

# 製剤フロンティアへ向けての高分子ナノミセル 設計

東京大学大学院工学系研究科

片岡 一 則

## 1. はじめに

最近、様々な分野で、原子・分子のサイズや精度でものを加工 (processing) し、組み立て (assembly)、高次な機能を持つユニットを形成する技術 (ナノテクノロジー) が注目されている。とりわけ、医薬品医療の分野においては、薬物の体内分布を時間的・空間的に正確に制御する事によって、「必要な時 (timing) に、必要な部位 (location) で、必要な薬物治療 (action)」を最小限の副作用で達成する高精度ターゲティング治療に対する関心が高まっているが、この目的を首尾良く達成する為には、ナノスケールで精密設計された高機能化薬物運搬体 (ドラッグキャリア) の開発が最重要とも言える課題である。特に、遺伝子治療との関連では、副作用や危険性が指摘されているウイルスベクターに取って代わる合成ベクターの開発競争が米国をはじめとする各国のベンチャー企業や大学を中心に過熱状態の様相を呈しつつある。本講演では、精密合成された高分子鎖のアッセムブリーに基づいて形成されるナノ構造体 (高分子ミセル) を薬物や遺伝子のキャリアとして用いる演者らのアプローチを紹介し、そのナノ医療システムとしての展望を議論したいと考えている<sup>1,2)</sup>。

## 2. 生体機能性高分子ミセルの構築とその標的指向性ナノキャリアへの展開

親水性連鎖と疎水性連鎖とからなるブロック共重合体は、水中で会合することによって、疎水部を内核(core)、親水部を外殻(shell)とする会合体 (高分子ミセル) を形成する。このような高分子ミセルは、その直径が 20 ~ 50nm であり、天然物で言えば、丁度、リポタンパク質やウイルスと同等のサイズである。高分子ミセルは低分子ミセルに比べてミセルを構築する高分子鎖のミセルからの解離速度が小さく、極めて高い構造安定性を実現することが可能である。また、内核は外界から隔絶された非水的ミクロ環境を構成し、疎水性物質のミクロリザーバーとしての機能が期待される。一方、外殻は親水性で、高分子ミセルの優れた安定性と溶解性を維持するのに役立つとともに自由端を有する高分子鎖の特徴として極めて高いフレキシビリティを示し、生体内において細網内皮系からの認識を免れるのに役立っている。更に、この外殻を構成する高分子鎖の先端には、必要に応じてパイロット分子を連結することも可能である (図1参照)。

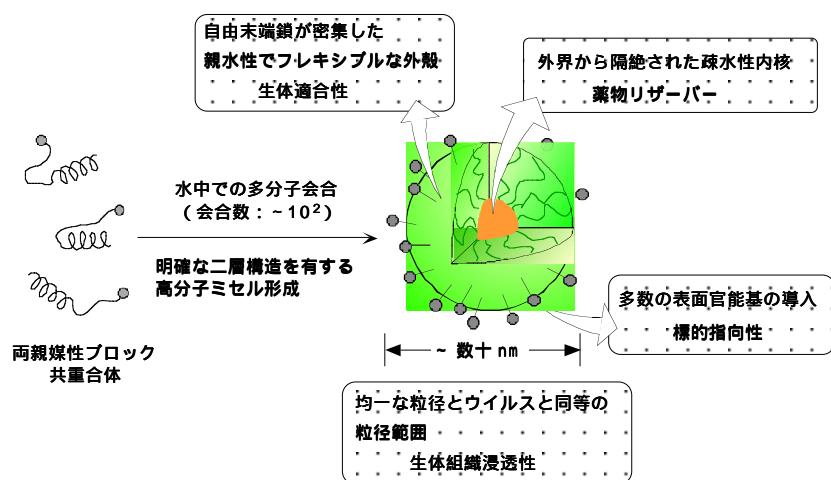


図1 薬物送達機能を有する高分子ミセルの構築

演者らは、この様な高分子ミセルが薬物キャリアとして優れた特性を有することを見出し、動物実験より、アドリアマイシン（ADR）内包ミセルのがん標的治療における有用性を実証した<sup>3-5)</sup>。このシステムは科学技術振興事業団委託開発課題に採択され、現在、国立がんセンター中央病院において、臨床第一相試験が行われている。

高分子ミセルにおいては、その内核形成の駆動力を適宜、選択することによって、アドリアマイシンのような疎水性薬物に限らず、様々な薬物を内包する事が可能である。例えば、制ガン剤として広く用いられている白金錯体であるシスプラチンの場合には、配位子交換反応を利用する事によって、PEG-poly(aspartic acid) あるいは PEG-poly(glutamic acid) ブロック共重合体からシスプラチンを内包する単分散の金属錯体ミセル（直径約 20nm）を得る事が出来る。ADR ミセルと同様に、このシスプラチンミセルも著しく長い血中半減期を有する。但し、興味深いことに配位子交換反応の進行とともに一定の誘導期（～10 時間）を経てミセル崩壊が生起するため、丁度、固形がんが集積した頃にミセル崩壊に伴う急激な薬物放出を惹起させることが可能となる。すなわち、時限爆弾型インテリジェントミセルとも言えるシステムである<sup>6,7)</sup>。

同様の単分散会合体は反対荷電を有するブロック共重合体から静電相互作用を利用して構築可能であることも明らかとなった（ポリイオンコンプレックス（PIC）ミセル）<sup>8)</sup>。この PIC ミセル

については、詳細な光散乱解析を行い、会合数とブロック鎖長との関連など物理化学的解析を推進したが、その研究途上においてミセル形成における厳格な鎖長認識現象を発見した。すなわち、模式的に図 2 に示すように、安定な PIC ミセル形成は、相補的な連鎖長の反対荷電を有するブロック共重合体ペアからのみ起こり、長さの異なる成分はミセル形成から完全に除外されるという事実である。この現象は、内核における荷電セグメントの分布の均一性と外殻 / 内核界面の明確な相分離性より説明することが可能であり、ブロック共重合体であるが故の新たな分子認識機序の発現と位置づけることが出来る<sup>9)</sup>。

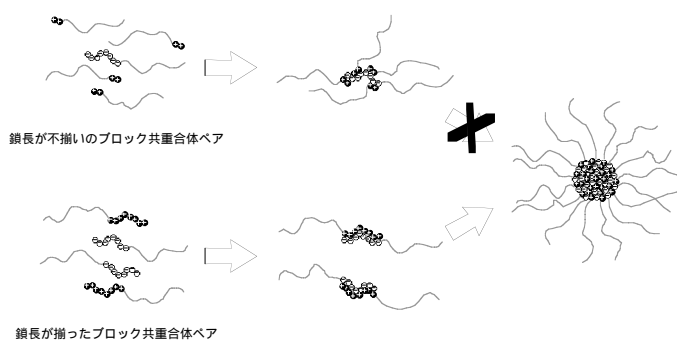


図 2 PICミセル形成を通じた鎖長認識プロセス

上記の基礎的な物性評価と平行して、酵素や DNA などの生体高分子を内包する PIC ミセルの機能材料としての特性評価をも推進し、例えば、ミセルの形成と解離に連動した酵素活性の on-off

制御に成功するなど（図 3）<sup>10)</sup>、インテリジェント・バイオリクターとしての PIC ミセルの応用を提案する事が出来た。また、東大の相田らと共同して、表層に荷電を有する dendrimer 型ポルフィリンのミセル内への内包を行い、このシステムががんの光力学療法に有用であるとの知見を得ている<sup>11)</sup>。一方、PIC ミセルに内包することによって、プラスミド DNA の核酸分解酵素耐性が飛躍的に向上し、かつ遺伝子の発現効率が高まる事を見出しており、天然のウイルスに代わる新たな遺伝子ベクターとして、現在、遺伝子治療分野への展開を図りつつある<sup>12,13)</sup>。このシステムについては、血清中での安定性向上を蛍光のエネルギー移動より確認し<sup>14)</sup>、かつ、in vivo の血中動態試験より、

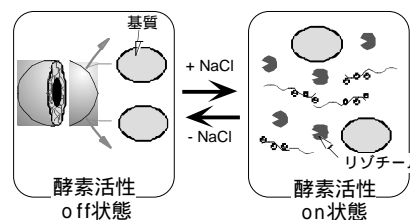


図 3 高分子ミセルの形成と解離に連動した酵素活性の on-off 制御

裸の DNA に比較して飛躍的な血中半減期の延長を認めている<sup>15)</sup>。

### 3 . DNA を運ぶインテリジェント型高分子ミセル

PIC ミセルには遺伝子 (プラスミド DNA) のみならず鎖長の短いアンチセンス DNA の内包も可能である。但し、アンチセンス DNA のような鎖長の短い核酸を内包した PIC ミセルの場合、その希釈に対する安定性は必ずしも十分ではなく、投与後、血中で会合数が減少したりミセルの解離が生起してしまう可能性がある。そのため、目的組織に到達するまで PIC ミセルが解離してしまわないように安定化する必要があるが、安定化により細胞内での解離も抑えられてしまえば、内包された DNA の薬理効果が発揮されない。そこで、この問題を解決するために、演者らは、細胞内の環境に应答して PIC ミセルが解離するメカニズムが必要であると考え、SS 結合によるミセルの架橋に注目した。SS 結合の特徴は、この結合が細胞内の還元的環境で開裂するということである。このため、SS 結合で PIC ミセルの内核を架橋すれば、静脈注射後も血流中で解離が抑制されるうえ、細胞内に取り込まれた後には、SS 結合の開裂に伴い内包された DNA が放出されることが期待できると考えた。事実、この様なコンセプトで設計したミセルは還元剤の濃度に依存して内包 DNA を外部に放出する事が確認され、新たな環境应答型ミセルとしての機能が期待されている<sup>16,17)</sup>。以上のようにウイルスと同等のサイズを有し、優れた溶解性と遺伝子発現活性を示す高分子ミセル型遺伝子ベクターに新たに標的指向性と環境应答性を賦与することによって、必要な場所で必要な時に必要な機能を示すインテリジェント型遺伝子ベクターが構築出来るものと考えられる。標的指向性に関しては、末端に官能基を有する PEG-poly(dimethylaminoethyl methacrylate)<sup>18)</sup>及び PEG-polyethyleneimine ブロック共重合体<sup>19)</sup>の新規合成ルートを東理大の長崎と共同で開発し、現在、これらのブロック共重合体とプラスミド DNA とからなる PIC ミセル表層にラクトースを導入したシステムを用いて培養細胞系への遺伝子導入を行っているが、ラクトースリガンドの導入に伴い、大幅な遺伝子発現効率の上昇を達成している。現在、遺伝子治療においては、アデノウイルスをはじめとするウイルス性ベクターが臨床的に用いられているが、一昨年の米国における患者の死亡事故以来、ウイルスベクターの安全性に対する懸念が指摘されており、高機能で安全な非ウイルス性ベクターへの期待が高まっている<sup>20,21)</sup>。本稿で紹介した高分子ミセル型ベクターは、優れた標的認識性や環境应答性の賦与が可能であり、ウイルスに学ぶインテリジェント型ナノ構造デバイスとして、今後のナノ遺伝子治療分野における展開が期待される。

### 4 . 結言

以上、簡単に紹介したように、ブロック共重合体の自己会合によって形成される高分子ミセルは、天然のナノデバイスであるウイルスと同等のサイズと類似のコア-シェル構造を有しており、薬や遺伝子を運ぶ一種の「人工ウイルス」として、様々なナノ治療分野における応用が期待される。一方、ナノ医療の分野においては、バイオイメージングに用いる診断用ナノ微粒子など、ナノ診断分野への展開を目指した材料開発にも強い興味を持たれている。本稿で述べた方法論はナノ診断を目的とする機能性微粒子の構築にも適用可能であり、例えば、機能性 PEG で被覆された金ナノ微粒子を用いたタンパク質の高感度定量アッセイも可能であることが最近、明らかとなった<sup>22)</sup>。高分子の会合を的確に制御したナノ構造体は今後のナノ診断・ナノ治療の分野で確実にその重要性を増してくるに相違なく、今後は、検出 (センサー機能) 診断 (プロセッサー機能) 治療 (エフェクター機能) を一体として成し遂げるインテリジェントシステムの構築が大きな

課題となるであろう。実際米国においては、このようなインテリジェントシステムに関して、National Nanotechnology Initiativeの一環として NASA と NCI (国立がん研究所) の共同研究プロジェクトが始動しており、我が国においてもナノテクノロジーとバイオメディカル分野を融合した研究戦略の策定を行うことが早急の課題であると言える。

## 文献

1. K. Kataoka, A. Harada, Y. Nagasaki, *Adv. Drug Deliv. Rev.* **47**, 113-131 (2001).
2. 片岡一則、*DDS* **15**, 421-428 (2000).
3. M. Yokoyama, T. Okano, Y. Sakurai, H. Ekimoto, C. Shibazaki, K. Kataoka, *Cancer Res.* **51**, 3229-3236 (1991).
4. G. S. Kwon, S. Suwa, M. Yokoyama, T. Okano, Y. Sakurai, K. Kataoka, *J. Controlled Release* **29**, 17-23 (1994).
5. K. Kataoka, M. Yokoyama, G. S. Kwon, T. Okano, Y. Sakurai, *J. Controlled Release* **24**, 119-132 (1993).
6. N. Nishiyama, M. Yokoyama, T. Aoyagi, T. Okano, Y. Sakurai, K. Kataoka, *Langmuir* **15**, 377-383 (1999).
7. N. Nishiyama, Y. Kato, Y. Sugiyama, K. Kataoka, *Pharm. Res.* **18**, 1035-1041 (2001).
8. A. Harada, K. Kataoka, *Macromolecules* **28**, 5294-5299 (1995).
9. A. Harada, K. Kataoka, *Science* **283**, 65-67 (1999).
10. A. Harada, K. Kataoka, *J. Amer. Chem. Soc.* **121**, 9241-9242 (1999).
11. H. R. Stapert, N. Nishiyama, D.-L. Jiang, T. Aida, K. Kataoka, *Langmuir* **16**, 8182-8188 (2000).
12. S. Katayose, K. Kataoka, *Bioconjugate Chem.* **8**, 702-707 (1997).
13. S. Katayose, K. Kataoka, *J. Pharm. Sci.* **87**, 160-163 (1998).
14. K. Itaka, A. Harada, H. Kawaguchi, K. Nakamura, K. Kataoka, *Biomacromolecules*, **in press**.
15. M. Harada-Shiba, K. Yamauchi, A. Harada, K. Shimokado, K. Kataoka, *Gene Therapy*, **9**, 407-414 (2002).
16. Y. Kakizawa, A. Harada, K. Kataoka, *J. Amer. Chem. Soc.* **121**, 1247-11248 (1999).
17. Y. Kakizawa, A. Harada, K. Kataoka, *Biomacromolecules* **2**, 491-497 (2001).
18. K. Kataoka, A. Harada, D. Wakebayashi, Y. Nagasaki, *Macromolecules* **32**, 6892-6894 (1999).
19. Y. Akiyama, A. Harada, Y. Nagasaki, K. Kataoka, *Macromolecules* **33**, 5841-5845 (2000).
20. E. Marshall, *Science* **286**, 2244-2245 (1999).
21. N. Boyce, *Nature* **414**, 677 (2001).
22. H. Otsuka, Y. Akiyama, Y. Nagasaki, K. Kataoka, *J. Amer. Chem. Soc.* **123**, 8226-8230 (2001).