温熱・化学療法を同時に実現するスマートナノファイバーの開発 ～貼るがん治療を目指して～

物質・材料研究機構 国際ナノアーキテクトゥクス研究拠点^{*1)}・筑波大学大学院 数理物質科学研究科^{*2)}
・東京理科大学大学院 基礎工学専攻^{*3)}・Department of Bioengineering, University of Washington^{*4)}

新山瑛理^{*1,2)}・荏原充宏^{*1,2,3,4)}

Smart Nanofiber Meshes for Cancer Thermo/Chemotherapy

Polymeric nanofibers are an exciting new class of material and have attracted great attention because of their remarkable properties, such as high specific surface area, high porosity, high molecular alignment, or nanosize effects. Additionally, many different types of molecules can be easily incorporated into nanofibers to greatly expand their drug loading capacity or to provide the sustained release of the embedded drug molecules. Also, they can be easily manipulated as a macroscopic bulk matter that may create opportunities for profitable new uses as an implantable local drug delivery platform. This review article introduces four types of nanofibers; nanofibers with sustained and on-off drug release properties combined with thermo-therapy.

DDSと聞くと内科的治療が想像されがちだが、外科領域でもDDSの需要が多く聞かれる。がん治療においても、約7割が外科手術との併用療法といわれている。本稿では、外科手術の後あるいは併用して利用可能なDDS基材について紹介する。特に、患部局所で薬物濃度を制御可能なナノファイバーメッシュについて紹介する。ナノファイバーメッシュは、薬物の種類によらず作製可能なばかりか、無機物とのコンポジットも容易なため、温熱療法可能な磁性ナノ粒子内包メッシュの作製も可能であり、その応用範囲の広がりには目を見張るものがある。

Eri Niiyama^{*1,2)}, Mitsuhiro Ebara^{*1,2,3,4)}

Keywords: Nanofibers, smart polymers, electrospinning

1. はじめに

「さあーさあーお立会い」で始まる筑波山名物のガマの油売りの口上。もともとは、大坂の陣に徳川方として従軍した筑波山・中禅寺の住職が持参した陣中薬に由来するといわれているが、このように塗ったり貼ったりするだけで怪我や病気が治れば患者にとっては非常にありがたい。実際に軟膏タイプの抗がん剤も使用されているが、薬物投与量の厳密な調節が困難なことや、ふき取った後のガーゼの取り扱い

いや処理を考えなければいけないなど、その利用は限られている。こうした背景のもと、局所に貼ることが可能なシート型の薬物放出基材がにわかに注目を集めている。特にその中でも、ウェアラブルの難敵であるむれやかぶれを回避可能な通気性が高いメッシュ形状への注目は特に高い¹⁾。メッシュ素材は通気性だけでなく、大きな表面積や高いフレキシビリティから使い勝手がよく、特に外科医から好まれている。実際のがん治療においても、外科的治療の割合は化学療法や放射線療法との併用を含めると、実に7割以上といわれており、外科的処置と同時に利用可能な移植型局所DDS基材の開発は、ある意味必然的な時流といえる(図1)。ナノファイバーメッシュの作製法にはいくつかあるが、中でも電界紡糸法(エレクトロスピンニング法)は、さまざまな点においてメリットがあることからよく使

^{*1)} International Center for Materials Nanoarchitectonics, National Institute for Materials Science

^{*2)} Graduate School of Pure and Applied Sciences, University of Tsukuba

^{*3)} Graduate School of Industrial Science and Technology, Tokyo University of Science

^{*4)} Department of Bioengineering, University of Washington

がん患者が今までに受けた治療法*1

移植型局所DDS基材

図1 がん患者が今まで受けた治療法の統計と、局所DDSを目指したナノファイバーメッシュの概念図

*1 厚生労働省委託事業 平成22年度 がん対策評価・分析事業対象：377施設のがん診療連携拠点病院における患者あるいは家族計2,273件(複数回答)。

図2 電界紡糸法(エレクトロスピニング法)で作製したナノファイバーメッシュの写真
 薬剤の種類によらず多種多様な薬剤を内包可能な点が最大の魅力。

われている。その1つが、薬剤の種類や大きさによらず、何でも糸の中に練り込むことが可能な点があげられる(図2)。ミセルやナノ粒子の場合、中に入る薬剤が疎水性の抗がん剤なのか microRNA な

のかによって材料設計をしなければならないが、電界紡糸法に関しては薬剤の物性はほぼ問わず内包でき、内包率も理論上はほぼ100%となる。本稿では、ナノファイバーメッシュをその機能ごとに分類し、それぞれの DDS 基材としての可能性について議論する。その1つが、薬剤を長期徐放出可能なメッシュである。2つ目が、刺激応答性のスマートポリマーを用いたメッシュで、薬剤の ON-OFF 放出を実現する。さらにこれらに発熱体を含有することで温熱・化学療法の併用が可能となる。

2. 皮膚がん

貼るがん治療の最初の例として、最もメッシュが適応しやすい皮膚がん注目した。皮膚がんは、オーストラリアやニュージーランドをはじめとする多くの国で最も罹患率が高いがんである。外科的な切除も行われるが、放射線療法や光線力学療法、凍結療法に加え、抗腫瘍効果を発揮するクリームと一緒に用いられることがある。イミキモドクリームは、イミダゾリン系化合物で、抗ウイルス、抗腫瘍効果を有する免疫調節外用剤である。治療期間中は、数回にわたり治療部位にクリームを塗布する必要があるが、背中など治療部位によっては塗布が困難である

こと、皮膚の低い薬物透過性などに加え、副作用の発生率も高く、極まれに重篤な障害が発生することもある。さらに、長期的治療が必要な場合、塗布するクリーム量が増えるため、副作用が深刻となり治療の休止が必要なケースもある。これらの問題点を解決するため、筆者らはクリームの主成分であるイミキモドをナノファイバーに内包させたメッシュ状の徐放用生体材料の開発を行っている(図3a)^{2,3)}。ナノファイバーの原料として用いたポリ-ε-カプロラクトン(PCL)は、アメリカのFDAで臨床応用が認可されている代表的な生分解性高分子である。イミキモドおよびPCLを電界紡糸させることで、イミキモド含有ナノファイバーを作製した。走査型電子顕微鏡(SEM)付属のエネルギー分散X線分光法(EDX)を用いることで、ナノファイバーに内包させたイミキモドが、メッシュ全体に一様に分散していることを明らかとした。一方、広角X線回折

(XRD)測定からは、イミキモド結晶由来のピークは検出されなかった。以上のEDXおよびXRDの結果より、イミキモドは結晶化を起こすことなく均一にナノファイバーに内包されていることが明らかとなった。すなわち、電界紡糸によりイミキモドをナノファイバー内に担持させることで、放出を妨げる原因の1つである薬物結晶化が抑制できた。実際に薬物放出を行ったところ、数日間にわたる放出が観察された。現在までに約1カ月にわたる徐放も確認されている。今後ナノファイバー径やメッシュの厚さ、イミキモド内包量や結晶性などの種々のパラメーターを制御することで、皮膚がん治療に最適な徐放能を有するナノファイバーメッシュの創出が可能となる。

図3 PCL ナノファイバーメッシュを用いた局所DDS の例

(a)免疫調節薬のイミキモドを内包した皮膚がん治療用ナノファイバーメッシュ。(b)末梢神経保護用ナノファイバーメッシュからのビタミン剤の放出挙動。(c)ナノファイバーメッシュからの microRNA の徐放。(d)不活性化ウイルスをコーティングしたナノファイバーの SEM 写真。

3. 末梢神経損傷

同様のストラテジーが末梢神経損傷治療にも適応できる。外傷などで末梢神経が損傷されると、運動麻痺や感覚麻痺および自律神経の障害などが起きる。この末梢神経障害の罹患率は加齢とともに増加するため、超高齢社会を迎えるわが国においては社会的な問題となっている。末梢神経損傷に対する治療としては、切断部を直接縫合する方法や、体の他の場所の神経を採取して移植する方法が一般的であるが、近年では再生効果を支援するデバイスとして、人工神経の開発も進んでいる。しかし現在使われている人工神経は、損傷部を単に橋わたしするだけであり、神経軸索の再生速度を促進する効果は有しておらず、さらに不連続性神経損傷に対してのみ使用されているため、多くの患者に使用することができないのが現状であった。こうした背景のもと筆者らは、損傷した末梢神経に直接巻いて神経を保護し、機能を回復できる PCL ナノファイバーメッシュを開発した。このシートは、神経を保護して再生を促す機能に加え、神経系を正常に機能させるために重要なビタミン B₁₂ の 1 種メチルコバラミン (MeCbl) を含有しており、生体内で適量ずつ経時的に放出される仕組みとなっている (図 3b)。実際にこのメッシュを坐骨神経損傷ラットに移植したところ、術後 6 週間で神経の軸索が再生され、運動機能と感覚機能の回復が確認された⁴⁾。このようなシート型材料は、手根管開放術、神経縫合術、神経交差縫合術、神経剥離術、神経移行術、神経移植術など多くの症例に対して使用可能であり、さらに形状記憶性⁵⁾をもたせることでさまざまな組織にもフィット可能なため、今後さまざまな外科手術との併用に期待がもてる。

4. 肝臓がん

冒頭でも述べたとおり、ナノファイバーメッシュを用いる最大の利点の 1 つに、内包可能な薬剤の多様性があげられる。本項では microRNA (miRNA) 担持ナノファイバーメッシュについて紹介する。がんの発現は、遺伝子異常やがん抑制遺伝子の不活化

が関与している。肝臓がんは、肺がんや子宮頸がんと共に、主要な発生要因が明らかになっているがんの 1 つであり、その要因は肝炎ウイルスの持続感染により、炎症と再生が繰り返されて生じた遺伝子の突然変異である。miRNA は mRNA と結合して遺伝情報伝達を阻害する微小な核酸分子であり、その遺伝情報の制御作用は、当初は線虫独特の現象と考えられていた。しかしその後、細胞内での miRNA の作用異常が、結果として疾患の発症へとつながることが明らかとなった。実際に、がんを中心に数多くの病気で miRNA を標的とした疾患治療の戦略が現実化してきた。筆者らは、肝細胞がんの増殖・転移を阻害することが報告されている miRNA-145 に着目した。miRNA-145 の活性は不安定なため、まずはナノ粒子に miRNA-145 を内包し、そのナノ粒子を PCL ナノファイバーに固定化する方法を用いた。ナノ粒子は数日間の徐放効果がみられ、肝がん細胞の増殖抑制効果を得られた (図 3c)⁶⁾。この事実は、ナノファイバーが遺伝子治療用の徐放担体としても有用であることを示しており、遺伝子的アプローチによるがん細胞の殺傷から浸潤・転移抑制、さらには正常細胞に戻す治療など、今後、さらなる画期的な治療法開発が期待される。

5. 悪性中皮腫

さらに筆者らは、不活性化ウイルスを担持したナノファイバーの作製にも成功している。アスベスト暴露が原因と考えられる悪性中皮腫は、20 年以上の潜伏期間を経て発症するため、アスベストの使用が禁止されている現在であっても患者数は増加傾向にある。中皮腫は胸膜、心膜、腹膜に発生するが、やがて膜全体に拡大していくものが多い。治療法は手術で膜の全切除または部分切除に加え、化学療法や放射線療法も行われる。発見時にがんが膜全体に広がっている場合が多く、進行ステージにより広範囲での切除が必要となり、放射線療法などに対する感受性もあまり強くはない。このような観点から、免疫原性に基づいた免疫療法が注目されているが、特異抗原やヒト白血球抗原関連分子の損失により、期待しているほどの効果が得られていない。しかし

ながら、近年、HVJ-E (Hemagglutinating virus of Japan envelope: 不活性化センダイウイルスエンベロープ) が、抗腫瘍免疫の増強やがん細胞死を誘導することが明らかとなり、これを使用したがん治療が注目されている⁷⁾。HVJ は高い膜融合能をもつウイルスで、その内部に約15 kB の RNA ゲノムを含んでいる。HVJ-E は、UV照射によりゲノムを破壊させ複製能をなくすことで不活性化されており、核酸、抗体、抗がん剤などに対するエンベロープベクターとしても注目を集めている。さらに近年、HVJ-E 自身が腫瘍細胞に対してアポトーシスを誘導することが報告された。HVJ-E を使用した治療への応用は、前立腺がんなどですでに臨床応用が始まっており、抗がん活性を有する新しい材料として期待されている。そこで筆者らは、ナノファイバーメッシュに HVJ-E を吸着させ、標的部位に移植した後に HVJ-E を放出可能な材料開発を行った (図3d)⁸⁾。非常に壊れやすいエンベロープを有する HVJ-E を PCL ナノファイバー表面に固定化するために、LBL (Layer-by-layer: 交互積層) 法によるナノファイバー表面の機能化を施した。LBL 法は、互いに相互作用する高分子溶液に基板を交互に浸漬させるプロセスにより、基板表面に薄膜を形成させる手法である⁹⁾。実際には、正に帯電した高分子溶液と負に帯電した高分子溶液を交互にナノファイバーに浸漬させ、静電相互作用を駆動力とした高分子電解質多層膜の形成を行った。HVJ-E 表面は負に帯電しているため、最外層に正電荷高分子層を有する高分子電解質多層膜をナノファイバー表面上に形成させることで、静電的吸着により HVJ-E をナノファイバー表面に固定化可能であった。ナノファイバー表面からの HVJ-E 放出は、8時間までの比較的初期において急速であり、その後およそ72時間にわたり HVJ-E の放出が確認された。HVJ-E 吸着ナノファイバーの抗がん活性を検討した結果、1日目からがん細胞の殺傷効果が確認され、3日後でもがん細胞の増殖が認められなかった。今後さらに、プラスミド DNA、ペプチド、抗体を封入した HVJ-E を吸着したナノファイバーの作製、ナノファイバー内に磁性ナノ粒子や抗がん剤を内包させた HVJ-E 吸着ナノファイバーの開発等により、さまざまな応

用展開が期待できると考えられる。

6. 肺がん

最後に紹介する例は、ナノファイバーに発熱体を内包させた温熱・化学療法用ナノファイバーメッシュである。温熱療法とは、がん細胞が正常細胞と比べ熱に弱いという性質を利用したがん治療法であるが、副作用が少ないことや、他の治療法との併用効果が高いことが数多く報告されている。例えば、放射線に対して耐性をもつ細胞は一般的に熱感受性が強いために、温熱と放射線の併用により相補的な効果が得られる。また、化学療法との併用は、がん組織中における薬物滞留性および吸収性を向上させその効果を増強させる。しかしながら、臨床的には異なる複数の治療法と温熱療法との併用を同時に行うことは困難である。そこで筆者らは、肺がん治療のための video-assisted thoracic surgery との併用を目指し、化学療法と温熱療法を同時に行うナノファイバーメッシュの開発を行った (図4a)¹⁰⁾。まず、ナノファイバーに担持させる発熱体として磁性ナノ粒子 ($\text{Fe}_3\text{O}_4/\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) に着目した。磁性ナノ粒子は、交流磁場中においてヒステリシス損により発熱する。生体内において発熱挙動を時空間的かつ精密に制御することは困難であるが、ナノファイバー内に磁性ナノ粒子を完全に内包することで、ナノファイバー周辺領域のみでの発熱を誘導可能となる (図4b)。さらに磁性ナノ粒子の内包量や照射する磁場強度などにより、発熱挙動の精密制御も可能である。電界紡糸法によりナノファイバー中に磁性ナノ粒子と抗がん剤を同時に内包することは比較的容易である。この系では磁性ナノ粒子の発熱と抗がん剤放出による温熱・化学療法の達成が期待されるが、さらに薬物放出の ON-OFF 制御能の付与を試みた。この方法が実現すれば、所定時間に所定量の薬物がナノファイバーを配置した局所で投与可能となるため、現行の過剰な投薬に伴う副作用の軽減が期待できる。これを達成するため、温度変化に対して親水性と疎水性を可逆的に変化させる温度応答性高分子、ポリ (*N*-イソプロピルアクリルアミド) (PNIPAAm) に着目した¹¹⁾。PNIPAAm から構成さ

れるナノファイバー内に内包された抗がん剤であるパクリタキセルは、温度上昇によりナノファイバー内から圧搾される形で放出される。これにより、交流磁場照射をトリガーとして、内包した磁性ナノ粒子が発熱し、上昇した温度による PNIPAAm ナノファイバーの体積減少を誘発させ、内包薬物を圧搾放出させるという一連の流れで、薬物放出が可能と

なる¹²⁾。肺腺がん細胞をモデル細胞として用いて材料の抗がん活性を検討した結果、磁性ナノ粒子/抗がん剤内包ナノファイバーはそれぞれを単独で内包したナノファイバーと比較して、高い殺細胞効果を示した(図4c)。結果として、ナノファイバーを用いた温熱・化学療法の同時制御は、薬物単体および温熱単体の治療よりはるかに高い相乗的抗がん活性

図4 ナノファイバーメッシュを用いたがんの温熱・化学療法

(a) ナノファイバーメッシュを用いたがんの温熱・化学療法の概念図。(b) 磁性ナノ粒子(MNPs)内包ナノファイバーの交流磁場中での発熱挙動。(c) 担がんマウスにナノファイバーメッシュを移植後、週に1回15分間交流磁場を照射。この治療を2カ月継続後、がんの縮小効果を確認。

を発現できることが明らかとなった¹³⁾。さらに、ナノファイバー局所での温熱・化学療法であるため、副作用の問題に効果的であることが期待される。

7. おわりに

本稿において紹介してきた局所埋め込み型ナノファイバーメッシュは、DDS キャリアとして魅力的な材料であることはもちろんのこと、温熱療法との併用や免疫活性化物質との組み合わせなど、今後の応用次第によっては今までにない画期的な材料の開発が可能であると考えられる。さらに近年、体内の代謝リズム(体内時計)を利用した時間治療が注目を集めている(図5)¹⁴⁾。スマートポリマーを用いた薬物の ON-OFF 制御はまさにこうしたニーズにマッチする。また、わが国の医療費に占める薬剤比率が先進国の中でも飛びぬけて多いといわれている背景から、既知薬を別の疾患治療薬として応用するドラッグリポジショニングが製薬企業では積極的に取り入れられている。本稿で紹介したような材料をうまく用いることで、既知薬の効果を最大限に発揮するマテリアルによるドラッグリポジショニングに

図5 時間治療の概念図

抗がん剤の種類によって体内時計によって最大限に効果が発揮できるタイミングが異なる。

も今後期待がもてる。

謝辞

本稿執筆および研究遂行にあたり多大なるご助言をいただいた Allan S. Hoffman 名誉教授(Univ. Washington) および Patrick S. Stayton 教授(Univ. Washington) にこの場をかりて感謝申し上げます。

文献

- 1) Edited by N. D. Yilmaz, Smart Textiles: Wearable Nanotechnology, Wiley (2018)
- 2) R. Garrett, *et al.*, *Fibers*, **3**, 478-490 (2015)
- 3) W. Lin, *et al.*, *Polymers*, **10**, 231 (2018)
- 4) K. Suzuki, *et al.*, *Acta Biomaterialia*, **53**, 250-259 (2017)
- 5) E. Niiyama, *et al.*, *Fibers*, **7**, 20 (2019)
- 6) H.-L. Che, *et al.*, *J. Nanoscience and Nanotechnology*, **15**, 7971-7975 (2015)
- 7) M. Kurooka, *et al.*, *Cancer Res.*, **67**, 227-236 (2007)
- 8) T. Okada, *et al.*, *Materials*, **9**, 12 (2016)
- 9) T. Okada, *et al.*, *Langmuir*, **29**, 7384-7392 (2013)
- 10) E. Niiyama, *et al.*, *Advanced Healthcare Materials*, (2019) in press.
- 11) Y.-J. Kim, *et al.*, *Angewandte Chemie International Edition*, **51**, 10537-10541 (2012)
- 12) Y.-J. Kim, *et al.*, *Adv. Func. Mater.*, **23**, 5753-5761 (2013)
- 13) E. Niiyama, *et al.*, *Polymers*, **10**, 1018 (2018)
- 14) F. Lévi, *Cancer Causes Control*, **17**, 611-621 (2006)