

令和 5 年 6 月 5 日現在

機関番号：13903

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K05264

研究課題名(和文) ターゲット認識能及び環境認識能を有するナノカプセルの構築とDDS担体への応用

研究課題名(英文) Fabrication of DDS carriers having Targeting and Environmental Recognition Abilities

研究代表者

樋口 真弘 (Higuchi, Masahiro)

名古屋工業大学・工学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：50357836

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：ベシクル表面を炭酸カルシウムで被覆することで、生理条件下での構造安定化と、特定条件下、特に、癌組織近傍の環境下での崩壊に伴う薬物放出が可能なDDS担体の構築を目的とした。さらに、同炭酸カルシウムで被覆したベシクル表面に受容体となる官能基を、温和な条件で導入することで特定部位への誘導が可能であることを示した。本研究で得られた炭酸カルシウム被覆ベシクルは、がん化学療法用のDDS担体として、1) EPR効果発現の粒径範囲であること、2) がん組織近傍の弱酸性環境下で効率的に薬剤を放出できること、3) がん細胞を特異的に認識可能であること、の3条件を満たしうる可能性が示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

免疫チェックポイント阻害剤や分子標的薬の開発により、癌の化学療法は目覚ましい発展を遂げている。しかしながら、これら新薬の薬価は非常に高額であり、保険財政を著しく逼迫させることが予想される。一方において、これまでに多くの抗癌剤が開発されてきたが、十分な薬効を示すものの、強すぎる副作用のために、治療薬として断念されてきた安価な抗癌剤も多く存在する。本研究では、癌の化学療法に用いるDDS担体として、癌細胞近傍の弱酸性条件下でのみ崩壊するCaCO<sub>3</sub>被覆ベシクルを薬物担持担体の基本構成単位とし、その表面に、種々の癌細胞を認識するフラグメントを任意に導入可能な、汎用性のある担体の構築を目的とした。

研究成果の概要(英文)：By coating the surface of the vesicle with CaCO<sub>3</sub> we aimed fabricate DDS carriers whose structure were stabilized under physiological conditions, and that released drugs under specific conditions, especially in environments near cancer tissues. Furthermore, it was shown that functional groups that act as receptors can be easily introduced to the surface of the CaCO<sub>3</sub>-coated vesicles under mild conditions. Effective drug delivery to a gel that mimics cancer tissue was confirmed through interaction with the introduced receptor and dissolution of the CaCO<sub>3</sub> shell under weakly acidic conditions. The obtained CaCO<sub>3</sub>-coated vesicles in this study are shown to have the potential to satisfy the following three conditions as DDS carriers for cancer chemotherapy. 1) It is within the particle size range for EPR effect expression, 2) It can efficiently release drugs in a weakly acidic environment near cancer tissue, and 3) It can specifically recognize cancer cells.

研究分野：高分子科学

キーワード：ドラッグデリバリーシステム ターゲット認識能 環境認識能 ペプチド脂質 ベシクル ミネラルゼーション 炭酸カルシウム マグネタイト

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

化学療法によるがん治療には大きな副作用が伴う。高い薬効を有しながら、その高い副作用のため開発段階で見捨てられた薬剤が数多く存在する。従来使用できなかった薬物の利用を目的に、ドラッグデリバリーシステム (DDS) が再注目されている。

ベシクルをがんの化学療法のための DDS 担体として用いる場合、がん組織と正常組織との違いを利用して、がん組織のみに担体を集積させることが有効である。その1つに、Enhanced Permeability and Retention (EPR) 効果を利用したターゲティング手法が研究されている。これは、正常な血管では漏出しない大きさの薬物を血中に循環させ、薬物をがん組織に集積させる効果である。EPR 効果を発現できる薬物担持担体の最適な大きさは、直径 50 nm ~ 200 nm であると報告されている。2つ目の特徴として、がん組織は正常組織に比べ低 pH となっているので、弱酸性条件下で薬物を放出可能なキャリアは、がん組織への特異性を高めることができる。3つ目の特徴として、がん細胞表面には正常細胞と異なる特殊なたんぱく質などが発現している場合が多い。実際、葉酸レセプターなどをターゲティングに用いている例が報告されている。これら3つの特性を併せ持つ DDS 担体は、がんの化学療法に用いる担体として有効である。

### 2. 研究の目的

本研究では、ベシクルを  $\text{CaCO}_3$  被覆し、ベシクルを安定化させることを考えた。ベシクルの直径は一般的に 100 nm 程度であり、EPR 効果発現の条件を満たす。被覆する  $\text{CaCO}_3$  は生体毒性を持たず、正常組織周辺環境の生理的 pH では不溶であるが、がん組織周辺環境の弱酸性では溶解するという性質をもち、上記抗がん剤のキャリアとしての条件 1 と 2 を満たす。ベシクル表面の  $\text{CaCO}_3$  被覆は、自己供給型  $\text{CaCO}_3$  ミネラル化<sup>1, 2)</sup>を用いた。上記条件 3 のターゲット認識能を付与させるために、同ペプチド脂質の親水部末端にポリエチレングリコール(PEG)鎖を介して、チオール基を導入した。チオール基はクリック反応などで種々のレセプターとなるフラグメントを簡単に導入できる。

本研究で得られる炭酸カルシウム被覆ベシクルの構造と、薬物放出機序の模式図を図 1 に示す。a): EPR 効果が期待できるサイズの炭酸カルシウム被覆ベシクルはがん組織に侵入し、b): 表面フラグメントが、がん細胞を認識する。その後、c): 弱酸性下での炭酸カルシウム殻の溶解と、代謝等によるベシクル崩壊で、担持された薬物が放出される。すなわち、炭酸カルシウム被覆ベシクルは、がん化学療法の薬物担持担体として有効であると考えた。

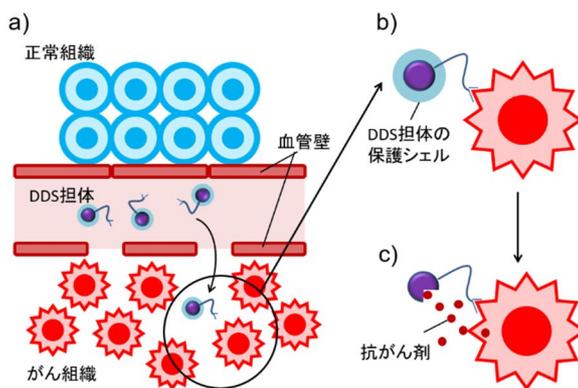


図 1. 本研究で構築する DDS 担体の薬物放出機構の概念図。

### 3. 研究の方法

#### (1) $\text{CaCO}_3$ ミネラル化を触媒するペプチド脂質の分子設計と合成

我々が設計した、 $\text{CaCO}_3$  ミネラル化を触媒するペプチド脂質の構造を図 2a に示す。ペプチド脂質のペプチド部には、 $\text{CaCO}_3$  のミネラル源である  $\text{CO}_3^{2-}$  を供給するための、ウレア加水分解活性を有する Val-His-Val-Glu-Val-Ser (VHVEVS) シーケンス<sup>1)</sup>を採用し、その N 末端に導入したリジンを介してアルキル鎖を 2 本導入した。アルキル鎖にパルミトイル基を用いたペプチド脂質; 2C<sub>16</sub>-VHVEVS と、その疎水性を高めるためアルキル鎖としてステアрил基を導入した 2C<sub>18</sub>-VHVEVS をそれぞれ、合成した。

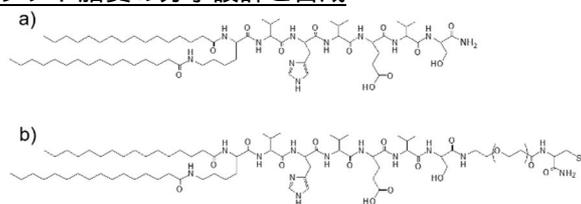


図 2.  $\text{CaCO}_3$  ミネラル化を触媒する a); ペプチド脂質と b); PEG ペプチド脂質。図にはアルキル鎖にパルミトイル基を有する物を示した。

加えて、上記 2 種類のペプチド脂質の末端に PEG 鎖 (分子量: 4600) を介してシステインを導入した PEG ペプチド脂質 (2C<sub>n</sub>-VHVEVS-PEG-Cys; 図 2b) を設計・合成した。末端システインのチオール基は、温和な条件下で標的がん細胞表面のタンパク質等と結合可能な受容体を簡単に導入することができる。

#### (2) $\text{CaCO}_3$ 被覆ベシクルの調製

図 3 に  $\text{CaCO}_3$  被覆ベシクルの調製法の概要を示す。大豆レシチンと、ペプチド脂質、及び、PEG ペプチド脂質をモル比 200:1:1 で混合し 150 mM の NaCl 水溶液で水和後、超音波照射によりベシクルを調製した。得られたベシクル溶液にウレア、及び、酢酸カルシウム水溶液を加え、

pH 7.5 に調整した。大豆レシチンの終濃度は 0.1 wt% とした。この条件で作成したベシクルは、その内水相と外水相の組成は、図中に示した通り等張系と成る。この条件下、ウレアの熱分解が生じない 25°C において、所定時間、自己供給型ミネラルゼーションを行い、ベシクル外表面を CaCO<sub>3</sub> で被覆した。

### (3) CaCO<sub>3</sub> 被覆ベシクルの構造解析

前項で得られた CaCO<sub>3</sub> 被覆ベシクルの構造を透過型電子顕微鏡(TEM)により直接観察し、観察領域の元素分布を走査透過型電子顕微鏡(STEM)観察でのエネルギー分散型 X 線(EDX)分析から評価した。

また、CaCO<sub>3</sub> 殻の結晶構造は、X 線構造解析により評価した。加えて、CaCO<sub>3</sub> 被覆ベシクルの内部構造を 3-D TEM 観察より可視化した。CaCO<sub>3</sub> 被覆ベシクル、及び、被覆前のベシクルの流体力学的粒径は動的光散乱(DLS)測定から求めた。

### (4) CaCO<sub>3</sub> 被覆ベシクルの薬物放出能評価

CaCO<sub>3</sub> 被覆ベシクルへの封入薬物には抗がん剤である 5-フルオロウラシル(5-FU)を用いた。5-FU の CaCO<sub>3</sub> 被覆ベシクルへの封入は、ベシクル調製と同時に行った。この後、図 3 に示すミネラルゼーションを 25°C で種々の時間行い、ベシクル表面を CaCO<sub>3</sub> で被覆した。得られた 5-FU が封入された CaCO<sub>3</sub> 被覆ベシクル分散液を 150 mM の NaCl 水溶液で透析し精製した。透析後の 5-FU 封入 CaCO<sub>3</sub> 被覆ベシクル分散液を 1.5 mL ずつ小分けして凍結乾燥し、使用時まで冷凍保存した。薬物放出実験は、凍結乾燥した 5-FU 封入 CaCO<sub>3</sub> 被覆ベシクルを 1.5 mL の純水に再分散させた。このベシクル分散液 1.5 mL を透析チューブに封入し、36°C において各 pH に調整した緩衝液 30 mL で透析し、一定時間ごとに外液の 5-FU 濃度を測定し、CaCO<sub>3</sub> 被覆ベシクルより放出された 5-FU 量を求めた。放出量は、すべての封入 5-FU が放出された場合を 100 とした % Release で示した。

pH の違いによる被覆 CaCO<sub>3</sub> 殻の溶解速度を、Quin 2 を用いた蛍光法による遊離 Ca イオンの測定より評価した。凍結乾燥した CaCO<sub>3</sub> 被覆ベシクルを pH 8.0, pH 7.4 と pH 6.0 の緩衝液にそれぞれ再分散させた。この溶液に 1.44 mM の Quin 2 水溶液を 20 µL 加え蛍光測定(励起: 339 nm, 蛍光: 492 nm)を行い、各 pH 条件での被覆 CaCO<sub>3</sub> 殻の溶解に伴う遊離 Ca イオン濃度を求めた。

### (5) CaCO<sub>3</sub> 被覆ベシクルのターゲット認識能評価

CaCO<sub>3</sub> 被覆ベシクル表面のチオール基にビオチンを結合させ、アビジンを添加することで、被覆ベシクルのアビジン認識能を、アビジンを介したベシクルの凝集から目視で評価した。ビオチンによる CaCO<sub>3</sub> 被覆ベシクル表面の修飾はマレイミド化ビオチンと PEG ペプチド脂質末端チオール基との反応により行った。得られたビオチンで表面修飾された被覆ベシクルの 1 mL 分散液に対し、アビジン 300 µg を添加後、卓上遠心機で 1 分程度遠心分離した。

がん組織を模倣したゲルへの選択的な薬物送達に関して検討した。アガロースにポリアリルアミンを重量比 1:1 で混合し、濃度 1 wt% のゲルを調製した。得られたゲルを、0.1 wt% のスベリン酸ビス(3-スルホ-*N*-スクシンイミジル)二ナトリウム(BS3)水溶液に浸漬し、30 分間振とうした後、水溶液中にストレプトアビジンを、その濃度が 0.1 wt% と成るように加え、さらに 1 昼夜振とうさせた。得られたゲルは、BS3 によるアミノ基間架橋により、ゲル内部のポリアリルアミンにストレプトアビジンが固定化されるとともに、ゲル内部で架橋が形成される。得られたストレプトアビジン固定化ゲルを、pH 8.0, pH 7.0、及び、pH 6.0 緩衝液にそれぞれ、浸漬させ、未反応のストレプトアビジン、及び、BS3 の除去と、ゲル内部の pH 調整を行った。このストレプトアビジン固定化ゲルを、緩衝液から取り出し、ビオチンで表面修飾された 5-FU 封入 CaCO<sub>3</sub> 被覆ベシクル分散液に 2 日間浸漬、振とうし、ゲル内部への 5-FU 移行量を測定した。

## 4. 研究成果

### (1) CaCO<sub>3</sub> 被覆ベシクルの構造

初めにペプチド脂質による自己供給型ミネラルゼーション反応で得られる CaCO<sub>3</sub> 殻の形成に関して TEM 観察<sup>3)</sup>から検討した。ペプチド脂質には 2C<sub>16</sub>-VHVEVS を用いた。ミネラルゼーションを行う前のベシクルには明確な構造が認められなかった。これは TEM 観察条件の高真空下でベシクル構造が潰れたためと思われる。ミネラルゼーション期間が 8 日、11 日と比較的短い場合も、ベシクルの球状構造は潰れ変形した。一方、ミネラルゼーション期間を 18 日、25 日と延長すると、潰れたベシクルは確認されず、球状を高真空化で維持できる構造体が確認された。この結果は CaCO<sub>3</sub> 被覆によりベシクルが構造安定化されたことを示している。

18 日間ミネラルゼーションを行った CaCO<sub>3</sub> 被覆ベシクルの流体力学的粒径を動的光散乱(DLS)測定より求めた<sup>3)</sup>。CaCO<sub>3</sub> 被覆ベシクルの直径は 193.6 ± 84.4 nm であり TEM 観察での大きさとほぼ一致した。またミネラルゼーション前の径 122.7 ± 22.7 nm より増加したことが分かる。この事からもベシクル表面が CaCO<sub>3</sub> で被覆されたことが裏図けられた。

次に、得られた CaCO<sub>3</sub> 被覆ベシクルの内部構造を 3D-TEM 観察より評価した。用いた被覆ベ

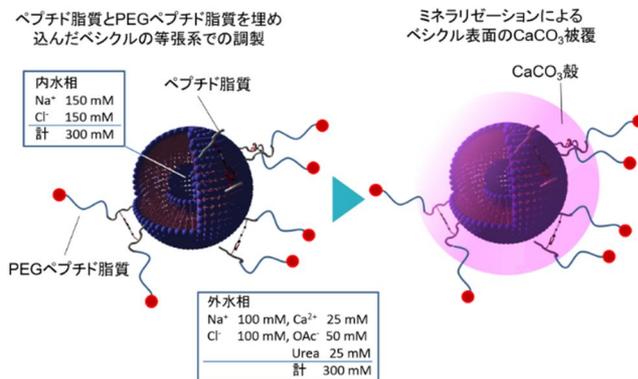


図 3. CaCO<sub>3</sub> 被覆ベシクル調製の概念図。

シクルはミネラレゼーション期間 18 日間の物である。結果を図 4a に、その断層像を図 4b 示す。図 4b の白い部分が  $\text{CaCO}_3$  殻であり内部が中空であるところが明らかである。 $\text{CaCO}_3$  殻の厚みは約 20 nm であり、DLS 測定より得られた粒径の増加と大きな齟齬はない。

$\text{CaCO}_3$  殻の結晶相を X 線構造解析(XRD)測定より評価した<sup>3)</sup>。測定試料は同様にミネラレゼーションを 18 日行った物を用いた。ベシクル表面の  $\text{CaCO}_3$  殻はカルサイト相からなることが分かった。VHVEVS シーケンスが逆並行 $\beta$ -シート構造を形成した場合、アラゴナイト相が選択的に形成される。これは、針状結晶のアラゴナイトと同じモルフォロジーを有する $\beta$ -シート構造より成る繊維状構造体がテンプレートとして働く場合に生じることを報告した<sup>1, 2)</sup>。本系のペプチド脂質はベシクル内に留まり、繊維状集合体を形成することはない。このため、アラゴナイトのテンプレートとしては機能せず、ミネラル源の炭酸イオンの発生のみに寄与し、最安定相であるカルサイト相が形成されたと考えられる。また、これは、被覆ベシクルの形状を考えた場合も優位である。針状結晶であるアラゴナイトで被覆された場合、ベシクルにゆがみが生じるが、キュービック結晶で覆われた際、歪みは抑制されると考えられる。

得られた  $\text{CaCO}_3$  被覆ベシクルの pH による被覆殻の溶解挙動を遊離 Ca イオンの定量分析により評価<sup>3)</sup>した。試料にはミネラレゼーションを 18 日間行った  $\text{CaCO}_3$  被覆ベシクルを用いた。正常組織近傍を模倣した pH 7.4 の条件では、遊離 Ca イオン濃度は緩やかに単調に増加したが、がん組織近傍を模倣した pH 6.0 では 2 日間で急激な濃度増加を示した。この結果は  $\text{CaCO}_3$  被覆ベシクルの  $\text{CaCO}_3$  殻が弱酸性下で素早く溶解すること、すなわち、がん組織近傍の pH 環境認識能を有することを示している。

次に、得られた  $\text{CaCO}_3$  被覆ベシクルに標的ターゲティング能を付与するために、PEG 鎖を介してチオール基を末端に有する PEG ペプチド脂質をペプチド脂質に混合してベシクルを調製し、その後  $\text{CaCO}_3$  殻形成を行った。PEG ペプチド脂質に  $2\text{C}_{16}$ -VHVEVS-PEG-Cys を、ペプチド脂質に  $2\text{C}_{16}$ -VHVEVS を用いた。25 で、18 日間ミネラレゼーションを行い得られた  $\text{CaCO}_3$  被覆ベシクルの EDX 分析の結果から、ベシクル由来の P、その外側に  $\text{CaCO}_3$  由来の Ca が確認された。加えて  $2\text{C}_{16}$ -VHVEVS-PEG-Cys の PEG 鎖に由来する O とその末端に導入されたシステインに由来する S が Ca よりも外側により広がって存在していた。すなわち、 $\text{CaCO}_3$  殻の外側に PEG 鎖と受容体結合部位としてのチオール基が分布していることが確認<sup>4)</sup>され、目的の構造を有するターゲット認識能を付与可能な  $\text{CaCO}_3$  被覆ベシクルが得られたことが分かった。しかしながら、ベシクル外に  $\text{CaCO}_3$  が認められた。 $2\text{C}_{16}$ -VHVEVS-PEG-Cys は  $2\text{C}_{16}$ -VHVEVS に親水性の PEG 鎖を導入しているため、親水性が強くなっている。そのため、ベシクルに取り込まれない  $2\text{C}_{16}$ -VHVEVS-PEG-Cys がミネラレゼーションを触媒し、ベシクル表面以外でのミネラレゼーションが生じたためと思われる。

そこで、PEG ペプチド脂質の疎水性を高めるために、そのアルキル鎖をパルミトイル基からステアリル基にそれぞれ変更して( $2\text{C}_{18}$ -VHVEVS-PEG-Cys2、 $\text{C}_{18}$ -VHVEVS)同様にベシクル調製とミネラレゼーションを行った。ミネラレゼーションを 18 日、及び、25 日間行い、得られた  $\text{CaCO}_3$  被覆ベシクルの TEM 像を、それぞれ、図 5 に示す。図中には DLS 測定より得られた粒径, d, 及び EDX 分析から得られた Ca と P との原子数比を合わせて示す。TEM 像から、50 ~ 100 nm 程度の EPR 効果発現が期待できる粒径を有する球構造体が多数観察された。また、先に生じたバルク中での  $\text{CaCO}_3$  形成は認められなかった。加えて、反応時間の増加に伴い、 $\text{CaCO}_3$  被覆ベシクルの粒径は増加した。各ミネラレゼーション時間で得られた  $\text{CaCO}_3$  被覆ベシクルの Ca/P を比較すると、ミネラレゼーション期間の増加に伴い顕著に大きくなった。この結果よりミネラレゼーション期間を調節することにより  $\text{CaCO}_3$  殻の厚み、すなわち、薬物保持能の制御が可能であることが示唆された。

## (2) $\text{CaCO}_3$ 被覆ベシクルの薬物放出能

先の  $\text{CaCO}_3$  殻の異なる被覆ベシクルを用い、その薬物放出能を検討した。結果を図 6 に示す。被覆ベシクルの  $\text{CaCO}_3$  殻厚と 5-FU の放出挙動の pH 依存性を見ると、中性、及び、弱酸性環境下の pH (図 6 の pH 7.0, pH 6.5, pH 6.0) ではミネラレゼーション期間が短い 18 日間の  $\text{CaCO}_3$  殻の薄い被覆ベシクルで若干の 5-FU の放出速度が速いものの、その挙動に大きな違いはない。一方、正常組織を模倣した pH 7.5 の弱塩基性と pH 8.0 の条件下では、ミネラレゼーション期間が長い 25 日間の  $\text{CaCO}_3$  殻が厚い被覆ベシクルからの放出速度が明らかに緩やかになっている。そこで図 6 それぞれの初期の傾きから薬物放出初期速度を算出した。結果を図 7a に示す。 $\text{CaCO}_3$  殻厚

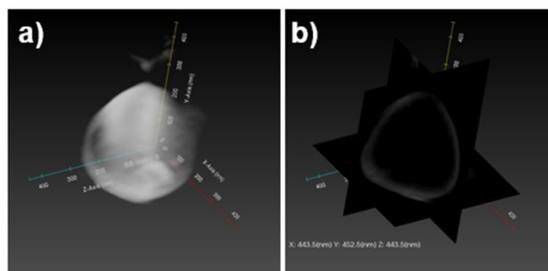


図 4. 18 日間ミネラレゼーションを行った  $\text{CaCO}_3$  被覆ベシクルの a); 3D-TEM、及び、b); 断層像。

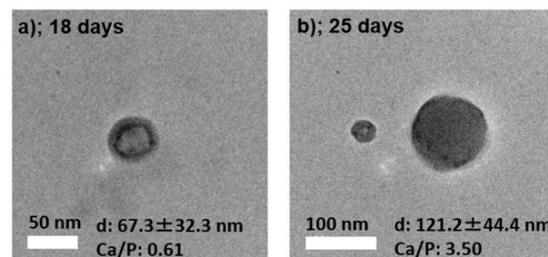


図 5. a); 18 日間、及び、b); 25 日間のミネラレゼーションで得られた  $\text{CaCO}_3$  殻被覆ベシクルの TEM 像。

の異なる被覆ベシクルいずれにおいても、薬物放出初期速度は線形的な pH 依存性を示した。先に述べた様に弱酸性環境下では  $\text{CaCO}_3$  殻の厚さによって薬物放出初期速度に大きな違いがないが、弱塩基性環境下では有意な放出速度に差が生じることが分かる。また 5-FU の初期放出速度と  $\text{CaCO}_3$  殻溶解速度の pH 依存性に関し検討した(図 7b)。両者には非常に良い相関が成立し、 $\text{CaCO}_3$  殻の溶解が 5-FU 担持ベシクルの崩壊を誘発し、溶解が顕著となる弱酸性条件下において担持された薬物の効果的な放出が生じることが分かる。

### (3) $\text{CaCO}_3$ 被覆ベシクルのターゲット認識能

$\text{CaCO}_3$  被覆ベシクル表面のピオチンによるアビジンの認識能を目視で検討した。アビジンを添加しなかったものは遠心後も凝集が起こらなかったのに対し、アビジンを添加したものは明確に凝集が起こった(図 8)。この結果から、ピオチン表面固定化  $\text{CaCO}_3$  被覆ベシクルがアビジンを認識することが示唆された。

PEG ペプチド脂質含有  $\text{CaCO}_3$  被覆ベシクルは、がん組織近傍を模倣した弱酸性下で、その  $\text{CaCO}_3$  殻が溶解し、封入した薬剤を効果的に放出すること、並びに、表面にターゲット認識部位を容易に導入できることを示した。そこでこの性質を利用し、がん組織を模倣したゲルへの選択的な薬物送達に関して検討した。図 9 の縦軸、 $C/C_{\text{pH}7.0}$  は、pH 7.0 のゲル中に取り込まれた 5-FU 濃度、 $C_{\text{pH}7.0}$  を基準とした、各 pH のゲルへの取り込み量を示す。各 pH のゲル中 5-FU 濃度は、酸性になるにつれて増加した。しかしながら、その移行量の増加の程度は、図 6 に示した 5-FU 放出速度の pH 依存性に比べて明らかに少ない。本研究でがん組織のモデル系として選んだゲルを、ピオチンで表面修飾された 5-FU 封入  $\text{CaCO}_3$  被覆ベシクル分散液に浸漬すると、アビジン-ピオチン結合によりゲル中にベシクルが固定化される。このため、いずれの pH でも同程度の 5-FU 濃度の増加は生じる。しかしながら弱酸性条件下では殻の溶解とベシクルの崩壊が生じ、ベシクルに封入されていた 5-FU がゲル内に拡散する。それに伴い、ゲル表面のベシクルが無くなり、さらなるベシクルの結合が起こる。一方、弱塩基条件下ではゲル表面でのベシクルの結合・凝集は生じるものの、 $\text{CaCO}_3$  殻の溶解がほとんど生じないため、ゲル内部の 5-FU の濃度増加は比較的少なかったと考えられる。

本研究ではベシクルに着目し、その表面を  $\text{CaCO}_3$  で被覆することで、がん組織近傍の環境下で薬物放出が可能な DDS 担体を構築した。被覆したベシクル表面には、受容体となる官能基を温和な条件下で簡便に導入可能であった。ミネラリゼーションを触媒するペプチド脂質は、そのペプチドのアミノ酸配列を変えることで、マグネタイト<sup>5)</sup>被覆ベシクルが得られる。これは磁場により患部に担体を誘導することが出来る。無機被覆ベシクルには、様々な可能性が秘められていると考えている。

### < 引用文献 >

- 1) K. Murai, M. Higuchi, T. Kinoshita, K. Nagata, K. Kato, *Chem. Commun.*, 49, 9947-9949 (2013)
- 2) K. Murai, T. Kinoshita, K. Nagata, M. Higuchi, *Langmuir*, 32, 9351-9359 (2016)
- 3) C. Miyamaru, M. Koide, N. Kato, S. Matubara, M. Higuchi, *Int. J. Mol. Sci.*, 22, 789 (2022)
- 4) 加藤七奈、渥美和歩、松原翔吾、樋口真弘、「新規モダニティ医薬品のための新しい DDS 技術と製剤化」情報技術協会、第 1 章第 6 節、45 (2023)
- 5) K. Murai, K. Inagaki, C. Hiraoka, S. Minoshima, T. Kinoshita, K. Nagata, M. Higuchi, *CrystEngComm.*, 21, 3557-3567 (2019)

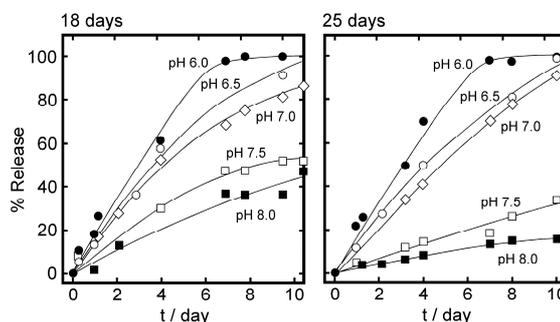


図 6. 18 日間(左図)及び、25 日間(右図)のミネラリゼーションで得られた  $\text{CaCO}_3$  殻被覆ベシクルからの各 pH における内包 5-FU の放出挙動。

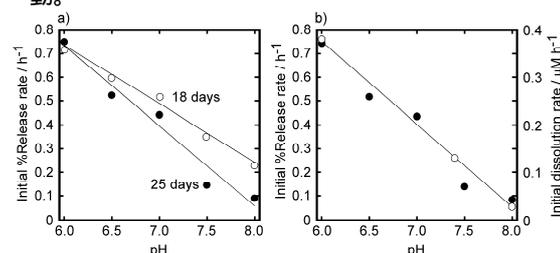


図 7. a); 18 日間、及び、25 日間のミネラリゼーションで得られた  $\text{CaCO}_3$  殻厚の異なる被覆ベシクルからの各 pH における内包 5-FU の初期放出速度。b);  $\text{CaCO}_3$  殻の初期溶解速度(○)と 25 日間で得られた  $\text{CaCO}_3$  殻被覆ベシクルからの 5-FU 初期放出速度(●)の pH 依存性。

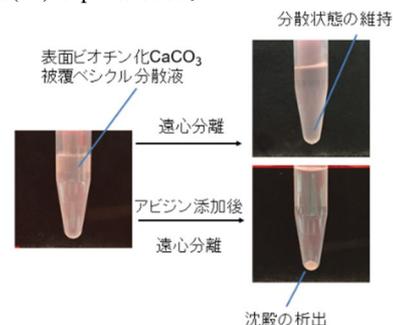


図 8. 表面ピオチン固定化  $\text{CaCO}_3$  被覆ベシクルのアビジン添加に伴う凝集体系性の様子。

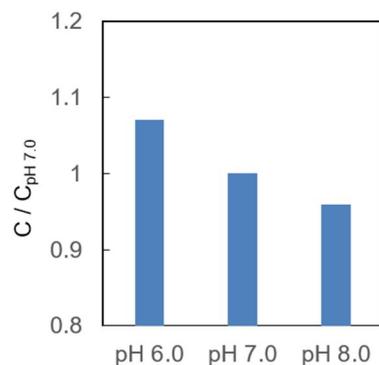


図 9. 各 pH に調整したアビジン固定化ゲルへの表面ピオチン固定化  $\text{CaCO}_3$  被覆ベシクルの取り込みに伴う 5-FU 濃度変化。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Shogo Matsubara, Yui. Okamoto, Masaru Yoshikawa, Shinya Tsukiji, and Masahiro Higuchi	4. 巻 33
2. 論文標題 Peptide nanocage constructed by self-assembly of oligoproline conjugates	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Bioconjugate Chemistry	6. 最初と最後の頁 1785-1788
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1021/acs.bioconjchem.2c00290	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 Chiho Miyamaru, Mao Koide, Nana Kato, Shogo Matsubara, and Masahiro Higuchi	4. 巻 23
2. 論文標題 Fabrication of CaCO <sub>3</sub> -Coated Vesicles by Biomineralization and Their Application as Carriers of Drug Delivery Systems	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 789
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms23020789	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 Mao Arai, Tomohiro Miura, Yuriko Ito, Takatoshi Kinoshita, and Masahiro Higuchi	4. 巻 22
2. 論文標題 Protein Sensing Devices with Multi-Recognition Ability Composed of Self-Organized Glycopeptide Bundle	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 366
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms22010366	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 -

〔学会発表〕 計28件（うち招待講演 0件／うち国際学会 0件）

1. 発表者名 熊谷健汰、松原翔吾、樋口真弘
2. 発表標題 マグネタイト - 脂質二重膜 - カルサイトの積層構造を有するナノカプセルの調製とDDS担体への応用
3. 学会等名 第72回高分子年次大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 岡本有生、樋口真弘、松原翔吾
2. 発表標題 オリゴプロリンベースペプチドを用いたベシクル型ナノカプセルの創製
3. 学会等名 ナノ学会第21回大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 珍田祐佳、松原翔吾、樋口真弘
2. 発表標題 ミネラルゼーションによる磁性ナノカプセルの調製と磁気誘導ドラッグデリバリーシステムへの応用
3. 学会等名 ナノ学会第21回大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 岡本有生、樋口真弘、松原翔吾
2. 発表標題 オリゴプロリンベースペプチドを用いたカプセル状超分子構造体の構築
3. 学会等名 日本化学会第103回春季年会(2023)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 永谷美裕、樋口真弘、民秋均、松原翔吾
2. 発表標題 酸応答性光増感剤開発に向けたペプチド-クロロフィル複合体の合成と構造・光物性
3. 学会等名 日本化学会第103回春季年会(2023)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 珍田祐佳、松原翔吾、樋口真弘
2. 発表標題 マグネタイト被覆ベシクルの調製と磁性誘導ドラッグデリバリーシステムへの展開
3. 学会等名 日本化学会第103回春季年会(2023)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 王鴻林、松原翔吾、樋口真弘
2. 発表標題 pH応答性を有する薬物徐放担体の構築とその表面官能基組成による除放能の制御
3. 学会等名 第21回産学官接着若手フォーラム
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 K. Kumagai, S. Matsubara, and M. Higuchi
2. 発表標題 Preparation of nanocapsules having stacked structure of magnetite-lipid bilayer -calcite and their application to DDS carrier
3. 学会等名 第32回日本MRS学術シンポジウム
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 N. Kato, S. Matsubara, and M. Higuchi
2. 発表標題 Fabrication of CaCO <sub>3</sub> Coated Vesicles Having Target Recognition and the Drug Release Control
3. 学会等名 第32回日本MRS学術シンポジウム
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 M. Nagatani, M. Higuchi, H. Tamiaki, and S. Matsubara
2. 発表標題 Evaluation of pH-responsive peptide-chlorophyll conjugates as photosensitizers
3. 学会等名 2022年光化学討論会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 岡本有生、樋口真弘、松原翔吾
2. 発表標題 オリゴプロリン複合体を用いた水素結合を駆動力とする超分子ナノ構造体の構築
3. 学会等名 第71回高分子討論会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 珍田祐佳、松原翔吾、樋口真弘
2. 発表標題 DDS担体としてのマグネタイト被覆ベシクルの調製と3D-TEMによる構造解析
3. 学会等名 第71回高分子討論会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 王鴻林、松原翔吾、樋口真弘
2. 発表標題 pH応答性を有する薬物徐放担体の構築とその表面官能基組成による除放能の制御
3. 学会等名 第71回高分子討論会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 加藤七奈、松原翔吾、樋口真弘
2. 発表標題 ターゲット認識能を有する炭酸カルシウム被覆ベシクルの調製とその薬物放出能の制御
3. 学会等名 第71回高分子討論会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 岡本有生、樋口真弘、松原翔吾
2. 発表標題 三脚型分子の自己集積によるバイオ超分子ケージの構築
3. 学会等名 第19回ホスト-ゲスト超分子化学シンポジウム
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 加藤七奈、松原翔吾、樋口真弘
2. 発表標題 DDS担体としてのCaCO <sub>3</sub> 被覆ベシクルの調製とpHによる薬物放出制御
3. 学会等名 第71回高分子年次大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 珍田祐佳、松原翔吾、樋口真弘
2. 発表標題 マグネタイトシェルを有するベシクルの調製とDDS担体への応用
3. 学会等名 第71回高分子年次大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 永谷美裕、樋口真弘、民秋均、松原翔吾
2. 発表標題 pH応答性光増感材開発に向けたペプチド-クロロフィル複合体の創成
3. 学会等名 第71回高分子年次大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 松原翔吾・岡本有生・樋口真弘
2. 発表標題 オリゴプロリン複合体の自己集積による超分子ケージの構築
3. 学会等名 日本化学会第102回春季年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 加藤七奈・渥美一步・樋口真弘
2. 発表標題 ターゲット認識能を有する無機被覆ベシクルの調製とDDS担体としての応用
3. 学会等名 第70回高分子学会年次大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 王鴻林・樋口真弘
2. 発表標題 微小なpH及び温度変化に応答する薬物徐放担体の構築
3. 学会等名 第70回高分子学会年次大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 渥美一步・松原翔吾・樋口真弘
2. 発表標題 ターゲット認識能を付与した炭酸カルシウム被覆ベシクルの調製とDDS担体への応用
3. 学会等名 第70回高分子討論会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 N. Kato, S. Matsubara, and M. Higuchi
2. 発表標題 Fabrication of CaCO <sub>3</sub> coated Vesicles for DDC Carriers having the Target Recognition Ability
3. 学会等名 第31回日本MRS学術シンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Y. Sakurai, S. Matsubara, and M. Higuchi
2. 発表標題 Preparation of coating materials for anti-inflammatory using thermo-responsive peptide
3. 学会等名 第31回日本MRS学術シンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Y. Chinda, S. Matsubara, and M. Higuchi
2. 発表標題 Preparation of vesicles having magnetite shell and application for DDS carriers
3. 学会等名 第31回日本MRS学術シンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Y. Okamoto, M. Higuchi, and S. Matsubara
2. 発表標題 Construction of oligoproline-based the supramolecular capsule
3. 学会等名 第31回日本MRS学術シンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 M. Nagatani, M. Higuchi, and S. Matsubara
2. 発表標題 Synthetic pH-responsive chlorophyll-peptide conjugates
3. 学会等名 第31回日本MRS学術シンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 渥美和歩・宮丸千穂・樋口真弘
2. 発表標題 ターゲティング能と環境認識能を併せもつ薬物担持担体の調製
3. 学会等名 第69回高分子学会年次大会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 執筆者：110名、技術情報協会	4. 発行年 2023年
2. 出版社 技術情報協会	5. 総ページ数 580
3. 書名 新規モダリティ医薬品のための新しいDDS技術と製剤化	

〔産業財産権〕

〔その他〕

研究者データベース  
[http://researcher.nitech.ac.jp/html/100000050\\_ja.html?l=ja&k=&o=title-a&p=6](http://researcher.nitech.ac.jp/html/100000050_ja.html?l=ja&k=&o=title-a&p=6)  
名古屋工業大学大学院 工学研究科 樋口・松原研究室ホームページ  
<http://higu-matsu-lab.web.nitech.ac.jp/>

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

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