

Title	第2章 ナノ粒子とバイオメディカル
Author(s)	松崎, 典弥; 明石, 満
Citation	
Version Type	VoR
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/50293">https://hdl.handle.net/11094/50293</a>
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

## 第2章 ナノ粒子とバイオメディカル

松崎典弥\*<sup>1</sup>, 明石 満\*<sup>2</sup>

### 1 はじめに

ナノ・マイクロメートルオーダーの微粒子に関する研究は、油分散安定性の塗料の研究に端を発しており、水分散安定性を有した塗料や、触媒担体、コーティング材、集積材料素材など幅広く展開されてきた。近年では、薬物徐放担体<sup>1, 2)</sup>や医療診断薬<sup>3, 4)</sup>、ワクチン担体<sup>5, 6)</sup>など生医学材料への応用が注目を集めている。特に、高分子微粒子のドラッグデリバリーシステム(DDS: 薬物を必要な時に必要な量だけ病巣に送達するシステム)への応用は、世界中で活発に研究されている。ドラッグデリバリーシステムの基本となる技術は、体内で薬物を少しずつ経時的に徐放する“放出量制御”と、病巣部位に薬物を送達する“標的化”に大別され、2つを組み合わせることを目的としている。薬物の放出量を制御するために、高分子による薬物の被覆化<sup>7)</sup>、ミセル<sup>8)</sup>、リボソーム<sup>9)</sup>、ナノ粒子<sup>10)</sup>、中空カプセル<sup>11)</sup>などが用いられている。また、標的化には、細胞表面に存在する特異的なタンパク質やレセプターを認識する物質の微粒子表面への固定化が検討されている。著者らは、これまで、親水性マクロモノマーと疎水性ビニルモノマーのラジカル共重合により生成されるコア-コロナ型高分子ナノ粒子を用い、DDS担体<sup>12, 13)</sup>やワクチン担体<sup>14~19)</sup>、貴金属コロイド触媒担体<sup>20~23)</sup>、医療診断薬への応答だけでなく、三元共重合系によりウイルス型ナノ粒子が生成することを見出している<sup>24, 25)</sup>。

本稿では、さまざまなナノ粒子についてDDSを中心としたバイオメディカル分野への応用に関する最近の研究を、著者らの研究を交えて紹介する。

### 2 コア-コロナ型高分子ナノ粒子のバイオメディカルへの応用

#### 2.1 コア-コロナ型高分子ナノ粒子

高分子微粒子は、高分子ミセルや高分子ナノゲルと同様に複数の高分子鎖からなる集合体であるため、高分子鎖が自己組織化するように分子設計することで、ナノレベルからマイクロレベル

---

\* 1 Michiya Matsusaki 大阪大学大学院 工学研究科 特任助手

\* 2 Mitsuru Akashi 大阪大学大学院 工学研究科 教授

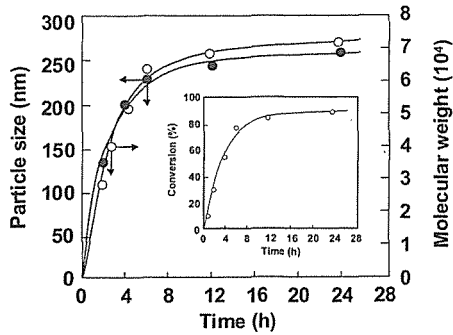


図1 ポリエチレングリコールマクロモノマーとスチレンの共重合挙動

まで粒子サイズを自在に制御できる。1985年、著者らは、水溶性マクロモノマーである末端にビニルベンジル基を有したオリゴビニルピロリドンマクロモノマーとスチレンの共重合を水/エタノール混合溶媒中で行うことで、水中で分散安定性に富む高分子微粒子の生成を初めて報告した<sup>26)</sup>。この粒子形成挙動は、ラジカル重合の進行により生成するグラフト重合体が秩序化し、親水性のグラフト鎖が表面に集積することでコア-コロナ型の微粒子が形成されると判断された。通常ラジカル共重合の場合、疎水性モノマーを溶解させる目的で水/エタノール混合溶媒を用いる。親水性マクロモノマーと疎水性モノマーのラジカル共重合では、重合は均一系で開始するが、重合の進行にともない系が白濁する様子が観察された。図1にポリエチレングリコールマクロモノマーとスチレンの共重合挙動を示した。通常ラジカル重合では分子量は重合時間に対して一定であるが、親水性マクロモノマーと疎水性モノマーのラジカル共重合系では重合の進行にともない分子量の増大が確認され、均一溶媒系と比較しておよそ10倍もの分子量が得られることが分かった<sup>27)</sup>。また、重合時間に連動して収率と粒径が増加していることから、成長ラジカルは主にコアに存在し、長寿命であると考えられる。重合挙動を解明し、1989年に高分子ナノ粒子の生成メカニズムを提唱した(図2)。重合初期に疎水性モノマー由来のオリゴマーがコアを形成する。一般にマクロモノマーの重合性は低分子と比較して高いことから、初期に溶媒可溶性グラフトポリマーが生成することが考えられる。重合が進むにつれ、グラフトポリマーの疎水部もコアに取り込まれ、主鎖の親水性により粒子が安定化される。成長ラジカルはコア内に存在するため疎水性モノマーがコアに取り込まれて重合し、粒径が増大する。成長ラジカルはリビングラジカルの性質を持つと考えられているが、分子量分布は通常ラジカル重合と同様に広く、完全なリビングラジカル重合系とは異なることが明らかである。自己組織化を駆動力としたコア-

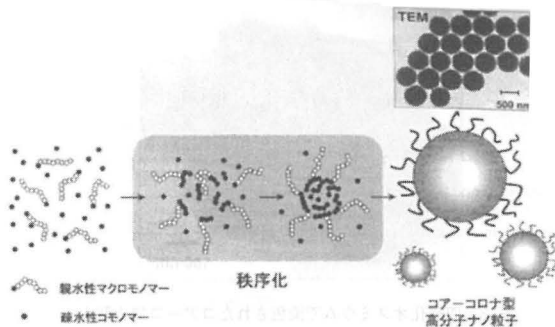


図2 コア-コロナ型ナノ粒子の形成メカニズム

コロナ型ナノ粒子の形成メカニズムは、親水性鎖と疎水性鎖のバランスにより水溶液中で会合する高分子ミセルやナノゲルの自己組織化と基本的に同じであり、何ら変わることはない。さらに高分子ナノ微粒子の形成メカニズムや構造について解析を続けた結果、以下の知見が得られた<sup>28, 29)</sup>。

(1)重合条件を制御することで単分散性を維持したまま粒径100nmから2 $\mu$ mまで粒径を制御できる。(2)親水性高分子鎖を高密度で粒子表面に集積できる。(3)親水性マクロモノマーと疎水性モノマーのさまざまな組み合わせが可能であり、分子設計した高分子を表面に導入できる。(4)分離精製が容易で、凍結乾燥により固体粉末状態で長期保存ができる。(5)水分散性に富み、さまざまな生体分子を表面に固定化できる。

高分子ナノ粒子の構造は、X線光電子分光法 (ESCA 測定) による表面分析<sup>30)</sup> と透過型電子顕微鏡 (TEM) 観察<sup>31)</sup> より解析した。ESCA による表面解析の結果、親水性マクロモノマー鎖がナノ粒子表面に集積していることが明らかとなった。また、生細胞観察と同様の手法でナノ粒子をエポキシ樹脂に包埋し、マイクロトームで超薄切片を切り出して四酸化オスmium蒸気で親水性マクロモノマー部位を染色した結果を図3に示した。ナノ粒子の縁 (コロナ部位) が四酸化オスmiumで染色されていることから、染色されやすい親水性マクロモノマーがナノ粒子表面に存在していることが確認された。以上の結果より、親水性マクロモノマー鎖が秩序化によりナノ粒子表面に集積していることが明らかにされた。

## 2.2 コア-コロナ型高分子ナノ粒子を応用したペプチド医薬の経口 DDS

近年のバイオテクノロジーの急速な進歩にもない、高い生理活性を有するペプチドの大量供給が可能となったため、ペプチド医薬としての臨床への応用が数多く試みられている。ペプチド

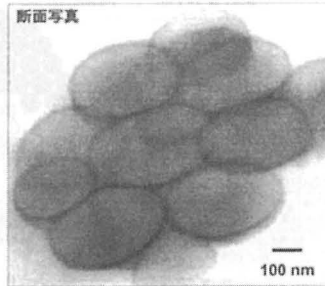


図3 四酸化オスmiumで染色されたコア-コロナ型ナノ粒子のTEM写真

は医薬として非常に有望であるが、消化管内での酵素による分解や、高分子量体または親水性であることに起因して消化管膜の透過性が極めて低い。そのため、経口投与は困難であり、主たる投与経路として注射が繁用されている。しかし、注射による苦痛や頻回投与によるアレルギー反応などの副作用の危険性、患者のQOL（生活の質）向上や医療経済性への寄与を考慮すると、経口投与は理想的な投与経路であることは間違いない。そこで、ペプチド医薬の新しい経口DDSを開発するため、コア-コロナ型ナノ粒子の経口DDS担体としての応用を試みた。

消化管内は生体外とも位置付けられるため非分解性のDDS担体を用いる可能性があると考え、コロナに水溶性高分子鎖が集積したポリスチレンナノ粒子による経口DDSを考案した<sup>1, 2, 32-37</sup>。対象ペプチド医薬として骨粗鬆症治療薬であるカルシトニンを選択した。カルシトニンは甲状腺C細胞から分泌されるホルモンであり（ヒューマンカルシトニン：hCT）、破骨細胞に直接作用することで骨破壊を抑制することが知られている。サケカルシトニン（sCT）を人に投与するとhCT様の効果を示すことから、sCTは骨粗鬆症の治療薬としてすでに臨床で用いられている。しかし、その経口吸収率は1%以下と極めて低いため、注射剤として用いられているのが現状である。コア-コロナ型ナノ粒子を用いてsCTの経口吸収率を向上できれば、経口DDSとしてその応用が期待される。

カルシトニンを種々のナノ粒子に静電的あるいは疎水性相互作用により担持させ、カルシトニン担持コア-コロナ型ナノ粒子の水溶液をラットに経口投与し、その吸収率を評価した。sCTが体内に吸収されると破骨細胞の活動が抑制されることから、血中のカルシウムあるいはカルシウムイオン濃度が低下する。図4に示したように、sCTが吸着した種々のナノ粒子を経口投与することで、カルシウムイオン濃度の低下作用が増強することが確認された。また、この増強効果はナノ粒子表面の親水性グラフト鎖の化学構造により異なり、カルシトニンが適度に吸着して

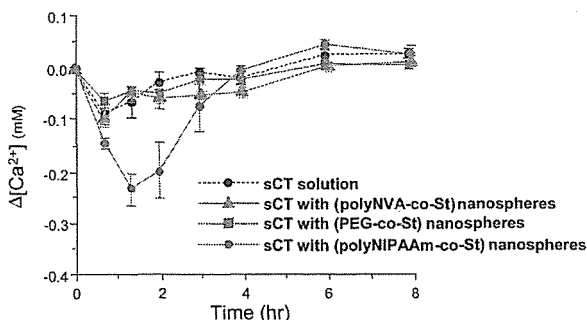


図4 経口投与後の血中のカルシウムイオン濃度変化

いるポリ (*N*-イソプロピルアクリルアミド) 鎖をコロナに有するナノ粒子が最も高いカルシウムイオン濃度の低下促進作用を示した。ナノ粒子の sCT 吸収促進作用について詳細に検討することで、sCT と物理的あるいは化学的に相互作用しているナノ粒子が消化管粘膜に付着し、ある時間滞留して sCT を徐放することで、①粘膜近傍における sCT 濃度を上昇させ sCT の膜透過性が促進されたこと、②sCT の消化酵素による分解がコロナの水溶性高分子鎖により抑制されたことの 2 点が主たる要因であることを解明した。

コア-コロナ型ナノ粒子を DDS 担体として用いることで、通常の経口投与ではほとんど吸収されないペプチド医薬の吸収性を改善できたことは非常に興味深い。本研究を含め、当該領域により開発された技術のほとんどは基礎研究レベルを脱しきれていないのが現状であるが、さまざまな薬物と多彩に組み合わせることができるコア-コロナ型ナノ粒子は、経口 DDS の一翼を担うものと確信し、さらに検討を続けている。

### 2.3 コア-コロナ型高分子ナノ粒子を応用したエイズワクチン開発

ヒト免疫不全ウイルス 1 型 (HIV-1: エイズウイルス) は粒径が約 100nm の RNA ウイルスであり、表面が gp120 という糖タンパク質で覆われている。この糖鎖部位にはマンノースが多く存在するため、糖鎖認識レクチンと強く相互作用することが知られている<sup>38)</sup>。レクチンとは糖に対する特異的結合活性を有したタンパク質の総称で、さまざまな糖を認識するレクチンが単離されている。著者らは、マンノース結合性レクチンであるコンカナバリン A (Con A) をコロナ鎖に結合したレクチン固定化ナノ粒子を用いることで HIV-1 の捕捉に成功した<sup>5)</sup>。Con A を固定化していないナノ粒子の場合でも、親水性グラフト鎖との静電的相互作用により若干の HIV-1 は吸着したが、Con A 固定化ナノ粒子を用いると 97% のウイルスが捕捉されることが明らかと

なった。透過型電子顕微鏡観察においても、ナノ粒子に捕捉された HIV-1 を確認している<sup>39)</sup>。著者らは、この HIV-1 捕捉ナノ粒子をワクチンとして用いることを考案した。

HIV-1 感染症を克服するためには、治療はもちろん感染予防を目的としたワクチン開発が重要な課題である。これまでさまざまなワクチン候補があげられているにも関わらず、真に有効性を示すものは未だ開発されていないのが現状である。これは、他のウイルス感染症で良好な成績を収めていた弱毒生ワクチンと不活性化ワクチンが、安全性と効果の面で暗礁にのりあげることが理由としてあげられる。HIV-1 感染を防御する免疫機構として、未然に感染を防ぐ中和抗体による液性免疫と、ウイルスに感染した細胞を殺傷する細胞傷害性 T 細胞 (CTL) による細胞性免疫の両方が必要であることが明らかとされている<sup>40)</sup>。抗体に関しては、粘膜面に多く存在する IgA 抗体が有効であることが報告されているため<sup>41)</sup>、著者らは、親水性高分子を表面に有するコア-コロナ型ナノ粒子を利用することで粘膜付着性が向上され、粘膜上に免疫原が濃縮し、抗体産生効果が促進されると考えた。

HIV-1 捕捉ナノ粒子 (HIV-NS) の免疫応答性を調べるため、熱処理で不活化した免疫原を用いて経膣投与にてマウス免疫実験を行った。マウス膣洗浄液中の HIV-1 特異的 IgA 抗体を検出した結果、HIV-NS 群のみに高い IgA 抗体誘導が確認された。これは、HIV-1 をナノ粒子表面に捕捉することで HIV-1 の免疫原性が高められ、一般的に免疫応答性が低いとされている膣粘膜に特異的 IgA を誘導できたと考えられる<sup>42)</sup>。膣粘膜の免疫染色を行った結果、HIV-NS が膣粘膜に長時間、密に滞留していることが確認された。また、より普遍的なワクチン開発を目的として経鼻投与を検討した結果、この方法によっても膣粘膜への IgA 抗体産生が認められ、免疫したマウスの膣洗浄液は HIV-1 に対する中和活性を有していることが明らかとなった<sup>43)</sup>。ヒトへの応用を考えると、経鼻投与は投与方法が簡便で抗原量も微量で効果を発揮するため、コア-コロナ型ナノ粒子の特徴を生かした普遍性の高い手法であると考えている。

このマウス免疫実験の結果をもとに、京都大学ウイルス研究所の速水正憲教授のグループとサルを用いたウイルス感染防御実験を行った。サル免疫不全ウイルス (SIV) と HIV-1 のキメラウイルス (SHIV) を捕捉した SHIV 捕捉高分子ナノ粒子を経鼻免疫したサルでは、マウス同様に膣洗浄液中に HIV-1 特異的 IgA および IgG 抗体が検出された。また、SHIV 捕捉ナノ粒子により誘導された免疫応答が感染防御に有効であるか検討するため、経鼻免疫したサルに感染性を有する SHIV を経膣攻撃接種し、感染防御能を調べた。その結果を図 5 に示す。非免疫サルでは血中にウイルスが検出されたが、SHIV 捕捉高分子ナノ粒子で免疫したサルでは攻撃接種 6 週目以降に血中のウイルス量が検出感度以下まで低下しており、ウイルス増殖の大幅な抑制効果が認められた<sup>44)</sup>。

サルの感染防御実験では SHIV の感染を完全に防御することはできなかったが、AIDS 感染予

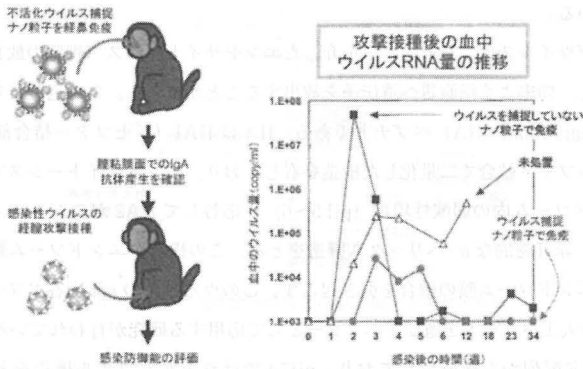


図5 サルを用いたウイルス感染防御実験

防ワクチン開発の可能性を示すことができたと考えている。コア-コロナ型高分子ナノ粒子を用いた粘膜免疫は、AIDS以外のレトロウイルス（例えば、成人T細胞白血病ウイルス：HTLV-1など）や今後出現するであろう未知のウイルスに対するワクチン開発にもつながると期待される。

### 3 ナノ粒子を応用した遺伝子治療

外来遺伝子を用いて病気を治療する遺伝子治療は、遺伝子異常疾患の異常遺伝子を正常遺伝子置き換える、また欠損遺伝子を補完するといった狭義の治療だけでなく、ガンやエイズといった難治性疾患の治療法として期待されている。1990年代後半より、特にガン治療において、治療用遺伝子を生体内の疾患部位の組織・細胞へ送達する遺伝子ターゲティングに対する関心は急激な高まりを見せている。治療用遺伝子を細胞に送達するにはベクターと呼ばれる遺伝子の運び屋が必要であり、ベクターには、血流中での安定性や標的細胞・組織への集積性、細胞内での核への移行性、核内での効果的な機能発現などさまざまな機能が要求される。ウイルスベクターは、これらの点で人工遺伝子ベクターと比較にならないほど高性能であるため、当初は、レトロウイルスやアデノウイルスがベクターとして用いられてきた。しかし、1999年アメリカでアデノウイルスを用いた遺伝子治療による死亡事故が発生し<sup>45)</sup>、また、2002年フランスでレトロウイルスを用いた遺伝子治療で患者が白血病を発症する事故<sup>46)</sup>が生じて以来、安全性の高い人工遺伝子ベクターの開発が望まれている。近年、非ウイルスベクターとしてカチオニックリポソームや膜融合リポソーム、リガンド-DNA複合体、高分子ミセルなど様々な人工遺伝子ベクター



が注目を集めている。

インフルエンザウイルスは、レセプターを介したエンドサイトーシス（細胞の飲食作用）により細胞内に侵入し、効率よく細胞質へ遺伝子を放出することができる。この過程で重要な役割を果たすのが hemagglutinin (HA) ペプチドである。HA は HA1（レセプター結合部位）と HA2 ペプチドがジスルフィド結合で二量化した構造を有しており、エンドサイトーシスで細胞内に侵入すると、エンドソーム内の弱酸性環境（pH 5~6）に反応して HA2 がコンフォメーション変化を引き起こし、非可逆的な  $\alpha$ -ヘリックス構造をとる。この構造がエンドソーム膜に突き刺さり、ウイルスとエンドソーム膜の融合を引き起こす。このウイルスの pH 応答ペプチド機能を利用した pH 応答型人工ペプチドを遺伝子ベクターとして応用する研究が行われている。GALA は 30 残基のペプチド配列から構成されており、pH7.4 ではランダムコイル構造をとっているが pH5.0 では  $\alpha$ -ヘリックス構造をとる。この GALA の構造転移を利用し、カチオン性脂質とトランスフェリン、GALA 複合体を用いて遺伝子導入試験を行ったところ、エンドソームでの GALA の構造転移により細胞質へ標的遺伝子を効率よく導入できたことが報告されている<sup>47)</sup>。

片岡らは、親水性セグメントであるポリエチレングリコール (PEG) と疎水性セグメントであるポリアスパラギン酸 (Asp) のブロック共重合体 (PEG-p(Asp)) が疎水性相互作用を駆動力として水中で自発的に形成する高分子ミセルを抗がん剤のキャリアとして利用し、抗がん剤であるドキソルビシンやアドリアマイシンをガン組織に高効率で送達する DDS を開発している<sup>48-51)</sup> (図 6；文献 51, p117 より転載)。この高分子ミセルによる抗がん剤送達研究から得られた知見をもとに、高分子ミセルの遺伝子ベクターとしての応用について報告している。

PEG とポリリシン (p(Lys)) のカチオン性ブロック共重合体 (PEG-p(Lys)) と (PEG-p(Asp)) のアニオン性ブロック共重合体による静電相互作用を駆動力としたポリイオンコンプレックスミセル (PIC) が形成されることを見出し<sup>52)</sup>、PIC ミセルの遺伝子ベクターとしての応用を検討した。PEG-p(Lys) とアンチセンス DNA あるいはプラスミド DNA がミセルを形成することを明らかとし、DNA が熱的に安定化されることや核酸分解酵素 (DNase I) に対する安定性が飛躍的に向上することを見出した<sup>53-55)</sup>。核酸酵素に対する耐性の向上は、遺伝子ベクターとして実際の利用を考える場合に非常に重要である。また、細胞内環境でより制御された治療用遺伝子の徐放を行う目的で、ジスルフィド結合を用いた架橋構造の試みについても報告している<sup>56, 57)</sup>。ジスルフィド結合は還元環境下では容易に開裂するため、ジスルフィド結合による架橋で安定化されていた高次構造に不安定化が生じることがしばしばある。PEG-p(Lys) の側鎖にチオール基を導入したブロック共重合体を用いてアンチセンスオリゴヌクレオチド内包 PIC ミセルを調製し、細胞の内外の環境を模倣した系で構造安定性を評価した結果、細胞外環境ではジスルフィド結合による架橋効果で PIC ミセルは安定であったが、細胞内環境（還元環境）

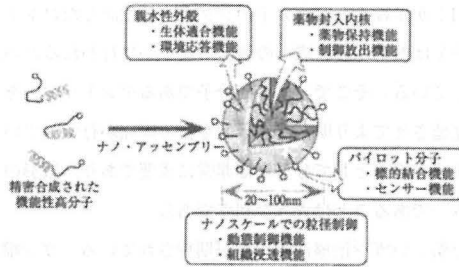


図6 ブロック共重合体の会合による高分子ミセル形成<sup>51)</sup>

では架橋の開裂により PIC ミセル構造が不安定化され、内包するオリゴヌクレオチドが放出されることを見出した。この細胞内環境応答性は、人工遺伝子ベクターの高機能化のブレイクスルーとして期待されている。

高分子ミセル以外にも、ポリエチレンイミンナノ粒子のプロトンスポンジ効果（見かけの pKa が pH7.4 付近であるため細胞内エンドソームにおいてポリエチレンイミンのアミノ基がバッファーとして働き、エンドソーム内の pH 低下を防ぎ、かつイオン浸透圧に基づくエンドソーム膜の脆弱化を引き起こす効果）を利用した研究や<sup>58)</sup>、丸山らのポリ L-リシンとデキストランのグラフト共重合体を遺伝子ベクターとして応用した研究<sup>59)</sup>、ガン細胞に過剰発現した葉酸（ビタミン B6）レセプターをターゲットとした、葉酸-DNA-カチオン性界面活性剤-PEG 複合ナノ粒子を用いたガン細胞ターゲティングの研究<sup>60)</sup> など、さまざまな人工遺伝子ベクターが研究されており、その実用化が期待されている。

#### 4 他のナノ粒子のバイオメディカルへの応用

近年、 dendrimer を造影剤キャリアとして応用する研究が注目を集めている。 dendrimer が一般の高分子と異なる最も重要な点は、分子量分布が単一で分布がないことである。薬物の体内での分布や動態を扱うファーマコキネティクスは、単一の構造式で規定される低分子化合物を扱うのが一般的で、分子量分布を有する高分子化合物は扱うことが困難である。そのため、 dendrimer は抗体やタンパク質と同様に単一高分子として扱うことができるという利点を有している。そのため、MRI（核磁気画像診断）用造影剤キャリアとして dendrimer に DTPA などのキレート化合物を介してガドリニウム（Gd）を結合させたものが有力視されている<sup>61), 62)</sup>。現在、実際に用いられているのは Gd-DTPA（DTPA1 分子が Gd1 原子を配位した低分子化合物）である。このタイプの造影剤は、Gd 原子が周辺の水分子に働きかけてその T1 緩和時間を短縮する

ため、MRI装置でこのT1が短縮された水分子のシグナルを強調したコントラストで撮影されている。しかし、Gd-DTPAは血管から組織への漏出が速やかに行われるため、得られる像がぼやけるという問題点を有している。そこで、より高分子である dendrimer をキャリヤに用いることで、組織への漏出を遅延させてより明確な血管像を得る研究が行われている。ここで、血管から組織への漏出速度を決める因子として分子量は非常に重要であり、撮影のタイミングを最適化するためには分子量が単一であることは大きな利点である。

磁性ナノ粒子を用いた新しいガン治療法の開発が期待されている。ガン細胞は42.5℃以上に加温すると殺傷されることが知られており<sup>63)</sup>、ガン組織に対する温熱療法が試みられてきた。しかしながら、現行の手法では正常組織も腫瘍組織も区別なく加温するので、患者の負担を考慮して正常組織への影響が少ない温度である42.5℃付近までしか加温できない。小林らは、10nmサイズの磁性ナノ粒子であるマグネタイト ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) を発熱体とする誘導加温型の温熱療法を開発した<sup>64)</sup>。マグネタイトは交番磁場中でヒステリシス損失により発熱する。したがって、マグネタイト粒子を腫瘍部位に選択的に集積することができれば、外部交番磁場を患者に照射することにより腫瘍部位を特異的に加温することが可能となる。マグネタイト粒子を腫瘍選択的に送達する目的で、マグネタイト粒子をリポソームに内包させてガン細胞特異的抗体を結合させることで、血中投与量の約6割を腫瘍部位に選択集積できることを報告している<sup>65)</sup>。また、遺伝子送達用カチオン性リポソームでマグネタイト粒子を包埋することで、腫瘍組織への注射により静電的相互作用で約6割のマグネタイト粒子の集積に成功している<sup>66)</sup>。このマグネタイト粒子を用いた温熱療法により、脳腫瘍や皮膚ガン、舌ガン、乳ガン、腎細胞ガン、骨肉腫などさまざまな腫瘍の退縮に成功している<sup>67, 68)</sup>。温熱療法は、患者への負担や副作用が少ないため実用化が期待される手法である。

最近、新しいDDSキャリヤとして中空カプセルが目ざされている。1998年、Carusoらが有機-無機ハイブリッド型の中空カプセルの調製を報告して以来<sup>69)</sup>、種々の高分子<sup>70)</sup> または高分子-タンパク質型<sup>71)</sup> 中空カプセルが報告されている。Carusoらは、基盤を高分子電解質やタンパク質溶液に交互に浸漬することで、静電相互作用や水素結合を駆動力としたナノメートルオーダーの薄膜を基盤表面に調製できる交互吸着法<sup>72)</sup>を用い、テンプレート微粒子上に交互吸着膜作成後、テンプレート粒子を有機溶媒に溶解させることで中空カプセルが調製可能であることを示した。この交互吸着法を利用した中空カプセルは、①交互吸着回数により膜厚を容易に制御できる、②中空カプセルの形状とサイズはテンプレート粒子により制御できる、③内孔にさまざまな薬物を担持できる、などの特徴を有しているため新しい薬物キャリヤとしての応用が期待されている。著者らは、テンプレート粒子としてシリカ微粒子を用い、生分解性高分子であるデキストラン硫酸とキトサンで調製される生分解性中空ナノカプセルを報告した<sup>11)</sup>。従来の報告ではテ

ンプレート粒子としてポリスチレン粒子やホルムアルデヒド樹脂が用いられていたが、高分子であるため完全に除去することが困難であった。著者らはテンプレート粒子としてシリカ微粒子を用いることで、FT-IR スペクトルや誘導結合形プラズマ分析法 (ICP) のレベルでテンプレート粒子を完全に除去することに成功した。また、シリカ微粒子はナノメートルからマイクロメートルサイズまで幅広く存在するため、さまざまなサイズの中空カプセルを調製できる。

また、中空カプセルへの薬物の内包方法についてもさまざまな研究が報告されている。Caruso らは、ポリスチレンスルホン酸 (PSS) とポリアリルアミン塩酸塩 (PAH) を用いてテンプレート粒子であるポリスチレン粒子表面に下地膜を作成し、モデル薬物であるアニオン性色素のビレントラスルホン酸 (4-PSA) と PAH で交互吸着膜を調製することで、4-PSA が中空カプセル膜に担持できることを報告した。さらに、4-PSA 担持中空カプセルを PSS 溶液に浸漬するとほぼ全て徐放されることを見出した<sup>73)</sup>。Sukhorukov らは、PAH と PSS で調製された中空カプセルが水/エタノール混合溶媒中で膨潤することを利用し、混合溶媒中でウレアーゼを内包できることを報告している<sup>74)</sup>。また、デキストラン硫酸とプロタミンで調製された中空カプセルは pH 7~8 付近で膨潤して pH 3~5 で収縮するため、この pH 変化を利用したペルオキシダーゼの内包も報告している<sup>75)</sup>。L. Dähne らは、PAH と PSS で調製された中空カプセルを 10mM の NaCl 水溶液に浸漬することで塩濃度の違いにより膜を膨潤させ、ローダミン B でラベル化された PAH を中空カプセルに内包できることを見出した<sup>76)</sup>。

中空カプセルの研究はまだ始まったばかりであるが、分散安定性に優れている、ナノメートルからマイクロメートルまで粒径制御が可能、さまざまな手法で薬物を内包できる、生分解性高分子を用いて調製できるため生体内へ応用できるなど、優れた性質を有しており、新しい DDS 担体として応用が期待されている。

## 5 おわりに

これまで述べてきたように、経口 DDS 担体やワクチン担体、遺伝子や造影剤キャリアなど、さまざまなナノ粒子がバイオメディカル分野への応用を目的として研究されている。材料工学の発展により、現在では、副作用が少なく標的細胞・組織への高い集積能や薬物の徐放制御能を有したナノ粒子が設計できるようになった。今後、医学と工学、薬学分野の研究者が連携して取り組むことで、近い将来ナノ粒子を応用した DDS が実現されると期待される。