

ナノダイヤモンドのドラッグキャリアへの応用

小松直樹, Zhao Li

滋賀医科大学 生命科学講座・化学

Nanodiamond as a multifunctional vehicle for DDS

Naoki KOMATSU and Li ZHAO

Department of Chemistry, Shiga University of Medical Science

Abstract Biomedical applications of nanoparticles have been attracting growing interest as a drug carrier and an imaging probe. In this context, we are focusing on the nanodiamond because of the low-toxic and surface-modifiable nature. In this paper, we will report on the progress on the application of nanodiamond and other nanoparticles as a drug carrier and an imaging probe; 1) solubilization in a physiological environment by surface functionalization with polyglycerol, 2) size separation by size exclusion chromatography, 3) immobilization of targeting moiety such as peptide, and 4) drug and gene loading, shipping, and releasing.

Keyword Nanodiamond, drug carrier, drug delivery, gene delivery

はじめに

遺伝子を含むさまざまな薬剤を輸送する手段は drug delivery system (DDS) と総称される。これには、一般治療薬の輸送のみならず、体性幹細胞を標的として臓器再生を目指す遺伝子治療なども含まれる。このような次世代先端医療を支える新しい DDS デバイスの条件として、日常臨床に直結する安全なものであると同時に、確実に標的を捉えられる新手法の開発が期待されている。我々のグループでは、独自に開発したナノダイヤモンドの修飾法に新たな標的化技術を加え、様々な用途に対応できる、拡張性、柔軟性、汎用性を兼ね備えた DDS “ナノ” デバイスの合成法を確立したので、報告する。

ナノダイヤモンドの可溶化およびサイズ分離

酸化処理のなされたナノダイヤモンドは、純水中では、安定な溶液を形成するものの、イオン存在下では、すぐに凝集が起こり沈降する[1]。即ち、ナノダイヤモンドの生体環境下での溶解性はきわめて低く、これがボトルネックとなって、本格的な生体イメージング素子への展開は未だなされていない。実際、蛍光ナノダイヤモンドの応用は、細胞ラベリングに関する多くの

例と透明な線虫のイメージングが一例報告されているのみである [2]。このような背景において、ナノダイヤモンドの真の生物医療応用を目指す第一歩として、ナノダイヤモンドの表面をポリグリセロールにより修飾することで、生体環境下でも十分な溶解性を持つナノダイヤモンドを作成することに成功した[3]。また、この高い溶解性を活かして、ナノダイヤモンドのサイズ排除クロマトグラフィー (SEC) によるサイズ分離にも成功した[3-10]。同様の方法論は、ナノダイヤモンドのみならず、金属酸化物のナノ粒子にも適用可能であることが明らかとなった。具体的には、酸化亜鉛ナノ粒子[11]、酸化鉄ナノ粒子なども[12]、ポリグリセロールにより被覆され、高い溶解性を示すこと、さらに、ナノダイヤモンドと同様、SECによりサイズ分離がなされることを明らかとした。

標的指向性部位の結合

生体環境下で溶解したナノダイヤモンド、もしくはナノ粒子を狙ったところに送り込むためには、特定の組織や細胞、あるいは、そこに偏在するタンパク質等に親和性のある標的指向性部位をナノ粒子上に結合させる必要がある。そのため、図1に示すような古典的な有機合成反応により、ポリグリセロールの水酸基を変換し、最終工程では、クリックケミストリーと呼ば

Received November 20, 2006

Correspondence: 滋賀医科大学生命科学講座・化学 小松 直樹

〒520-2192 大津市瀬田月輪町 nkomatsu@belle.shiga-med.ac.jp

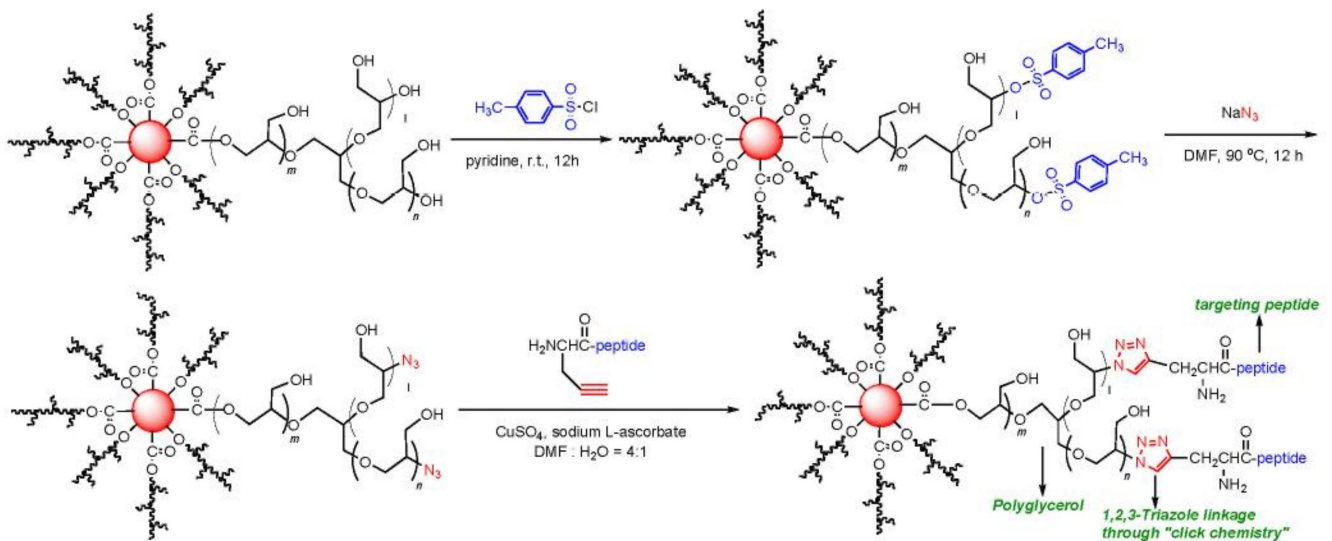


図1 ポリグリセロール上での官能基変換に基づく標的指向性部位の結合

れる反応を用い、各種ペプチドをナノ粒子最表面に、共有結合を介して固定する方法論を確立した[12]。本法により RGD ペプチドを固定した酸化鉄ナノ粒子を作成し、これをガン細胞 (HeLa, U87MG, A549) 培養液中に共存させ、よく洗浄した後、鉄染色を行ったところ、RGD ペプチドの受容体である $\alpha_v\beta_3$ -integrin が過剰に発現している U87MG, A549 では、鉄由来の青色が確認された。一方、HeLa は、ほとんど染色されなかった[12]。ナノ粒子上に固定したペプチドの標的指向性を *in vitro* で確認した。

薬剤の担持、運搬、徐放

DDS の完成を目指し、抗ガン剤を配位結合により担持したナノダイヤモンドやプラスミドをイオン結合により担持したナノ粒子など、薬剤を担持した各種ナノ粒子を合成した。これを用いて、今後、*in vitro*, *in vivo* での検討を行う。それと同時に、蛍光ナノダイヤモンドや磁性ナノ粒子を用いた光、MRによるイメージングについても検討していく予定である。

文献

- [1] Takimoto, T, Chano, T, Shimizu, S, Okabe, H, Ito, M, Morita, M, Kimura, T, Inubushi, T, Komatsu, N Preparation of fluorescent diamond nanoparticles stably dispersed under physiological environment through multi-step organic transformations. *Chem Mater*, 22: 3462-3471, 2010.
- [2] Mohan, N, Chen, C-S, Hsieh, H-H, Wu, Y-C, Chang, H-C In vivo imaging and toxicity assessments of fluorescent nanodiamonds in *caenorhabditis elegans*. *Nano Lett*, 10: 3692-3699, 2010.
- [3] Zhao, L, Takimoto, T, Ito, M, Kitagawa, N, Kimura, T, Komatsu, N Chromatographic separation of

highly soluble diamond nanoparticles prepared by polyglycerol grafting. *Angew Chem Int Ed*, 50: 1388-1392, 2011.

- [4] 小松直樹. ナノ炭素材料 (カーボンナノチューブ、ナノダイヤモンド) を仕分ける. *粉体技術*, 2: 28-36, 2010.
- [5] 瀧本竜哉, 森田陽一, 門田直樹, 青沼秀児, 木村隆英, 小松直樹. 医療応用を目指したナノダイヤモンドの表面官能基化とサイズ分離. *ケミカルエンジニアリング*, 54: 947-951, 2009.
- [6] 小松直樹. ナノダイヤモンドの医学的応用. *機能材料*, 29: 23-29, 2009.
- [7] 小松直樹. 生物・医療応用を目指したナノダイヤモンド粒子のサイズ分離と表面化学修飾. *表面科学*, 30: 273-278, 2009.
- [8] 小松直樹. 医療応用. *ダイヤモンド技術総覧*, 第9章 3・7: 683-687, 2007.
- [9] 小松直樹. ナノ医療を目指したナノ炭素材料科学. *ケミカルエンジニアリング*, 51: 941-944, 2006.
- [10] 小松直樹, 門田直樹, 木村隆英. ナノダイヤモンドの表面化学修飾とその物性に与える影響. *New Diamond*, 83: 24-25, 2006.
- [11] Zhao, L, Takimoto, T, Kimura, T, Komatsu, N Polyglycerol functionalization of zno nanoparticles for stable hydrosol in physiological media. *J Indian Chem Soc*, 88: 1787-1790, 2011.
- [12] Zhao, L, Chano, T, Morikawa, S, Saito, Y, Shiino, A, Shimizu, S, Maeda, T, Irie, T, Aonuma, S, Okabe, H, Kimura, T, Inubushi, T, Komatsu, N Hyperbranched polyglycerol-grafted superparamagnetic iron oxide nanoparticles: Synthesis, characterization, functionalization, size separation, magnetic properties, and biological applications. *Advanced Functional Materials*, 22: 5107-5117, 2012.