

日本バイオマテリアル学会

九州講演会 2016

～硬い金属材料を熱く議論する～

要 旨 集



日 時：2016 年 9 月 23 日（金） 13:00～19:30

場 所： 熊本大学薬学部（大江地区）宮本記念館

主 催：日本バイオマテリアル学会

共 催：先進マグネシウム国際研究センター

熊本大学拠点形成研究 B「医工薬理連携による外部刺激に応答
するナノ材料を起点とした多モードがん治療研究拠点」

世話人：新留琢郎

熊本大学 大学院先端科学研究部 生体関連材料分野
先進マグネシウム国際研究センター（併任）

講演プログラム

13:00-13:10 開会のあいさつ

新留琢郎（熊本大学大学院先端科学研究部）

13:10-13:50 医療用生体吸収性金属材料の生体安全性と分解特性

山本玲子（物質・材料研究機構機能性材料研究拠点）

13:50-14:30 冠動脈ステントの力学的性質とデザイン

清水一郎（岡山理科大学機械システム工学科）

14:30-15:10 KUMADAI マグネシウム合金の医療機器用基盤材料としての可能性

河村能人（熊本大学先進マグネシウム国際研究センター）

15:10-16:10 写真撮影→ポスターセッション

16:10-16:50 熊本大学循環器内科における医工連携の取り組み

有馬勇一郎（熊本大学大学院生命科学研究部）

16:50-17:40 金属系バイオマテリアルの生体機能化と実用化への課題

塙 隆夫（東京医科歯科大学生体材料工学研究所）

18:00-19:30 懇親会（宮本記念館 2 階、和室）

P1 腹腔内組織への超音波応答型遺伝子導入における遺伝子発現の空間分布評価法の開発

○西村光洋¹、麓伸太郎²、淵上由貴¹、萩森政頼¹、丸山一雄³、川上 茂¹

¹長崎大学大学院 医歯薬学総合研究科 医薬品情報学分野

²長崎大学大学院 医歯薬学総合研究科 薬剤学分野

³帝京大学 薬学部

腹腔内組織への遺伝子導入は、腹膜線維症をはじめとする腹膜疾患の遺伝子治療に貢献することが期待される。我々はこれまで超音波応答性ナノバブルを用いて腹腔内組織への高効率な遺伝子導入法の開発を行ってきた。しかしながら、肝臓での腹膜下における肝実質細胞の存在や、腹膜線維症時での腹膜構造変化により、標的の腹膜の細胞以外にも遺伝子発現することが危惧される。そのため、空間的に組織中の遺伝子発現分布を評価することで、より効果的かつ安全な遺伝子治療へとつながることが期待できる。そこで我々は、組織透明化の手法を応用し、新たに遺伝子発現分布の空間的評価法を構築してきた¹⁾。本研究では、遺伝子発現分布の正確な評価を行うために、ClearT 法により腹膜表面の細胞を DiI で染色し組織透明化した腹腔内組織の遺伝子発現分布を観察した。腹壁では組織表面の細胞の下層においても遺伝子発現がみられたが、腹壁や肝臓において主に組織表面の細胞に広範囲に遺伝子発現が観察された。以上、ナノバブルと超音波照射による遺伝子導入法は、標的である腹腔内組織の腹膜に選択的に遺伝子導入できる方法であることが示唆された。

1) Fumoto S, Nishimura K, Nishida K, Kawakami S, PLoS ONE, 11, (1), e0148233, 2016

P2 副作用の少ないがん治療を企図した PEG 化葉酸修飾デンドリマー/ α -シクロデキストリ結合体 (G4) による siRNA 全身デリバリー

○大山歩務^{1,2}、東 大志¹、本山敬一¹、有馬英俊^{1,2}

¹熊本大学 大学院生命科学研究部 製剤設計学分野

²熊本大学 博士課程教育リーディングプログラム「グローバルな健康生命科学パイオニア養成プログラム HIG0」

我々はこれまで、 α -シクロデキストリンとポリアミドアミンデンドリマー (G3) との結合体 (α -CDE (G3)) 中のデンドリマー分子に、ポリエチレングリコール (PEG, MW $\approx$ 2000) を介して葉酸を導入した Fol-P α C (G3, 葉酸置換度 (DSF) 4) を調製し、これが、がん細胞選択的に siRNA を導入可能であることを明らかにした。しかしながら、Fol-P α C (G3, DSF4)/siRNA 複合体は、血中で一部解離するため、in vivo における RNAi 効果は十分でなかった。本研究では、Fol-P α C (G3) のジェネレーションを G3 から G4 に上げた Fol-P α C (G4) を調製し、全身投与可能かつがん細胞選択的な siRNA キャリアとしての有用性を評価した。その結果、Fol-P α C (G4, DSF2)/siRNA 複合体は、葉酸受容体高発現がん細胞選択的に殺細胞活性を示し、また、Fol-P α C (G3, DSF4)/siRNA 複合体に比べて、高い安定性および血中滞留性を示した。このことから、Fol-P α C (G4, DSF2) は、がん細胞選択的な全身投与型 siRNA キャリアとして有用であることが示唆された。

P3 シクロデキストリンポリ擬ロタキサン形成を利用した活性保持型 PEG 化インスリンの持続放出システムの構築

○弘津辰徳^{1,2}、東 大志¹、本山敬一¹、有馬英俊^{1,2}

¹熊本大学 大学院生命科学研究部 製剤設計学分野

²熊本大学 博士課程教育リーディングプログラム「グローバルな健康生命科学パイオニア養成プログラム HIGO」

糖尿病患者に対するインスリン療法において、血糖値を容易に制御可能な持続性インスリン製剤の開発が強く望まれている。最近我々は、 β -シクロデキストリン (β -CyD) とアダマンタンの可逆的な相互作用を介してインスリンにポリエチレングリコール (PEG) を修飾すると、血糖降下作用が減弱することなく持続することを明らかにし、活性保持型 PEG 化技術 (SPRA 技術) と命名した。しかし、SPRA 技術だけでは、インスリンの血糖降下作用を厳密に制御することは困難である。一方、我々はこれまで、共有結合型の PEG 化インスリンに、CyDs を混合すると、難水溶性のポリ擬ロタキサン (PPRX) を形成し、PPRX を希釈する際の溶媒中の CyDs 濃度を調整することにより、PEG 化インスリンの放出を制御可能なことを報告した (PPRX 技術)。そこで本研究では、血糖値の制御が容易な持続性インスリン製剤の開発を目指して、SPRA 技術と PPRX 技術を融合した SPRA-PPRX 技術の構築を行った。SPRA 技術により PEG 化したインスリンに、 α -もしくは γ -CyD 水溶液を添加すると、PPRX 由来の沈殿が得られた。現在、本 PPRX からのインスリンの放出挙動や血糖降下作用を検討中である。

P4 GM1 ガングリオシドーシス患者由来線維芽細胞の脂質蓄積に対するメチル化シクロデキストリン類の減少効果

○前田有紀^{1,2,3}、本山敬一¹、東 大志¹、竹尾 透⁴、中潟直己⁴、近藤悠希⁵、石塚洋一⁵、入江徹美^{2,5}、江良沢実⁶、有馬英俊^{1,2}

¹熊本大学 大学院生命科学研究部 製剤設計学分野

²熊本大学 博士課程教育リーディングプログラム「グローバルな健康生命科学パイオニア養成プログラム HIGO」

³日本学術振興会

⁴熊本大学 生命資源研究・支援センター 資源開発学分野

⁵熊本大学 大学院生命科学研究部 薬剤情報分析学分野

⁶熊本大学 発生医学研究所 幹細胞誘導分野

GM1 ガングリオシドーシスは、ライソゾーム酵素である β -ガラクトシダーゼの欠損により、GM1 ガングリオシドなどの糖脂質が脳に蓄積し、重篤な神経症状を引き起こす疾患である。本疾患は厚生労働省により難病指定されており、新規治療薬の開発が望まれている。一方、メチル化シクロデキストリン類 (M-CyDs) は、生体膜上のリピッドラフトからコレステロールやスフィンゴ糖脂質などを脱離させ、その構造や機能に影響を与えることが知られている。そこで本研究では、GM1 ガングリオシドーシス治療薬としての M-CyDs の可能性を評価するため、脂質蓄積に及ぼす M-CyDs の影響を検討した。その結果、GM1 ガングリオシドーシス患者由来線維芽細胞において、M-CyDs はエンドライソゾーム内の GM1 ガングリオシド蓄積を減少させることが示された。また、GM1 ガングリオシドーシスモデルマウスにおいて、M-CyDs の脳室内単回投与は、顕著な副作用を起こさず、脳内の GM1 ガングリオシド蓄積を減少させることが示された。以上のことから、GM1 ガングリオシドーシス治療薬としての M-CyDs の可能性が示唆された。

P5 NSAIDs 胃潰瘍の予防および治療薬としてのスイゼンジノリ由来多糖体サクランの可能性評価

○林 智哉¹、安部佑哉¹、本山敬一¹、東 大志¹、金子慎一郎²、大塚高幸³、佐藤清明³、近藤悠希⁴、石塚洋一⁴、入江徹美^{4,5}、有馬英俊^{1,5}

¹熊本大学 大学院生命科学研究部 製剤設計学分野

²グリーンサイエンス・マテリアル株式会社

³株式会社オジックテクノロジーズ

⁴熊本大学 大学院生命科学研究部 薬剤情報分析学分野

⁵熊本大学 博士課程教育リーディングプログラム「グローバルな健康生命科学パイオニア養成プログラム HIGO」

非ステロイド性抗炎症薬 (NSAIDs) は、世界中で汎用されている薬剤であるが、消化管潰瘍をはじめとする副作用が大きな問題となっている。そこで本研究では、消化管機能を改善すると考えられている食用藍藻のスイゼンジノリから抽出された多糖体であるサクランの抗潰瘍作用について、インドメタシン (IND) 誘発性胃潰瘍モデルを用いて検討した。その結果、サクランを IND と同時処理することにより胃潰瘍は抑制され、その効果はサ克蘭濃度が 1% のとき最大となった。また、サ克蘭前処理により市販の胃潰瘍治療薬であるオメプラゾールと同等以上の抗潰瘍作用が示された。さらに、胃組織中の炎症関連遺伝子の mRNA レベルを測定したところ、胃上皮細胞より産生されるケモカイン発現は、サ克蘭前処理により変化しなかったが、マクロファージより産生されるサイトカイン・ケモカイン発現は抑制された。一方、サ克蘭後処理においては、オメプラゾールと同等の抗潰瘍作用が示され、いずれのサイトカイン・ケモカイン発現も抑制された。以上の結果より、サ克蘭は IND 誘発性胃潰瘍を抑制し、その抗潰瘍メカニズムは前処理と後処理で一部異なる可能性が示唆された。

P6 ニーマンピック病 C 型様細胞内のコレステロール量に及ぼす膜透過性ペプチド修飾シクロデキストリンの影響

○西山怜奈¹、本山敬一¹、前田有紀^{1,2,3}、東 大志¹、川口祥正⁴、二木史朗⁴、石塚洋一⁵、近藤悠希⁵、入江徹美^{3,5}、江良沢実⁶、有馬英俊^{1,3}

¹熊本大学 大学院生命科学研究部 製剤設計学分野

²日本学術振興会

³熊本大学 博士課程教育リーディングプログラム「グローバルな健康生命科学パイオニア養成プログラム HIGO」

⁴京都大学 化学研究所

⁵熊本大学 大学院生命科学研究部 薬剤情報分析学分野

⁶熊本大学 発生医学研究所 幹細胞誘導分野

ニーマンピック病 C 型 (NPC 病) は、エンドライソゾーム内に遊離型コレステロールが蓄積する劣性遺伝性疾患であり、主に肝脾腫や神経症状を呈する。現在、NPC 病治療に人道的臨床応用されている 2-ヒドロキシプロピル-β-シクロデキストリン (HP-β-CyD) は、細胞内コレステロール量を低下させ、症状の進行を遅延させることが報告されている。しかし、治療には大量の CyD が必要、治療効果が不十分、肺などへ副作用が生じることなどが問題となっている。本研究では、CyD の細胞内取込み能の改善による、投与量および副作用の減少と治療効果の増大を企図して、膜透過性ペプチドであるオクタアルギニンを修飾したオクタアルギニン β-CyD (R8-β-CyD) を構築し、*in vitro* で評価した。その結果、チャイニーズハムスター卵巣細胞の Npc1 遺伝子をトラップした Npc1-trap-CHO 細胞において、R8-β-CyD は主に、マクロピノサイトーシスを介して細胞内に取込まれた後、遊離型コレステロール量を顕著に減少させることが示された。今後、NPC モデルマウスを用いて、R8-β-CyD の治療効果について検討する予定である。

P7 シクロデキストリンポリ擬ロタキサン形成を利用した siRNA 徐放化システムの構築

○森田健太郎¹、東 大志¹、本山敬一¹、有馬英俊^{1,2}

¹ 熊本大学 大学院生命科学研究部 製剤設計学分野

² 熊本大学 博士課程教育リーディングプログラム「グローバルな健康生命科学パイオニア養成プログラム HIG0」

α -シクロデキストリン (α -CyD) および γ -CyD は、ポリエチレングリコール (PEG) と難水溶性のポリ擬ロタキサン (PPRX) を形成することが知られている。一方、我々はこれまで、 α -CyD と PAMAM デンドリマーの結合体 (α -CDE) が、遺伝子・siRNA 導入用キャリアとして有用であることを報告した。本研究では、 α -CDE (G2) を基盤とした siRNA 徐放化システムを構築することを目的として、PEG 化 α -CDE (G2) (PEG- α -CDE (G2)) と siRNA の複合体の PPRXs を調製した。さらに、PPRX からの siRNA の溶出性について検討した。 α -および γ -CyD は、PEG- α -CDE (G2) 分子中の PEG 鎖 1 本および 2 本をそれぞれ包接し、難水溶性の PPRXs を形成した。In vitro において、siRNA は PEG- α -CDE (G2)/siRNA/CyD PPRXs から溶出溶媒量依存的に徐放出されることが示唆された。以上の結果より、本 PPRX は siRNA の徐放化システムとして有用であることが示唆された。

P8 がん細胞選択的抗がん剤キャリアとしての葉酸修飾シクロデキストリンの有用性評価

○桑野いづみ¹、岡松文香¹、小野寺理沙子¹、腰越崇裕²、島田悌孝³、服部憲治郎^{2,3}、竹内知子²、本山敬一¹、東 大志¹、有馬英俊^{1,4}

¹ 熊本大学 大学院生命科学研究部 製剤設計学分野

² 東京工芸大学 工学部

³ ナノデックス (株)

⁴ 熊本大学 博士課程教育リーディングプログラム「グローバルな健康生命科学パイオニア養成プログラム HIG0」

本研究では、 β -シクロデキストリン (β -CyD) を基盤分子として、スパーサーであるカプロン酸 (cap) を 1 および 2 個介してがん標的リガンドの葉酸 (Fol) を導入した葉酸修飾 CyDs (per-Fol-cap1- β -CyD および per-Fol-cap2- β -CyD) を新規に調製し、がん細胞選択的抗がん剤キャリアを構築した。葉酸修飾 CyDs はドキソルビシン (DOX) と極めて高い安定度定数 ($K_c = 1 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$) を示し、また in vitro の検討において、葉酸レセプター高発現細胞選択的に DOX の抗腫瘍活性を増強させた。また、抗がん剤パクリタキセルおよびビンブラスチンにおいても同様な傾向が認められた。さらに in vivo の検討において、葉酸修飾 CyDs は担がんマウスにおける腫瘍の成長を有意に抑制した。これらの結果より、がん細胞選択的抗がん剤キャリアとして葉酸修飾 CyDs が有用であることが示唆された。

P9 葉酸修飾メチル- β -シクロデキストリンによるマイトファジーを介した抗腫瘍効果の誘導

○山下有希¹、田中奈歩¹、本山敬一¹、東 大志¹、有馬英俊^{1,2}

¹熊本大学 大学院生命科学研究部 製剤設計学分野

²熊本大学 博士課程教育リーディングプログラム「グローバルな健康生命科学パイオニア養成プログラム HIG0」

これまで我々は、メチル- β -シクロデキストリン (M- β -CyD) を基盤分子とした腫瘍選択的抗がん剤の開発を企図して、がん細胞標的リガンドである葉酸 (FA) を修飾した M- β -CyD (FA-M- β -CyD) を新規に調製し、葉酸受容体- α (FR- α) 高発現がん細胞選択的な抗腫瘍活性を報告した。そこで本研究では、FA-M- β -CyD の担がんヌードマウスにおける体内動態および抗腫瘍効果誘導機構について検討した。FR- α 高発現ヒトがん細胞である KB 細胞を異種移植した担がんヌードマウスにおいて、FA-M- β -CyD は静脈内単回投与後 10 分以降において、他の臓器よりも腫瘍組織に多く集積することが示された。また、FA-M- β -CyD は単離ミトコンドリアの膜電位を上昇させ、活性酸素種 (mtROS) 産生を促進することが示唆された。さらに、FA-M- β -CyD は KB 細胞内の PINK1 発現量を上昇させ、ミトコンドリア DNA コピー数を有意に減少させた。これらの結果より、静脈内投与された FA-M- β -CyD は腫瘍に集積後、FR- α を介してがん細胞選択的に取込まれ、マイトファジーを誘導することが示唆された。

P10 新規バイオマテリアルとしてのジメチルシクロデキストリンポリロタキサンの調製

○江頭聡樹^{1,2}、東 大志¹、Jun Li³、Xia Song³、Jingling Zhu³、本山敬一¹、有馬英俊^{1,2}

¹熊本大学 大学院生命科学研究部 製剤設計学分野

²熊本大学 博士課程教育リーディングプログラム「グローバルな健康生命科学パイオニア養成プログラム HIG0」

³ Faculty of Engineering, National University of Singapore

近年、メチル化シクロデキストリン (M-CyD) をリング分子とするポリロタキサンが機能性バイオマテリアルとして有効利用されている。一方、M-CyD ポリロタキサンの調製は、合成ステップが多く、有機溶媒を使用するため、水中で簡便に M-CyD ポリロタキサンを合成可能な調製方法の確立が望まれている。そこで本研究では、M-CyD が軸分子に貫通後、曇点現象によりポリ擬ロタキサンを効率良く形成することを期待して、高温水中における M-CyD ポリ擬ロタキサンおよびポリロタキサンの調製を行った。CyD の 2 位と 6 位の水酸基がメチル化された、2,6-ジ-O-メチル- α -CyD (DM- α -CyD) および DM- β -CyD 水溶液に、それぞれポリエチレングリコール (PEG) およびポリプロピレングリコール (PPG) を添加し、加温すると、ポリ擬ロタキサンを形成した。得られた DM-CyD ポリ擬ロタキサンに 2,4,6-トリニトロベンゼンスルホン酸 (TNBS) を反応させることにより、水中かつ one-pot で DM- α -CyD ポリロタキサン (収率 23.4%) および DM- β -CyD ポリロタキサン (収率 89.8%) を得た。以上のように、DM-CyD の曇点現象を利用すると、水中で高効率にポリ擬ロタキサンおよびポリロタキサンを調製可能なことが示唆された。

P11 アミロイドーシス治療薬としてのグルクロニルグルコシル- β -シクロデキストリン/PAMAM デンドリマー結合体の可能性評価

○井上雅理¹、藤澤和也¹、東 大志¹、本山敬一¹、城野博史²、安東由喜雄³、有馬英俊^{1,4}

¹熊本大学 大学院生命科学研究部 製剤設計学分野

²熊本大学 医学部付属病院薬剤部

³熊本大学 大学院生命科学研究部 神経内科学分野

⁴熊本大学 博士課程教育リーディングプログラム 「グローバルな健康生命科学パイオニア養成プログラム HIG0」

これまで我々は、グルクロニルグルコシル- β -シクロデキストリン (GUG- β -CyD) が、疎水性相互作用を介してトランスサイレチン (TTR) のアミロイド線維形成を抑制することを報告した。一方、PAMAM デンドリマー (デンドリマー) は、静電的相互作用を介してタンパク質の凝集を抑制することが知られている。そこで本研究では、デンドリマーと GUG- β -CyD の協力的なアミロイド線維形成抑制効果を期待して、それらの結合体 (GUG- β -CDE) を新規に調製し、TTR 型家族性アミロイドポリニューロパチー (TTR-FAP) に対する治療薬としての有用性を評価した。その結果、GUG- β -CDE は、in vitro において、TTR 変異体 (TTR V30M) のアミロイド線維形成を抑制し、さらに、TTR V30M を安定に過剰発現するトランスジェニック (Tg) ラットに対して、顕著な副作用を惹起することなくアミロイド線維形成を抑制した。以上のことから、GUG- β -CDE は、TTR-FAP の治療薬として有用である可能性が示唆された。

P12 超高分子多糖体サクランの経皮適用製剤素材としての有用性評価

○安部佑哉¹、畑 杏奈¹、谷田有希¹、本山敬一¹、東 大志¹、金子慎一郎²、近藤悠希³、石塚洋一³、入江徹美^{3,4}、有馬英俊^{1,4}

¹熊本大学 大学院生命科学研究部 製剤設計学分野

²グリーンサイエンス・マテリアル株式会社

³熊本大学 大学院生命科学研究部 薬剤情報分析学分

⁴熊本大学 博士課程教育リーディングプログラム「グローバルな健康生命科学パイオニア養成プログラム HIG0」

サクランは、平均分子量 2,900 万、分子鎖長 10 μ m の超高分子多糖体であり、安全性に優れる、水分保持性が高い、ゲル形成能を有する、抗炎症作用および抗アレルギー作用を示すなどの特徴を有することから、新規バイオマテリアルとして期待されている。本研究では、経皮適用製剤素材としてのサクランの有用性を評価することを目的とし、薬物含有サクランハイドロゲルを調製し、抗炎症作用を評価した。酸性薬物ビフェニル酢酸、中性薬物プレドニゾンおよび塩基性薬物クロルフェニラミンマレイン酸塩存在下、サクランはハイドロゲルを形成可能であった。また、マウス耳介浮腫モデルおよびカラゲニン誘発性ラット足蹠浮腫モデルにプレドニゾンあるいはビフェニル酢酸を含有するサクランハイドロゲルを適用したところ、サクランはこれら抗炎症薬と協力的に抗炎症作用を示すことが示唆された。これらのことから、サクランハイドロゲルは、抗炎症薬に対する経皮適用製剤素材として有用であることが示唆された。

P13 ポリ擬ロタキサンハイドロゲルを用いた抗体製剤の安定化

○山下佳士¹、大下奈緒子^{1,2}、田島杏奈¹、東 大志¹、本山敬一¹、小山佐和子³、飯淵るり子³、三枝周平³、繁田賢治³、木本知明³、有馬英俊^{1,2}

¹熊本大学 大学院生命科学研究部 製剤設計学分野

²熊本大学 博士課程教育リーディングプログラム「グローバルな健康生命科学パイオニア養成プログラム HIG0」

³テルモ株式会社

2014 年の世界医薬品売上ランキング上位 10 位のうち、6 品目が抗体製剤であり、現在の医薬品のトレンドは抗体製剤である。しかし、抗体は輸送時や保存時に凝集体を形成しやすいことが問題となっている。一方、 α - および γ -シクロデキストリン (α - および γ -CyD) は、それぞれ 1 本および 2 本のポリエチレングリコール (PEG, MW>2000) をネックレス状に包接し、ポリ擬ロタキサン (PPRX) ハイドロゲルを形成する。しかし、抗体の安定化素材としての PPRX ハイドロゲルの有用性は不明である。そこで本研究では、ヒト免疫グロブリン G (IgG) および市販の抗体製剤を用いて、抗体製剤の安定化素材としての PPRX ハイドロゲルの有用性を評価した。その結果、PPRX ハイドロゲルは、IgG、omalizumab、palivizumab、panitumumab および ranibizumab の熱や振とうに対する安定性を顕著に改善した。さらに PPRX ハイドロゲルは、抗体製剤の活性を保持し、薬物動態にも影響を与えなかった。以上のことから、PPRX ハイドロゲルは、抗体製剤の安定性を改善する上で有用であることが示唆された。

P14 がん細胞特異的マイクロ RNA 補充療法を企図した PEG 化葉酸修飾デンドリマー/ α -シクロデキストリン結合体 (G4) の可能性評価

○乙須勇希¹、大山歩務^{1,2}、東 大志¹、本山敬一¹、有馬英俊^{1,2}

¹熊本大学 大学院生命科学研究部 製剤設計学分野

²熊本大学 博士課程教育リーディングプログラム「グローバルな健康生命科学パイオニア養成プログラム HIG0」

これまで当研究室では、 α -シクロデキストリンと generation 4 (G4) のポリアミドアミンデンドリマーとの結合体 (α -CDE) 中のデンドリマー分子に PEG (MW $\approx$ 2000) を介して葉酸を導入した Fol-P α C (G4, 葉酸置換度 (DSF) 2) を構築し、これと siRNA の複合体が in vitro および in vivo において、抗腫瘍効果を誘導可能なことを明らかにした。しかしながら、microRNA (miRNA) キャリアとしての Fol-P α C (G4, DSF2) の有用性は不明である。そこで本研究では、Fol-P α C (G4, DSF2) の miRNA キャリアとしての可能性を評価した。ヒト乳がん由来 SK-BR-3 細胞 (葉酸受容体 (FR)- α 高発現、miR-125 低発現) およびヒト口腔がん由来 KB 細胞 (FR- α 高発現、miR-125 通常発現) において、Fol-P α C (G4)/miR-125 複合体の抗腫瘍活性を評価した結果、本複合体は、miR-125 低発現細胞選択的に抗腫瘍活性を有することが示唆された。これらのことから、Fol-P α C (G4, DSF2) の miRNA キャリアとしての有用性が示唆された。

P15 タンパク質の凝集体形成に及ぼすシクロデキストリン/デンドリマー混合物の抑制効果

○牟田恭介¹、有馬加奈子¹、安野貴幸¹、東 大志¹、本山敬一¹、有馬英俊^{1,2}

¹熊本大学 大学院生命科学研究部 製剤設計学分野

²熊本大学 博士課程教育リーディングプログラム「グローバルな健康生命科学パイオニア養成プログラム HIG0」

シクロデキストリン (CyD) およびポリアミドアミンデンドリマー (デンドリマー) は、それぞれ疎水性相互作用および静電的相互作用により、タンパク質の凝集体形成を抑制することが報告されている。本研究では、これらが異なる機序によりタンパク質の凝集体形成を協力して抑制することを期待し、タンパク質のリフォールディング時の凝集に対するこれら混合物の抑制効果を検討した。モデルタンパク質として用いたリゾチームを変性剤でアンフォールドし、これを天然 β -CyD、マルトシル β -CyD (G2- β -CyD) もしくはデンドリマー (G2) 水溶液で希釈すると、リゾチームの凝集がそれぞれ 60%、20% および 30% 程度抑制された。興味深いことに、天然 β -CyD もしくは G2- β -CyD とデンドリマー (G2) の混合物は、相乗的にその凝集を抑制した。蛍光スペクトルの結果より、これらの相乗的な凝集抑制効果は、部分的にリフォールディングされたリゾチームのトリプトファン残基と β -CyDs との相互作用が、デンドリマー存在下で増大すること起因することが示唆された。以上の知見から、CyD とデンドリマーの混合物は新規リフォールディング剤として有用なことが示唆された。

P16 膵臓がんへの高効率な抗がん剤デリバリーを指向した活性保持型 PEG 化ブロメラインの構築

○古後徹也¹、佐藤奈々¹、弘津辰徳^{1,2}、東 大志¹、本山敬一¹、有馬英俊^{1,2}

¹熊本大学 大学院生命科学研究部 製剤設計学分野

²熊本大学 博士課程教育リーディングプログラム「グローバルな健康生命科学パイオニア養成プログラム HIG0」

固形がんにおいて、ナノサイズの抗がん剤は、Enhanced Permeability and Retention 効果により、腫瘍に集積しやすいが、細胞外基質に富む間質により、腫瘍深部への分布は制限される。一方、ブロメラインはがん組織中の間質を分解することができるが、血中半減期が短く、腫瘍集積が低い。最近当研究室では、 β -シクロデキストリンとアダマンタンの可逆的な相互作用を介したタンパク質のポリエチレングリコール修飾技術 (Self-assembly PEGylation Retaining Activity technology; SPRA 技術) を開発した。そこで本研究では、間質圧の高い腫瘍への DDS として、SPRA-ブロメラインの有用性を評価した。SPRA-ブロメラインの *in vitro* 間質分解能は、ブロメライン単独と比較して同等以上であった。また、ヒト膵臓がん異種移植マウスにおいて、SPRA-ブロメラインは静脈内投与後の FITC-デキストランの腫瘍内蓄積を増加させ、さらに、ドキソルビシンの抗腫瘍活性も増強させることが示唆された。以上のことから、SPRA-ブロメラインは、間質圧の高い腫瘍への DDS として有用である可能性が示唆された。

P17 アトピー性皮膚炎に対する天然硫酸化多糖体サクランの抗炎症作用および機構解明に関する基礎的検討

○大野孝高¹、谷田有希¹、本山敬一¹、東 大志¹、福島 聡²、尹 浩信²、田中 巧³、有馬英俊^{1,4}

¹熊本大学 大学院 生命科学研究部 製剤設計学分野

²熊本大学 大学院 生命科学研究部 皮膚病態治療再建学分野

³大東化成工業株式会社

⁴熊本大学 博士課程教育リーディングプログラム「グローバルな健康生命科学パイオニア養成プログラム HIG0」

アトピー性皮膚炎 (AD) は、増悪・寛解を繰り返す、掻痒性湿疹を主病変とする疾患である。AD 治療薬は、ステロイド外用薬や免疫抑制剤などがあるが、皮膚萎縮などの副作用から安全性が高く、かつ効果的な治療薬の開発が求められている。一方、サクランは日本固有の食用藍藻であるスイゼンジノリから抽出された天然硫酸化多糖であり、高い保水力や皮膜形成能、優れた生体適合性などの特徴を有する。また、硫酸化多糖類は、様々な炎症モデルに対して抑制作用を示すことから、サクランが抗炎症作用を有することが期待される。そこで我々は、AD に対するサクランの抗炎症作用について検討した。その結果、AD 患者および AD モデルマウスの AD 症状は、サクラン水溶液の塗布により改善された。また、AD モデルマウスの背部皮膚中のプロフィラグリン mRNA および角質水分量はサクラン塗布により上昇した。さらに、サクランは肥満細胞、マクロファージおよび T 細胞の活性化を抑制した。これらの結果より、サクランは AD に対する新規治療薬として有用であり、皮膚バリア機能の改善および免疫細胞に対する抑制作用の関与が示唆された。

P18 Evaluation of antitumor activity of folate-appended methyl- β -cyclodextrin for colon cancer

○Khaled M. Elamin¹, Keiichi Motoyama¹, Taishi Higashi¹, Hidetoshi Arima^{1,2}

¹ Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Kumamoto University, Japan

² Program for Leading Graduate Schools “HIG0 (Health life science: Interdisciplinary and Global Oriented) Program”, Kumamoto University

Recently, we have developed folate-conjugated methyl- β -cyclodextrin (FA-M- β -CyD) and clarified its potential as a new antitumor agent involved in autophagic cell death. However, it remains uncertain whether FA-M- β -CyD exerts anticancer effects against colorectal cancer. Therefore, in this study, we investigated the therapeutic effects of FA-M- β -CyD in colon cancer model mice induced by azoxymethane/dextran sodium sulphate (AOM/DSS). As a result, the intravenous administration of FA-M- β -CyD significantly reduced the number of tumor polyps and tumor size in colon cancer model mice, compared with that of 5% mannitol or 5-fluorouracil, without significant change in the blood chemistry values. These results suggest the potentials of FA-M- β -CyD as an antitumor agent for colorectal cancer.

P19 Preparation and evaluation of glucuronylglucosyl- β -cyclodextrin conjugates with polyamidoamine dendrimer (G3) as siRNA carriers

○Ahmed F. Abdelwahab Mohammed^{1,2,3}, Ayumu Ohyama^{1,3}, Taishi Higashi¹, Keiichi Motoyama¹, Hidetoshi Arima^{1,3}

¹ Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Kumamoto University, Japan

² Faculty of Pharmacy, Minia University, Egypt

³ Program for Leading Graduate Schools “HIGO (Health life science: Interdisciplinary and Global Oriented) Program”, Kumamoto University

RNA interference (RNAi) is a powerful tool for functional genomics as well as developing gene targeted medicine, it is achievable through the transfection of small interfering RNA (siRNA) into the target cells. Unfortunately, a naked siRNA cannot penetrate its target cells, due to several barriers such as high molecular weight and hydrophilicity. Therefore, the efficient intracellular delivery of siRNA has become a critical challenge to achieve the required RNAi effect. Hence, the purpose of the present study is to design and evaluate the dendrimer/glucuronylglucosyl- β -cyclodextrin conjugates (GUG- β -CDEs) as novel siRNA carriers. Firstly, we prepared GUG- β -CDEs (Generation 3, G3) having various degrees of substitution (DS) and their complexes with siRNA. Of these complexes, the siRNA complex with GUG- β -CDE (G3, DS3.7) showed the highest RNAi effect and cellular uptake with negligible cytotoxicity in KB cells. In addition, the siRNA complex with GUG- β -CDE (G3, DS3.7) possessed the endosomal escaping ability, releasing property of siRNA from the carrier in the cytoplasm and serum resistance. These results suggest that GUG- β -CDE (G3, DS3.7) has the potential as a novel siRNA carrier.

P20 Fabrication and characterization of novel sacran hydrogel films containing cyclodextrins as wound dressing

○Nasrul Wathoni^{1,2}, Keiichi Motoyama¹, Taishi Higashi¹, Maiko Okajima³, Tatsuo Kaneko³, Hidetoshi Arima^{1,4}

¹ Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Kumamoto University, Japan

² Faculty of Pharmacy, Universitas Padjadjaran, Jatinangor, Indonesia

³ Japan Advanced Institute of Science and Technology (JAIST), Japan

⁴ Program for Leading Graduate Schools “HIGO (Health life science: Interdisciplinary and Global Oriented) Program”, Kumamoto University

A wound dressing is one of the essential approaches to preventing further harm to cutaneous wounds as well as promoting wound healing. Therefore, to achieve ideal wound healing, the development of advanced dressing materials is necessary. Recently, we revealed that a novel megamolecular polysaccharide, sacran, has potential properties as a biomaterial in a physically cross-linked hydrogel film (HGF) for wound dressing application. In this study, to enhance the wound-healing properties of sacran hydrogel film (Sac-HGF) further, we fabricated and characterized novel Sac-HGFs containing cyclodextrins (CyDs). As the results, the Sac/ γ -CyD-HGFs significantly improved wound healing in mice, compared to the Sac-HGF without γ -CyD. These results suggest that γ -CyD has the potential to promote the wound healing ability of Sac-HGF.

P21 抗血栓性高分子の界面構造と機能相関の研究

○村上大樹¹、北原洋子²、小林慎吾¹、田中賢¹

¹九州大学 先導物質化学研究所

²九州大学 大学院工学府

我々はこれまで、優れた抗血栓性を有する poly(2-methoxyethyl acrylate) (PMEA) やその類似化合物が含水状態において通常観測される自由水、不凍水に加え、中間水と呼ばれる高分子鎖と緩やかに相互作用した水を有しており、この中間水が血漿タンパク質吸着や細胞接着の抑制に寄与していることを明らかにしてきた。本研究では界面近傍における中間水の存在と抗血栓性機能との相関の解明を目的とし、PMEA 類似高分子／水または PBS 界面の原子間力顕微鏡 (AFM) による構造解析を行った。PMEA やその他抗血栓性高分子の表面は乾燥状態ではほぼ平滑であったのに対し、水中および PBS 中においては数十～百ナノメートルの微細な凹凸構造が界面一様に観察された。一方、中間水を有さない高分子では同様の構造は観察されなかった。PMEA／フィブリノーゲン水溶液界面の AFM 観察からはフィブリノーゲンが界面構造の凸部にのみ選択的に吸着している様子が観察された。この界面構造は高分子と水の面内相分離によるものと予想され、この領域における水の状態や、我々が提唱する中間水理論との関係についても解明が期待される。

P22 抗血栓性高分子／水界面における面内相分離現象と機能との相関性評価

○北原洋子¹、村上大樹¹、小林慎吾²、田中賢²

¹九州大学 大学院工学府

²九州大学 先導物質化学研究所

人工臓器には血液と接触した際に血栓形成を引き起こさない抗血栓性が必須である。我々は合成高分子の表面に形成される水和層、特に高分子鎖と緩やかに相互作用した「中間水」に着目した研究を続けており、中間水量が抗血栓性を決定する大きな要因であることを明らかにしてきた。しかし、中間水を有する合成高分子が優れた抗血栓性を発現する機構については解明されていない。最近我々が行った高分子／水界面に注目した原子間力顕微鏡 (AFM) を用いた研究において、中間水を有する高分子／水界面に共通してナノメートルスケールの微細構造が自発的に形成されていることが確認された。本研究ではこの微細構造が抗血栓性発現の鍵であると予想し、界面微細構造の形成駆動力、および抗血栓性との相関を解明することを目的に研究を行い、微細構造が温度応答性を示すことを明らかにした。我々はこの微細構造が面内相分離現象に起因していると考えしている。微細構造と抗血栓性との相関を検証するため、温度変化に伴うフィブリノーゲン吸着量を μ BCA 法により定量し、吸着したフィブリノーゲンの変性度を ELISA 法により評価した。

P23 開環メタセシス重合による側鎖間隔を制御した PMEА 類似体の合成と抗血栓性評価

○園田敏貴¹、小林慎吾²、田中賢²

¹九州大学 大学院工学府

²九州大学 先導物質化学研究所

Poly(2-methoxyethyl acrylate) (PMEA) は優れた抗血栓性を有し、人工心肺などのコーティング材として用いられている。我々はこれまで、PMEA が抗血栓性を発現する具体的なメカニズムの解明を目指した研究を進めてきており、抗血栓性を発現する材料に共通して観察される特殊な水和構造である”中間水”が抗血栓性発現において重要な役割を果たしていることを明らかにしてきた。中間水は、示差走査熱量計 (DSC) 測定や赤外分光分析、固体 NMR 測定において観測されており、材料と相互作用する水の中で中程度の分子運動性を有する水であることがわかっている。本研究では、PMEA の側鎖間隔を変更した新規 PMEА 類似体を合成・解析することにより、側鎖間隔の変更が水和構造と抗血栓性にどのような影響を与えるか評価した。これまでに 8 炭素間隔 PMEА 類似体が合成・解析されており、水和構造が変化し、抗血栓性が低下することがわかっている。今回は、側鎖間隔が 5 炭素、7 炭素間隔の新規 PMEА 類似体の合成し、DSC 測定による水和構造解析および血小板粘着試験による抗血栓性評価を行った。

P24 Type3 型中間径フィラメントを認識する N-アセチルグルコサミン糖鎖高分子の開発

○伊勢裕彦¹、山崎貞徳²、三浦佳子³

¹九州大学 先導物質化学研究所

²九州大学 工学研究院物質創造工学専攻

³九州大学 工学研究院化学工学部門

我々はポリスチレンを主鎖とする N-アセチルグルコサミン (GlcNAc) 糖鎖高分子を用いて、ビメンチンが細胞表面上に出現し GlcNAc 結合活性を持つことを明らかにしてきた。そして、この GlcNAc 結合部位は、ビメンチンの rod II ドメインに存在し、この部分が細胞表面上に出現することを見出している。この rod II ドメインは、Type3 型中間径フィラメントであるデスミンやグリア線維性酸性タンパク質 (GFAP)、ペリフェリンにおいて相同性が非常に高い状態で存在していることが明らかになっている。故にこれらの分子も細胞表面上に出現し、GlcNAc 糖鎖高分子と相互作用することが想定される。そこで、アクリル酸を主鎖として分子量の制御された新たな GlcNAc 糖鎖高分子 (AC-GlcNAc) を RAFT 重合によって作製して、これらのタンパク質への相互作用を検討した。その結果、新たに作製した AC-GlcNAc は、分子量が 5000 程度のものがこれらのタンパク質に相互作用することが見出された。この AC-GlcNAc は、Type3 型中間径フィラメントを標的とした薬物送達システムへの応用が期待される。

P25 マクロファージに積極的に取り込まれるマグネタイト粒子の作製とその利用

○川内竜太¹、牧山恵里香¹、菰原義弘²、竹屋元裕²、新留琢郎³

¹熊本大学 大学院自然科学研究科

²熊本大学 大学院生命科学研究科

³熊本大学 大学院先端科学研究科

マクロファージは、以前はがんの進行を抑えると考えられていたが、最近では、がん細胞の増殖を直接的あるいは間接的に促進する細胞として注目されている。近年では、この両者の相互作用に着想し、共培養する実験が行なわれている。しかし、共培養後にこの二つの細胞を分離し、がん細胞だけを解析する方法が不十分である。そこで、この分離手法として、磁性粒子であるマグネタイト粒子を、ゼラチンコートした物質に着目した。手法は、がん細胞とマクロファージを共培養したところに、ゼラチンコートしたマグネタイト粒子を添加し、37 度、5% CO₂ 下で 1 時間放置後、マグネタイト粒子を取り込んだ細胞だけを磁石で回収するというものである。共培養後、マグネタイト粒子により分離すると、未回収のマクロファージは 2%しか存在せず、ほとんどのマクロファージを回収できることが示された。また、マクロファージががん細胞に与える影響を遺伝子解析で求めると、いくつかの遺伝子において、発現量が上昇することが確認された。このようにマグネタイト粒子はマクロファージを分離し、がん細胞のみの遺伝子解析を可能するツールとなり得る。

P26 パルスレーザー照射による金コート銀ナノプレートの形状変化と抗菌活性のコントロール

○川越嵩之¹、新留琢郎²

¹熊本大学 大学院自然科学研究科

²熊本大学 大学院先端科学研究科

三角形のプレート状の銀ナノ粒子を金原子でコートした金コート銀ナノプレートが知られている。このナノ粒子は、パルスレーザーを照射すると、球状に変形し、銀が表面に露出することが予想される。銀のナノ粒子は、高い抗菌活性を持つことが知られており、また、金は生体適合性が非常に高い。そこで金コート銀ナノプレートは、光照射で抗菌活性をコントロールするナノデバイスになるのではないかと着想した。本研究では、金コート銀ナノプレート水分散液にパルスレーザーを照射することによる特性変化を調べるとともに、金コート銀ナノプレートの抗菌活性を評価した。金原子層の厚みの異なる 4 種類の金コート銀ナノプレート水分散液にパルスレーザーを照射した結果、すべてのナノ粒子において形状が変化したことが確認された。抗菌活性を評価した結果、金原子層の厚みの異なる 4 種類のうち、金コートが金原子 1 層のサンプルにおいて、非常に強い抗菌活性を示した。今後、パルスレーザー照射強度を変えることで金コート銀ナノプレートの特性がどのように変化するのか、さらに抗菌活性に与える影響についても評価していく必要がある。

P27 熱ストレスによる RAW264.7 細胞への遺伝子導入効率の向上

○瀧崎美里¹、徳永成宣¹、村中俊一郎¹、新留琢郎²

¹熊本大学 大学院自然科学研究科

²熊本大学 大学院先端科学研究科

遺伝子治療では遺伝子を効率よく細胞に導入する必要がある。担がんマウスによる研究において金ナノロッドの発熱によって導入遺伝子の発現が促進された (1)。本研究では、遺伝子導入が困難と言われているマクロファージ由来の培養細胞でも熱ストレスによる遺伝子導入の向上が見られるか評価した。

実験には RAW264.7 細胞を用いた。遺伝子キャリアは DOTAP や jetPEI を使用し、複合体を調製した。細胞に 3 時間 42℃ で熱ストレスを与えた後、複合体を添加した。3 時間後培地を交換し、24 時間後 pDNA にコードされているルシフェラーゼの発現を評価した。pDNA の細胞への取り込みを評価するため、FITC 標識した pDNA を用い観察した。

DOTAP/pDNA 複合体の添加直前に熱ストレスを与えた場合、熱ストレスを複合体添加直後に与えた場合および与えなかった場合よりもルシフェラーゼ発現が促進された。このことから遺伝子導入直前の熱ストレスによって遺伝子導入が促進されることが分かった。細胞への取り込みを評価した結果、DOTAP、jetPEI どちらも蛍光強度に大きな差は見られなかった。よって、熱ストレスによる遺伝子導入の促進は、遺伝子が細胞に取り込まれた後の過程に作用しているためと考えられる。

参考文献

1. Y. Sakamura et al., Chem Lett. 2013, 42, 767-768.

P28 自己凝集活性をもつエラスチンペプチド dendrimer の相転移温度評価

○赤澤尚俊¹、梅田将文¹、福島大地²、児島千恵²、新留琢郎¹

¹熊本大学 自然科学研究科

²大阪府立大学 工学研究科

dendrimer テックポリリジン第 6 世代 (KG6) は球状の高分子であり、表面を簡単に修飾できるという性質を持つ。KG6 の末端アミノ基にエラスチン類似ペプチド (Val-Pro-Gly-Val-Gly : 以下 ELP と表記) を修飾することで、加温により相転移をおこすことがわかっている。本研究では、エラスチンペプチドの末端に 4 種のカルボン酸でアシル化させ、相転移がどう影響されるかについて評価した。

ELP は無水酢酸、プロピオン酸、ブタン酸、ヘキサン酸でそれぞれアシル化させ、KG6 の末端アミノ基に 4 種類のエラスチンペプチドを修飾させ、C2-ELP-KG6、C3-ELP-KG6、C4-ELP-KG6、C6-ELP-KG6 を得た。この 4 種類のエラスチンペプチド dendrimer は、2 種類の緩衝液を用いて濁度測定を行い、透過率 50 % のところを相転移温度として算出した。

4 種類のエラスチンペプチド dendrimer の相転移温度の結果について、リン酸緩衝液を用いた場合では、C2-ELP-KG6 約 48 °C、C3-ELP-KG6 約 28 °C、C4-ELP-KG6 約 27 °C であった。クエン酸緩衝液を用いた場合では、C2-ELP-KG6 と C4-ELP-KG6 においては、相転移温度はより低くなった。C6-ELP-KG6 は水に不溶であったので、相転移温度を測定することができなかった。これらのことから、相転移温度に影響をもたらす原因が、疎水性の強さと pH によるものだと確認することができた。

P29 マクロファージをイメージングするための量子ドットの表面修飾

○後藤真人¹、アウン・トゥ・ヘイン¹、木田徹也²、新留琢郎²

¹熊本大学 大学院自然科学研究科

²熊本大学 大学院先端科学研究科

癌は日本における死亡原因の第一位であり、先進国においても死亡の主な原因である。がんの多くは進行するまで自覚症状がないため、治療するときには手遅れになる場合がある。そのため、癌の早期発見は非常に重要である。マクロファージは腫瘍内で腫瘍を保護していることが近年指摘されており、マクロファージをマーキング及びイメージングすることで癌の早期発見やメカニズムを明らかにすることが期待できる。本研究では、半導体ナノ結晶で蛍光を発する量子ドットを、マクロファージに貪食されやすいゼラチンでコーティングすることでマクロファージの蛍光イメージングを目的とした。コーティング方法は、水 (500 μ L) に溶解させたゼラチン (10 mg) にヘキサン溶媒の量子ドット (100 μ L) を添加し、70 $^{\circ}$ Cで攪拌し混合した。次に、水 (500 mL) を添加し遠心分離後 (12000 rpm, 15 min, 40 $^{\circ}$ C)、上清液を除去したものに水 (1 mL) を添加し攪拌することでゼラチンコーティング量子ドットを作製した。この結果より、ゼラチンコーティング量子ドットは蛍光ナノ粒子として、マクロファージのイメージングツールとなり得る可能性がある。

P30 質量分析を利用したプロッティングメンブレン中の金ナノロッドの定量分析

○向大輝、新留康郎

鹿児島大学 大学院理工学研究科

1. 緒言

棒状の金ナノ粒子である金ナノロッドは高効率に金イオンを脱離する「マスプローブ」として利用できる。これまでに、マウスの肝臓や腫瘍組織に金ナノロッドが分布する様子をイメージング質量分析法 (Imaging Mass Spectrometry: IMS) によって明らかにした。ただし、LDI-MS (Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry) での定量分析は難しいとされている。これまでの研究では、金イオンの検出量と金ナノロッドの密度の相関を議論したことはなかった。本研究では金ナノロッド密度を制御し、金の脱離イオン化効率との相関を明らかにした。

2. 実験方法

ITO 基板上にプロッティングメンブレンを貼り、そこに濃度の異なる金ナノ粒子溶液をキャストした。MALDI-TOF-MS 装置 (Autoflex speed, Bruker) を利用して、メンブレン中から脱離する金イオンを質量分析し、定量性を評価した。

3. 結果と考察

メンブレン上にキャストした金ナノロッドの濃度と IMS の結果から、1 nM 以上の溶液では溶液濃度とマスマスシグナル強度の相関は見られなかった。しかしながら、5 pM 以下では相関があることが分かった。これにより、金ナノロッドはマスプローブとして利用できると考えられる。

P31 極性有機溶媒中でのナノロッド分散安定性の評価

○北村雄春、新留康郎
鹿児島大学 理工学研究科

【緒言】 金ナノ粒子は免疫検出に広く使われている典型的なバイオマーカー粒子である。ナノ粒子に機能性を付与するには、生理活性物質の固定が必要であるが、一般にナノ粒子の表面修飾は分散安定性が損なわれ、凝集沈殿する。本研究では、極性有機溶媒中での金ナノロッド・銀シェル金ナノロッドの分散安定性を検討し、極性有機溶媒中で疎水的なペプチドを固定することを目標とした。

【実験】 ナノロッドを極性有機溶媒と水の混合溶媒中に分散し、表面プラズモン (SP) バンドのバンド幅によって分散状態を評価した。有機溶媒にはジメチルホルムアミド (DMF)、ジメチルスルホキシド (DMSO)、アセトニトリル (AN) を用いた。ナノロッドはカチオン性両親媒性物質 Hexadecyltrimethylammonium ($C_{16}TA^+$) の 2 層膜により分散安定性を保っている。メチレン鎖長の異なる界面活性剤 Hexyltrimethylammonium (C_6TA^+)、Decyltrimethylammonium ($C_{10}TA^+$)、Dodecyltrimethylammonium bromide ($C_{12}TA^+$) を保護剤に用いた場合のナノロッドの分散性を評価した。さらにチオール末端を有する Poly(ethylene glycol) (PEG-SH) 分子を共存させて分散安定性の改善を試みた。

【結果】 PEG-SH の添加は金ナノロッドの分散安定性に大きく貢献できることが分かった。銀シェル金ナノロッドでも PEG-SH の添加により分散状態は劇的に良化し、保護剤の選択と PEG-SH の添加によって極性有機溶媒への分散が可能であることがわかった。

P32 ゼブラフィッシュ生体内に投与した金ナノ粒子の分布

○井上雄貴、池永隆徳、笠井聖仙、新留康郎
鹿児島大学 大学院理工学研究科

【序論】

金ナノ粒子は生体物質の影響を受けずに選択的に金イオンを脱離イオン化することから、マスプローブとして利用可能である。本研究では、ゼブラフィッシュの腹腔に投与した金ナノ粒子の体内動態をイメージング質量分析に調べることによって、金ナノ粒子マスプローブの魚類に対する適性を検討した。

【実験】

棒状の金ナノ粒子：金ナノロッドは大日本塗料 (株) から入手し、遠心分離によって粒子表面を Poly(styrene sulfonate) (PSS) で修飾し、PBS Buffer に分散した。

低温麻酔をかけたゼブラフィッシュの腹腔に PSS 修飾金ナノロッドを 10 μ L 注入し、麻酔を解いた後通常の方法で飼育した。30, 60, 90 日間飼育後に安楽死させ、凍結切片を作製し、組織切片中の金を MALDI-MS 装置 (Autoflex, Bruker) を用いて検出した。

【結果及び考察】

金ナノロッド注入後 30 日間飼育したゼブラフィッシュでは、主として背骨付近に金が存在していることが分かった。また、腹腔内には極めてシグナル強度の強いスポットが見つかった。これは、腹腔に注入した金ナノロッドが内臓の間もしくは特定の臓器に蓄積したものだと考えられる。背骨付近のシグナルは金ナノ粒子の体内移動を示唆している。

P33 粘膜上皮細胞層透過に向けた PEG 化ポリマーベシクルの膜機能強化とその評価

○小川敦嗣¹、唐衛敏¹、森健^{1,2}、片山佳樹^{1,2,3,4}、岸村顕広^{1,3}

¹九州大学 大学院工学研究院

²九州大学 未来化学創造センター

³九州大学 分子システムセンター

⁴九州大学 先端医療イノベーションセンター

薬剤投与方法の 1 つである経粘膜投与は低侵襲性かつ処方が簡便といった利点を持つ。一方で、粘膜組織は生体防御の役割を担うために薬剤を含めた外界からの物質の侵入を防ぐバリアとなり、これにより投与薬剤の有効性が減少してしまう。よって、経粘膜投与の有効性向上のためには粘膜組織の突破が必要になる。そのため近年、薬剤を内包したナノサイズのドラッグキャリアであるナノメディシンを用いて粘膜組織を突破する試みがなされている。このナノメディシンは物性制御により粘膜バリア突破のための機能付与が可能と考えられている。そこで本研究では、ポリイオンコンプレックス (PIC) 形成により作製したナノメディシンである PICsome の物性制御により粘膜上皮細胞の突破を目指す。先行研究で PICsome のベシクル膜に存在するカチオン性官能基であるアミノ基の量と細胞取り込み量に相関があることを見出している。そこで今回は、アミノ基を細胞膜透過ペプチドの側鎖でありカチオン性を持つグアニジノ基や、細胞膜と相互作用しないと考えられるアセチル基に置換した場合の取り込み挙動を評価し、粘膜上皮細胞層透過に向けて膜中の官能基の与える寄与を調査した。