金ナノ粒子に着目したドラッグデリバリー技術・ナノメディスンの開発

尾関 哲也,* 田上 辰秋

Development of Drug Delivery Technology and Nanomedicine by Using Gold Nanoparticles

Tetsuya Ozeki* and Tatsuaki Tagami

Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Nagoya City University; 3-1 Tanabe-dori, Mizuho-ku, Nagoya 467-8603, Japan.

(Received August 20, 2020)

Nanomedicine is a new medical field involving the use of nanoparticles. Early examples of biocompatible nanomedicines include liposomes (Doxil®) and albumin nanoparticles (Abraxane®), and promising new nanomedicines include nanocarriers such as nanomicelles and nanoemulsions. A new trend towards the use of metal-based nanoparticles, including gold nanoparticles, has led to global clinical trials. These particles exhibit novel properties compared to conventional nanomedicines such as liposomes and albumin nanoparticles. These properties hold promise for nanomedicines, and thus the biodistribution and pharmacokinetics of metal-based nanoparticles should be carefully investigated. This had led to an increasing number of clinical trials investigating metal nanoparticles and inorganic nanoparticles. The present review evaluates multi-functional gold nanoparticles described in recent articles and shows that the unique properties of gold nanoparticles are applicable for not only drug delivery, but also for imaging. The combined therapeutic modality between therapeutics and diagnostics is called “theranostics” and is promising for future personalized cancer therapy. This review also introduces recent research from our laboratory involving the use of various kinds of molecules [polyethylene glycol (PEG), drug/cyclodextrin inclusion complexes, biosimilars and small interfering (siRNAs)] loaded onto and/or conjugated with gold nanoparticles.

Key words—gold nanoparticle; theranostics; drug delivery; imaging

1. はじめに

ナノメディスン（ナノ医薬品とも呼ばれる）は、ナノテクノロジーを医薬品に適用させたものであり、これまでに様々なドラッグナノキャリアが開発されてきた。代表的なナノメディスンとしてドキシルやアブラキサンが知られている。ドキシルは、抗がん剤であるドキソルビシンをリン脂質ナノカプセルである 100 nm 程度のリポソームに含有させたものであり、リポソーム表面には、ポリエチレングリコールが化学修飾されている。ドキシルは、がん組織内に受動的に蓄積する効果（enhanced permeability and retention effect, EPR 効果と呼ばれる）がよく知られている。またアブラキサンは、アルブミンに抗がん剤であるパクリタキセルが結合した 100 nm 程度のナノ粒子であり、パクリタキセルの

難水溶性の問題を解決した製剤として知られている。いずれの製剤も生体親和性の高い材料が薬物のナノキャリアとして使用されており、安全面をクリアしている。

現在行われているナノメディスンの臨床試験のほとんどは、これらの生体親和性の高いリポソームやアルブミンナノ粒子に関するものであるが、最近新しい傾向がみられている。¹⁻³⁾ その 1 つとして、金を含む金属やシリカなどの無機物を含んだナノ粒子に関する臨床試験が行われている。これらのナノ粒子に関しては、生体内の体内動態や代謝・排泄の課題があるので適用する疾患について安全性を注意深く検討する必要があるものの、その一方で、これまでの生体親和性のよいナノ粒子にはみられない有用な異なる性質を数多く有していることから、新しいナノメディスンとして期待されている。

筆者の研究室は、名古屋市立大学と名古屋工業大学の連携大学院（共同ナノメディスン専攻）の基幹研究室の 1 つであり、全国でも稀な薬学と工学との融合を目指した、ナノメディスンを含む製剤に関す

名古屋市立大学大学院薬学研究科（〒467-8603 名古屋市瑞穂区田辺通 3-1）

*e-mail: ozekit@phar.nagoya-cu.ac.jp

本総説は、日本薬学会第 140 年会シンポジウム S40 で発表した内容を中心に記述したものである。

Fig. 1. Cancer Nanotheranostics

る研究を行ってきた。本稿では、金を素材としたナノメディシンに関する研究について概説し、当研究室が行ってきた研究内容についても少し紹介を行う。

2. 金ナノ粒子をベースとしたドラッグデリバリー・イメージング研究とセラノスティクス

金を用いることの利点として、大きくわけて2つの性質が知られている。1つは、フォトサーマル効果である。金の形状を変化させることにより、光の吸収波長帯を変化させることができるため、特定の波長の光を吸収し、金ナノ粒子が加熱され、加熱によりがんの温熱療法などに用いられている。また温度の上昇に伴い、別の温熱感受性ナノ粒子から薬物を放出させるような面白い仕組みが試みられている。もう1つはイメージングへの応用である。これも光の吸収波長帯を変化させることで特定の蛍光を発する粒子が作製されている。到達した粒子の量をモニターすることにより治療効果の程度を予測するような研究も行われている。治療と診断を組み合わせた治療様式はセラノスティクス (Theranostics, Therapeutics と Diagnostics の造語) と呼ばれ、ドラッグデリバリーとイメージングをつなぐ新しい研究領域としてこれまでに活発な研究が行われてきた (Fig. 1)。医療機器やイメージング機器を用いて多機能性ナノ粒子が各組織 (Fig. 1 ではがんを例) に集積し、薬物送達効率をイメージング、モニタリングすることで、その後の治療効果や予後を予測する画期的な方法である。がんについては、個人差が大きく同じ機能性ナノ粒子を投与したとしても集積するナノ粒子の量は個人によって大きく異なる。このため集積した量を知ることにより、次の治療における、善後策を考えることができる。セラノスティクスは、がんの個別化医療において重要な治療様式であると考えられている。

Fig. 2. Functional Gold Nanoparticles

本項目では、筆者が面白いと感じた金ナノ粒子をベースとした近年の研究について少し紹介する (Fig. 2)。Fales らは、粒子の表面が突起している金ナノスターを調製している。⁴⁾ この粒子は、一重酸素を出す光線力学療法と表面増強ラマン散乱を可能にする。またこの金ナノスターには、シリカが被覆されており、漫画の「ドラゴンボール」のような形状をしている。筆者の研究室も金ナノスターを作製したものを研究しているが、金ナノスターの突起物が不安定であり、環境変化でくずれるケースもあることから、シリカで被覆する処理は、金ナノス

尾関哲也

名古屋市立大学大学院薬学研究科教授、名市大-名工大 共同大学院「共同ナノメディシン科学専攻」教授(兼務)、日本薬剤学会副会長 (2020 年～)、製剤機械技術学会理事 (2017 年～)、創剤フォーラム代表世話人 (2019 年～)、FIP Congress 及び PSWC Program Committee Member (2018～)、日本薬剤学会タケル&アヤ・ヒグチ記念賞 (第15回) (2019 年)。

ターの性質を保持する方法として有用ではないかと考えている。

Montoto らのグループは、金ナノスターにメソポーラスシリカを被覆した機能性粒子の作製を行っている。⁵⁾ この粒子には治療薬物である抗がん剤のドキソルビシンを吸着させており、レーザーを照射して加温することにより、内部のドキソルビシンが放出されるしくみになっている。

Wang らは、メソポーラスなナノフレイムワークの金ナノ粒子を合成している。⁶⁾ この論文では、リン脂質ナノカプセルであるリポソームをテンプレートとしてフレイムワークを合成していることが特徴である。この粒子は、光温熱効果だけでなく、光音響イメージングにも使用可能であり、担がんマウスへの顕著な蓄積とレーザー照射による抗がん効果を認めている。

3. 当研究室で行ってきた金をベースとしたナノメディシンに関する研究

当研究室における金ナノ粒子をベースとしたナノメディシンの開発当初の研究としては、人工善玉コレステロール (high density lipoprotein; HDL) を模した機能性粒子の開発が挙げられる。金ナノ粒子を核とし、粒子両面には、アポリポタンパクと脂質メディアーターとして知られているスフィンゴシン 1 リン酸を搭載した粒子の作製を行った。粒子の大きさは、生体内の HDL とほぼ同等の 20 nm ほどの大きさの粒子が得られた。またこの人工 HDL 粒子は、*in vitro*, *in vivo* において顕著な抗炎症効果を示した。

次に筆者のグループは、金ナノ粒子の表面に環状オリゴ糖であるシクロデキストリンを結合させた機能性金ナノ粒子を作製した。⁷⁾ シクロデキストリンは疎水性領域を持ち内部に薬物の疎水部位を包接することができることから、難水溶性薬物の可溶化の手段として広く用いられてきた。結合するシクロデキストリンの種類 (α , β , γ) を変更することにより、包接する薬物を変えることができる。本研究では、難水溶性化合物であるクルクミンを包接したシクロデキストリンを金ナノ粒子表面に結合した機能性ナノ粒子を調製し、難水溶性化合物を搭載したナノ粒子のモデルを作製した。合成したクルクミン包接シクロデキストリン結合金ナノ粒子 (curcumin-loaded cyclodextrin-conjugated gold nanoparticles; cur-CD-GNPs) は、30 nm 程度の大きさであり、

ヒト肺がん細胞株に顕著な取り込みを示し、エンドサイトーシス経路で取り込まれていることが示唆されている。また cur-CD-GNPs は、このがん細胞株に対し顕著な殺細胞効果を示した。当研究室はクルクミンを用いて、これまでにスプレードライ法を用いたクルクミンナノコンポジット粒子 (マイクロ粒子の中にクルクミンナノ粒子を含有させたもの) の調製や、⁸⁾ 生分解性ポリマーであるポリ乳酸・グリコール酸共重合体 (poly lactic-co-glycolic acid; PLGA) の中にクルクミンを含有させた粒子、⁹⁾ 抗酸化作用のある不飽和脂肪酸リン脂質誘導体にクルクミンを含有させたナノ粒子、¹⁰⁾ 産業用超短パルスレーザー (フェムト秒レーザー) により一部をナノレベルまで粉碎したクルクミン粒子の調製¹¹⁾ など、クルクミンの難水溶性を克服するための研究を行ってきた。

また、金ナノ粒子に抗体医薬品であるラニビズマブとポリエチレングリコールを結合した機能性ナノ粒子についても作製を行った。¹²⁾ ラニビズマブは、加齢黄斑変性症の治療薬として使用されている抗体医薬品として知られており、効果的な VEGF 阻害薬として知られている。しかしながら月 1 回の眼内投与を必要とするため、患者のみならず医療スタッフにとって負担の大きな治療である。またラニビズマブは抗体断片 (Fab 断片) であることから、通常の Fc 部位を持つ抗体医薬と比較して分子量が小さく、眼内滞留性の面で劣る可能性がある。このため筆者は、ラニビズマブを眼内でより長期間滞留させる工夫を行ってきた。以前の基礎的検討では、生分解性ポリマーである PLGA を用いてラニビズマブを封入した PLGA マイクロ粒子を作製し、ラニビズマブが徐放されることを確認した。¹³⁾ しかしながら、マイクロ粒子を眼内に分散させることには問題があるため、本研究では、極小の金ナノ粒子にラニビズマブを結合し、粒子の分散性を高めるためにポリエチレングリコールを金ナノ粒子に表面修飾したナノ粒子の作製を新たに行った。合成したラニビズマブ・ポリエチレングリコール結合金ナノ粒子は、だいたい 30 nm 程度の大きさであり、ポリエチレングリコールの大きさ (5 kDa 及び 10 kDa) を変えたものと比較したが、ほぼ同等の性質を示した。また、ヒト臍帯静脈内皮細胞 (human umbilical vein endothelial cell; HUVEC) と細胞外基質タンパ

ク質を多く含む Matrigel®を用いた実験系により、新生血管阻害作用の評価を行ったところ、この粒子は顕著な阻害作用を示し、優れた機能性粒子であることが示唆されている。今回使用したラニビズマブはバイオシミラー（バイオ医薬品後続品）であることから、バイオシミラーを使用した、従来品よりももっと優れた性質を持つ新たなバイオ医薬品として今後の期待できる。

一方で、機能性核酸である small interfering RNA (siRNA) にスパーサーを入れ、塩化金酸溶液中で還元することでワンステップで、siRNA が表面に配位した金ナノ粒子を作製することができることを報告した。¹⁴⁾ siRNA は、配列特異的な遺伝子サイレンシング効果を示す化合物として知られているが、以前の検討で、配列非特異的に血管新生を抑制する効果が報告されている。今回作製した siRNA が搭載された金ナノ粒子においても、その遺伝子配列に特異的な siRNA を設計することで遺伝子サイレンシング効果を確認した一方で、上述の HUVEC と Matrigel®による *in vitro* チューブ形成能の評価において、配列の有無にかかわらずこの siRNA 搭載金ナノ粒子において、血管新生抑制効果を確認している。この siRNA 搭載金ナノ粒子について、眼内の血管新生に対して有効な、金をベースとしたナノメディシンとして有効ではないかと考えられる。

4. おわりに

金をキャリアとした様々な機能性ナノ粒子について、当研究室の内容も含めて解説を行った。従来のナノメディシンにはない有用な性質を持っていることから、金ナノ粒子や他の金属ナノ粒子、無機ナノ粒子も含めて、次世代のナノメディシンとして有望視されている。その一方で、冒頭でも少しふれたように、これらの粒子は、生体内にはない異物としての要素があるため、体内動態や副作用の点についてリスクベネフィットの観点で精査していく必要があると言える。臨床試験も含めて、今後の研究の進展が期待される。

謝辞 本稿の作成にあたり、作図でご協力頂きました、井上智貴様に感謝申し上げます。

利益相反 開示すべき利益相反はない。

REFERENCES

- 1) Tagami T., Ozeki T., *J. Pharm. Sci.*, **106**, 2219–2226 (2017).
- 2) Tagami T., Ozeki T., “Drug Delivery System—Recent Progress of Tissue, Intracellular and Intranuclear Delivery Technology for Biopharmaceutical Development—, Update and trend of clinical trials about nanomedicine,” CMC Publishing Co., Ltd., Tokyo, 2018, pp.21–32.
- 3) Tagami T., Ozeki T., *Organ Biology*, **24**, 54–60 (2017).
- 4) Fales A. M., Hsiangkuo Yuan H., Vo-Dinh T., *Langmuir*, **27**, 12186–12190 (2011).
- 5) Montoto A. H., Montes R., Samadi A., Gorbe M., Terrés J. M., Cao-Milán R., Aznar E., Ibañez J., Masot R., Marcos M. D., Orzáez M., Sancenón F., Oddershede L. B., Martínez-Máñez R., *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **10**, 27644–27656 (2018).
- 6) Wang J., Sun J., Wang Y., Chou Y., Zhang Q., Zhang B., Ren L., Wang H., *Adv. Funct. Mater.*, **30**, 1908825 (2020).
- 7) Hoshikawa A., Nagira M., Tane M., Fukushige K., Tagami T., Ozeki T., *Biol. Pharm. Bull.*, **41**, 908–914 (2018).
- 8) Taki M., Tagami T., Fukushige K., Ozeki T., *Int. J. Pharm.*, **11**, 104–110 (2016).
- 9) Morikawa Y., Tagami T., Hoshikawa A., Ozeki T., *Biol. Pharm. Bull.*, **41**, 899–907 (2018).
- 10) Ibrahim S., Tagami T., Kishi T., Ozeki T., *Int. J. Pharm.*, **540**, 40–49 (2018).
- 11) Tagami T., Imao Y., Ito S., Nakada A., Ozeki T., *Int. J. Pharm.*, **468**, 91–96 (2014).
- 12) Hoshikawa A., Tagami T., Morimura C., Fukushige K., Ozeki T., *J. Drug Deliv. Sci. Technol.*, **38**, 45–50 (2017).
- 13) Tanetsugu Y., Tagami T., Terukina T., Oga-wa T., Ohta M., Ozeki T., *Biol. Pharm. Bull.*, **40**, 145–150 (2017).
- 14) Takeuchi T., Tagami T., Fukushige K., Ozeki T., *J. Drug Deliv. Sci. Technol.*, **47**, 411–416 (2018).