

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 10 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25286001

研究課題名(和文) ラジオ波照射による薬剤放出可能な磁性粒子集合化カプセルの創製

研究課題名(英文) Capsule like-assembly of magnetic nanoparticles enabling the drug release by radio wave irradiation

研究代表者

新倉 謙一 (Niikura, Kenichi)

北海道大学・電子科学研究所・准教授

研究者番号：40360896

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 15,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では外部刺激に応答する薬剤輸送のキャリア作製を目指し、酸化鉄および金ナノ粒子の自己組織化を可能とする粒子表面の化学修飾剤を開発した。フッ素化したオリゴエチレングリコール(SFLと省略)で金属ナノ粒子修飾すると粒子が球状に集合した構造が得られることが分かった。さらにSFLの先端にグルコースを導入することで、粒径の異なる金ナノ粒子が自然に分離した階層構造を持つ集合体を得られた。また熱に応答して凝集・分離する金ナノ粒子の作製にも成功した。

研究成果の概要(英文)：In this research, to develop stimuli-responsive drug delivery carriers, we explored surface ligand molecules that can induce the self-assembly of metallic nanoparticles, such as magnetic or gold nanoparticles in solutions. It was found that surface modification with a ligand molecule possessing a fluorinated oligoethylene glycol (SFL) induced spherical self-assembly of magnetic nanoparticles as well as gold nanoparticles. Interestingly, the glucose-terminated SFL molecules enabled the formation of size-segregated structures when used with a mixture of gold nanoparticles of two different diameters. Gold nanoparticles showing thermal responsiveness were also successfully created.

研究分野：コロイド・界面化学・生体機能

キーワード：自己組織化 ナノ粒子 刺激応答性 階層構造 磁性粒子 金ナノ粒子

1. 研究開始当初の背景

薬剤輸送キャリアは、薬剤を治療が必要な疾患部位特異的に、必要な量を届けるのに欠かせない。疾患部位への特異性輸送として、制癌剤の輸送キャリアでは、癌組織における血管が比較的大きな物質を透過しやすいという性質を使う。しかし疾患組織への特異性をさらに高めるためには外部からの刺激、例えば光や磁場、温度により患部での薬剤放出が有効である。

光や磁場と相互作用できる物質として金属があり、これら金属をナノ粒子化したものが金ナノ粒子や磁性粒子である。これらの粒子単体では薬剤を十分に格納できないが、ナノ粒子を自己集合させることで薬剤を格納する空間を維持し、外部刺激に応じてそれらの薬剤の放出が可能となる。しかし溶液中で金属ナノ粒子を集合化させる技術(特に生体への投与を考えると200nm以下が望ましい)は確立されていない。

2. 研究の目的

研究の目的は、外部刺激に応答して薬剤放出を可能とするナノ粒子集合体構造の構築手法の開発である。具体的にはフッ素化オリゴエチレングリコールを使った磁性ナノ粒子のカプセル状集合体形成に加え、構造体そのものが新しい集合体の提案も狙った。さらに外部刺激によって集合解離できる新たなナノ粒子集合体形成を目的とした。

3. 研究の方法

本研究は以下の2つのアプローチで行った。

(1). フッ素化オリゴエチレングリコールをもつカテコール分子の合成と磁性粒子集合化。フッ素化オリゴエチレングリコール部位は磁性粒子同士の引力を、カテコール部位は分子と酸化鉄表面の連結に必要となる。

(2). 磁性粒子のモデルとして金ナノ粒子を使い 様々な集合体構造の提案、外部刺激による集合解離の制御可能な表面リガンド分子の設計・合成、の2つのテーマを進めた。

4. 研究成果

(1)酸化鉄ナノ粒子のカプセル状集合体形成: 我々は末端にチオール部位を有するフッ素化オリゴエチレングリコールで修飾した金

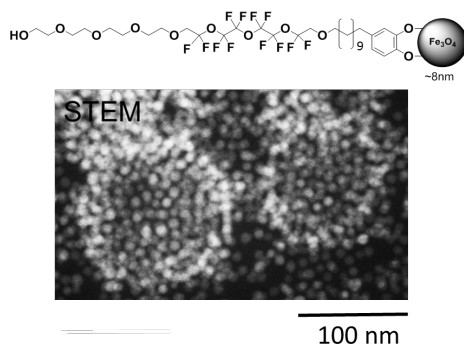


Fig. 1 新に合成したカテコールフッ素化オリゴエチレングリコールリガンドと得られた酸化鉄粒子の集合体構造

ナノ粒子が THF 溶液中でカプセル構造を形成することを報告してきた(*J. Am. Chem. Soc.* 2012, 134, 7632)。本研究では、本リガンドを酸化鉄粒子へ応用するために、カテコールを有するフッ素化オリゴエチレングリコールを合成した。化学構造式は Fig. 1 に示した。目的物であるカテコールリガンド分子の合成に成功し、酸化鉄粒子の集合化まで進めることができた (Fig.1)。しかし合成したカテコール分子の長期安定性が十分ではないため(酸化を受けやすい)リガンド設計に改良の余地があるという課題が残った。

(2)- Yolk/Shell 型の金ナノ粒子の集合体形成: 酸化鉄ナノ粒子の実験とともに金ナノ粒子を使った集合体形成の研究も同時に進めた。金の修飾に用いるチオールリガンド分子は比較的安定な分子であり、ナノ粒子集合体形成に及ぼすフッ素化オリゴエチレングリコール部位の影響を調べるのに適している。そこでいくつかのフッ素化オリゴエチレングリコールの誘導体を合成し、金ナノ粒子の集合体形成を詳細に調べた。

興味深いことに、フッ素化オリゴエチレングリコールの先端にグルコースを付加したリガンド (GFL, Fig.2) を使うと、異なった粒子径をもつ金ナノ粒子が自然に分離した構造を形成することがわかった。直径 5 と 30nm の2つの粒径の金ナノ粒子の水溶液と GFL のジオキサン溶液を混合するとカプセル内部に 30nm の粒子を内包し、その周囲を 5nm の粒子が覆う階層構造体を得られた (Fig.2)。この構造を詳細に調べると2つの粒径のナノ粒子が相分離して、卵の殻と黄身の関係である Yolk/Shell 型構造(中の粒子と外を覆う殻の間に隙間がある)であることがわかった。また理研の SACLA を利用した共同研究により、乾燥過程ではなく溶液中でそれらの構造を形成していることが実証でき、アメリカ化学会雑誌にて北大・理研・東北大・中央研究院の共同研究として発表した。

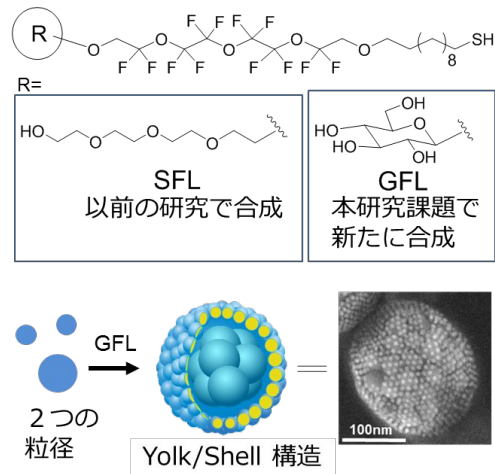


Fig. 2 フッ素化オリゴエチレングリコールリガンドと得られたYolk/Shell構造体形成

(2) ヤヌス状表面修飾を使った金ナノ粒子の自己集合

ナノ粒子の自己集合体形成は、分子集合体と同様に粒子間および粒子-溶媒間の相互作用によって決定される。しかしながら、表面に修飾するリガンド分子の粒子上の配置とナノ粒子の集合化に関する知見は十分ではない。そこで、我々は粒子の半球ごとに親水性・疎水性面を持つ金ナノ粒子(ヤヌス金ナノ粒子)を作製し、ヤヌス金ナノ粒子の集合状態を解析した。ヤヌス金ナノ粒子の作製方法として我々が結論したことは、「1.粒径が5nm程度以下の小さなナノ粒子を使う。2.アルキル鎖の短いもので一度全体を被覆した後にアルキル鎖の長いもので一部を置き換える。」ということであった(Fig.3)。ヤヌス状になっているかどうかの判断は、報告されている質量分析を用いる手法に従った。親水性/疎水性面をもつヤヌス状金ナノ粒子は溶液中で比較的安定な集合体を形成することがわかった。これは疎水面を内側にして、親水面を外に向けた構造を形成できるためであると推測された。

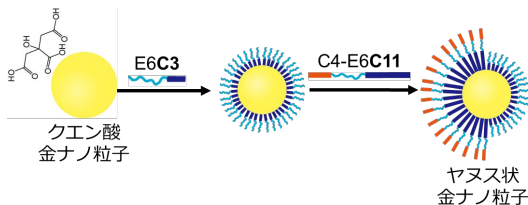


Fig. 3 ヤヌス状金ナノ粒子の作製方法。まずアルキル鎖長がC3の分子で覆い、次にC11を持つリガンドを添加する。

(3) 温度応答性金ナノ粒子の集合体形成

外部刺激に反応して凝集あるいは解離するナノ粒子の作製は本研究テーマの最も重要な課題である。そこでまず最も基本的な刺激である温度に着眼した。温度によるナノ粒子の凝集・解離はポリイソプロピルアクリルアミドという熱応答性の知られている高分子での修飾が知られている。しかしながら高分子末端のチオール修飾が合成的にやや煩雑な上、粒子に均一に固定化するのが低分子に比べて難しい。すなわち固定化する密度の違いや分子量分布などが凝集・解離挙動に影響を与えかねない。そこで我々は低分子であるオリゴエチレングリコール誘導体に着目し、それらシンプルな分子で覆うことで粒子に温度応答性を付加できないかを検討した。末端にOH基をもつオリゴエチレングリコールでは温度応答性を示さなかったが、エチル基やイソプロピル基など小さな疎水基を付加することで温度応答性が表れた(Fig.4)。これら疎水末端をもつオリゴエチレングリコールで修飾した金ナノ粒子は低温では水によく分散するが、ある温度(転移温度)以上になると急激に凝集した。次に温度を下げていくと今度は分散し、分散と凝集を温度により可変的に繰り返すことができることがわかった。特に興味深い結果が、粒径が転移温度

に及ぼす影響である。粒径が小さな金ナノ粒子(直径3~5nm)を使うと、大きな粒子(直径10nm)よりもずっと転移温度が高い。これは分子のパッキング状態が曲率によって異なっていることを示唆している。本研究は低分子化合物で温度依存的な凝集を誘起できる新しい系を提案できた。

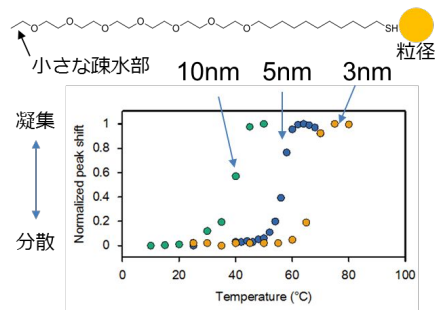


Fig. 4 小さな疎水部末端をもつオリゴエチレングリコールリガンドで修飾された金ナノ粒子の温度依存的集合化。グラフは相転移に及ぼす粒径の効果を現している。

(4) まとめ

本研究では酸化鉄あるいは金ナノ粒子の溶液中での自己集合を誘起できる表面修飾剤の提案ができた。当初の目的であった薬剤輸送の実証までは進まなかったが、新しい集合体構造の実証、熱応答性を誘導できる新しいリガンド分子の発見など、金属ナノ粒子の自己組織化という視点で大きな進展が得られた。今後はこれらの集合体の機能を追求していきたい。

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) R. Iida, H. Mitomo, Y. Matsuo, K. Niikura*, and K. Ijro: "Thermoresponsive Assembly of Gold Nanoparticles Coated with Oligo(Ethylene Glycol) Ligands with an Alkyl Head", *J. Phys. Chem. C*, ASAP, 査読有, DOI: 10.1021/acs.jpcc.5b11687
- (2) J. Wei, K. Niikura, T. Higuchi, T. Kimura, H. Mitomo, H. Jinnai, Y. Joti, Y. Bessho, Y. Nishino, Y. Matsuo, and K. Ijro: "Yolk/Shell Assembly of Gold Nanoparticles by Size Segregation in Solution", *J. Am. Chem. Soc.*, **138**(10), 3274-3277 (2016), 査読有 DOI: 10.1021/jacs.5b12456
- (3) 三友秀之, 新倉謙一, 居城邦治, 分子を超えた自己組織化:表面修飾を利用したナノ粒子集合体の形成と機能材料への展開、*高分子論文集* **73**(2), 147-156, (2016), 査読有, DOI: 10.1295/koron.2015-0055
- (4) R. Iida, H. Kawamura, K. Niikura, T. Kimura, S. Sekiguchi, Y. Joti, Y. Bessho, H. Mitomo, Y. Nishino, and K. Ijro, "Synthesis of Janus-Like Gold Nanoparticles with

Hydrophilic/Hydrophobic Faces by Surface Ligand Exchange and Their Self-Assemblies in Water", *Langmuir* **31**, 4054-4062 (2015), 査読有, DOI: 10.1021/la504647z

- (5) 新倉謙一、三友秀之、居城邦治、生体分子の集合構造体にならった金ナノ粒子の自己集合、*化学工業*、**66**(4)、300-304, (2015), 査読無
<http://www.kako-sha.co.jp/2015contentskaga-ku.html>

〔学会発表〕(計 21 件)

- (1) 飯田良、新倉謙一、三友秀之、居城邦治、アルキルヘッドを持つ新規オリゴエチレングリコール誘導体で修飾された温度応答性金ナノ粒子、日本化学会第 96 春季年会、2016.3.24-27、同志社大学 京田辺キャンパス(京都府京田辺市)
- (2) 鳥居悠、新倉謙一、杉村尚俊、飯田良、三友秀之、居城邦治、ウイルス様自己集合のための局所的な正電荷をもつ金ナノ粒子の作製、日本化学会第 96 春季年会、2016.3.24-27、同志社大学 京田辺キャンパス(京都府京田辺市)
- (3) K. Niikura, H. Mitomo, K. Ijro, Hierarchical Assembly of Plasmonic Nanoparticles by Size Segregation, CityU/Hokkaido University Joint Workshop, 2015.12.10-11, Hong Kong (China), 招待講演
- (4) K. Niikura, J. Wei, N. Sugimura, H. Mitomo, K. Ijro, Self-assembly of gold nanoparticles with a fluorinated surface, *Pacificchem* 2015, 2015.12.15-20, Hawaii (USA)
- (5) J. Wei, K. Niikura, Y. Matsuo, H. Mitomo, K. Ijro, Fabrication and Plasmonic Study of Gold Nanoparticle Vesicles, 11th IUPAC International Conference on Novel Materials and their Synthesis (NMS-XI), 2015.10.11-16, Qinhuangdao (China)
- (6) 新倉謙一、ナノ粒子を使った薬剤輸送とワクチン開発、岐阜大学公開講演、2015.9.28、岐阜大学(岐阜県岐阜市)
- (7) J. Wei, K. Niikura, H. Mitomo, K. Ijro, Layered Assembly of Gold Nanoparticles and their Plasmonic Properties, 第 76 回応用物理学会秋季講演会シンポジウム、2015.9.13-16、名古屋国際会議場(愛知県名古屋市)
- (8) 新倉謙一、J. Wei、三友秀之、居城邦治、粒子サイズによる相分離を利用した階層的な金ナノ粒子集合体の構築、第 66 回コロイドおよび界面化学討論会、2015.9.10-12、鹿児島大学(鹿児島県鹿児島市)
- (9) 飯田良、新倉謙一、三友秀之、居城邦治、高温で凝集挙動を示す温度応答性金ナノ粒子の作製、第 64 回高分子年次大会、2015.5.27-29、札幌コンベンションセンター(北海道札幌市)
- (10) J. Wei, N. Sugimura, K. Niikura, H. Mitomo, K. Ijro, Virus-capsid like Self-assembly of Gold Nanoparticles into Highly Symmetric Nano-architectures, 第 64 回高分子年次大会、2015.5.27-29、札幌コンベンションセンター(北海道札幌市)
- (11) 新倉謙一、金ナノ粒子のウイルスタンパク様自己集合、日本化学会第 95 春季年会、2015.3.26-29、日本大学理工学部船橋キャンパス(千葉県船橋市)、招待講演
- (12) 新倉謙一、ウイルスタンパク様の金ナノ粒子自己集合、東京大学工学部化学生命工学科 2014 年第 2 回談話会、2014.12.13、東京大学本郷キャンパス(東京都文京区)、招待講演
- (13) K. Niikura, R. Iida, J. Wei, H. Mitomo, K. Ijro, Surface Engineering of Gold Nanoparticles for their Controlled Self-Assembly, *Asia NANO* 2014, 2014.10.26-29, Jeju (Korea), 招待講演
- (14) K. Niikura, K. Ijro, Template-free Self-Assembly of Gold Nanoparticles in Solution, The 10th IUPAC International Conference on Novel Materials and their Synthesis, 2014.10.10-14, Zhengzhou (China), 招待講演
- (15) 新倉謙一、魏金建、三友秀之、居城邦治、フッ素化オリゴエチレングリコールの表面修飾が誘起するナノ粒子のカプセル状自己集合、フルオラス科学研究会第 7 回シンポジウム、2014.9.9、北海道大学 百年記念会館(北海道札幌市)
- (16) 新倉謙一、魏金建、三友秀之、居城邦治、糖鎖修飾金ナノ粒子の溶液中での自己集合、第 24 回バイオ・高分子シンポジウム、2014.7.24-25、東京工業大学大岡山キャンパス(東京都目黒区)
- (17) R. Iida, K. Niikura, S. Sekiguchi, H. Mitomo, K. Ijro, Self-assembly of Janus Gold Nanoparticles Fabricated by Phase Separation of Ligand Molecules, 第 63 回高分子学会年次大会、2014.5.28-30、名古屋国際会議場(愛知県名古屋市)
- (18) K. Niikura, N. Iyo, Y. Matsuo, H. Mitomo, and K. Ijro, Gold nanoparticle vesicles as a drug delivery carrier enabling rapid drug release upon light irradiation, 247th ACS National Meeting & Exposition, 2014.3.16-20, Dallas, Texas (USA)
- (19) J. Wei, K. Niikura, N. Iyo, H. Mitomo, K. Ijro, Capsule-like Self-Assembly of Gold Nanoparticles in Solutions Using Fluorinated Surface Ligands, The 17th SANKEN International Symposium, 2014.1.21, Oosaka University (大阪府吹田市)
- (20) 新倉謙一、ナノ粒子のバイオ応用を目指した粒子表面分子設計、岐阜大学公開セミナー、2014.1.9、岐阜大学(岐阜県岐阜市)、招待講演

(21) J. Wei, K. Niikura, N. Iyo, H. Mitomo, K. Ijiro, Capsule-like Self-Assembly of Gold Nanoparticles for SERS-active DDS carrier, 2013 SNU-HU Chemistry Symposium on “The Present Chemistry at SNU and HU”, 2013.12.13, Seoul (Korea)

〔図書〕

なし

〔産業財産権〕

なし

〔その他〕

なし

6．研究組織

(1)研究代表者

新倉 謙一 (NIIKURA, Kenichi)
北海道大学・電子科学研究所・准教授
研究者番号：40360896

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

二宮 孝文 (NINOMIYA, Takafumi)
札幌医科大学・医学部・准教授
研究者番号：80156140