

令和 4 年 6 月 10 日現在

機関番号：14501

研究種目：挑戦的研究（開拓）

研究期間：2018～2021

課題番号：18H05398・20K20403

研究課題名（和文）表面に形成されるプロテインコロナ組成を自在に制御できる分子認識ナノ粒子の創製

研究課題名（英文）Molecular recognition nanoparticles controlling protein corona composition in vivo

研究代表者

竹内 俊文（Takeuchi, Toshifumi）

神戸大学・産官学連携本部・特命教授

研究者番号：70179612

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 20,000,000円

研究成果の概要（和文）：分子インプリンティング法を利用してナノ材料に分子認識能を付与することで、世界に先駆けて in vivo プロテインコロナ制御を達成し、内在性タンパク質の結合によりステルス性を獲得するナノ粒子 MIP-NPs の開発に成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

内在性タンパク質を認識する分子インプリントポリマーナノ粒子（MIP-NPs）が、血中投与後、血管内で、内在性タンパク質で形成されるプロテインコロナを制御することで、ステルス性を発現することを見出した。ステルス化のための事前の表面修飾なしに生体内動態を制御できる全く新しい概念の DDS ナノキャリアとしての可能性を示し、革新的なナノメディシンの基盤技術となることが明らかとなり、学術的な意義は高く、産業的にも新たな技術革新の波及効果が期待される。

研究成果の概要（英文）：By using molecular imprinting method to impart molecular recognition ability to nanomaterials, yielding molecularly imprinted polymer nano particles (MIP-NPs), we have achieved in vivo protein corona control and succeeded in developing the first MIP-NPs that acquire stealth properties through the binding of endogenous proteins.

研究分野：生体機能関連化学

キーワード：分子インプリンティング ドラッグデリバリーシステム プロテインコロナ ナノキャリア ステルス性

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。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

プロテインコロナの組成は、細胞や組織に対するナノ材料の反応性を大きく左右する (Cedervall et.al PNAS 2007, 104, 2050)が、プロテインコロナ関連研究が加速されたのは2010年以降で、最近急速に論文数が増加している未成熟分野である。しかし、プロテインコロナ組成を制御できるナノ材料の報告、および *in vivo* でのプロテインコロナの組成制御や動態解析に関する報告は申請者の知る限り皆無である。もしナノ材料に望みの内在性タンパク質やがんマーカータンパク質を特異的に認識する表面をもたせることができれば、プロテインコロナ組成はそれに従ったものとなり、結果的に生体内動態を望みどおり制御することが可能となり、これまで報告されたことのない全く新しいナノ材料へと発展する。

2. 研究の目的

本研究では、プロテインコロナ形成を制御する分子インプリントナノ材料(MIP-NPs)合成法を確立し、内在性タンパク質を活用してプロテインコロナを自在に制御し、従来必要であったステルス化のための表面修飾なしに生体内動態を規定できる全く新しい概念のナノ材料を創製することを目的とする。

3. 研究の方法

種々のプロテインコロナ制御 MIP-NPs を無乳化剤沈殿重合により調製し、プロテインコロナ形成による細胞取込み挙動を調べた。

4. 研究成果

MIP-NPs の細胞取込み

MIP-NGs の取り込み機構は、主にカベオラ・脂質ラフト媒介エンドサイトーシスであることが示唆された。HSA の存在下で FU97 細胞株に HSA-MIP-NGs を添加した場合、HSA-MIP-NGs の細胞内への取り込みが減少した。また、アルブミンを用いたタンパク質コロナ制御が、免疫反応を回避するための有効なアプローチであることも示された。

標的タンパク質であるヒト血清アルブミン (HSA) 上に存在する薬物結合サイトと相互作用する機能性モノマーを合成し、MIP-NGs を調製した。血漿中における MIP-NGs 表面に形成されるプロテインコロナ組成の解析を SDS-PAGE を用いて行った結果、HSA 吸着量が最も多く、HSA リッチプロテインコロナが形成されていることが確認された。

Fc-MIP-NGs の調製と生体に対する反応性評価

イムノグロブリン G (IgG) を内在性タンパク質として活用してプロテインコロナを制御する Fc-MIP-NPs の設計と合成を行った。Fc-MIP-NPs は、血中に投与すると、HSA-MIP-NGs と同様、血中滞留性が向上することに加え、生体機能の制御にも活用できる可能性が示された。

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 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Morishita, T., Yoshida, A., Hayakawa, N., Kiguchi, K., Cheubong, C., Sunayama, H., Kitayama, Y., Takeuchi, T.	4. 巻 36
2. 論文標題 Molecularly imprinted nanogels possessing dansylamide interaction sites for controlling protein corona in situ by cloaking intrinsic human serum albumin	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Langmuir	6. 最初と最後の頁 10674-10682
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1021/acs.langmuir.0c00927	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 Hayakawa, N., Yamada, T., Kitayama, Y., Takeuchi, T.	4. 巻 2
2. 論文標題 Cellular Interaction Regulation by Protein Corona Control of Molecularly Imprinted Polymer Nanogels Using Intrinsic Proteins	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 ACS Applied Polymer Materials	6. 最初と最後の頁 1465-1473
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1021/acsapm.9b01149	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 Yoshida Aoi, Kitayama Yukiya, Kiguchi Kentaro, Yamada Takuya, Akasaka Hiroaki, Sasaki Ryohei, Takeuchi Toshifumi	4. 巻 2
2. 論文標題 Gold Nanoparticle-Incorporated Molecularly Imprinted Microgels as Radiation Sensitizers in Pancreatic Cancer	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 ACS Applied Bio Materials	6. 最初と最後の頁 1177 ~ 1183
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1021/acsabm.8b00766	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21件（うち招待講演 1件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 北山雄己哉、早川なつき、山田 託也、竹内俊文
2. 発表標題 プロテインコロナ制御可能な血清アルブミンインプリントポリマーナノゲルの生細胞相互作用解析
3. 学会等名 第69回高分子学会年次大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 早川なつき、山田託也、高野恵里、北山雄己哉、竹内俊文
2. 発表標題 血清アルブミンインプリントポリマーナノゲルの細胞取り込み解析
3. 学会等名 第80回分析化学討論会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 早川 なつき・山田 託也・北山 雄己哉・竹内 俊文
2. 発表標題 アルブミンインプリントナノゲルのがん細胞取り込み挙動解析
3. 学会等名 第13回バイオ関連化学シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 早川なつき・山田託也・北山雄己哉・竹内俊文
2. 発表標題 血清アルブミン認識能を有する分子インプリントナノゲルのがん細胞取り込み解析
3. 学会等名 第68回高分子学会年次大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takeuchi, T.
2. 発表標題 Molecularly imprinted polymers in biomedical applications
3. 学会等名 EUPOC 2018 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kitayama Y., Yamada, T., Akasaka, H., Nishimura, Y., Igarashi, K., Matsumoto, Y., Sasaki, R., Takeuchi, T.
2. 発表標題 Molecularly Imprinted Nanogels Acquiring Stealth Property via Regulating Protein Corona Using Intrinsic Serum Albumin In Situ
3. 学会等名 MIP2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 早川 なつき・山田 託也・北山 雄己哉・竹内 俊文
2. 発表標題 アルブミンインプリントナノゲルの生細胞取り込み解析
3. 学会等名 第67回高分子学会年次大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 北山 雄己哉・山田 託也・赤坂 浩亮・松本 有・佐々木 良平・竹内 俊文
2. 発表標題 DDSのための金ナノ粒子含有血清アルブミンインプリントナノゲルの創製
3. 学会等名 第67回高分子学会年次大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 木口 健太郎・北山 雄己哉・竹内 俊文
2. 発表標題 血清中で分子インプリントナノゲル表面に形成されるプロテインコロナ解析
3. 学会等名 第67回高分子学会年次大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 北山 雄己哉・山田 託也・赤坂 浩亮・西村 勇哉・五十嵐 一紀・松本 有・佐々木 良平・竹内 俊文
2. 発表標題 In situ ステルス性獲得にもとづく長期血中滞留性金ナノ粒子内包分子インプリントナノゲルの創製
3. 学会等名 第34回日本DDS学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 吉田 碧衣・山田 託也・木口 健太郎・佐々木 良平・赤坂 浩亮・北山 雄己哉・竹内 俊文
2. 発表標題 金ナノ粒子内包分子インプリントナノゲルの放射線増感効果
3. 学会等名 第67回高分子討論会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 北山 雄己哉・山田 託也・木口 健太郎・吉田 碧衣・赤坂 浩亮・西村 勇哉・五十嵐 一紀・松本 有・佐々木 良平・竹内 俊文
2. 発表標題 放射線治療に用いる金ナノ粒子内包アルブミンインプリントナノゲルの創製
3. 学会等名 第67回高分子討論会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 吉田 碧衣・山田 託也・木口 健太郎・赤坂 浩亮・佐々木 良平・北山 雄己哉・竹内 俊文
2. 発表標題 金ナノ粒子内包分子インプリントナノゲルの作製・治療効果の検証
3. 学会等名 第79回応用物理学会秋季学術講演会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 北山 雄己哉・山田 託也・木口 健太郎・赤坂 浩亮・松本 有・佐々木 良平・竹内 俊文
2. 発表標題 放射線治療のための金ナノ粒子内包ステルス性分子インプリントナノゲル
3. 学会等名 第12回バイオ関連シンポジウム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 早川 なつき・山田 託也・北山 雄己哉・竹内 俊文
2. 発表標題 血清アルブミン認識能を有する分子インプリントポリマーナノゲルの細胞取り込み挙動
3. 学会等名 第12回バイオ関連シンポジウム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 木口 健太郎・北山 雄己哉・竹内 俊文
2. 発表標題 血清中で分子インプリントナノゲル上に形成されるプロテインコロナの解析
3. 学会等名 第12回バイオ関連シンポジウム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 北山 雄己哉・山田 託也・木口 健太郎・吉田 碧衣・赤坂 浩亮・西村 勇哉・五十嵐 一紀・松本 有・佐々木 良平・竹内 俊文
2. 発表標題 放射線治療のための金ナノ粒子内包分子インプリントポリマーナノゲルの開発
3. 学会等名 第40回日本バイオマテリアル学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 早川 なつき・山田 託也・北山 雄己哉・竹内 俊文
2. 発表標題 血清アルブミン認識空間を有する分子インプリントナノゲルの生細胞取り込み挙動
3. 学会等名 第40回日本バイオマテリアル学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 吉田 碧衣・山田 託也・木口 健太郎・赤坂 浩亮・佐々木 良平・北山 雄己哉・竹内 俊文
2. 発表標題 金ナノ粒子内包ポリマーナノゲルの放射線治療応用
3. 学会等名 応用物理学会第66回春季学術講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 北山 雄己哉・山田 託也・木口 健太郎・吉田 碧衣・赤坂 浩亮・西村 勇哉・五十嵐 一紀・松本 有・佐々木 良平・竹内 俊文
2. 発表標題 放射線治療のための金ナノ粒子内包アルブミンインプリントナノゲルの創製
3. 学会等名 日本化学会第99回春季年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yoshida, A., Kiguchi, K., Kitayama, Y., Akasaka, H., Sasaki, R., Takeuchi, T.
2. 発表標題 Radiation therapy for pancreatic cancer using moluculaly imprinted nanogels imcopolating gold nanoparticles
3. 学会等名 日本化学会第99回春季年会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

ソフトマター界面機能化学グループ
http://www.fmc.scitec.kobe-u.ac.jp
材料機能化学・Takeuchi Lab
http://www.fmc.scitec.kobe-u.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
研究分担者	北山 雄己哉 (Kitayama Yukiya) (40649745)	大阪府立大学・工学(系)研究科(研究院)・助教 (24403)	
研究分担者	赤坂 浩亮 (Akasaka Hiroaki) (20707161)	神戸大学・医学部附属病院・特命助教 (14501)	
研究分担者	松本 有 (Maatsumoto Yu) (80548553)	東京大学・医学部附属病院・講師 (12601)	

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