

学位論文の要旨

氏名

若松 宏武

学位論文題目

ガン治療を目指した温度応答性薬物
キャリアーに関する研究

日本人の3大疾患の一つであるガンにおける現在の治療方法としては、外科的手術による腫瘍組織の摘出が主であり、次に抗ガン剤による化学療法が用いられている。しかしながら、これらの治療方法では手術による痛みや後遺症、薬の副作用等、患者にかかる負担がかなり大きい。今後さらにガン患者の増加が見込まれているなかで、より患者にかかる負担を軽減した更なる治療方法が求められている。

本論文では、ガン患者への負担を軽減しかつ十分な治療効果を得るための新たな治療方法として、局所ハイパーサーミアの効果と抗ガン剤の投与を併用して行うことが可能な温度応答性薬物キャリアーによる治療を提案し、温度応答性高分子とマグネタイトナノ微粒子を複合化した温度応答性マグネタイトナノ微粒子の調製とその特性評価に関して行った研究成果について述べる。

第1章では、まずガン治療の現状を説明する中で、ドラッグデリバリーシステム(DDS)やハイパーサーミア等における効果的な治療方法の研究に関してまとめ、解決すべき問題について述べるなかで、今回の研究の構想と期待できる効果についてまとめた。具体的には、発熱媒体として利用可能なマグネタイトナノ微粒子と官能基を有しかつ鋭敏な温度応答性を示す高分子を複合化することで、抗ガン剤用のキャリアーとしての機能と局所ハイパーサーミア用の発熱媒体としての機能を併せ持つ新規な薬物キャリアーが調製できると考えている。さらに、外部刺激に応答し薬物放出を行うことが可能なため、ドラッグキャリアーとしても非常に新しく、大変効果的なものが構築できると考えた。

第2章では、磁性微粒子の特性とそのバイオメディカルへの応用例を説明するなかで、今回使用したマグネタイトナノ微粒子に関する結晶構造、形状、交流磁場中での発熱特性に関する検討を行った結果について述べる。その結果として、今回使用したマグネタイトナノ微粒子は、種々の測定方法を用いて評価した結果、粒径が130nm程度の球状であることを確認した。また、十分な発熱が得られることも確認した。

第3章では、マグネタイトナノ微粒子表面上へのアミノ基の導入を目的とし、様々な手法により行ったアミノ基の導入に関する研究結果について述べる。ここでは、マグネタイトナノ微粒子の表面水酸基を用いて、シランカップリング反応によりアミノ基を表面に導入できたことを確認した。

第4章では、温度応答性高分子材料を扱っており、官能基を有しかつ鋭敏な温度応答性を示すpoly(NIPAAm-co-CIPAAm)の調製方法とその物性評価に関して検討した結果について述べる。ここでは、¹H-NMR、UV-vis測定から、今回調製した共重合体はCIPAAm含有量が11mol%であり、水中での相転移温度が32℃であることを確認した。

第5章では、マグネタイトナノ微粒子と温度応答性高分子の複合化による温度応答性マグネタイトナノ微粒子を調製し、複合化後の温度応答性マグネタイトナノ微粒子の物性についての検討を行った。ここでは、マグネタイト粒子表面のアミノ基とCIPAAmのカルボキシル基を縮合反応により化学的に固定化した。TEM観察、ESCA、DLSによる分散性の評価などから、複合化が行われたことを確認した。複合化後の粒子は、表面に10~20nm程度のポリマー層を有しており、ポリマーの溶媒親和性により分散性に大きな違いが見られた。

第6章では、調製した温度応答性マグネタイトナノ微粒子の温度応答性に関して、水温変化ならびに交流磁場照射下において検討を行った。ここではまず、DLS測定による分散性について評価した。その結果、ポリマーの相転移温度以上において分散性が悪くなることを確認した。次に、疎水化したシリカカラムを用いて、カラムろ過実験を行った。結果、ポリマーの親水性-疎水性の変化によりカラム中への吸着・脱離が確認できた。このことから、今回調製した温度応答性マグネタイトナノ微粒子は、水温変化ならびに、交流磁場中でのマグネタイトナノ微粒子の発熱に応答し、ポリマーの物性を変化させていることを確認した。つまり、外部刺激に応答する温度応答性マグネタイトナノ微粒子の調製に成功した。

第7章では、調製した温度応答性マグネタイトナノ微粒に薬物を固定化し、温度変化による薬物の放出挙動に関して検討を行った。ここでは、モデル薬物に抗ガン剤であるドキソルビシンを用いた。ポリマーのカルボキシル基とドキソルビシンのアミノ基とを静電的に固定化した後、水温変化ならびに交流磁場照射下におけるドキソルビシンの放出挙動を確認した。これより、今回調製した温度応答性マグネタイトナノ微粒子がドラッグキャリアーとなりうることが示された。

第8章では、今回調製した温度応答性マグネタイトナノ微粒子に関してまとめており、今後実用化に向けた課題等をふまえて総括を行った。

以上のように、マグネタイトナノ微粒子と温度応答性高分子を複合化した温度応答性マグネタイトナノ微粒子を調製し、その薬物キャリアーとしての機能に関して考察した。まだ、実際に利用するには解決すべき問題はあがあるが、抗ガン剤の放出ならびにハイパーサーミアを同時に可能にする新たなガン治療法となりうる可能性を提案することができた。

論文審査の要旨

報告番号	理工研 第229号	氏名	若松 宏武
審査委員	主査	青柳 隆夫	
	副査	湯ノ口 万友	下茂 徹朗

学位論文題目 ガン治療を目指した温度応答性薬物キャリアーに関する研究
(Studies on temperature-responsive drug carrier for cancer therapy)

審査要旨

提出された学位論文及び論文目録等を基に学位論文審査を実施した。本論文は温度変化に敏感に応答する刺激応答性高分子とナノ磁性微粒子とを組み合わせた新しいドラッグデリバリーシステムの構築を目指した基礎研究について述べたもので、全文8章より構成されている。

第1章は序章であり、本研究の背景と、温度応答性材料とナノ磁性微粒子を用いるに至った研究構想を述べている。人口の高齢化、ガンによる死亡率の増加、QOLの維持などの理由から、ガンの低侵襲治療の必要性を説明している。第2章では、本研究に供した磁性微粒子の物性および形態をX線回折および電子顕微鏡を用いて解析している。いずれの方法によっても130nm程度の球状のマグネタイトであることを確認した。第3章では、ナノ磁性微粒子表面へ温度応答性高分子を化学固定するための、官能基の導入法の検討およびその導入を確認した結果を述べている。磁性微粒子表面の水酸基へのシランカップリング反応により官能基の導入に成功している。第4章では、ナノ磁性微粒子表面の官能基との反応させるための官能基を有するアクリルアミド型の温度応答性高分子の調製と水中での相転移挙動の解析を行っている。高分子の化学構造に着目し、ナノ磁性微粒子表面への固定化後、あるいは薬物の固定化後も敏感な温度応答性を発現するための分子設計に基づいた合成手法を採用している。第5章では、先に調製、解析を行った温度応答性高分子のナノ磁性微粒子表面への固定化反応と透過型電子顕微鏡による形態観察、およびその水中での挙動を詳細に追究している。固定化した温度応答性高分子の溶解性に依存した分散性を確認しており、水中での分散性向上は動的光散乱法による粒径測定を行って追跡した。生体内で安定に機能するための化学固定に成功したことを裏付けている。第6章では温度変化させたときの粒径変化を追跡することにより、温度応答性高分子固定化ナノ磁性微粒子の水中での挙動を詳細に検討している。固定化した温度応答性高分子自身が水中で起こす相転移挙動に反映して、その相転移温度前後で、粒径変化挙動が大きく異なることを確認している。さらに、細胞との親和性の向上を意図した、疎水性カラムを用いたモデル実験を行い、その有用性を議論した。すなわち、低温側では疎水性表面と相互作用せず、一方相転移温度以上では、疎水性相互作用によりナノ磁性微粒子がカラム内に保持される結果であった。これは、高分子が水和・脱水和し、表面が親水性・疎水性変化していることを示している。この変化は、交流磁場内でも同一の結果であった。すなわち交流磁場に応答して、ナノ磁性微粒子表面が可逆的に親水性・疎水性変化することを明らかにした。第7章では調製した微粒子への抗ガン剤モデル薬物の固定化を行い、温度変化および交流磁場に応答した抗ガン剤の制御放出が可能であることを実証した。第8章は論文全体を総括している。

以上本論文は温度変化に敏感に応答する刺激応答性高分子とナノ磁性微粒子とを組み合わせた新しいドラッグデリバリーシステムの構築を目指した基礎研究について検討を行っている。系統的な一連の評価によって、低侵襲治療への応用の可能性を実証しており、機能的な薬物キャリアー研究に大いに寄与するものである。よって、審査委員会は学位（博士）の学位論文として合格と判定する。

最終試験結果の要旨

報告番号	理工研 第229号	氏名	若松 宏武
審査委員	主査	青柳 隆夫	
	副査	湯ノ口 万友	下茂 徹朗

2006年2月13日14時30分より理工系総合研究棟2階のプレゼンテーションルームにおいて、学位論文発表会が開催され、30名程度の出席者があった。はじめに研究の背景、研究構想が説明され、温度応答性高分子を化学的に固定化したナノ磁性微粒子の調製、温度応答挙動に関する系統的な評価結果が報告された。さらに、モデル抗ガン剤であるドキソルビシンの静電的な相互作用による固定化、温度変化および交流磁場内での放出挙動の結果が示され、研究構想におおむね沿った結果が得られたことが発表された。その後、両副査を含め会場から研究全般にわたる活発な質疑応答が行われた。内容は以下の通りである。

【質問】ナノ磁性微粒子が交流磁場内で発熱するのはヒステリシス損失が原因であるとの説明であるが、その根拠は何か。

【回答】今回130nmの磁性微粒子を用いたが、サイズの異なる磁性微粒子を用いて同実験を行っているが、明確なサイズ依存性が観察されているのでそのように考えている。

【質問】実際にこのシステムを生体に応用するとき、昇温するスピードすなわち時定数を考慮する必要があるのではないか。

【回答】スピードはなるべく早いほうが良いと思うが、生体という熱媒体に大きく左右されてしまうと予想される。治療効果を高めるために発熱のスピードを最適化する必要がある。

【質問】温度応答性高分子を固定化するために導入したシランカップリング剤導入量の定量はできているのか。

【回答】それに対しては、おそらく反応性が良好ではないので導入量はかなり少ないと予想される。しかしながら、高分子を固定化するのに必要な縮合剤を変化させると残存官能基量が調節でき、その量に依存して薬物固定化量を制御出来ているので、高分子の固定化に必要な官能基は導入されていると考えている。また、X線光電子分光法による定量の可能であると考えている。

【質問】生体内環境での応用を考えたとき現システムが応用可能かどうか。すなわち、生体内の環境が多くのイオンやその他タンパク質などを大量に含んでいるので、本発表で示した水和-脱水挙動が再現されるか。

【回答】生体内のpHあるいはイオン種や濃度が影響すること充分考えられる。その環境での駆動を考慮した分子設計が必要であり、そのための相転移温度を如何に調節するかが重要であるが、その方法は他のモノマーとの共重合によって実現出来る。

【質問】温度変化にのみ応答して抗ガン剤が放出されているのか、単に温度が上昇して物質の拡散性が向上しているだけとは考えられないのか。

【回答】まったく影響していないとは言いきれないが、その影響はわずかであると考えている。雰囲気温度を温度応答性高分子の相転移温度以下に保持しておいても、交流磁場に反応して薬物の放出が観察される。これは、コアの磁性微粒子が熱源になり、表面を覆っている温度応答性高分子を相転移させ、その結果静電的な相互作用をしていた薬物が解離して放出されている。

以上のように各質問に対して的確な回答が得られた。研究の背景を十分に理解し、ナノ磁性微粒子と温度応答性高分子材料を組み併せて抗ガン剤の薬物キャリアーとして利用するという、斬新な研究を着想し基本的に要求される性能が得られることを証明した。したがって、審査委員会は全員一致で博士（工学）の学位を与えることに決定した。