

令和 2 年 6 月 2 日現在

機関番号：12608

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2017～2019

課題番号：17H04743

研究課題名(和文)腫瘍内でステルス性を速やかに解除しナノ粒子の腫瘍集積を積極化する革新的シェル分子

研究課題名(英文)Functional polymer that recognizes tumorous pH for effective delivery of the coated nanoparticles to tumor tissues

研究代表者

武元 宏泰 (Takemoto, Hiroyasu)

東京工業大学・科学技術創成研究院・助教

研究者番号：10709249

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 19,500,000円

研究成果の概要(和文)：ナノ粒子はがん組織への薬物送達キャリアとして開発されてきた。これに関し、その体内動態を制御する新しいシェル分子の開発を行った。通常のシェル分子は正常組織への集積抑制や免疫応答回避等を主眼としている。しかし、その性能はしばしばがん組織への滞留やがん細胞取り込みを阻害する懸念があった。そこで本研究では、がん組織と正常組織との微小なpH差を認識することで性質を切り替える新しいシェル分子の開発を行った。結果として、通常のシェル分子と同等の正常組織への集積抑制を有しながら、卓越したがん集積能を有するシェル分子の開発に成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

がんの化学療法において、制がん剤の体内動態制御は低い副作用と高い治療効果の双方の観点から重要である。既存のシェル分子による体内動態制御は血液成分及び正常組織との相互作用の抑制に限定されており、腫瘍組織での制がん剤の細胞取り込みを促進する機能は兼備されていない。本研究はこういった現状を打破することに成功し、その両立に成功した。さらに本研究は、新規シェル分子の開発を通して、制がん剤の腫瘍組織への送達に関する新たな方針を提案するものであるため、今後の薬物創製に対して多大なる影響を与えることが必至であり、その分野の飛躍的な発展へと大いに寄与するものである。

研究成果の概要(英文)：Nanoparticles have been employed as a delivery vehicle to tumor tissues. In this regard, I developed a new design of coating polymers for regulating the biodistribution of the nanoparticles. In general, coating polymers suppress accumulation of the nanoparticles in normal tissues, and avoid immune responses for blood retention of the nanoparticles. However, the stealth property of the coating polymers often decrease the interaction with tumor tissues and decelerate internalization by cancer cells. Thus, in the present study, a functional polymer that switches its property to be tissue-interactive in response to tumorous pH was developed. The developed polymer realized similar biodistribution of the coated nanoparticle for normal tissues, while the tumor accumulation level was three times higher, relative to PEG system.

研究分野：生体材料学、ドラッグデリバリーシステム

キーワード：生体高分子 バイオマテリアル

構造体 (PGlu(EDA-Car)) を合成した。本研究では、さらにコントロールとして電荷が中性の PGlu(EDA-Car) およびカチオン性の PGlu(DPT-Car) も用意した (図 1)。得られた構造体は滴定試験により pK_a を測定した。すると表 1 のように、PGlu(DPT-Car) は pH7.4 ですでにカチオン性であるのに対し、PGlu(EDA-Car) は pH7.4 では電荷が中性だが pH6.5 ではカチオン性を帯びることが明らかとなった。PGlu(EDA-Car) は pH6~8 の範囲にて電荷が釣り合っていた。このことから、PGlu(DPT-Car) はカチオン性のコントロール、PGlu(EDA-Car) が中性のコントロールとして機能することが確認された。

(表 1 開発した高分子の pK_a および電離度 (α))

Polymer	pK_{a1}	pK_{a2}	pK_{a3}	α (%)		C/A ratio ^[a]	
				at pH 7.4	at pH 6.5	at pH 7.4	at pH 6.5
PGlu(EDA)	9.0	-	-	92.1	96.4	-	-
PGlu(EDA-Car)	8.5	4.0	-	49.3	52.3	0.99	1.04
PGlu(DET)	8.9	6.5	-	55.0	66.4	-	-
PGlu(DET-Car)	8.8	6.0	4.3	34.8	42.5	1.04	1.28
PGlu(DPT)	8.8	8.2	-	81.6	90.4	-	-
PGlu(DPT-Car)	9.0	7.5	4.4	51.4	59.1	1.54	1.79

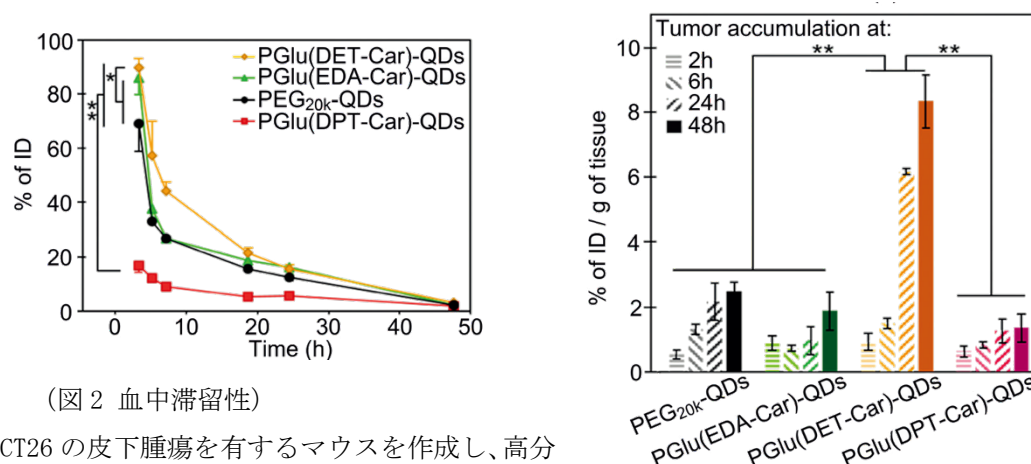
[a] C/A ratio is the ratio of cationic charge to anionic charge.

(2) ナノ粒子へのコーティングおよび pH 応答評価

ナノ粒子への被覆はクリックケミストリーにて行った。まず、DBCO 基を QD 表面にアミド結合を介して導入し、続けて高分子のアジド末端を反応させた。この際、既存のシェル分子との比較を行うために PEG も同様に導入した。導入本数を SEC 等で測定したところ、いずれも 30~35 本であった。さらに、DLS にてサイズを測定したところ、いずれも 30nm 程度であり、準備した 4 種類のナノ粒子はサイズおよび高分子導入本数の差異を気にすることなく次の実験へと展開出来ることが確認された。

アニオン性高分子であるヘパリン存在下にてサイズ測定を行った。この際、pH を 7.4 および 6.5 とすることで、pH 応答性を評価した。両方の pH において PEG 被覆ナノ粒子や PGlu(EDA-Car) で被覆したナノ粒子はヘパリンと相互作用せず、サイズの変化は確認されなかった。PGlu(DPT-Car) で被覆したナノ粒子は両方の pH においてサイズ増大が確認された。PGlu(DPT-Car) は両方の pH にてカチオン性を帯びるため、アニオン性のヘパリンと相互作用したことが推察される。一方で、PGlu(EDA-Car) にて被覆したナノ粒子の系は pH7.4 ではサイズ変化がなかったのに対し、pH6.5 ではサイズが増大した。このことは、がん組織内 pH に応答して電荷がカチオン性を帯びたことを示している。さらに、pH7.4 と pH6.5 で細胞取り込み試験を行ったところ、PGlu(DPT-Car) は両方の pH にて細胞への明らかな取り込みが確認され、PEG 被覆ナノ粒子や PGlu(EDA-Car) で被覆したナノ粒子ではそれが抑制されていた。一方で、PGlu(EDA-Car) の系では pH6.5 においてのみ明らかな細胞取り込みが確認された。このことは、PGlu(EDA-Car) ががん組織内 pH において選択的に細胞取り込みを誘導することを示している。

(3) 新規シェル分子で被覆されたナノ粒子の実験動物を用いた評価



(図 2 血中滞留性)

(図 3 がん集積性)

CT26 の皮下腫瘍を有するマウスを作成し、高分子被覆ナノ粒子を静脈投与した。血中滞留性を評価したところ、図 2 のようになった。PGlu(DPT-Car) の系はカチオン性を帯びているため、細網内皮系にて貪食されやすく、結果として他の 3 つの系に比較して血中滞留性は低かった。PGlu(EDA-Car) は PGlu(EDA-Car) や PEG と同等 (あるいはそれ以上) の血中滞留性を有しており、なおかつ、正常組織への集積挙動も堂々であった。特筆すべきは、がんへの集積量である (図 3)。PGlu(EDA-Car) は PGlu(EDA-Car) や PEG の系と同等の血中滞留性を有していたにもかかわらず、がん組織への集積量は 3 倍以上であった。この差異は、血中からがん組織に移行した後の現象に由来すると考

えられる。PGlu(DET-Car)はがん組織内環境を認識して性質をカチオン性に変化させることが出来、それはアニオン性の組織構成物質との相互作用や積極的ながん細胞取り込みへと繋がる。つまり、がん組織に移行した後に血中へと逆拡散することなくがん組織への滞留が増大することで、卓越したがん集積能力が達成されたと考えられる。PEGと同等の血中滞留性や正常組織集積抑制だけでなく、がん細胞への取り込み能促進やがん集積能増大を有する本素材の設計指針は、今後の制がん剤およびそのキャリア開発において大きな影響を与えると予想される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Takemoto Hiroyasu, Inaba Takanori, Nomoto Takahiro, Matsui Makoto, Liu Xiaomeng, Toyoda Masahiro, Honda Yuto, Taniwaki Kaori, Yamada Naoki, Kim Junhyun, Tomoda Keishiro, Nishiyama Nobuhiro	4. 巻 235
2. 論文標題 Polymeric modification of gemcitabine via cyclic acetal linkage for enhanced anticancer potency with negligible side effects	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biomaterials	6. 最初と最後の頁 119804 ~ 119804
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.biomaterials.2020.119804	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 Nomoto Takahiro, Inoue Yukiya, Yao Ying, Suzuki Minoru, Kanamori Kaito, Takemoto Hiroyasu, Matsui Makoto, Tomoda Keishiro, Nishiyama Nobuhiro	4. 巻 6
2. 論文標題 Poly(vinyl alcohol) boosting therapeutic potential of p-boronophenylalanine in neutron capture therapy by modulating metabolism	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Science Advances	6. 最初と最後の頁 eaaz1722
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/sciadv.aaz1722	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Takemoto Hiroyasu, Wang Chih-Ling, Nomoto Takahiro, Matsui Makoto, Tomoda Keishiro, Nishiyama Nobuhiro	4. 巻 20
2. 論文標題 Pyruvate Responsiveness Based on α -Oxohydrazone Formation for Intracellular siRNA Release from Polyion Complex-Based Carriers	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biomacromolecules	6. 最初と最後の頁 2305 ~ 2314
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.biomac.9b00261	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 Watanabe Sumiyo, Hiroyasu Takemoto, et al.	4. 巻 10
2. 論文標題 In vivo rendezvous of small nucleic acid drugs with charge-matched block cationomers to target cancers	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 1894
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-019-09856-w	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Muttaqien Sjaikhurrizal El, Nomoto Takahiro, Takemoto Hiroyasu, Matsui Makoto, Tomoda Keishiro, Nishiyama Nobuhiro	4. 巻 20
2. 論文標題 Poly(N-isopropylacrylamide)-Based Polymer-Inducing Isothermal Hydrophilic-to-Hydrophobic Phase Transition via Detachment of Hydrophilic Acid-Labile Moiety	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Biomacromolecules	6. 最初と最後の頁 1493 ~ 1504
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.biomac.8b01465	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 Dou Xuebo, Nomoto Takahiro, Takemoto Hiroyasu, Matsui Makoto, Tomoda Keishiro, Nishiyama Nobuhiro	4. 巻 8
2. 論文標題 Effect of multiple cyclic RGD peptides on tumor accumulation and intratumoral distribution of IRDye 700DX-conjugated polymers	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 6077
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-018-26593-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Abdul-Hackam Ranneh, Hiroyasu Takemoto, Shunya Sakuma, Aziz Awaad, Takahiro Nomoto, Yuki Mochida, Makoto Matsui, Keishiro Tomoda, Mitsuru Naito, Nobuhiro Nishiyama	4. 巻 57
2. 論文標題 An Ethylenediamine based Switch to Render the Polyzwitterion Cationic at Tumorous pH for Effective Tumor Accumulation of Coated Nanomaterials	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Angewandte Chemie International Edition	6. 最初と最後の頁 5057-5061
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/anie.201801641	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 該当する

1. 著者名 Hiroyasu Takemoto, Nobuhiro Nishiyama	4. 巻 267
2. 論文標題 Functional polymer-based siRNA delivery carrier that recognizes site-specific biosignals	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Journal of Controlled Release	6. 最初と最後の頁 90-99
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jconrel.2017.09.005	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7件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 5件）

1. 発表者名 Hiroyasu Takemoto, Nobuhiro Nishiyama
2. 発表標題 Polyzwitterion comprising 1,2-diaminoethane that recognizes tumorous pH for effective delivery of the coated nanoparticles
3. 学会等名 ICBZM2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 武元宏泰, Awaad Aziz, Ranneh Abdul-Hackam, 野本貴大, 松井誠, 三浦裕, 西山伸宏
2. 発表標題 腫瘍pH応答性高分子ペタインの開発と ナノ粒子のがん送達への展開
3. 学会等名 第35回日本DDS学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 武元宏泰, Awaad Aziz, Ranneh Abdul-Hackam, 野本貴大, 松井誠, 三浦裕, 西山伸宏
2. 発表標題 腫瘍内pH応答性高分子ペタインの設計と 被覆ナノ粒子への展開
3. 学会等名 第68回高分子学会討論会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hiroyasu Takemoto, Aziz Awaad, Takahiro Nomoto, Makoto Matsui, Yutaka Miura, Nobuhiro Nishiyama
2. 発表標題 The development of polyzwitterion that responds to tumorous pH for effective delivery of nanomaterials to the deeper site in the tumor tissue
3. 学会等名 ACS Spring 2020 National Meeting & Expo (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Hiroyasu Takemoto, Abduhl Hackam Ranneh, Takahiro Nomoto, Makoto Matsui, Keishiro Tomoda, Nobuhiro Nishiyama
2. 発表標題 Ethylenediamine-based betaine structure switches the neutral net charge of polyzwitterion into cationic at tumorous pH toward effective tumor accumulation of the coated nanomaterials
3. 学会等名 256th ACS National Meeting & Exposition (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hiroyasu Takemoto, Abdul-Hackam Ranneh, Takahiro Nomoto, Makoto Matsui, Nobuhiro Nishiyama
2. 発表標題 Ethylenediamine-based polyzwitterion that becomes cationic at tumorous pH for effective tumor accumulation of the coated nanomaterials
3. 学会等名 The 12th SPSJ International Polymer Conference (IPC2018) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hiroyasu Takemoto
2. 発表標題 Bioresponsive Polyzwitterion that Recognizes Tumorous pH for a Construction of Tumor-Targeted Carriers
3. 学会等名 The 35th International Conference of Photopolymer Science and Technology (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 pH応答性ポリマー及び薬物送達システム	発明者 武元宏泰 他5名	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、PCT/JP2017/43604	出願年 2017年	国内・外国の別 外国

〔取得〕 計0件

〔その他〕

エチレンジアミン構造に基づく高分子ペタインの電荷制御とナノ粒子の腫瘍送達への展開
<http://www.res.titech.ac.jp/news/research/201806nt.html>

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