

多孔質バイオナノコンテナーの設計と評価

筑波大TIMS・筑波大TARA・筑波大院数理物質・筑波大院人間総合

長崎 幸夫

近年、ナノ粒子の発光や発熱など、様々な物理・化学的特性を利用してバイオ診断やイメージング等に応用する試みが広く展開されている。たとえば磁性ナノ粒子を発熱体とした温熱療法やMRIイメージング剤などへの展開が検討され、将来の高性能バイオナノテクノロジー材料の一つとして期待されている。

ところでこの様なナノ粒子は一般に表面電荷の影響で静電反発し、水中で安定に分散しているものの、生体液のようなイオン強度の高い(150mM)環境下では容易に静電遮蔽を起こして凝集沈殿する。生体環境下で機能するバイオナノ粒子を設計するためにはこの様に、生体環境下で安定に分散することが

重要であるとともに、表面への非特異吸着を抑制することが重要である。体内で用いる場合には特に補体等から標識されることの無い生体適合性表面が極めて重要である。この様なナノ粒子を設計し、機能させるためにはさらに特異的分子認識能を付与し、イメージング、診断、治療に利用する材料設計が不可欠である。

我々は生体環境下で機能するナノ粒子として金¹や半導体量子ドット²などの表面に我々が合成してきた末端反応性ブロック共重合体を固定し、生体環境下で安定に分散するとともに機能するバイオナノ粒子の設計を行ってきた(図1.)。たとえば金ナノ粒子の場合、アセタール基を有するPEG/ポリ(メタクリル酸 2-(N,N-ジメチルアミノエチル)) (PEG/PAMA)と塩化金酸水溶液を混合することによってブロックポリマーのアミノ基が還元剤となるとともにブロックポリマーのPEMAセグメントが生成した金ナノ粒子に配位し、図1.に示すようなPEG化金ナノ粒子が極めて容易に調製できる。PEG末端にはアセタール基を有するため、酸加水分解でアルデヒド化し、還元アミノ化によって様々なバイオリガンドの導入が可能である。

一方でシリカやクレイなどの多孔体微粒子は、様々な化合物をその孔内へ担持することが可能であり吸着剤などに応用されてきている。さらに最近では生理活性物質を担持させ、薬物徐放システムとしての利用も検討されはじめている。しかしながらこのような無機微粒子は金属や半導体と同じようにイオン反発によって水中に分散しているため、イオン強度の高い血清や血液の中では容易に凝集沈殿してしまい、さらには生体内に数多く存在するタンパクなどの非特異吸着を防ぐことができないことが

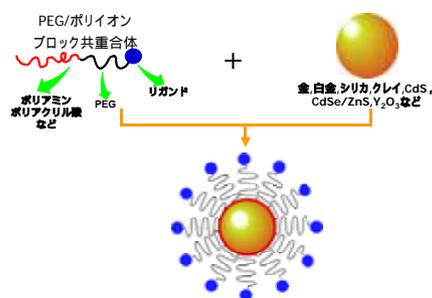


図1.ブロック共重合体固定バイオナノ粒子の設計

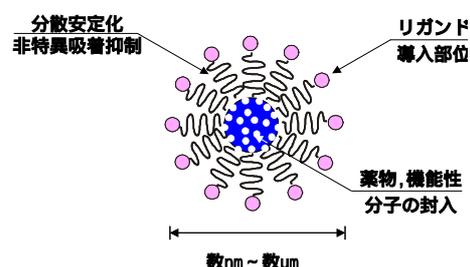


図2.多孔性無機バイオナノ粒子の設計

Design for Bionanocontainer by Porous Inorganic Nanoparticles

Yukio NAGASAKI (Tsukuba Research Center for Interdisciplinary Materials Science, Center for Tsukuba Advanced Research Alliance, Graduate School of Pure and Applied Sciences, and Graduate School of Comprehensive Human, University of Tsukuba, 1-1-1 Tenn-noudai, Tsukuba, Ibaraki 305-8573, JAPAN).

Tel: 029-853-5749, Fax: 029-853-5749, e-mail: nagasaki@ims.tsukuba.ac.jp

Key Word: PEG tethered chain surface / Porous nanoparticle / Clay / Silica / Enzyme / DDS / Imaging

Abstract: Silicate-based porous nanocrystals, such as clay minerals, are promising materials for pharmaceutical applications. This article reviews recent approaches on the application of clays and other porous nanoparticles in advanced drug delivery systems (DDS) by the design and control of their interfaces. Clay minerals are pharmaceutically useful as the carrier for the improvement of bioavailability and sustained release, but flocculation in the physiological ionic strength is the major disadvantage as DDS materials. Recent work demonstrated that coating these particles with poly(ethylene glycol) (PEG) containing block copolymers produces flocculation-resistant drug formulations in an elevated ionic strength, and is expected to improve the bioavailability.

問題であった。本研究では、アセタール-PEG/PAMAブロック共重合体による多孔質微粒子の分散安定化を行うことにより、生理条件下で高度に分散安定化しかつ、タンパクなどの非特異吸着を高度に抑制した 100nm以下の粒子を調製することに成功した。この多孔粒子の孔内に薬物を導入することにより、長期間放出を可能にするナノ粒子の設計が可能となった(図2.)³。また、さらに酵素をポリマーとともにシリカナノ粒子状に共固定化することによって複合体を調製したところ、既存の固定化酵素のように酵素自身の活性が低下することなく、高い分散安定性と遠心分離による回収性を示した。さらには 58°Cで 10 分間という高温処理を繰り返しても殆ど活性の低下しない複合体となることがわかった(図3.)。

図4.には一次粒径 120nm の合成クレイ(ラポナイト)を PEG/PAMA(5k/2k)で処理した場合のポリマー/クレイ重量比に対する濁度・ゼータ電位および粒径依存性を示す。クレイ粒子にわずかなポリマーを添加するとクレイ表面の負電荷が中和して濁る。実際、DLS によって測定した粒径は 900nm 以上であり、大きく凝集していることがわかった。しかしながら十分なポリマーを添加すると、ゼータ電位はほぼ遮蔽されるものの、初期粒径を保ち、安定に分散することが確認された。この様にして調製した安定分散クレイにピレンを内包し、そのリリース挙動を蛍光にて測定した。図5.に見られるようにクレイに担持したピレンはモノマー発光(350-400nm)の他に 460nm 付近にエキシマー由来する発光が見られる。水中でピレンのリリースを検討したところ、初期の段階ではエキシマー発光が優先的に消失し、21 日間ではほぼ完全に消失している。一方で、モノマー発光もある程度低下するものの、23 日以降はほぼ低下していないことがわかる。これは多分子吸着しているピレンはリリースされるものの、単分子分散しているものは強くクレイ担体に吸着しているものと考えられる。この様に PEG-多孔粒子複合体は生理条件下で安定に分散するだけでなく、内包条件によって発光分子を安定に担持することや薬物除放担体となりうる新規バイオナノ粒子として期待できる。

【謝辞】ヘテロ 2 官能性 PEG 誘導体の合成と表面設計は片岡一則教授(現東京大学マテリアル)とともに始めたものである。ヘテロ PEG の合成とナノ粒子 PEG 表面設計に関しては大石基博士(筑波大学助教)、飯島道弘博士(現小山高専講師)、大塚英典博士(現東京理科大学助教)、石井武彦博士(現東大助教)、高橋唯仁博士(現 BST 研究所)、佐藤康雄君(現三井化学)、山田嘉明君(現東亜 DKK)、石川博子さん(筑波大大学院)及び長崎研究室学生諸氏を中心に行われたものである。心から感謝いたします。

¹ a)H.Otsuka, et al., *JACS*, 123, 8226(2001), b)T.Ishii, et al., *Langmuir*, 20(2004)
² Y.Nagasaki, et al, *Langmuir*, 20,6396(2004)
³ T.Takahashi, et al., *Journal of Controlled Release*, 107, 408(2005)

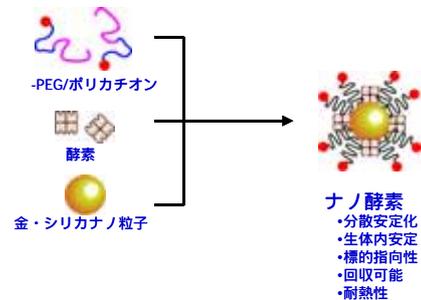


図3.酵素固定シリカ複合体の設計

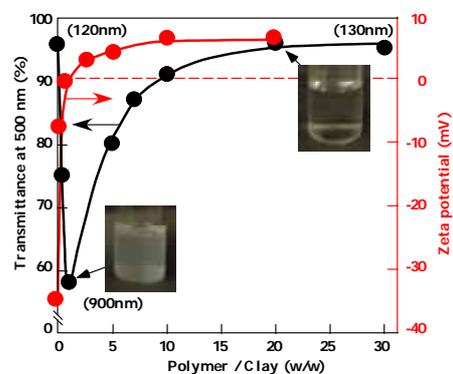


図4.(PEG/PAMA)/クレイ混合比に対する濁度(), ゼータ電位()および粒径(括弧内数値)

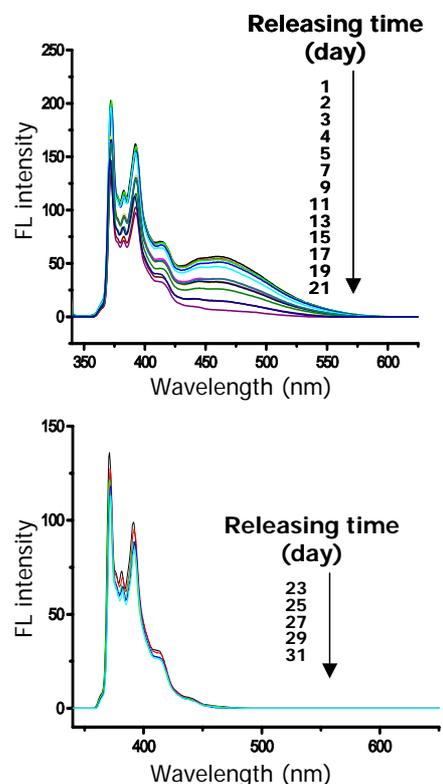


図5.PEG 化クレイ混合複合体からのピレンの放出挙動