

2009/2037A

厚生労働科学研究費補助金
医療機器開発推進研究事業：ナノメディシン研究

光線力学的治療に有効な
多機能型薬剤内封ナノ運搬体の開発
に関する研究

平成 21 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 小 野 努

平成 22 (2010) 年 5 月

厚生労働科学研究費補助金

医療機器開発推進研究事業：ナノメディシン研究

光線力学的治療に有効な多機能型薬剤内封ナノ運搬体の開発
に関する研究

平成21年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 小野 努

平成22（2010）年 5月

目 次

I. 総括研究報告		
光線力学的治療に有効な多機能型薬剤内封ナノ運搬体の開発に関する研究	-----	1
小野 努		
II. 分担研究報告		
1. ポルフィリン内封ナノ粒子製剤の体内動態特性ならびに光線力学療法 による抗腫瘍効果の評価	-----	8
大河原賢一		
2. 光増感剤を高効率に内封する生体適合性ナノ粒子調製プロセスの構築 に関する研究	-----	17
小野努		
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	-----	24
IV. 研究成果の刊行物・別刷	-----	28

厚生労働科学研究費補助金（医療機器開発推進研究事業・ナノメディシン研究）
「光線力学的治療に有効な多機能型薬剤内封ナノ運搬体の開発」
総括研究報告書

光線力学的治療に有効な多機能型薬剤内封ナノ運搬体の開発に関する研究

研究代表者 小野 努 岡山大学大学院環境学研究科資源循環学専攻 准教授

研究要旨

昨年度までの研究成果によって、ポリ乳酸（PLA）-ポリエチレングリコール（PEG）共重合体（PLE）を用いたポリ乳酸系ナノ粒子を薬物内封ナノ運搬体とすることで、疎水性光増感剤の高効率な内封と *in vitro* 実験において有意な殺細胞効果が得られることを明らかにしてきた。

最終年度の本年度は、この PEG-PLA ナノ粒子に疎水性ポルフィリン誘導体を内封し、担癌マウスを用いた *in vivo* 実験により、体内動態挙動および PDT による抗腫瘍効果について検証した。その結果、EPR 効果による腫瘍近傍へのナノ粒子の集積が確認され、腫瘍近傍への光照射によって腫瘍増殖を抑制する効果が確認された。

A. 研究目的

光線力学的治療（PDT）は、通常の抗癌剤を用いた化学療法とは異なり、外部から腫瘍近傍にのみ光を照射することで、局所的な抗癌効果を期待する低侵襲性治療のひとつである。日本でも 1994 年に早期の肺癌、食道癌、胃癌、子宮頸部癌に対して厚生労働省（当時は厚生省）の認可を受け、1996 年には保険採用されている。PDT は腫瘍を選択的に壊死させることが可能なことから、安全性に優れ、外科手術を必要としない患者のクオリティーオブライフ（Quality of life, QOL）にも考慮した低侵襲性の抗癌治療法あり、今後の普及が強く期待される治療法である。

しかしながら、今日十分に普及できていない原因として、治療に必要なレーザーが大型で高価だったことや早期癌のみの適応だったことに加え、他に目立った副作用がないなかで唯一といえる副作用が光過敏症

であり、それが意外に大きな問題であったことが原因だと考えられている。PDT で用いる薬物は一般に言う光増感剤である。光を感受して励起し、励起三重項状態から酸素へのエネルギー移動によって一重項酸素を生成し、その一重項酸素が細胞を壊死させていくというものである。そのため、静脈投与によって患部以外の細胞へ取り込まれた光感受性物質が自然光によっても作用することで光過敏症が生じるため、PDT を受けた患者は治療後に一定期間の暗室での生活を余儀なくされる。これまでに厚生労働省で認可されている光感受性物質には、Photofrin®、talaporfin sodium（Laserphyrin®）、加齢黄斑変性症（患者数約 35 万人）を対象とした Verteporfin（Visudyne®）の 3 種類があり、第一世代の Photofrin® は投与後に約 4 週間の遮光が必要であったが、第二世代の Laserphyrin は 3～7 日間に短縮されているものの依然

遮光期間が不可欠である。このように、患者の QOL を向上させるためには更なる副作用軽減が必要であり、PDT 用薬物キャリアによるドラッグデリバリーの改善には大きな期待が込められている。

本研究では、そのような研究背景をもとにして、PDT に有効な疎水性光増感剤を高効率で内封可能な薬物キャリア（ナノ運搬体）を開発し、静脈棟よによる PDT への応用を研究目的としている。疎水性の高い光増感剤をナノスケールの薬物キャリアに内封し、そのキャリアには高い血中滞留性を付与することで、長時間血液中を循環し、腫瘍近傍における未成熟血管壁から内部へ浸透して滞留する EPR 効果（enhanced permeation and retention effect）を利用した薬物の集積が期待できる。ここで、血中滞留時の薬物徐放が大きいと正常細胞への光増感剤の分布が広がり、上述のような光過敏症を誘発すると考えられるため、本研究の DDS に関するコンセプトは、薬物を安定にナノ粒子中へ保ちつつ（低徐放性）、高い血中滞留性を確保し、高価なターゲティング素子を付与することなく、PDT の特性を活かした局所的な低侵襲治療を実現することにある。体内動態制御を専門とする薬学系研究者と共同で研究を行うことによって、ケミカルエンジニアのエッセンスを活かした独自アプローチによってナノ運搬体を新たに構築し、PDT の臨床応用を目指して研究を進めた。

B. 研究方法

光増感剤内封ナノ運搬体の調整方法の最適化

詳細については各分担研究報告書を参照下さい。

担癌マウスを用いた光増感剤内封ナノ運搬体の体内動態特性および抗腫瘍効果

詳細については各分担研究報告書を参照下さい。

C. 研究結果

光増感剤内封ナノ運搬体の調整方法の最適化

光増感物質のひとつであるポルフィリンは水溶性が非常に低い一方で、油への溶解性は比較的高いことから、水中油滴型 (O/W) エマルションの調製をベースにして、最終的に PEG-PLA ナノ粒子に内封することを目指し、その調整条件の最適化を行った。

PDT に有効な光増感物質は、600 nm 以上の波長域の光を吸収して一重項酸素を産生することが望ましく、旧（株）光ケミカル研究所の阪田によって、光波長域に吸収帯を有するポルフィリン誘導体の開発を行ってきた。結果として、672 nm に吸収帯を有するポルフィリン誘導体を合成したが、構造異性体の関係にある二種類のポルフィリン誘導体を用いるとナノ粒子への内封率が低いことが実験的に示され、精製された片一方のポルフィリン誘導体のみを用いると凝集を抑制することが可能となることが分かった。ただし、生じた凝集体はマイクロスケールのものであり、0.22 μm の限外濾過フィルターで容易に取り除くことが可能であり、最終的なナノ粒子のサイズには影響を及ぼさないことも明らかになった。これらの結果から、本手法では、疎水性ポルフィリンは溶媒である酢酸エチルに溶解さえすれば、ほぼ 100% 近くの光増感剤を内封可能であると言える。

担癌マウスを用いた光増感剤内封ナノ運搬体の体内動態特性および抗腫瘍効果

調製したポルフィリン内封ナノ粒子を一定時間血中に滞留させることが出来れば、EPR 効果により腫瘍組織への効率的な

送達が可能となり、*in vivo*における光線力学療法の効果期待される。そこで、ポルフィリン内封ナノ粒子の静脈内投与後の体内動態特性を評価し、その DDS 製剤としての有用性を評価した。まず、静脈内投与後の血中滞留性を評価した。一般に微粒子は静脈内投与後、細網内皮系による異物除去を受けることが知られているが、EPR 効果を利用した腫瘍組織への送達を期待する場合、こうした取り込み機構を回避し、高い血中滞留性を持つ事が重要となる。本検討では実験動物としてラット及び Colon26 細胞による固形がんモデルマウスを使用した。

血中濃度推移をこれら両動物において評価した結果、いずれの動物においても当研究室でこれまでに検討を加えた他の微粒子製剤と比較して、同程度以上の血中滞留性を示した。これは、微粒子表面に存在する PEG 鎖により水和層が形成され、オプソニン化を抑制するという当初の目的を達成したものである。

続いて、血中滞留性評価後のナノ粒子の組織分布特性について、C26 担癌モデルマウスを用いて評価した。腫瘍組織への経時的なナノ粒子の蓄積は、EPR 効果により特徴的に見られるものであり、得られた結果から 25 時間以降においても更にナノ粒子が更に蓄積していく可能性が考えられた。一方、光線力学療法における安全性の面で、特に問題となる光線過敏症は、全身に移行したポルフィリンの日光による活性化に起因するものである。本検討ではマウス大腿部から摘出した皮下の筋肉組織への移行を評価し、全ての時間においてほとんど移行性は認められなかった。これらのことより、本検討において調製したポルフィリン内封ナノ粒子製剤は、PDT 治療の成果に影響を及ぼす光増感剤の腫瘍組織への送達効率の改善のみならず、治療後の副作用の低減も期待出来ることが示唆された。

最後に実際に担がんモデルマウスを用いた光線力学療法の評価を行った。光線力学療法による治療を施すことで、コントロール群に対する腫瘍増殖の抑制が観

察された。一方、光照射によりポルフィリンの活性化の回数を増やすことには、治療効果の改善は認められなかった。

これらの結果を受け、今後は、腫瘍組織に対するポルフィリンの移行パターンをより詳細に明らかにすることで、最適な光照射のタイミングを決定する必要があると考えられる。さらに光源については、今回は *in vitro* において使用した赤色光源を照射時間のみ変更して *in vivo* 実験にも適用したが、腫瘍内部まで十分な光が到達していたかについては不明であり、今後より適切な照射装置の使用を検討する必要がある可能性も考えられる。

D. 考察

PDT に有効な薬物ナノキャリアへ高い内封効率を達成するためには、酢酸エチルへの完全な溶解性を光増感剤に付与することであり、それによってほぼ 100% の内封効率を達成することができると期待される。また、溶解せずに生じた光増感剤の凝集不溶体は限外濾過フィルターでナノ粒子と容易に分離することも可能であることから、PEG-PLA ナノ粒子への薬物内封プロセスの最適化を達成することができた。

この調製された光増感剤内封 PEG-PLA ナノ粒子は、血中で高い滞留性を示した。これはおそらくナノ粒子表面に存在する PEG 層によるオプソニン化の抑制が原因であると考えられ、一方、腫瘍近傍へは徐々に蓄積していくことが実験的に示され、腫瘍近傍の血管組織の粗な部分を利用した EPR 効果を示した典型的な結果であるといえる。

この薬物内封ナノ粒子を用いた PDT 実験においては、1 回あるいは 5 回の光照射による腫瘍サイズの抑制が観察されたが、回数による差は大きくなかった。こ

の原因としてまず考えられるのが、PDT後の腫瘍組織内の環境変化により、腫瘍組織に存在するポルフィリンの構造が破壊された可能性である。一般に、光線力学的治療後、腫瘍組織内では一重項酸素だけでなく、スーパーオキシドアニオンラジカル・ヒドロキシルラジカルなどの活性酸素種(ROS)が産生され、連鎖的な過酸化反応が起こっている。こうした活性の強い化合物の作用で腫瘍に到達したポルフィリンが不活化し、2回目以降の照射による一重項酸素産生能が低下した事が考えられる。

5回照射群において効果に改善が見られなかった原因としてもう一つ考えられるのは、最初に光を照射する段階において腫瘍組織に蓄積したポルフィリンが、がん細胞に対し殺細胞効果を発現後、死細胞内に取り残される事で、2回目以降の照射においては別の細胞に対する殺細胞効果に寄与できなくなる可能性である。この考察に基づくならば、ポルフィリンは経時的に腫瘍に到達し、その時点において腫瘍組織に存在するポルフィリン量に応じた一重項酸素が産生するものの、照射の時点において生きたがん細胞内に存在し、有効な殺細胞効果を発揮可能なポルフィリン量が僅かである為、結果として得られた腫瘍増殖効果が限定されたと考えることができる。

今後は、ナノ粒子から腫瘍細胞への光増感剤の移行メカニズムや効果的な照射時間についてさらに検討を進めていくことが重要だと考えられる。

E. 結論

本研究の研究成果として、再現性良く安定な光増感剤内封 PEG-PLA ナノ粒子調製方法を確立することができ、我々が調製したナノ粒子製剤は、静脈内投与後高い血中滞留性を示し、EPR 効果により経時的に

腫瘍組織へ蓄積する事が明らかとなった。これは、ナノ粒子製剤表面の PEG 鎖の存在により、生体の異物認識機構を回避した為と推察された。さらに、本製剤は *in vivo* 条件においても抗腫瘍効果を発揮可能であることが示された。

以上、本研究により得られた知見は、有効且つ安全な PDT 治療を目指した光増感剤のナノ粒子製剤化に対して有益な設計指針を提供するものと考えられる。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) K. Ogawara, K. Un, K. Tanaka, K. Higaki and T. Kimura, *In Vivo Anti-Tumor Effect of PEG Liposomal Doxorubicin (DOX) in DOX-Resistant Tumor-Bearing Mice: Involvement of Cytotoxic Effect on Vascular Endothelial Cells*, *J. Controlled Rel.*, 133(1), 4-10 (2009)
- 2) K. Tomita, T. Ono, *Heterogeneous Polymerization with Polyaspartate Macromonomer Having Vinyl Pendant Groups. 1. Synthesis of Macromonomer and Dispersion Copolymerization of Styrene*, *J. Polym. Sci. A*, 47, 762-770 (2009)
- 3) M. Muranaka, H. Yoshizawa, T. Ono, *Design of polylactide grafted copolymeric stabilizer for dispersion polymerization of D,L-lactide*, *Colloid Polym. Sci.*, 287, 525-532 (2009)
- 4) K. Tomita, T. Ono, *Heterogeneous Polymerization with Polyaspartate Macromonomer Having Vinyl Pendant Groups. 2. Control of Particle Diameter*

and Diameter Distribution in Dispersion Copolymerization, *J. Polym. Sci. A*, 47, 2281-2288 (2009)

5) M. Muranaka, T. Ono, Role of Dispersion Stabilizer with Hydroxy Groups in Preparation of Monodisperse Polylactide Microspheres, *J. Polym. Sci.*, 47 5230-5240 (2009)

6) F. Tanimoto, Y. Kitamura, T. Ono, H. Yoshizawa, A versatile biodegradable polymer with a thermo-reversible/irreversible transition, *ACS Appl. Mater. Interf.*, 2, 606-610 (2010)

7) M. Muranaka, K. Hirota, T. Ono, PEG-PLA nanoparticles prepared by emulsion solvent diffusion using oil-soluble and water-soluble PEG-PLA, *Mater. Lett.*, 64, 969-971 (2010)

8) 小野努, 大河原賢一, ポリ乳酸系ナノ粒子の調製と光線力学的治療への応用, *ケミカルエンジニアリング*, 55, 63-69 (2010)

9) T. Harada, T. Kanda, K. Suzumori, T. Ono, S. Iwabuchi, K. Ito, K. Ogawara, K. Higaki, An emulsion generating microchannel device oscillated by 2.25MHz ultrasonic vibrator, *Japan J. Appl. Phys.*, in press

2. 学会発表

1) 大河原賢一, 運 敬太, 檜垣和孝, 木村聰城郎, ドキソルビシン内封 PEG 修飾リポソームの P-糖タンパク質高発現がん細胞に対する in vivo 抗腫瘍効果とその機

構解析, 第2回国際シンポジウム「第2回高度医療都市を創出する未来技術国際シンポジウム創薬パイライン: 抗がん剤・抗感染症薬の合成と評価系」, 岡山, 2009年2月5日

2) 大河原賢一, Tamer Shehata, 檜垣和孝, 木村 聰城郎, ドキソルビシン内封ニオソームの体内動態特性および抗腫瘍効果の評価, 日本薬剤学会第24年会, 静岡, 2009年5月21-23日

3) 吉澤 雄太, 河野 裕允, 大河原賢一, 檜垣 和孝, 木村 聰城郎, パクリタキセル含有新規微粒子製剤の体内動態特性及び抗腫瘍効果の評価, 第25回日本DDS学会, 東京, 2009年7月3-4日

4) 西口 修平, 渡 亮輔, 大河原賢一, 檜垣 和孝, 木村 聰城郎, ドキソルビシン内封アルブミン修飾 PEG リポソームの体内動態特性とその抗腫瘍効果の評価, 第25回日本DDS学会, 東京, 2009年7月3-4日

5) Shigeki Abe, Keita Un, Taka-aki Nakao, Ken-ichi Ogawara, Toshikiro Kimura, Kazutaka Higaki, Anti-tumor effect of angiogenesis inhibitor SU5416 formulated in PEGylated emulsion, 第24回日本薬物動態学会年会, 京都, 2009年11月27-29日

6) 白石太朗, 大河原賢一, 木村聰城郎, 檜垣和孝, 小野努, 木村幸敬, ポルフィリン封入ポリ乳酸-ポリエチレングリコール共重合体ナノ粒子の体内動態特性とPDTによる抗腫瘍効果の評価, 第130回日本薬学会, 岡山, 2010年3月28-30日

7) 鷺尾直紀, 小野努, 木村幸敬, 単分散ゲル粒子内での大腸菌の増殖挙動, 第11回化学工学会学生発表会【岡山大会(西日本地区)】, 岡山, 2009年3月7日

- 8) 渡邊貴一, 小野努, 木村幸敬, 液中乾燥法によるポリ乳酸ミクロスフェアの調製とその形態制御, 第 11 回化学工学会学生発表会【岡山大会 (西日本地区)】, 岡山, 2009 年 3 月 7 日
- 9) 大浦浩平, 久保田潤, 小野努, 木村幸敬, 界面活性 TEMPO 誘導体を用いた不均一系重合による高分子微粒子調製, 化学工学会第 74 年会, 横浜, 2009 年 3 月 18-20 日
- 10) 小野努, 廣田健, 木村幸敬, 白石太朗, 大河原賢一, 檜垣和孝, 阪田功, 光線力学的治療に有効な光増感剤内封ナノ粒子の開発, 第 19 回日本光線力学学会学術講演会, 横浜, 2009 年 7 月 4 日
- 11) T. Ono, K. Hirota, T. Shiraishi, K. Ogawara, K. Higaki, I. Sakata, Preparation of nanoparticles containing photosensitizer with diblock copolymer, Particles 2009, Berlin, 2009 年 7 月 11-14 日
- 12) 渡邊貴一, 小野努, 木村幸敬, ポリ乳酸系ジブロックコポリマーを用いた多孔質ミクロスフェアの調製とその構造制御, 化学工学会 第 41 回秋季大会, 広島, 2009 年 9 月 16-18 日
- 13) 土井堯, 富田恵介, 小野努, 木村幸敬, ポリコハク酸イミド誘導体マクロモノマーを用いた分散共重合による温度応答性ヘア粒子の調製, 化学工学会 第 41 回秋季大会, 広島, 2009 年 9 月 16-18 日
- 14) 吉田圭志, 神尾英治, 小野努, 木村幸敬, 単分散な架橋メラミンサブミリカプセルの調製と膜厚制御に関する検討, 化学工学会 第 41 回秋季大会, 広島, 2009 年 9 月 16-18 日
- 15) 鷺尾直紀, 小野努, 木村幸敬, ハイスループットスクリーニングを目的とした単分散ゲル粒子内での大腸菌培養, 第 61 回日本生物工学会大会, 名古屋, 2009 年 9 月 23-25 日
- 16) 平田征丈, 小野努, 木村幸敬, 界面活性 TEMPO 誘導体を用いた中空構造をもつ高分子微粒子の調製, 第 2 回化学工学 3 支部合同北九州大会, 北九州, 2009 年 10 月 30-31 日
- 17) 岸佑磨, 小野努, 木村幸敬, 生分解性高分子界面活性剤を用いた有機溶媒中への DNA 抽出, 第 2 回化学工学 3 支部合同北九州大会, 北九州, 2009 年 10 月 30-31 日
- 18) 岩渕草太郎, 久野優子, 久保田潤, 小野努, 木村幸敬, 転相温度乳化法を利用した単分散ナノスフェア調製プロセスの開発, 第 18 回ポリマー材料フォーラム, 千葉, 2009 年 11 月 26-27 日
- 19) 渡邊貴一, 村中誠, 小野努, 木村幸敬, ポリ乳酸系ジブロック共重合体を用いた多孔質微粒子の調製とその構造制御, 第 18 回ポリマー材料フォーラム, 千葉, 2009 年 11 月 26-27 日
- 20) 平田征丈, 大浦浩平, 小野努, 木村幸敬, 界面制御ラジカル重合を活用した高分子微粒子の調製, 材料化学システム工学討論会 2009, 東京, 2009 年 12 月 6-7 日
- 21) 渡邊貴一, 村中誠, 小野努, 木村幸敬, 液中乾燥法によるポリ乳酸系多孔質ミクロスフェアの調製と構造制御に関する

る検討，材料化学システム工学討論会
2009，東京，2009年12月6-7日

22) 小野努，廣田健，木村幸敬，白石太朗，大河原賢一，光線力学的治療に有効なポリ乳酸系ナノ粒子の開発，材料化学システム工学討論会 2009，東京，2009年12月6-7日

23) 加藤貴士，小野努，木村幸敬，液中乾燥法によるポリコハク酸イミドをコアとしたコアシェル粒子の調製，第12回化学工学会学生発表会【福岡大会（西日本地区）】，福岡，2010年3月6日

24) 伊東一行，安川政宏，小野努，木村幸敬，マイクロ流路を利用した単分散複合エマルジョン調製における制御因子の検討，化学工学会第75年会，鹿児島，2010年3月18-20日

25) 渡邊貴一，小野努，木村幸敬，溶媒拡散法による単分散 PLA ミクロスフェアの調製，化学工学会第75年会，鹿児島，2010年3月18-20日

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案特許

なし

3. その他

なし

厚生労働科学研究費補助金（医療機器開発推進研究事業・ナノメディシン研究）
分担研究報告書

ポルフィリン内封ナノ粒子製剤の体内動態特性ならびに
光線力学療法による抗腫瘍効果の評価

分担研究者：大河原 賢一 岡山大学 大学院医歯薬学総合研究科 薬学系

研究要旨

本研究において我々は、昨年度までに、光増感剤である脂溶性のポルフィリン誘導体の腫瘍組織への送達効率の改善を目指し、本化合物を高効率、且つ安定に内封したナノ粒子製剤を調製し、本製剤の *in vitro* 殺細胞効果、放出特性に関して種々評価を加えてきた。そこで本年度は、*in vivo* 体内動態特性および *in vivo* 抗腫瘍効果に焦点を絞り、多面的な評価を加えた。まず、ラット及び固形がんモデルマウスにおける静脈内投与後の体内動態特性の評価を行った。その結果、いずれの実験動物においても、他の血中滞留型の微粒子製剤と比べて遜色のない高い血中滞留性を示した。また、固形がんモデルマウスにおける腫瘍組織への移行量を評価した結果、本製剤が経時的に腫瘍組織へと移行することが明らかとなった。一方で、光過敏症の原因となる光増感剤の皮膚に対する移行性の指標として、製剤の皮下筋肉組織に対する移行性を評価したところ、その移行性は極めて低く、本製剤を利用した PDT 治療の安全性を示唆する結果であった。次に、本製剤の固形がんモデルマウスに対する抗腫瘍効果の評価した結果、本製剤投与後、腫瘍組織に対して局所的な光照射を行うことにより、無処置群と比較して有意な腫瘍増殖抑制傾向が認められ、本製剤を利用した治療の有用性が示された。

A. 研究目的

現在、がんは先進諸国において死因の上位に挙げられる疾病であり、本邦においても 1980 年頃から最大の死因となっている。がん治療には、外科手術、放射線療法、抗がん剤による化学療法のいわゆる三大療法が主流であり、これらを併用して行われることが多い。これらはいずれも優れた治療法でありながら、それぞれ固有の問題点を抱えているのが現状である。医学の進歩と共に高齢がん患者のさらなる増加が予測される本邦においても、医療におけるクオリティーオブライフ (QOL) の改善は重要な課題となっており、従来の三大療法を改善することに限らず、より安全性のより高い新規の治療法を開発することが急務となってい

る。そうした中で、通常のがん剤を用いた化学療法とは異なり、外部から腫瘍近傍にのみ光を照射することで、局所的な抗腫瘍効果を期待する低侵襲性療法であり、今後の普及が強く期待されている新しい治療法として、光線力学療法が挙げられる。

上記のように光線力学療法は、非常に有望な治療法であるものの、がん治療における光線力学療法は、未だ汎用されるには至っていない。その原因として、治療に必要なレーザーが大型で高価であった点はさることながら、進行性のがんに対する治療効果が不十分である点に加え、唯一であるとも言える副作用の光線過敏症の為に、治療後暗室での生活を余儀なくされる事が挙げられる。しかし近年の

研究開発により、ダイオードレーザーをはじめとした安価な光源が開発され、それに伴って再び光線力学療法の有用性が見直されるようになった。また光増感物質にも多くの改良が加えられ、従来の治療では約4週間の遮光期間が必要とされた第一世代 Photofrin に代わる光増感物質として、新たに Laserphyrin が認可され、これは QOL 低下の一因とも言えるこの遮光期間を3～7日にまで短縮した。

こうして PDT の治療効果ならびに患者の QOL を改善する新規光増感物質の研究開発が活発に行われるようになった一方で、腫瘍組織に対して親和性が高く、強い一重項酸素産生能を持つものの、難水溶解性であるために十分な量を投与できない光増感物質が数多く見出されるようになってきている。またこれらの光増感剤に対して一定の溶解性を担保するために、界面活性剤を含む有機溶剤を使用する際には、有機溶剤による全身性の毒性を考慮しなければならず、これらの光増感剤の開発に際しては十分な注意を要する。こうした問題を克服するアプローチとして、ドラッグデリバリーシステム (DDS) 技術の利用がある。各種 DDS 技術の中でも、光増感剤を十分に可溶化し、高効率、且つ安定に製剤中に搭載するための最適なアプローチとして、微粒子性薬物キャリアの利用が挙げられる。さらに用いる微粒子性薬物キャリアを適切に設計することにより、光増感剤の腫瘍組織に対する送達効率も改善できるため、本アプローチは PDT の治療効果そのものも大きく改善する事が期待できる。

そこで我々は本研究において、脂溶性ポルフィリンを、ポリ乳酸-ポリエチレングリコール共重合体からなるナノ粒子 (PLA-PEG ナノ粒子) に内封した製剤を調製し、その PDT 治療への応用性を、製剤の物理化学的性質、in vitro 殺細胞効果、製剤の体内動態特性、及び抗腫瘍効果などの観点から多面的に評価することを試みた。

B. 研究方法

【ポルフィリン封入ポリマーミセルの調製とその機能評価】

ポルフィリン封入ポリマーミセルの調製

今回検討に用いたポルフィリンは難溶解性であることから、ブロックポリマー (PLE) を用いてミセル化する事で、実験に用いた。ポリ乳酸 (疎水部) とポリエチレンオキサイド (親水部) からなるブロックポリマーは、共同研究者である小野先生より御供与頂いた。ブロックポリマーは以下の分子量 (Mw) と HLB 値を有するものを使用した。

今回使用したポリマーの物性

ポリマー	PLA 類 (Mw)	PEG 類 (Mw)	総分子量 (Mw)	HLB 値
脂溶性 PLA-PEG (A)	28520	4352	32872	2.65
脂溶性 PLA-PEG (B)	9653	4352	14005	6.21
水溶性 PLA-PEG	882	4352	4895	16.63

以下に調製方法を簡単に示す。ブロックポリマー並びにポルフィリンを酢酸エチルに溶解し、水溶性ブロックポリマーを溶解した水と共に超音波条件下で水中油滴型エマルジョンを形成した。これを十分量の水に添加する事で、酢酸エチルを水中に溶解させ、遠心分離を数回行うことで酢酸エチルを完全に除去し、最終的にポルフィリン封入ポリマーミセルを得た。調製法の詳細は本報告書、小野先生担当分を参照されたい。

粒子径の測定

粒子径の測定は Malvern 社の Zetasizer-Nano を用いて動的光散乱法により行った。

【体内動態特性の評価】

(1) 血漿中濃度推移

体内動態の評価は、トレーサーとして ^3H -CHE を組み込んだナノ粒子を用いて行った。ラットはペントバルビタール麻酔下で、大腿静脈よりナノ粒子（ポルフィリンとして 0.3、3 mg/kg）を投与し、一定時刻に頸静脈よりヘパリナイズしたシリンジで採血を行った。C26 担がんモデルマウスは、ペントバルビタール麻酔下で開腹し、大静脈より同様に採血を行った。採取した血液を遠心（3,000×g, 3 min）し、血漿 50 μL を採取し、クリアゾルを 10 mL 加えた後、液体シンチレーションカウンター（Beckman Coulter 社）により、 ^3H -CHE の放射活性からナノ粒子の定量を行った。

(2) 薬物速度論パラメーターの算出

各パラメーターは得られたラット毎の血漿中濃度推移に対して、非線形最小二乗法プログラム MULTI を用いたあてはめ計算を行い算出した。

(3) 臓器分布

固形がんモデルマウスの尾静注より投与後各時間において、マウスをペントバルビタール麻酔下で、大静脈よりヘパリナイズしたシリンジで採血した後、門脈、及び肝静脈を切断すると同時に大静脈を切断することにより脱血死させ、肝臓、脾臓、肺、腎臓、心臓、腫瘍、大腿筋を摘出した。摘出した臓器は生理食塩水で洗浄し、臓器全重量を測定後、その一部として約 50 mg を秤量した。ソルバブルを 1 mL 加えて 50°C で 2 時間インキュベートすることにより臓器を溶解させ、2 N HCl 286 μL を加えて中和した後、クリアゾルを 10 mL 加え、定量を行った。

(4) 担がんマウスを用いた抗腫瘍効果の評価

C26 細胞を培養フラスコ上で培養し、80%コンフルエントの状態の細胞を回収し、 1×10^7 cells/mL の濃度に調製し、BALB/c マウスの背部に皮下投与 (1×10^6

cells/0.1 mL/mouse) した。腫瘍組織の体積が約 100 mm³ に達した時点でポルフィリンとして 3 mg/kg で静脈内投与し、その後の腫瘍体積を継続的に測定した。腫瘍体積は、以下の式に従って算出した。

$$\text{腫瘍体積 (mm}^3\text{)} = (\text{長径}) \times (\text{短径})^2 \times 0.52$$

(倫理面への配慮)

動物実験に関しては、岡山大学動物実験管理委員会による承認を得た上で、当委員会によって作成された規定に則って実施した。さらに腫瘍がある規定のサイズに達した時点でマウスを安楽死させるなど、実験動物に過度の苦痛を与えないよう生命倫理的な配慮を施した。

C. 研究結果

調製したポルフィリン封入エマルションの物性評価

調製したポルフィリン封入ナノ粒子の物理化学的特性を示した。

ナノ粒子	粒子径 (nm)	PdI	電位 (mV)
ポルフィリン内封ナノ粒子(A)	63.3	0.120	-7.11
ポルフィリン内封ナノ粒子(B)	78.8	0.225	+0.42
空ナノ粒子(A)	54.7	0.142	
水溶性ポリマー未使用時(B)	245.9	0.391	

PdI: polydispersity index (分散性の指標)

これまでの知見により、EPR 効果を効率的に発揮するために必要な粒子径は約 100 nm 前後であると考えられている。Table に示した通り、粒子径はポルフィリンを含まない空のナノ粒子で 50-60 nm、ポルフィリンを内封したナノ粒子で、共に 70-90 nm 程度の粒子径を示しており、EPR 効果を利用してポルフィリンを効率よく腫瘍組織への送達するために適当な粒子径を有することが示唆された。Table 中にも示したように、水溶性 PLA-PEG を使用しない条件において調製したナノ粒子は、200-300 nm 程度の粒子径、かつ比較的大きな PdI 値を示しており、水溶性 PLA-PEG を利用することにより、内封ポル

フィリンの効率的な腫瘍組織への送達に必要な粒子径を有する微細なナノ粒子を、より均一に調製可能となることが示された。従って以降の検討においては、比較的 PdI 値が小さく、より単一のナノ粒子の形成が確認されたポリマー A を用いて調製したポルフィリン内封ナノ粒子 A を実験に使用することにした。

ポルフィリン内封ナノ粒子の体内動態特性の評価

(1) 血漿中濃度推移

次に、調製したポルフィリン内封ナノ粒子静脈内投与後の体内動態特性を評価した。評価は、生体内非置換性、非代謝性物質として知られる ^3H cholesteryl hexadecyl ether (^3H -CHE)を、ナノ粒子調製時の油相画分にトレーサーとして添加し、本成分に由来する放射活性を液体シンチレーションカウンターにより測定することで行った。尚、トレーサーとして添加した ^3H -CHE が安定にナノ粒子中へと取り込まれることを、予めゲルろ過により確認している。実験には、同一個体から複数の血漿中濃度を測定出来る Wistar 系雄性ラットと、ナノ粒子の腫瘍組織への移行を含めた臓器分布を評価するために C26 細胞を背部皮下に移植することにより作製した固形がんモデルマウスを併せて使用した。

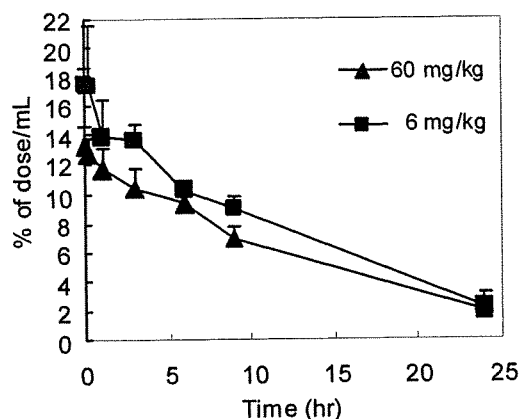


Fig. 4 Plasma Concentration-Time Profiles of Nanoparticles after Intravenous Injection into Normal Rats

高分子ミセルを用いた他の研究グループにより、ミセルの血中濃度がミセル形成に用いたブロックポリマーの臨界ミセル濃度以下に低下した際に、血中でのミセルの安定性が急激に低下する可能性が示唆されている。そこで今回我々が調製したナノ粒子が、同様の挙動を示すのか明らかにするため、10倍異なる2種類の投与量にて、ナノ粒子を正常ラットに静脈内投与した後の血中濃度推移に関して評価を加えた。ラット静脈内投与後の血漿中濃度推移は、ラット麻酔下、大腿部から静脈内投与し、各時間に頸静脈から少量ずつ採血を行い血漿中の ^3H CHE 標識ナノ粒子量を測定することにより評価した。投与量はナノ粒子を構成する油溶性ポリマー量として、60 mg/kg 及び 6 mg/kg にてそれぞれ投与した (Fig. 4)。さらに得られた結果より、各種薬動学的パラメーターを算出した (Table 1)。

ラットにおける解析の結果、分布容積 (Vd) において投与量依存的な増大が認められたものの、他のパラメーターにおいては、用いた投与量による有意な差は認められず、いずれの投与量においてもほぼ同様の値が得られた。これらのことから、今回我々が調製したナノ粒子は、今回検討を加えたこれら投与量の範囲で、その体内動態特性が線形性を示すこと、また血液中において粒子としてのインテグリティを保っていることが示唆された。さらに得られた AUC の値は、これまでに当研究室において検討を加えてきた他の血中滞留型のナノ粒子と比べても遜色のない大きいものがあった。

次に、ナノ粒子の C26 固形がんモデルマウスにおける血漿中濃度推移を、PLA-PEG 量として 60 mg/kg の投与量にて静脈内投与することにより評価した。血漿の回収は投与後各時間においてマウスを開腹し、大静脈から採血することにより行った (Fig. 5)。その結果、正常ラットにおける結果と同様に、固形がんモデルマウスにおいても高い血中滞留性を示すことが明らかとなった。

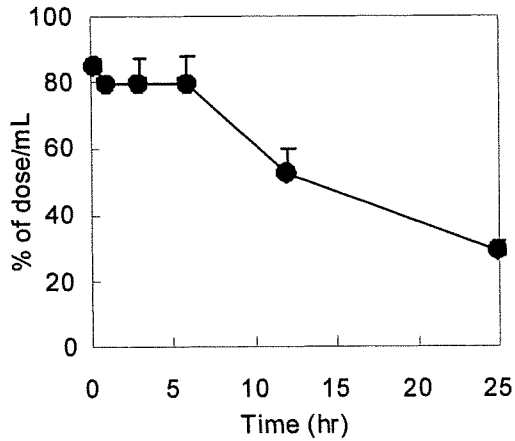


Fig. 5 Plasma Concentration-Time Profiles of Nanoparticles after Intravenous Injection into C26-Bearing Mice

Table 1 Pharmacokinetic Parameters of Porphyrin-Loaded Nanoparticles after Intravenous Injection into Normal Rats and C26-Bearing Mice

Pharmacokinetic parameters	Rat	Rat	Mouse
Dose	60 mg/kg	6 mg/kg	60 mg/kg
AUC (% of dose/mL · hr)	176.71 ± 13.84	211.72 ± 37.09	2070.7
CL _{int} (mL/hr)	0.57 ± 0.05	0.48 ± 0.08	0.048
V _d (mL)	7.65 ± 0.71 **	5.32 ± 0.24	0.929
K _{el} (hr ⁻¹)	0.075 ± 0.01	0.09 ± 0.01	0.052

(2) 組織分布特性の評価

ポルフィリン内封ナノ粒子の組織分布特性は、PDTにおける治療効果だけでなく、治療後の光線過敏症に代表される副作用にも大きく影響する。そこで先ほど結果を示した C26 固形がんモデルマウスにおけるナノ粒子の血中濃度を測定するためにマウスから採血を行う際に、各種臓器中へのナノ粒子の蓄積量を併せて定量した (Fig. 6)

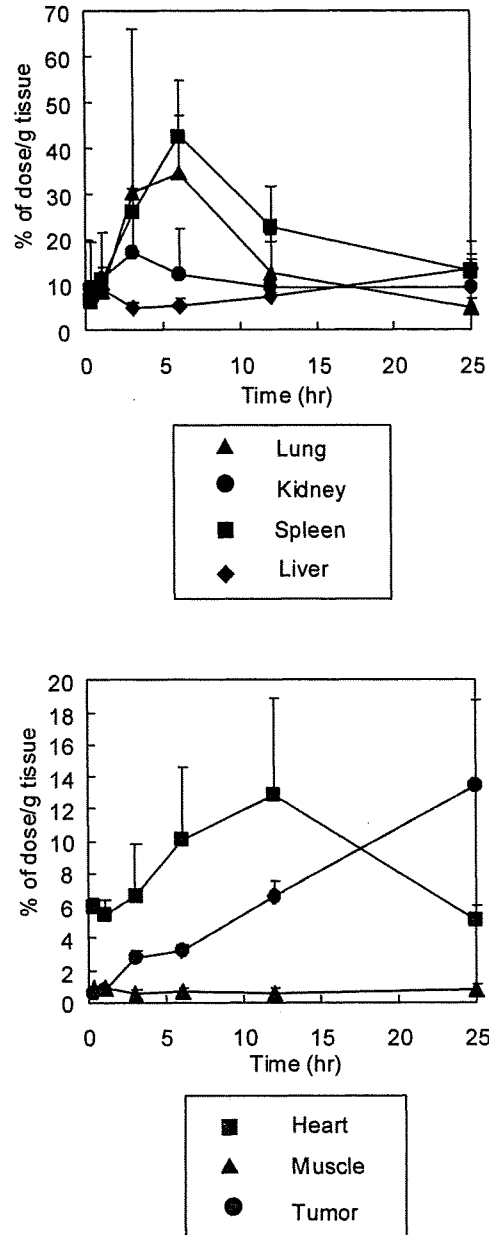


Fig. 6 Tissue Distribution of Nanoparticles after Intravenous Injection into C26-Bearing Mice

その結果、ナノ粒子は静脈内投与後、脾臓と肺に比較的多く移行することが示された。一方で、リポソームやエマルションといった一般的なナノ粒子の主要な移行臓器である肝臓への移行量は、それほど高くないことも併せて示された。一方で、PDTによるがん治療に直接的な影響

を与えると考えられる腫瘍組織への移行量は、測定を行った時間範囲において、経時的に増加することが示され、これは前述した EPR 効果を駆動力としたものであると推察された。また、光線過敏症などの PDT 治療の副作用の原因となるポルフィリンの皮膚組織への移行性の指標として、ナノ粒子の皮下筋肉への移行量も測定したところ、ナノ粒子の皮下筋肉への移行は殆ど認められなかった。

(3) 光線力学療法による抗腫瘍効果の評価

ここまでの検討に用いてきたマウス結腸がん由来 Colon-26 (C26) 細胞は、マウス背部皮下に移植する事で、比較的早期に固形がんを形成し、短期間において増殖し、更にその腫瘍径が簡便に測定可能であることから、静脈内投与した製剤の抗腫瘍効果を評価する方法として用いられている。そこで、この C26 固形がんモデルマウスにポルフィリン内封ナノ粒子を静脈内投与し、一定時間の後腫瘍組織に赤色光を照射する事で、光線力学療法による *in vivo* 抗腫瘍効果を評価した。実験は、腫瘍体積が約 100 mm³ に達した時点でナノ粒子製剤をポルフィリンとして 3 mg/kg の投与量 (PLA-PEG 量として 60 mg/kg) で静脈内投与し、12 時間後にハロゲンランプにより単回 (単回照射群)、あるいは 5 回に分けて頻回照射 (5 回照射群) を行い、経時的に担がんモデルマウスの腫瘍体積測定を行った。

尚、5 回照射群では、ポルフィリン内封ナノ粒子製剤投与後 6, 12, 18, 24, 36 時間において、光照射を行った。

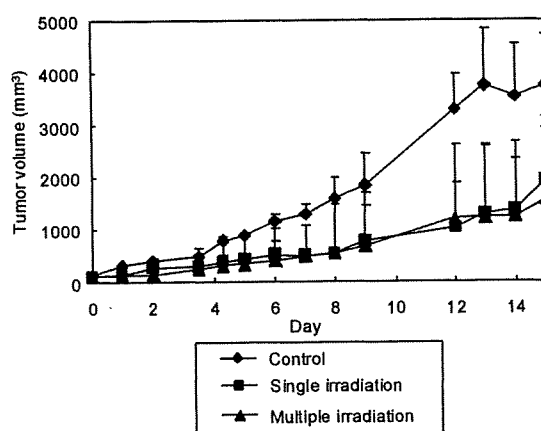


Fig. 7 In Vivo Anti-Tumor Effect of Porphyrin-Loaded Nanoparticles In C26-Bearing Mice
Results are expressed as the mean \pm S. D. (n=3).

結果として Fig. 7 に示した腫瘍増殖曲線が得られ、PDT 治療群において、生理食塩水を投与したコントロール群と比較して腫瘍の増殖が抑制されている一方、光照射の回数によっては治療成績に差が認められないことが明らかとなった。

D. 考察

我々が調製したポルフィリン内封ナノ粒子を一定時間血中に滞留させることが出来れば、EPR 効果により腫瘍組織への効率的な送達が可能となり、*in vivo* における光線力学療法の効果が期待される。そこで、ポルフィリン内封ナノ粒子の静脈内投与後の体内動態特性を評価し、その DDS 製剤としての有用性を評価した。まず、静脈内投与後の血中滞留性を評価した。一般に微粒子は静脈内投与後、細網内皮系による異物除去を受けることが知られているが、EPR 効果を利用した腫瘍組織への送達を期待する場合、こうした取り込み機構を回避し、高い血中滞留性を持つ事が重要となる。本検討では実験動物としてラット及び固形がんモデルマウスを使用した。この内ラットは同一個体から経時的な血液の採取が可能である為、特

に血中濃度推移を正確に評価するのに適したモデルであると言える。一方マウスは、同一個体から複数の時点での採血が困難であり、各時点で異なる個体から採血を行わなければならないが、*in vitro* 実験で使用した C26 細胞を皮下に移植した固形がんモデルを作製出来る為、*in vivo* 実験の結果を、*in vitro* 実験の結果と併せて総合的に解釈できるという利点がある。血中濃度推移をこれら両動物において評価した結果、いずれの動物においても当研究室でこれまでに検討を加えた他の微粒子製剤と比較して、遜色のない高い血中滞留性が得られた (Table 1)。これは、微粒子表面に存在する PEG 鎖により水和層が形成され、オプソニン化を抑制するという当初の目的を達成したものであると思われる。加えて、使用したナノ粒子の粒子径が 80 nm 程度と小さく、且つ均一性が高かった事も、血中滞留性上昇の一因になったといえる。

続いて、血中滞留性評価後のナノ粒子の組織分布特性について、C26 担がんモデルマウスを用いて評価した (Fig. 6)。腫瘍組織への経時的なナノ粒子の蓄積は、EPR 効果により特徴的に見られるものであり、得られた結果から 25 時間以降においても更にナノ粒子が更に蓄積していく可能性が考えられた。光線力学療法において外部から光を照射する段階で、腫瘍組織におけるポルフィリン量が最大になっている事が望ましい為、今後、25 時間から後の蓄積性についても検討する必要があると考えられる。一方、光線力学療法における安全性の面で、特に問題となる光線過敏症は、全身に移行したポルフィリンの日光による活性化に起因するものである。本検討ではマウス大腿部から摘出した皮下の筋肉組織への移行を評価し、全ての時間においてほとんど移行性は認められなかった。これらのことより、本検討において調製したポルフィリン内封ナノ粒子製剤は、PDT 治療の成果に影響を及ぼす光増感剤の腫瘍組織への送達効率の改善のみならず、治療後の副作用の低減も期待出来ることが示唆された。

最後に実際に担がんモデルマウスを用いた光線力学療法の評価を行った。Fig. 7 に示されるように、光線力学療法による治療を行う事で、コントロール群に対する腫瘍増殖の抑制が観察された。一方、光照射によりポルフィリンの活性化の回数を増やすことには、治療効果の改善は認められなかった。

この原因としてまず考えられるのが、PDT 後の腫瘍組織内の環境変化により、腫瘍組織に存在するポルフィリンの構造が破壊された可能性である。一般に、光線力学的治療後、腫瘍組織内では一重項酸素だけでなく、スーパーオキシドアニオンラジカル・ヒドロキシルラジカルなどの活性酸素種 (ROS) が産生され、連鎖的な過酸化反応が起こっている。こうした活性の強い化合物の作用で腫瘍に到達したポルフィリンが不活化し、2 回目以降の光照射による一重項酸素産生能が低下した事が考えられる。

5 回照射群において効果に改善が見られなかった原因としてもう一つ考えられるのは、最初に光を照射する段階において腫瘍組織に蓄積したポルフィリンが、がん細胞に対し殺細胞効果を発現後、死細胞内に取り残される事で、2 回目以降の光照射においては別の細胞に対する殺細胞効果に寄与できなくなる可能性である。この考察に基づくならば、ポルフィリンは経時的に腫瘍に到達し、その時点において腫瘍組織に存在するポルフィリン量に応じた一重項酸素が産生するものの、光照射の時点において生きたがん細胞内に存在し、有効な殺細胞効果を発揮可能なポルフィリン量が僅かである為、結果として得られた腫瘍増殖効果が限定されたと考えることができる。

これらの結果を受け、今後は、腫瘍組織に対するポルフィリンの移行パターンをより詳細に明らかにすることで、最適な光照射のタイミングを決定する必要があると考えられる。さらに光源については、今回は *in vitro* において使用した赤色光源を照射時間のみ変更して *in vivo* 実験にも適用したが、腫瘍内部まで十分な光

が到達していたかに関しては不明であり、今後より適切な照射装置の使用を検討する必要がある可能性も考えられる。

また今回の検討により明らかとなった PDT による殺細胞効果については、がん細胞に対する作用に焦点を絞って考察を行ったが、光線力学療法には血管内皮細胞を標的にして血管組織を破壊し、腫瘍への栄養送達を制限する

Vascular-Targeted Photodynamic therapy (VTP) という手法もある。したがって、Fig. 7 で観察されたような腫瘍増殖の抑制に、血管内皮細胞への殺細胞効果が関与している可能性も有り、こうした血管内皮細胞に対する検討も加えていく必要があるだろう。

E. 結論

我々が調製したナノ粒子製剤は、静脈内投与後高い血中滞留性を示し、EPR 効果により経時的に腫瘍組織へ蓄積する事が明らかとなった。これは、ナノ粒子製剤表面の PEG 鎖の存在により、生体の異物認識機構を回避した為と推察された。さらに、本製剤は in vivo 条件においても抗腫瘍効果を発揮可能であることが示された。以上、本研究により得られた知見は、有効且つ安全な PDT 治療を目指した光増感剤のナノ粒子製剤化に対して有益な設計指針を提供するものと考えられる

F. 研究発表

1. 論文発表

1) In Vivo Anti-Tumor Effect of PEG Liposomal Doxorubicin (DOX) in DOX-Resistant Tumor-Bearing Mice: Involvement of Cytotoxic Effect on Vascular Endothelial Cells.

K. Ogawara, K. Un, K. Tanaka, K. Higaki and T. Kimura
J. Controlled Rel., 133(1), 4-10 (2009)

2. 学会発表

1) 大河原賢一、運 敬太、檜垣和孝、木村聰城郎、ドキシソルビン内封 PEG 修飾リポソームの P-糖タンパク質高発現がん細胞に対する in vivo 抗腫瘍効果とその機構解析、第 2 回国際シンポジウム「第 2 回高度医療都市を創出する未来技術国際シンポジウム創薬パイライン：抗がん剤・抗感染症薬の合成と評価系」、岡山、2009 年 2 月 5 日

2) 大河原 賢一、Tamer Shehata、檜垣和孝、木村 聰城郎、ドキシソルビン内封ニオソームの体内動態特性および抗腫瘍効果の評価、日本薬剤学会第 24 年会、静岡、2009 年 5 月 21-23 日

3) 吉澤 雄太、河野 裕允、大河原 賢一、檜垣 和孝、木村 聰城郎、パクリタキセル含有新規微粒子製剤の体内動態特性及び抗腫瘍効果の評価、第 25 回日本 DDS 学会、東京、2009 年 7 月 3-4 日

4) 西口 修平、渡 亮輔、大河原 賢一、檜垣 和孝、木村 聰城郎、ドキシソルビン内封アルブミン修飾 PEG リポソームの体内動態特性とその抗腫瘍効果の評価、第 25 回日本 DDS 学会、東京、2009 年 7 月 3-4 日

5) Shigeki Abe, Keita Un, Taka-aki Nakao, Ken-ichi Ogawara, Toshikiro Kimura, Kazutaka Higaki, Anti-tumor effect of angiogenesis inhibitor SU5416 formulated in PEGylated emulsion, 第 24 回日本薬物動態学会年会、京都、2009 年 11 月 27-29 日

6) 白石太朗、大河原賢一、木村聰城郎、檜垣和孝、小野努、木村幸敬、ポルフィリン封入ポリ乳酸-ポリエチレングリコール共重合体ナノ粒子の体内動態特性と PDT による抗腫瘍効果の評価、第 130 回日本薬学会、岡山、2010 年 3 月 28-30 日

別添 4

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案特許
なし
3. その他
なし

厚生労働科学研究費補助金（医療機器開発推進研究事業・ナノメディシン研究）
「光線力学的治療に有効な多機能型薬剤内封ナノ運搬体の開発」
分担研究報告書

光増感剤を高効率に内封する生体適合性ナノ粒子調製プロセスの最適化

分担研究者：小野 努 岡山大学大学院環境学研究科資源循環学専攻 准教授

研究要旨

光線力学的治療（PDT）に有効な生体適合性ナノ運搬体として、これまでに PEG-PLA からなるナノ粒子が最も有効であることを見出した。それ故、本年度は、そのポルフィリン内封 PEG-PLA ナノ粒子を高品質で供給可能な調整条件を見出すことを目的として、高効率なポルフィリン内封を目指した。特に、用いるポルフィリン誘導体によって得られたナノ粒子の粒径に二峰性が観察されたが、単一のポルフィリン誘導体を用いることで凝集にともなうマイクロスケールのポルフィリン不溶体を除去可能なことが分かり、分担研究者である大河原らによって検討された *in vitro* および *in vivo* 実験に適用可能なナノ粒子調製条件を確立した。また、得られた PEG-PLA ナノ粒子の形状を直接観察するために、FE-SEM を用いてナノ粒子を画像観察することに成功した。

A. 研究目的

光線力学的治療（PDT）は、外部から腫瘍組織選択的に印加する光刺激によって局所的な抗がん効果を期待する低侵襲がん治療法の一つであり、従来の抗がん剤を用いた化学療法とは異なり、抗がん剤の大量投与による正常細胞への副作用が少なく、局所的な治療が可能な今後有効な抗がん治療法として期待されている。この PDT を実現するためには、光増感物質を腫瘍組織内部へ安定に送達する技術基盤の確立が不可欠であり、本研究では PDT に有効な光増感物質の安定なデリバリーを実現できるナノキャリアの創製に取り組んできた。ナノ粒子は正常組織においては血管外へ漏出しにくい一方で、血管の透過性が亢進している腫瘍組織では血管外へと漏出するため、静脈内投与後の血中滞留性が高いナノ粒子内部に薬物を封入することで、高い腫瘍中

薬物濃度を達成できることが知られている。そのため、PDT に必要なポルフィリン類を高効率で封入可能なナノ運搬体の調製技術を構築することに加えて、腫瘍組織への移行の駆動力となる高い血中濃度が維持可能な血中滞留型ナノ運搬体を創製することで PDT への適用を目指している。

当初、ポルフィリン類のような疎水性の高い光増感物質を安定に内封できるナノサイズのキャリア創製を目的として、脂質二分子膜で覆われたリポソーム、水中油滴型（O/W）エマルジョン、ナノ粒子など様々なドラッグキャリア調製を試み、内封された光増感剤の機能を有効に発揮できるキャリアの選定を行ってきた。

その結果として、ポルフィリンを高効率で含有可能で且つ 100 nm 以下にサイズ制御可能な生体適合性ナノ粒子が最も有望であることが示唆され、本年度はこの PEG-PLA ジブロックコポリマー（以下、