論会プログラム: 先端科学技術と薬剤学の接点を探る(招待講演); 2011年7月8日; ホテル古窯(山形上市市).

(4) Koichi Baba; Nanoparticles of Hydrolysable Dye Achieved the High Ocular Penetration by Passing through the Corneal Barrier Function; BIT's 2nd Annual World Congress of NanoMedicine-2011(招待講演); 2011年11月3日; Shenzhen Convention & Exhibition Center, Shenzhen, China.

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況(計1件)

名称: 薬剤ナノ粒子を分散した水分散液の製造法およびその利用

発明者: 馬場耕一、西田幸二、橋田徳康

権利者: 大阪大学

種類: 特願

番号: 2012-99285

出願年月日: 2012年04月24日

国内外の別: 国内

○取得状況(計0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

[その他]

特になし。

6. 研究組織

(1) 研究代表者

馬場耕一 (BABA KOICHI)

大阪大学・大学院・医学系研究科・特任講師 (常勤)

研究者番号 : 00436172