

令和 6 年 6 月 20 日現在

機関番号：12605

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2020～2023

課題番号：20H04526

研究課題名（和文）単回血管挿入で異なる薬剤を適剤適所に送達可能な光応答性薬剤担持型バルーンの開発

研究課題名（英文）Development of Photoresponsive Drug-Loaded Balloon Capable of Delivering Different Drugs to the Right Place in a Single Vascular Insertion

研究代表者

赤木 友紀（Akagi, Yuki）

東京農工大学・工学（系）研究科（研究院）・准教授

研究者番号：40782751

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,700,000円

研究成果の概要（和文）：申請者は、これまでにカテーテルバルーン表層の薬剤を光照射時のみ放出可能な新規薬剤コーティングバルーン（DCB）の開発を進めてきた。本研究課題では、異なる部位に適切な薬剤を血流中で露出することなく単回挿入で疾患部位に送達し機能させる創出のために、可視光に応答する光開裂リンカーの合成、および既存のDCBと同等の性能を有するバルーンシートの作成を目的とした。一連の実験を通して、バルーン表面に結合可能な可視光リンカーの合成、および作製したバルーンシートが既存製品と同等の厚み・光透過性を有することが確認された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年では冠動脈狭窄のみならず、末梢動脈疾患やシャント内狭窄のためのDCBが用いられている。しかしながら、現在存在するDCBは、いずれも血管内に挿入した時点から薬剤のリリースが開始し、患部への接触によって薬剤投与を行う受動的な方法論しかない。その中で申請者の提案する光応答性薬剤担持型バルーンは、能動的な薬剤投与であり目的の部位に目的の薬剤を届けることが可能となる。様々な薬剤を段階的に投与するために、その方法論の確立は必須であり、本研究課題で得られた500 nmでの開裂および薬剤放出、さらに、評価のために必要なバルーンの作製手法は、今後のDCBの発展に大きな意味を持つと考えている。

研究成果の概要（英文）：We have been developing novel drug-coated balloons (DCBs) in which the drug on the surface layer of the catheter balloon can be released only upon light irradiation. In this research project, we aimed to synthesize a photocleavable linker that responds to visible light and to create a balloon sheet with performance comparable to existing DCBs for the creation of a single insertion that delivers and functions at the site of disease without exposure in the bloodstream of drugs appropriate for different sites. Through a series of experiments, it was confirmed that the synthesis of visible light linkers that can be bound to the balloon surface and the fabricated balloon sheet has the same thickness and light transmittance as existing products.

研究分野：バイオマテリアル

キーワード：薬剤コーティングバルーン 光応答性 表面コーティング 局所薬剤送達システム 血管内狭窄治療 光開裂リンカー

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

### 1. 研究開始当初の背景

我が国の死亡原因の第二位は心疾患であり、中でも冠動脈疾患(CAD)が占める割合は高い。CADの治療法として、侵襲性が低くかつ即効性のある経皮的冠動脈形成術(PTCA)がある。PTCAは、血管からバルーン付きカテーテルを挿入し、動脈に沿って血管の閉塞部位に到達させて患部でバルーンを膨らませることで、血管を拡張させる術式である。一方でバルーンのみでは再発率が高い(40%)ことが報告されている。再発抑制のために、薬剤を塗布したバルーン(薬剤コーティングバルーン:DCB)が開発され臨床応用されているが、現状のDCBはバルーン表面への薬剤塗布(物理吸着)のみであるため、狭窄部位に届く前に、血流中で表面に付着した薬剤のうち70%程度が流出し、さらに狭窄部位でバルーン拡張後において10-20%がバルーンに残存し、疾患部位への到達量は初期搭載量のうちわずか5.5%にすぎない。

そうした中で申請者は、バルーン表面に外部刺激に応答して機能する官能基を介して薬剤を結合し、外部刺激を与えた時にのみ、薬剤を放出するシステムを考案した。これまでに薬剤をバルーンと同素材の粒子表面に化学結合により『直接結合する』ことで血流中において漏出することを防ぎ、かつ光刺激に応答して薬剤を放出する「リモートコントロール型DCBシステム」に関する基盤技術を確立することに成功した。一方で、現在のシステムでは、一度の光照射により全ての薬がリリースされる。つまり、一度の挿入(単回挿入)時に、異なる部位へ異なる薬剤を届けることは現状困難である。

### 2. 研究の目的

本研究課題では、異なる部位に適切な薬剤を血流中で露出することなく単回挿入で疾患部位に送達し機能させるDCB創出のために、可視光に応答する光開裂リンカーの合成、および既存のDCBと同等の性能を有するバルーンシートの作成を目的とする。

### 3. 研究の方法

単回挿入で複数の疾患部位に適切な薬剤を送達する外部刺激応答性薬剤担持型バルーンの実現に向けて、以下の研究を実施した。

① **可視光開裂リンカー( $^{Vis}PC$ )の合成と物性評価:** これまでに、申請者は表面にカルボキシル基を有する粒子に対して、カルボキシル基と擬似薬剤である蛍光色素の両方に結合可能な官能基を有する光開裂(PC)リンカー@365nmを用いて評価を行った。PC@365nmによる実験では、速やかな薬剤放出が確認されている。本研究では、バルーンからの段階的な薬剤放出を可能にするために、500nm付近での開裂の報告があるBODIPY誘導体をもとに、提案システムに搭載可能な光開裂リンカー( $^{Vis}PC$ )の合成を行った。 $^1H$  NMR測定、吸光度測定、モル吸光係数の算出、アンケー量子収率( $\phi_u$ )の算出より、合成した $^{Vis}PC$ の評価を行った。

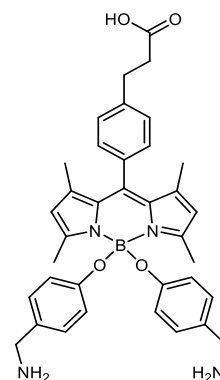


図1  $^{Vis}PC$ の構造

② **Latex- $^{Vis}PC$ -Cy5の作成:** ①で合成した $^{Vis}PC$ に対し、モデル薬剤として蛍光物質Cyanine5-N-Hydroxysuccinimide(Cy5)を導入した $^{Vis}PC$ -Cy5の合成を行った。その後、バルーンと同素材のラテックス粒子(Latex-NH<sub>2</sub>)に対して $^{Vis}PC$ -Cy5を縮合反応させ、洗浄・遠心分離を行い、Latex- $^{Vis}PC$ -Cy5を作製した。また対照群として、PCを使用しないLatex-Cy5を作製した。

③ **Latex- $^{Vis}PC$ -Cy5の光応答性:** Latex- $^{Vis}PC$ -Cy5に対して、500nmの光照射を0、1、3、5、10、20min行った。各々の段階で、共焦点レーザー走査型顕微鏡を用いて蛍光観察(励起光:640nm、蛍光:650-700nm)を行った。定量的評価として、フローサイトメトリーによって蛍光強度を測定し、初期状態( $F_0$ )から各時間( $F$ )の蛍光強度変化を求めた。さらに、Latex-UVPC-Cy3.5、Latex- $^{Vis}PC$ -Cy5を混合させた試料(&Latex-PC-Cy)にVis、およびUVの照射(UV: 25 mW/cm<sup>2</sup>)を1min行い、蛍光顕微鏡を用いて二色素の撮像を行い、それらの蛍光画像の輝度値より放出率を算出した。

④ **バルーンシート(PEBAX シート)の合成:** 本実験では、バルーンの原材料から医療用のバルーンカテーテルと同等の規格・性能を有するシートの作成に取り組んだ。PEBAX の融解温度である 200 度付近まで加熱し、200 度付近でのインキュベート時間や圧縮速度を調整した。作成したシートに対し、レーザーを用いた厚み測定、および光透過性について調べた。

#### 4. 研究成果

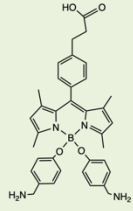
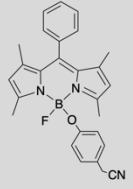
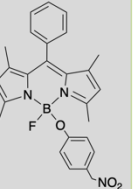
①**可視光開裂リンカー(<sup>Vis</sup>PC)の合成:** 合成した化合物は、<sup>1</sup>H NMR 測定および吸光度の測定により評価を行った。その結果、500 nm 付近に強い吸収特性を持つことから、500 nm で開裂する可能性を持ったリンカー(<sup>Vis</sup>PC)の合成が確認された。この <sup>Vis</sup>PC に対して、アンケー量子収率の測定を行い、 $0.24 \times 10^{-5}$  と先行研究の化合物と同オーダを示したことから、<sup>Vis</sup>PC の光開裂性が示唆された。

②③**Latex-<sup>Vis</sup>PC-Cy5 の作成と光応答性:** 作製した Latex-<sup>Vis</sup>PC-Cy5 に対して、Vis 光の照射(0、1、20 min)を行った。

その結果、光照射時間に依存して Latex-<sup>Vis</sup>PC-Cy5 の蛍光が減少していることが確認され、1 min で 20%、20 min で 30%程度減少した。対照群 Latex-Cy5 では、光照射による蛍光強度の変化が顕著に見られなかった。これらの結果から、Vis 照射により、<sup>Vis</sup>PC が開裂し、Cy5 を放出した可能性が示唆された。また、蛍光画像より Cy5 は Vis 照射でのみ大きな変化が見られた。Latex-<sup>UV</sup>PC-Cy3.5、Latex-<sup>Vis</sup>PC-Cy5 を混合させた試料(&Latex-PC-Cy)を用いた評価を行った結果、Cy5 は Vis 照射で大きな変化が見られた一方で、UV でやや減少する傾向が確認された。このことから、<sup>Vis</sup>PC は UV でも開裂する可能性あるため、照射強度や照射順を考慮する必要がある。

④ **バルーンシート(PEBAX シート)の合成:** バルーンカテーテルの原材料であるペレットを 200 度前後まで加熱し加工する作業を繰り返し、厚み 0.02-0.1 mm のシートを作成した。融解温度や静置時間によって、シートの状態が変化するため、設定温度や試料の静置時間を細かく変え、最適な作成条件を決定した。厚みの測定については、レーザーによる厚み測定を行った。光透過性の評価については、シートの表面から様々な波長の光を照射し、裏面から出てくる光量を測定した。その結果、80%以上の光を透過することが確認された作成したシートと既存製品について、表面形状や官能基量の評価を行い、同等であることを確認した。このシートを用いて、本提案システムに最適な実験条件を検討し、リンカーおよび擬似薬剤の導入量など、一定の成果を得ることができた。

表 1 アンケー量子収率の比較

	<sup>Vis</sup> PC	先行研究	先行研究
構造			
$\phi_u$ ( $10^{-5}$ )	0.24	1.2	0.14

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Hayato Laurence Mizuno, Yasutaka Anraku, Ichiro Sakuma, Yuki Akagi	4. 巻 23
2. 論文標題 Effect of PEGylation on the Drug Release Performance and Hemocompatibility of Photoresponsive Drug-Loading Platform	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Science	6. 最初と最後の頁 6686
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms23126686	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 Hayato Mizuno, Yasutaka Anraku, Ichiro Sakuma, and Yuki Akagi	4. 巻 62
2. 論文標題 Design of a photocleavable drug binding platform for a novel remotely controllable drug coated balloon, Journal of Drug Delivery Science and Technology	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Drug Delivery Science and Technology	6. 最初と最後の頁 102375
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jddst.2021.102375	査読の有無 無
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5件（うち招待講演 0件/うち国際学会 3件）

1. 発表者名 Shogo Shibayama, Hayato L. Mizuno, Tasuku Ueno, Yasutaka Anraku, Ichiro Sakuma, Yuki Akagi
2. 発表標題 Synthesis of Visible Light Responsive Photocleavable Linker
3. 学会等名 International conference nanomaterials and biomaterials (ICNB) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 柴山翔伍, 佐久間一郎, 赤木友紀
2. 発表標題 異種薬剤搭載型光応答性バルーンカテーテル開発に向けた可視光開裂基の合成と機能性評価
3. 学会等名 日本生体医工学会関東支部 若手研究者発表会2021
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Hayato Laurence Mizuno, Yasutaka Anraku, Ichiro Sakuma, Yuki Akagi
2. 発表標題 Development of Photoresponsive Drug Loaded Balloons for the Enhancement of Drug Delivery Efficacy to Coronary Stenoses
3. 学会等名 Materials Research Meeting 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Hayato Laurence Mizuno, Yasutaka Anraku, Ichiro Sakuma, Yuki Akagi
2. 発表標題 Development of a photocleavable drug binding platform for externally triggerable local drug delivery,
3. 学会等名 Pacifichem 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 水野隼斗, 安楽泰孝, 佐久間一郎, 赤木友紀
2. 発表標題 冠動脈疾患治療のための薬剤内包ミセル担持型光応答性プラットフォームの開発
3. 学会等名 日本化学会第101春期年会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 外部刺激応答性薬剤担持型バルーンへの高分子集合体の搭載	発明者 赤木友紀、安楽泰孝、佐久間一郎、水野隼斗	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、PCT/JP2020/26910	出願年 2020年	国内・外国の別 外国

〔取得〕 計0件

〔その他〕

-

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
研究 分 担 者	安楽 泰孝  (Anraku Yasutaka)  (60581585)	東京工業大学・物質理工学院・准教授     (12608)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関