

財団使用欄

令和2年6月30日受理

No. |

完了報告書

(兼 会計報告書)

2020年6月20日

公益財団法人 シオノ健康財団

理事長 塩野谷 貫一 殿

個人の方

氏名 金澤 秀子



団体の方

団体名

代表者



貴財団より助成いただいた活動が完了いたしましたので、下記のとおり報告します。

活動内容	がん幹細胞ターゲティングを目指した温度応答性ナノキャリアの開発
------	---------------------------------

※今後の連絡に必要となりますので、全ての項目にご記入ください。

提出者に関する事項	(フリガナ) 氏名又は団体名	カナザワヒデコ 金澤秀子	生年月日 又は設立年月日	
	(フリガナ) 提出担当者	カナザワヒデコ 金澤秀子		
	住 所	〒105-8512 東京都港区芝公園 1-5-30 慶應義塾大学薬学部 (TEL) 03-5400-2684 (FAX) 03-5400-1378 (E-mail) kanazawa-hd@pha.keio.ac.jp		
	連絡先 ・ 郵送先	〒105-8512 東京都港区芝公園 1-5-30 慶應義塾大学薬学部 (TEL) 03-5400-2684 (FAX) 03-5400-1378 (E-mail) kanazawa-hd@pha.keio.ac.jp		

※提出後の住所・連絡先変更の際は、速やかに事務局までご連絡ください。

(1) 活動成果

がん幹細胞について、これまで特異的に高発現しているマーカー分子などが報告されている。その中でもヒアルロン酸(HA)をはじめとする細胞外マトリックスと結合する CD44 (Cluster of differentiation-44) は、多くの種類のがんにおいてがん幹細胞の主要な表面マーカーの 1 つとされる。本研究では CD44 を過剰発現する細胞に対して効率的な薬物送達を達成するためのナノリポソームの開発を行った。HA と温度応答性高分子 poly (*N*-isopropylacrylamide) (PNIPAAm) を表面に修飾したナノリポソームによって、CD44 過剰発現細胞への取り込み増大及び細胞内における温度での内封薬物放出制御を実現可能であると考えた。PNIPAAm と親水性モノマー *N,N*-dimethylacrylamide (DMAAm) を用いて温度応答性高分子 P(NIPAAm-co-DMAAm25%) (Thermo-sensitive polymer, TSP) を合成した。抗がん剤ドキシソルビシン(DOX)を封入後のリポソームに HA 及び TSP を修飾した(HA-TSP-Liposome)。合成した温度応答性高分子 ND25 は LCST を約 40°C に有しており、分子量は約 5 kD であった。HA-TSP-Liposome の粒子径は 100 nm 前後であり、EPR 効果により腫瘍への蓄積が期待できると考えられる。ゼータ電位は HA 未修飾のリポソームと比較して低下しており、これは HA のアニオン性に由来すると考えられることから、HA の修飾が確実に行われていることを確認した。薬物放出率測定ではヒトの体温付近の 37°C においてはリポソームからの内封薬物放出は起こらなかったが、42°C へ昇温した際には迅速な薬物放出が観察された。これは修飾した TSP が LCST 以上の温度で収縮することによりリポソーム膜が不安定化したことに起因すると考えられる。ヒト由来の 3 種のがん細胞(A549 細胞、HeLa 細胞、MCF7 細胞)について蛍光標識 CD44 抗体により CD44 発現量を観察し、その後に HA-TSP-Liposome の細胞内取り込み及び細胞障害性を評価した。使用した 3 種の細胞のうち、A549 細胞と HeLa 細胞では CD44 の過剰発現が観察された。これらの細胞に、HA-TSP-Liposome を添加したところ、CD44 過剰発現細胞と非発現細胞において細胞内への取り込みに差がみられた。よって、HA 修飾により CD44 発現量に依存して取り込みに差が出ることを示唆された。また、細胞障害性測定において HA-TSP-Liposome を取り込ませてから 42°C でインキュベートしたサンプルでのみ CD44 過剰発現細胞と非発現細胞の細胞生存率に差が観察され、昇温による薬物放出によるものと考察した。

[学会発表]

1. 効果的ながん治療の実現を目指した機能性薬物送達キャリアの開発. 藤條 恵, 松浦 みなみ, 根本 遼, 有村 花音, 綾野 絵理, 米谷 芳枝, 長瀬 健一, 金澤 秀子, 第 35 回ライフサポート学会大会 (2019 年 9 月). 『若手プレゼンテーション賞受賞.』
2. Stem Cell Separation Column using Temperature-responsive Cationic Copolymer Brushes Modified Beads, Goro Edatsune, Sota Yamada, Kenichi Nagase, Hideko Kanazawa. HPLC 2019 Kyoto (京都), Dec 2019
3. CD44 発現細胞を標的とした温度応答性ナノリポソームの開発. 印南 綾夏, 山之内 翔, 米谷 芳枝, 金澤 秀子. 日本薬学会第 140 年会(2020 年 3 月).
4. 温度応答性ポリマーを用いた LAT1 ターゲティングリポソームの開発. 有村 花音, 藤條 恵, 松浦 みなみ, 山田 創太, 長瀬 健一, 金澤 秀子. 日本薬学会第 140 年会(2020 年 3 月).

(2) 今後の課題

本研究で作製した HA-TSP-Liposome は、CD44過剰発現細胞へ優先的に取り込まれ、その後42°C に昇温することによって内封薬物を放出し、高い細胞障害性を示すことが確認された。このことから HA-TSP-Liposome は CD44過剰発現細胞への薬物送達キャリアとして有用であることが示唆された。近年、物理医療デバイスの進歩が著しいことから、選択的な DDS のために、物理医療デバイスを効果的に使用することにより、新しいがん細胞ターゲティング DDS が行えるものと考えている。今後は、低周波のラジオ波を用いたがん温熱療法との併用による効果を観察することで、臨床への応用を目指したい。