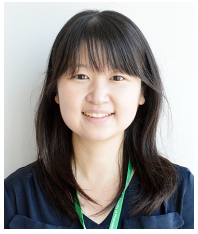
薬 剤 学, **80** (2), 96–100 (2020)

≪若手研究者紹介≫



核酸デリバリーシステムへの応用を目指したナノ粒子製剤研究

板 倉 祥 子* Shoko Itakura
城西大学薬学部 薬粧品動態制御学研究室

1. は じ め に

筆者が薬学部に入学してからほぼ 15 年が経つ．学問として大学で薬学を学び始めたころは，薬といえば構造式で表される有機化合物のイメージしかなかった．それが現在では CAR-T 細胞療法であるキムリア® が日本でも承認を受け，化合物ではない生きた細胞が薬として利用される時代である．このように医薬品が多様化する中で，薬剤学という研究分野から数十年後の創薬の可能性を広げられるような研究ができたらと思う毎日である．筆者はこれまでに所属や立場は変化しているが，がん治療，ナノ粒子，ドラッグデリバリーシステム（DDS）というキーワードで研究を続けてきた．そして 2019 年の 4 月より現職の城西大学薬学部で新しく研究活動を始めているところである．これまでに多くの方に支えられてここまで研究を続けることができた．その貴重な出会いと経験から得られたことを，それぞれの場所での研究内容とともに紹介させていただきたい．

2. 薬剤学との出会い

母校である京都薬科大学は，3 年次生より研究室に配属される．筆者の初めての研究室生活は山本昌教授が主宰する薬剤学分野から始まった．漠然と医薬品の研究に興味があり，有機化学が得意だったこともあり，学部生の初めの頃は薬をつくりたいなら合成の研究室だと思っていた．しかし，実際に研究室選択の時期になると有機合成の研究の面白さをよく理解することができず，薬学の中では応用分野である薬剤学の研究に将来性を感じた．また，山本教授は所属していた部活の顧問でもあり，1 年次生の頃から良くしていただいていたことと，大学の中でも研究活動が活発な分野の一つであった．競争率は高かったが第 1 希望は迷わなかった．当時の薬剤学分野は，山本教授，藤田卓也助教授（現・立命館大学教授），勝見英正助手（現・准教授）の体制だったが，以前所属しておられた岡田直貴助手（現・大阪大学教授）のチームが残っており，筆者はそのチームで樹状細胞への遺伝子導入によるがん免疫療法のテーマに従事することになった．その時筆者に初めて実験を教えてくださった院生の先輩の存在はとても大きかった．研究に対する姿勢はもちろんであるが，後輩への指導，研究室全体を考えた行動力など心から尊敬でき，先輩が修了してしまう前にできるだけのことを学びたいと思った．先輩の実験が終わった後，残りのサンプルをもらって実験の練習をしていたことも懐かしい．いま振り返ると，筆者がこの先も研究を続けていきたいと本格的に決心したのはこの頃だと思う．そして大学院への進学は早々に決めていたが，筆者の学年の薬剤学分野は修士課程への進学希望者が定員を多く超えていたため，入学試験の順位次第で薬剤学の研究室に残れなかった．普段の大学での成績もそれほど良くなかった筆者は定員内には入れず，第 2 希望の研究室にまわること

* 福井県福井市生まれ．2010 年京都薬科大学大学院薬学研究科博士前期課程修了．同年，興和株式会社入社（2012 年退社）．2015 年京都薬科大学大学院薬学研究科博士後期課程修了．2019 年 4 月城西大学薬学部薬粧品動態制御学研究室助教に着任．趣味：自転車，マラソン・駅伝観戦．連絡先：〒350–0295 埼玉県坂戸市けやき台 1–1
E-mail: sitakura@josai.ac.jp

になった．第２希望は京都薬科大学に着任されたばかりの小暮健太朗教授（現・徳島大学教授）が主宰する薬品物理学分野にしていた．願書提出前に研究内容などの話をお聞きしにいった時，小暮教授が前職で北海道大学薬学部の原島秀吉教授のもとにおられた時に開発された多機能性エンベロープ型ナノ構造体（MEND）について知り，当時学部生の筆者には目新しい核酸のデリバリーシステムに興味をもち，若い教授で勢いがあり面白そうということで第２希望を決めた．このような経緯で修士課程からは小暮教授のご指導のもと研究活動を行うことになった．同時に濱進先生（現・京都薬科大学講師）が助教として着任され，また筆者と同様に定員を超えた研究室から第２希望できた数人の同級生とともに大学院生としての生活がスタートした．

3. 核酸デリバリーとがん治療ナノ粒子研究との出会い

筆者は大学院博士課程，博士課程を通じて，がん治療のためのナノ粒子製剤の開発に従事した．小暮教授の研究室での活動が始まった時，候補の中ではsiRNAの経皮送達やインスリン遺伝子による糖尿病治療のテーマなどが人気であった．筆者も核酸デリバリーに興味があったが，まだよく分かっていない時で何でも頑張ろうと思っていたので，希望者のいなかった腫瘍環境のpHに応答するキャリアーというテーマで研究を進めることになった．リポソームの膜物性を腫瘍環境のpHで負電荷から正電荷に変化させることで，血中滞留性と腫瘍環境でがん細胞との相互作用の両機能を発揮させるというコンセプトである．小暮教授はリポソームの血中滞留性付与素材であるポリエチレングリコール（PEG）を用いず内封薬物の体内動態を制御したいとおっしゃった．周りがみんなPEGを使用しているから違うことがしたいという思いがあったようで，喧嘩腰なテーマであったが，筆者は実現に向けて実験を始めた．まず，既存のpH応答性脂質であるコレステロールコハク酸を用いてカチオン性脂質と混合することにより，電荷が反転するリポソームを作製することができた．しかし応答するpHは約5.5付近であり，目指していた腫瘍環境の低pHである6.5付近という微弱なpHでの変化は困難であった．そこで，pKaが6.0付近であるヒスチジンをつなげたペプチドを

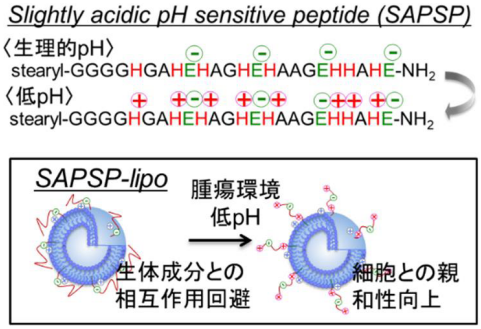


図１　腫瘍環境低pH応答性ペプチド修飾リポソーム

リポソームに修飾した．しかし，ヒスチジンのみをつなげただけでは思うような応答性を得ることはできなかった．どうしたものかと悩む日々が続き，文献や本で何か参考にならないかと色々と探していたところ，たまたま図書館で借りた本の中にタンパク質の立体構造とアミノ酸のpKaに関する記述を見つけた．これは使えるのではないかと思い，ヒスチジンとグルタミン酸をベースにして立体構造を考慮し配列を考え始めた．試行錯誤の上，２つ目に設計した配列のペプチドをリポソーム修飾したとき，pH 7.4からpH 6.5という微弱なpH変化で表面電荷の変化に成功した（図1）[1,2]．このペプチド（SAPSP）を修飾した粒子を初めて評価した時，ゼータサイザーの前で感動したことを今でも覚えている．本テーマに関して基本的な実験からペプチドの設計に至るまで，直接ご指導いただいた濱先生には心から感謝申し上げたい．時には早朝４時に大学に集合して実験につきあってくださったり，深夜でも思いついたことがあると電話で研究の話をしてくださったりした．また，お酒が入ると熱く研究の話をし始めるところもあり，まだ研究者を志して間もなかった筆者にとって大きな刺激を受けた．

修士課程修了後は興和株式会社に就職し，富士研究所の新薬研究部分析グループにて治験薬や開発中の医薬品の品質試験に関する業務に従事した．主に医薬品の分析方法の開発であるが，これまで医薬品分析に関してまともな経験がなかった筆者にとって，基本的なところから直接ご指導いただいたチームリーダーや周囲の方々には心から感謝している．そんな中，心の奥に残っていたアカデミアで研究がしたいという思いが捨てられず，入社して２年後，母校の京都薬科大学に戻り博士後期課程に進学する

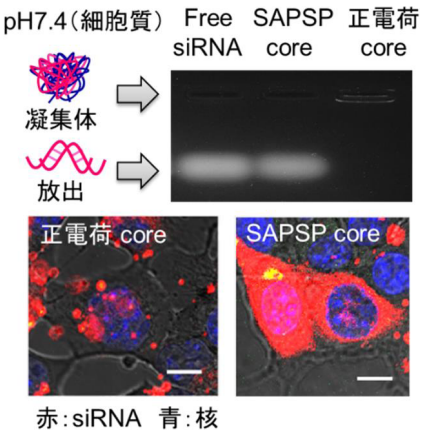


図 2　SAPSP による siRNA の細胞質放出

ことを決心した．

博士後期課程では，SAPSP 修飾リポソームの研究を続けるとともに，さらに細胞内での薬物放出に焦点を当てたテーマを立ち上げた．siRNA などの核酸デリバリーを考えた際，細胞内で複合体から解離した状態になる必要がある．そのために細胞内や細胞との相互作用時に何らかの仕掛けを加えることを考えた．その一つががん細胞膜に発現しているタンパク質の基質となるペプチドをリポソーム膜に組み込むことである．がん細胞のタンパク質に応答して膜の不安定化を生じ，薬物が放出されるキャリアーを開発した[3]．また，SAPSP を siRNA の凝縮剤として利用した siRNA 放出システムも構築した[4]．本システムは細胞質内 pH における SAPSP の電荷の変化により siRNA を効率よく放出することが可能である（図 2）．博士後期課程の 3 年間，就職した企業を辞め学位をとってアカデミアで研究をしたいという気持ちを理解いただき受け入れてくださり，ご指導いただいた小暮教授と濱先生には深く感謝したい．また，当時一緒に過ごした学生たち，学内で会うとよく声をかけてくださった薬剤学分野の山本教授，勝見准教授にも励まされて学位取得まで至ることができた．この場をお借りして改めて感謝申し上げたい．

4. ポストドクトラル（PD）研究員時代の出会い

学位を取得した後は，3 つの異なる研究機関で PD 研究員として経験をした．初めは日本学術振興会の特別研究員の任期がもう 1 年残っていたので，学振の PD として研究活動を続けることにした．京都薬科大学にそのままいることも可能であったが，自分の世界が狭い気がして，他の研究機関にも行ってみたいという気持ちが強かった．研究を進めていくにつれマテリアルにも興味が出てきていたところだったので，脂質などの材料を設計・合成し DDS 分野にも応用されている，当時早稲田バイオサイエンスシンガポール研究所（WABIOS）に所属しておられた宗慶太郎先生（現・早稲田大学准教授）に小暮教授，濱先生のご紹介もあり受け入れてもらえることになった．準備に入ったもののシンガポールでの長期就労ビザがリジェクトされ，種類を変えて何度か申請し通ったのが 3 か月間の短期ビザであった．当初 1 年間行く予定が短くなったことは非常に残念であった．WABIOS はシンガポールの Biopolis という研究機関が世界中から集まる場所の一つのビルの一角にあり，共同研究が盛んに行われていた．初めての海外生活と研究活動に不安がないわけではなかったが，何とかするしかないという思いで渡航した．シンガポールには日本人のコミュニティもあって友人もすぐにでき，生活に関して不自由はなかった．現地の同僚も交えて毎週のようにバーベキューをしたり観光地に行ったりしたが，あまりにも英語ができなかったことから現地の人とうまく会話ができないまま帰国したことが唯一後悔していることである．

研究内容としては，これまでのがん治療 DDS を進める中で，血中滞留性と腫瘍での標的化，細胞内への薬物放出のバランスの制御が最も困難で解決策が未だない課題であったことから，その克服に向けて研究を続けた．SAPSP のように細胞との相互作用を促進するために機能性素子を利用することが多いが，PEG では機能性素子をマスクする恐れがあるため，血中滞留性の問題が残る．機能を保持しながら，血中滞留性も付与できるような機能性素子が必要だと考え，低分子の親水基をリポソームに修飾可能な新規脂質を設計した．短期間の滞在であったが，その間に 2 種類の脂質を合成できたことは自身の研究の大きな励みになった．宗先生は普段は寡黙な方だが，研究の話をすると話が弾み，熱い方だった．また，WABIOS の他の研究員やシンガポール科学技術研究庁（A*STAR），シンガポール国立大学に留学に来ている研究員といった多くの日本人研究者と交流できたことも大きな刺激になった．共通しているのは研究の話を楽しそうにしているところで，筆者

もより一層精進することを心に誓い帰国した．

2つ目は東京工業大学生命理工学院の近藤科江教授のもとでお世話になった．近藤教授は，最近ノーベル賞の受賞で話題のHIF-1を標的にした治療やがんの低酸素のイメージングなど，がんの病態と治療法について研究されている先生である．これまで筆者が行ってきたDDS研究とは異なるが，がんとイメージングという比較的入りやすい研究内容もあり，とても勉強になった．特に生体イメージングに関しては，画像ベースの評価の有用性と難しさを学んだ．筆者は近藤教授と共同研究をしているベンチャー企業のプロジェクトで，ナノ粒子を用いた新しいがん治療方法の開発の実験に従事した．当時近藤研には光音響イメージング装置があり，なかなか出会う装置ではないと思い，何ができるか分からないながらも光音響を使った実験を組んだときは楽しかった．近藤教授からセミナーや進捗報告会で多くのご指摘を受けながら必死に実験をする日々だったが，はっきりと筆者のできていないところをご指導いただき，まだまだ精進が足りないと改めて認識することができたと感謝している．

3つ目は東京理科大学の生命医科学研究所で，詳細は省略させていただくがJSTのプロジェクト研究員としてお世話になった．数人の院生と研究員のみの研究室で，筆者は新しいがん治療法の研究に従事し，プロジェクト推進のため実験づけの毎日であった．この時，がんや難治性とされる疾患に対する新しいアプローチが求められていることを実感した．

このように，PD研究員としてはそれまでに研究していたナノ粒子のDDSとは異なり，がんの病態やがん遺伝子を標的とした新しい治療方法に関する研究に携わる機会を得たことは筆者にとって考え方を改めるきっかけにもなった．それまで漠然とがん治療として薬を入れるナノ粒子を一生懸命つくっていたが，本来は薬物の特徴ごと，届けたい組織ごとに適切なDDSの構築が必要である．まだ有効な治療薬がないとされているすい臓がんの研究に従事していた時は特に，遺伝子レベルでタンパク質発現を制御できる核酸医薬や新しいモダリティの可能性を感じた．DDSが必要とされる疾患に，必要とされる薬物を確実に届けられるような研究を推進していきたいと考えるようになった．また，短期間に環境が変わることはそれだけで多少のストレスを感じてはいたが，その都度新しい人と接していくなかで，研究者として，人として尊敬できる何人もの人に出会えたことは何事にも代えがたいことであった．慣れない分野に行き，少しでも自分の引き出しを増やすことを考えたことで薬学以外での交流も増え，少しは世界が広がったのではないかと思う．

5. 経皮薬物送達システム研究との出会い

2019年4月からはご縁があり杉林堅次教授が主宰する城西大学薬学部の薬粧品動態制御学研究室に助教として採用いただいた．城西大学薬学部は，薬学科（6年制），薬科学科（4年制），医療栄養学科の3学科からなり，筆者が所属する薬粧品動態制御学研究室は薬科学科に属する．講義も研究室も教員も学科ごとに分かれているので，筆者は薬科学科の学生と過ごすことがほとんどである．薬粧品動態制御学研究室は，杉林教授，藤堂浩明准教授のご指導のもと，学部生，修士課程，博士課程の大学院生，留学生，社会人博士課程，企業からの研究生など多くの学生が所属し，研究活動も活発である．その多くは皮膚に関する研究で，主に薬物，化粧品有効成分，機能性栄養素の経皮吸収や経皮適用製剤化，皮内の薬物動態制御法の研究を行っている．また，Internet of Things（IoT）技術を用いた経皮薬物投与システムの開発にも着手し，皮膚という投与ルートの新たな可能性に取り組んでいる．そして髙山幸三招聘教授（前・星薬科大学教授）が杉林教授室の隣に教授室を構えておられ，このようなご高名な先生方に直接ご指導いただけるのは本当に恵まれた環境である．バックグラウンドも違う経皮吸収の研究もほとんど経験がない筆者を受け入れてくださった杉林教授には深く感謝したい．筆者はこれまで，核酸や抗体などの高分子のためのデリバリー技術の研究を進めてきたこともあり，有名な500 Daルールという壁がある経皮吸収に関してあまり明るい分野ではなかった．高分子はそのバイオアベイラビリティの低さをどう克服するかが大きな課題である．当研究室ではマイクロニードルやイオントフォレシス，サーマルポレーションなど，さまざまなデバイスの研究もしており，機械加工技術の進歩によって比較的高分子の薬物も経皮から送達することが現実的になってきた．しかし，高分子になるほど皮内での薬物動態をどう制御するかを考えることが重要である．筆

者がこれまで様々なナノ粒子の設計してきた経験も活かし，皮内での核酸などのデリバリー技術の開発を進め，これまで困難とされてきた経皮の高分子薬物の活用について考えている．現在では，非ラメラ液晶を使った核酸の皮内デリバリー製剤を検討しており，皮内という部位に最適な DDS を構築したい．そして核酸などバイオ医薬の応用に皮膚という投与ルートの可能性も示していくことで新たな展開を目指したい．また，杉林教授が大学教員は学生が好きでないといけないとおっしゃっていたが，どんなにご多忙でも学生と接する時間を大切にしている姿は尊敬の念に堪えない．筆者も関わった学生たちが研究に興味をもち，様々なことに挑戦できるよう筆者自身が研究と真摯に向き合いたい．

6. お わ り に

本稿の執筆にあたり，学部生で初めて研究室に所属してからこれまでを振り返ると，本当に多くの周囲の方々に支えられてきたことを改めて実感し，すべての方々に深く感謝したい．まだまだ駆け出しの身であるが，研究によって少しでも社会に貢献できるよう精進したいと思う．そして最後に，この「若手研究者紹介」執筆の機会をいただいた薬剤学編集委員の先生方に心より感謝申し上げます．

引 用 文 献

1) S. Hama, S. Itakura, M. Nakai, K. Nakayama, S. Morimoto, S. Suzuki, K. Kogure, Overcoming the polyethylene glycol dilemma via pathological environment-sensitive change of the surface property of nanoparticles for cellular entry, *J. Controlled Release*, **206**, 67–74 (2015).
2) S. Suzuki, S. Itakura, R. Matsui, K. Nakayama, T. Nishi, A. Nishimoto, S. Hama, K. Kogure, Tumor microenvironment-sensitive liposomes penetrate tumor tissue via attenuated interaction of the extracellular matrix and tumor cells and accompanying actin depolymerization, *Biomacromolecules*, **18**, 535–543 (2017).
3) S. Itakura, S. Hama, T. Ohgita, K. Kogure, Development of nanoparticles incorporating a novel liposomal membrane destabilization peptide for efficient release of cargos into cancer cells, *PLoS One*, **9**, e111181 (2014).
4) S. Itakura, S. Hama, R. Matsui, K. Kogure, Effective cytoplasmic release of siRNA from liposomal carriers by controlling the electrostatic interaction of siRNA with a charge-invertible peptide, in response to cytoplasmic pH, *Nanoscale*, **8**, 10649–10658 (2016).