

自己評価報告書

平成23年 5月 6日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究 (A)

研究期間：2008～2012

課題番号：20240047

研究課題名 (和文) ナノゲルを基盤とした新規ドラッグデリバリーシステムの開発

研究課題名 (英文) Development of new nanogel-based drug delivery systems

研究代表者

秋吉 一成 (AKIYOSHI KAZUNARI)

京都大学・大学院工学研究科・教授

研究者番号：90201285

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：人間医工学・医用生体工学・生体材料学

キーワード：ナノゲル、ヒドロゲル、タンパク質、ドラッグデリバリー、細胞機能

1. 研究計画の概要

本研究では、申請者らが独自に開発した自己組織化ナノゲル法をさらに発展させ、高機能性ヒドロゲルバイオマテリアルの開発と医療応用を目的とする。構造制御された新規刺激応答性ナノゲルの開発およびナノゲルをビルディングブロックやテンプレートとして活用し、ナノ構造制御された機能性ヒドロゲルの設計法 (ナノゲル工学) を確立し、新規ナノ DDS、新規徐放制御マテリアルや組織工学等における新規人工細胞外マトリクスとしての応用展開を図る。具体的には、標的指向性を有するナノゲルの設計と細胞内タンパク質・核酸デリバリーのための新規刺激応答性ナノゲルキャリアの設計、開発を行う。また、ナノゲルを集積した複合ナノ微粒子やマイクロ微粒子、多重の刺激でナノゲルが放出しえるような多段階徐放性ナノゲル架橋ヒドロゲルやナノゲルシート膜を設計し、再生医療での新規機能性徐放バイオマテリアルとしての応用を図る。

2. 研究の進捗状況

これまでの研究成果を以下にまとめる。

(1) 新規機能性ナノゲルの開発:従来のプルラン多糖(CHP)に変えて、分岐を有するクラスターデキストリンおよび酵素合成グリコーゲンを主鎖に持つ新規会合性ナノゲルを開発し、従来の CHP ナノゲルと比べて、タンパク質の保持能が高く、長期徐放性にも優れていることを見いだした。新規タンパク質キャリアとしての利用が期待される。

(2) 酸分解性ナノゲルの設計と機能評価:タンパク質や遺伝子の細胞内デリバリーシステムの効率を向上するために、取り込まれたエンドソーム内の pH の低下を利用した酸

分解性のナノゲルキャリアの設計を行った。ナノゲル形成の駆動力である疎水性コレステロール基と主鎖多糖をつなぐリンカーとして酸性 pH で、分解しえるビニルエーテル基を導入した酸分解性ナノゲルを合成した。低 pH でタンパク質を放出しえる新規タンパク質ナノキャリアとして機能しえることが明らかになった。

(3) ナノゲル架橋ヒドロゲルの開発:アクリロイル基を有するナノゲルとチオール基を有する 4 本鎖ポリエチレングリコール誘導体とのマイケル付加反応により、ナノゲルを架橋点とするヒドロゲルが得られた。このゲルに BMP2 タンパク質を封入することで、骨再生のタンパク質徐放性足場材料として有用であることを動物実験で明らかとした。

(4) ナノゲル架橋ナノ微粒子の設計と利用:
(3) で述べた反応を希釈条件下で行うことで、ナノゲルが集積された～200nm のラズベリー型のナノゲル架橋微粒子を合成する手法を確立した。ナノゲルとの架橋点であるエステル結合が加水分解することで、ナノゲルが徐々に放出しえる新しいナノ微粒子である。IL12 内包ナノゲルから架橋ナノ微粒子が得られ、マウス皮下注射により IL12 を血中に長期徐放しえることを明らかにした。

(5) ナノゲル-プロスタグランジン E2(PGE2)複合体の創傷治癒への応用:CHP ナノゲルに創傷治癒を誘起しえる PGE2 を複合体化し、裂傷の患部に塗布することで創傷治癒効果が格段に向上した。ナノゲルにより PGE2 の局所徐放が可能になったことに起因することが明らかになった。

3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している。

機能性ナノゲルの設計と評価に関して、当初の予定どおり順調に進んでいる。新規なナノゲルの設計、合成法をほぼ確立した。新規に開発したナノゲルの DDS 応用も、医学系の研究者との共同研究も順調に進み、いくつかは動物実験系での評価が進行中である。

4. 今後の研究の推進方策

これまでの研究成果をふまえて、以下に示すようにさらなる機能性ナノゲルの開発とナノゲルをボトムアップ的に組み上げた新規ハイブリッドゲル材料の開発と応用を推進する。

(1) ナノゲル架橋ゲル材料の骨再生材料としての利用

これまでに、骨形成を促進する BMP2 タンパク質をナノゲル内に封入した架橋ゲルが、骨再生に有効であることを明らかにしてきた。次の段階として、BMP2 を封入したナノゲルとさらに別のサイトカインである FGF をナノゲルに封入した 2 種類のナノゲルを調製し、それを均一に混合したダブル架橋ナノゲルを調製し、その骨形成促進能をマウス頭頂骨モデル系で調べる。また、ダブル架橋ゲルの分解に伴うサイトカインの徐放挙動を調べる。

(2) ビタミン B6 置換多糖によるタンパク質架橋ナノゲルの設計

pH 応答性を有する化学結合 (Schiff 塩基) によって、タンパク質をはじめとしたアミノ基をもつ分子と結合するビタミン B6 に着目し、ビタミン B6 をプルランに導入した新規ナノゲルの開発を行う。従来のタンパク質の内包を疎水性相互作用によるものによって変わって pH 応答性化学結合の Schiff 塩基を利用することで、タンパク質などの生体分子の保持能および環境応答性の付与に伴う標的指向性の向上を目指す。

(3) リポソーム-ナノゲル複合体ヒドロゲルの設計と機能評価

これまでにナノゲルはリン脂質リポソームを単層に被覆し、安定化することが明らかとなっている。本研究では、これまでに、反応性ナノゲル被覆リポソームを架橋点に有した、リポソーム-ナノゲルマトリックスの 3 層を有した複合ゲルの調製法を確立したので、今後は新規徐放性材料としての利用を図る。具体的にはリポソームと反応性ナノゲルを複合化後、チオール基を有するポリエチレンオキシド (PEO) 誘導体と反応させることで、リポソームを含むマクロゲルの合成を行う。得られたヒドロゲルの特性解析を行うとともにサイトカインや低分子薬剤を封入した、骨再生用足場材料としての利用を図る。

5. 代表的な研究成果

(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 22 件)

- ① Takahashi H, Sawada S, Akiyoshi K, Amphiphilic Polysaccharide Nanoballs: A New Building Block for Nanogel Biomedical Engineering and Artificial Chaperones, ACS Nano, 5, 337-345 (2011), 査読有
- ② Sawada S, Akiyoshi K, Nano-encapsulation of lipase by self-assembled nanogels: induction of high enzyme activity and thermal stabilization, Macromol Biosci, 10, 353-358 (2010), 査読有
- ③ Toita S, Soma Y, Morimoto N, Akiyoshi K, Cycloamylose-based biomaterial: nanogel of cholesterol-bearing cationic cycloamylose for siRNA delivery, Chem Lett, 38, 1114-1115 (2009), 査読有
- ④ Ayame H, Morimoto N, Akiyoshi K, Self-assembled cationic nanogels for intracellular protein delivery system, Bioconjugate Chem, 19, 882-890 (2008), 査読有

[学会発表] (計 20 件)

- ① 秋吉一成、ナノゲル工学のバイオマテリアルへの応用、第 19 回ポリマー材料フォーラム、2010 年 12 月 2 日、名古屋
- ② K. Akiyoshi, Nanogel Engineering for Protein Drug Delivery System, 6th Sweden-Japan Workshop on BioNano Technology, 2010 年 5 月 11 日、shizuoka, Japan
- ③ K. Akiyoshi, Polysaccharide nanogel engineering for protein delivery system, KIFEE workshop on environment, Energy and Materials, 2009 年 9 月 8 日、Trondheim, Norway
- ④ 秋吉一成、分子シャペロン機能工学によるタンパク質の集積、機能制御、第 24 回日本 DDS 学会、2008 年 6 月 30 日、東京

[図書] (計 5 件)

- ① 戸井田さやか, 秋吉一成, 西成勝好 監修、シーエムシー出版、ナノゲル工学による DDS キャリアの開発と応用、食品・化粧品・医療分野へのゲルの利用、2010、186-192
- ② 秋吉一成, 国武豊喜 監修、NTS、分子シャペロン機能工学、超分子サイエンス & テクノロジー、2009、1018-1024
- ③ 秋吉一成, 岸田晶夫 監修、シーエムシー出版、次世代医療のための高分子材料工学、2008、238