

シリカナノ粒子を封入したリポソームの調製

日大生産工(院) ○小川 実咲 日大生産工 柏田 歩

1. 緒言

がん治療には主に薬物治療が用いられているが、腫瘍細胞以外にも薬物が作用するため副作用の原因となり、患者への身体的・精神的苦痛が懸念される。そこで、必要最低限の薬物を目的の組織や細胞に選択的に送達し、副作用の低減を目指すためのドラッグ・デリバリー・システム (DDS) が注目されている。DDS を実践するにあたり、薬物を担持させるための担体を用いることが一般的であり、代表的な担体として高分子ミセルやリポソームのような微粒子が挙げられる。微粒子担体を用いた DDS においては EPR (Enhanced Permeability and Retention) 効果の利用が有効とされている。EPR 効果とは、正常組織と異常組織周辺の血管内皮の構造の違いを利用した現象に基づくものである。すなわち正常組織周辺の血管内皮に存在する孔の大きさが数 nm であるのに対し、腫瘍組織などの異常組織は成長や増殖が速いため、周辺の血管内皮に存在する孔の大きさは 100~200 nm 程度となる。そのため血管透過性が亢進しており、孔の大きさの違いにより異常細胞周辺に物質が滞留しやすい現象のことである。したがって EPR 効果を用いた DDS の適用には微粒子状の DDS 担体を 100 nm 程度に調製することが必要である。EPR 効果を利用した DDS に用いられる代表的な担体としてのリポソームは生体膜を構成する主成分であるリン脂質で構成される脂質二重層を有する小胞であり、サイズ調整が可能のほか、内水相が存在するため、水溶性の薬物や機能分子を封入することが可能である。また疎水性の脂質二重層内部やリ

ポソーム表面に機能を付与する分子や電荷等を修飾することも可能である一方、異常細胞周辺により多くの薬物を送達することを考えると、1 回のリポソーム投与量には限度があり、1 個のリポソームの体積に限度があるため、1 回の投与における薬物投与量には限度があるという課題がある。担体により多くの薬物を担持することによりこの課題を克服するために、金属有機構造体 (MOF)¹⁾ やメソポーラスシリカナノ粒子²⁾ の利用が有効であるが、本研究では高い比表面積を持つメソポーラスシリカナノ粒子に注目した。メソポーラスシリカナノ粒子は高い比表面積を持つ他に生体毒性が少なく、化学的安定性に優れ、化学修飾が可能であり、ナノオーダーの細孔を利用して高効率で種々の物質を封入可能であるため、薬物送達担体として有用である。DDS において、このシリカナノ粒子を血中で安定に分散させることが課題である。ミセルやリポソームはシリカなどの微粒子を分散可能にするが、ミセルを構成する界面活性剤を血中に投与すると血管内皮の損傷に繋がる。そのためシリカナノ粒子をリポソームで封入することを考えた。

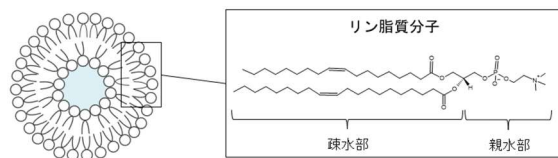


Fig.1 Structural diagram of phospholipid and liposome

本発表ではシリカナノ粒子をリポソームに封入する手段として、アミノ基修飾シリカナノ粒子をアニオン性リポソームとの融合

Preparation of silica nanoparticle encapsulated liposomes

Misaki OGAWA, and Ayumi KASHIWADA

を利用した封入過程を評価した結果を報告する。

2. 実験操作

2-1 アニオン性リポソームの調製

アニオン性リン脂質である L- α -phosphatidylglycerol (Egg-PG) をリポソームを構成する基本脂質として 1,2-dioleoyl-*sn*-glucero-3-phosphoethanolamine-*N*- (lissamine rhodamine B sulfonyl) (ammonium salt) (以下 Rh) を 0.25mol% の割合で混合し薄膜を調製した。薄膜を 10 mM MOPS, pH 7.0, 60 mM NaCl (以下 Buffer A) で水和させ、多層リポソームを調製した。その後凍結融解により単層リポソームを調製し、エクストルージョン法によりリポソームの大きさを 100 nm に均一化した。

2-2 アミノ基修飾シリカナノ粒子のリポソームへの封入

カチオン性シリカナノ粒子としてアミノ基修飾 MCM-41 を用いた。このアミノ基修飾 MCM-41 を純水に分散させ、Alexa Fluor 594 を含有させ、Alexa Fluor 594 分子がアミノ基修飾 MCM-41 に吸着平衡に達するまで静置させた。この溶液に調製したアニオン性リポソームを加え、手動ピペッティングで混合した。混合物を遠心分離した後、上澄みを除去し、Buffer A で洗浄した。その後再び遠心分離と上澄みの除去を行い、混合物を Buffer A に分散させた。

2-3 FRET 蛍光測定による蛍光強度の変化

アミノ基修飾シリカナノ粒子をアニオン性リポソームとの融合を利用した封入過程は、2種類の蛍光色素 Rh と Alexa Fluor 594 間の蛍光共鳴エネルギー移動 (FRET) を利用して評価した。この評価結果をポスター発表で紹介する。

3. 結果および考察

アミノ基修飾シリカナノ粒子のリポソームへの封入過程の他の評価方法としてアミ

ノ基修飾シリカナノ粒子封入後のリポソームのゼータ電位測定を予定している。アミノ基修飾シリカナノ粒子の表面電荷は正電荷に偏りがあることが予想される。一方、リポソームへの封入がなされたシリカナノ粒子は負に帯電することから、ゼータ電位を測定することによりアミノ基修飾シリカナノ粒子のリポソームへの封入が確認できる。また、リポソームの粒径測定には動的光散乱法を用いた測定を構想している。内封薬物のリポソームからの放出はエンドソーム内での放出を想定し、弱酸性条件下での分光蛍光光度計による蛍光強度の経時変化による内封物放出率評価を構想している。

参考文献

- 1) Kazuki, O.; Keisuke, M.; Shuji, O.; Hideya, N.; Satoru, W. *Langmuir* 2025, 41, 8117-8124.
- 2) Juewen, L.; Xingmao, J.; Carlee, A.; C Jeffrey, B. *J. Am. Chem. Soc.* 2009, 131, 7567-7569.