

平成22年4月28日現在

研究種目：基盤研究（A）

研究期間：2007～2010

課題番号：19200040

研究課題名（和文） 精密な薬物送達のための標的集積・温度応答・可視化多重機能性
ナノベシクルの創製研究課題名（英文） Development of multifunctional nano-vesicles having target
accumulation, temperature-response, and imaging abilities

研究代表者

河野健司 (KONO KENJI)

大阪府立大学・大学院工学研究科・教授

研究者番号：90215187

研究代表者の専門分野：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：ナノ医療、ナノカプセル、ドラッグデリバリー、可視化、MRI、がん治療、診断

1. 研究計画の概要

本研究は、鋭敏な温度応答機能、標的（腫瘍）集積機能、および体内におけるキャリアの集積位置をモニターするための可視化機能、の3つの機能を集積化することによって、高精度で薬物を標的に送達するための先進ナノキャリアシステムを構築することを目的とする。具体的には、リビング重合法に基づく高感度温度応答性高分子の精密合成や、温度応答性デンドリマーを用いての高感度温度応答性両親媒性分子の合成、によって、温度応答性機能素子を開発し、これらの素子と脂質膜との相互作用や相転移現象を利用することによって、超高感度温度応答性を実現する。また、多量のMRI活性イオンや金属ナノ粒子を担持させ、これを導入することで、可視化機能を有するナノベシクルを構築する。さらに、腫瘍血管の透過性の亢進に基づく腫瘍集積機能や腫瘍特異的ヒト型抗体の導入によってナノベシクルの腫瘍集積機能の高度化を実現する。そして、温度応答性ナノベシクルに可視化機能および腫瘍集積機能を多重化することによって多重機能集積型ナノベシクルを構築し、標的限定的な精密薬物送達に基づく薬物治療効果の飛躍的な向上を実現する。

2. 研究の進捗状況

①高感度温度応答型ナノベシクルの開発

ポリビニルエーテル型感温性ポリマーをリン脂質ベシクルに複合化することで高感度型ナノベシクルを調製した。このベシクルの

脂質組成の最適化を行い、温度応答性の高感度化を行った。また、生体適合性と温度応答機能を同時に付与するために、ポリエチレングリコールを末端に結合したポリビニルエーテルを新規に合成し、このポリマーで修飾したリポソームを開発した。

②温度応答性デンドロン脂質を用いた高感度ナノベシクルの調製

アルキルアミド基を末端にもつデンドロン脂質を合成した。このデンドロン脂質は低温において安定なベシクルを形成した。しかし、このベシクルは特定の温度において急激に不安定化し、凝集、融合、逆ヘキサゴナル相形成が起こった。また、アルキルアミド基の構造を調節したり、その組成を調節することで、望む温度において不安定化する温度応答性ナノベシクルが得られることを見出した。

③ガドリニウム担持による可視化ベシクル
ガドリニウムキレートと結合したデンドロン脂質を開発し、これをリポソームに含有させた。このリポソームを担癌マウスに投与し、MRIによってモニター化したところ、腫瘍組織や肝臓、腎臓へのリポソームの集積と減少の過程がリアルタイムで追跡できることがわかった。

④金ナノ粒子を複合化したナノベシクル

金ナノ粒子は、超音波法やX線CTなどで可視化できる。そこで、金ナノ粒子の脂質膜ベシクルへの複合化について検討した。クエン酸還元法で調製した金ナノ粒子をリポソ-

ムとインキュベートすることで金ナノ粒子複合化ナノベシクルの調製に成功した。

⑤多重機能リポソームの腫瘍成長抑制効果
脂質組成を最適化した感温性ポリビニルエーテル複合化ナノベシクルに抗癌剤ドキシルビシンを包埋させた。このベシクルを担癌マウスに投与し、42℃で加温することで、選択的に腫瘍組織の成長を抑制することができた。また、マンガンイオンとドキシルビシンを同時に封入した感温性ポリマー修飾ナノベシクルを担癌マウスに投与し、腫瘍組織の加温によって、腫瘍組織における内包物の放出をMRIでモニター化することに成功した。

3. 現在までの達成度

当初の計画通りに進展している。

(理由)

①ポリビニルエーテルの複合化と脂質種の最適化によって、鋭敏に温度に応答するナノベシクルの作製に成功している。

②新しい感温性ポリマーの合成に成功し、このポリマーの複合化によって温度応答性ナノベシクルの作製が進んでいる。

③温度応答性基をもつデンドロン脂質を用いることで、従来と全く異なる鋭敏なナノベシクルの作製に成功している。

④ガドリニウムキレート担持デンドロン脂質を合成し、これをベシクル中に含有させることで、MRIで検出可能なベシクルの構築に成功した。

⑤金ナノ粒子を複合化した脂質膜ベシクルの調製に成功した。この粒子は、超音波やX線CTなどの方法によって、体内挙動を追跡できる可能性がある。

⑥マンガンイオンと抗がん剤を同時封入した感温性リポソームは、内包薬物の放出を追跡できる可視化リポソームであることを示すことに成功した。

4. 今後の研究の推進方策

これまでの2年間で、温度応答性ナノベシクルの構築、可視化機能の付与方法、MRIを用いた生体内でのナノベシクルの可視化技術の確立を達成した。これからの2年間において、これらの技術を総合化することで、温度応答機能および可視化機能をナノベシクルに同時に与えるとともに、粒径制御やリガンドの導入によって、標的集積機能を与えることによって、多重機能性ナノベシクルを構築し、その治療効果について明らかにする。具体的には、以下の項目について、検討する。

①ポリビニルエーテル複合化抗癌剤包埋ナノベシクルへのガドリニウムキレート担持デンドロン脂質の導入によって多重機能性ナノベシクルを構築し、MRI可視化と局所加温による、担癌マウスの治療効果を実証する。

②粒径調節やリガンドの導入によって、標的集積性に優れた多重機能性ナノベシクルを構築する。

③新しい感温性高分子の導入や感温性デンドロン脂質ベシクルを用いることで、多重機能性ナノベシクルの性能の強化を実現する。

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 25 件)

① C. Kojima, K. Yoshimura, A. Harada, Y. Sakanishi, K. Kono, "Synthesis and characterization of hyperbranched poly(glycidol) modified with pH- and temperature-sensitive groups", **Bioconjugate Chemistry**, in press. (2009)、査読有。

② C. Kojima, Y. Hirano, E. Yuba, A. Harada, K. Kono, "Preparation and characterization of complexes of liposomes with gold nanoparticles", **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, **66**, 246-252 (2008)、査読有。

③ N. Sakaguchi, C. Kojima, A. Harada, K. Koiwai, K. Kono, "The correlation between fusion capability and transfection activity in hybrid complexes of lipoplexes and pH-sensitive liposomes", **Biomaterials**, **29**, 4029-4036 (2008)、査読有。

[学会発表] (計 70 件)

中嶋誠司, 児島千恵, 原田敦史, 青島真人, 青木伊知男, 石坂幸人, 河野健司, Gd 担持デンドロン脂質を含有した温度応答性リポソームの調製と機能評価, 日本バイオマテリアル学会シンポジウム, 2008年11月17日, 東京

[図書] (計 2 件)

① 河野健司, 児島千恵, 「温度応答性高分子を用いた温度応答性ナノキャリア」, 遺伝子医学MOOK別冊, 絵で見てわかるナノDDS—マテリアルから見た治療・診断・予後・予防、ヘルスケア技術の最先端—, (監修田畑泰彦) pp. 106-112 (2007), メディカルドゥ

[産業財産権]

○出願状況 (計 6 件)

常磁性金属含有ポリアミドアミンデンドロン脂質, 河野健司, 青木伊知男, 大阪府立大学, 放射線医学総合研究所, 特願 2008-121573 (2008. 5. 7) 国内

[その他]

ホームページ

<http://www.chem.osakafu-u.ac.jp/ohka/ohka9/index.htm>