



血液脳関門通過型ナノマシンの構築と応用

水野ローレンス隼斗 Hayato Laurence MIZUNO 安楽泰孝 Yasutaka ANRAKU

近年、生理活性物質を生体内の標的とする箇所へ効率的に送り届け、狙った機能を発揮することで活躍する薬剤送達システム (Drug Delivery System: DDS) の研究が盛んである。しかし、脳への生理活性物質の送達はこれまで極めて困難とされてきた。本稿では、筆者らが主として開発してきた、機能性高分子を溶液中で自己組織化させることにより形成する「ナノマシン」を用いた脳への薬剤送達を中心に解説する。また、脳内への薬剤の送達のほかに、脳内から分子を回収する「はやぶさ型ナノマシン」についても紹介したい。

脳への薬剤送達

昨今、緻密にデザインされた人工高分子（ブロック共重合体）を用いた、生体内の任意の箇所への薬剤送達を可能にする薬剤送達システム (Drug Delivery Systems: DDS) の開発が推進されてきた。筆者らもまた、薬剤送達システム技術に新しい方法論を持ち込むことを目指し研究を行ってきた¹⁾。特に血管壁の透過性が亢進している固形がん治療を対象とした高分子集合体については、すでに臨床試験にまで進んでいる²⁾。しかし、このように透過性が亢進していない場合、組織の実質部に生理活性物質を効率良く送達する DDS の設計はいまだ困難な課題である。効率的な薬剤送達が難しい臓器の例として脳は、血液脳関門 (blood-brain barrier: BBB)³⁾ と呼ばれる主に脳毛細血管内皮細胞

(brain capillary endothelial cells: BCECs) と脳実質のグリア細胞により形成されるメカニズムにより保護されている。BBB により、脳の活動に必須な栄養素を選択的に取り込む反面、薬剤の脳への送達が著しく制限されている。世界中で BBB を効率的に通過するシステム開発が求められて研究が進んでいるが、その多くは脳への集積量が投与量の 1.0% 未満であり⁴⁾、近年注目を集めている抗体医薬については 0.04% ほどと、著しく低いのが現状である⁵⁾。このように BBB は多くの薬剤の脳への到達を阻害しており、様々な中枢神経系疾患が難治性である原因の 1 つとなっていることから、DDS を用いて BBB を効率良く通過し神経系細胞へ薬剤をデリバリーする方法論の開発は急務である。

BBB を構築する BCECs には、脳のエネルギー源であるグルコース（ブドウ糖）を輸送するためのグルコーストランスポーター 1 (GLUT1) がほかのトランスポーターと比べ桁違いに多く存在していることが報告されている⁶⁾。また、GLUT1 は BCECs における細胞内の局在部位が血糖値の変化に伴って変わることが知られている。BCECs 中で GLUT1 は血管側と脳実質側の双方に局在し⁷⁾、また細胞内にも多くプールされていることが示唆されているとともに、クラスリン非依存性エンドサイトーシスにより細胞内と膜表面との間でリサイクリングされていることも報告されている⁸⁾。また、Simpson らは、血糖値の低い状態において GLUT1 が BCECs 中の血管側で局在量が増加して、血糖値が高くなることで減少することを報告している⁹⁾。そこで筆者らのグループは、GLUT1 を標的としてグルコースをリガンド分子として表層に導入した高分子ミセルを

みずの・ろーれんす・はやと

東京科学大学物質理工学院材料系 助教

〔経歴〕2022 年東京大学大学院工学系研究科博士課程修了、博士 (工学)。国立精神・神経医療研究センター外来研究員、名古屋市立大学を経て、24 年から現職。〔専門〕生体材料学、生体医工学。〔趣味〕フットサル。

E-mail: mizuno.h.ah@m.titech.ac.jp



あんらく・やすたか

東京科学大学物質理工学院材料系 准教授

〔経歴〕2010 年東京大学大学院工学系研究科博士課程修了、博士 (工学)。同大学大学院にて博士研究員・特任助教・特任准教授を経て、23 年から現職。〔専門〕高分子科学、生体材料学。〔趣味〕子供と遊ぶこと。

E-mail: anraku.y.aa@m.titech.ac.jp



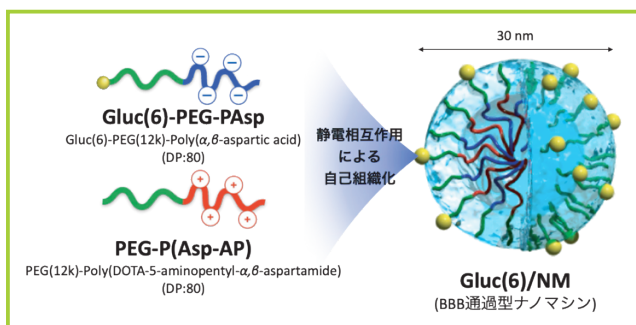


図1 高分子の自己組織化による Gluc(6)/NM の形成スキーム

DDS として作製し、さらに GLUT1 の生理学的な特徴を巧みに組み合わせることで、およそ 8% ID/g tissue という既存技術と比較して著しく高い効率で BBB を通過し脳内に到達する「BBB 通過型ナノマシン」を開発したので紹介する (図 1)¹⁰⁾。

BBB 通過型ナノマシン

GLUT1 はグルコースの C1, C3, C4 位のヒドロキシ基を選択的に認識し、グルコースを能動輸送することが報告されている¹¹⁾。しかし、グルコース分子と GLUT1 の結合強度はさほど高くない¹²⁾。そこで、GLUT1 の一分子サイズ (約 3 nm)¹³⁾ より十分に大きいサイズのナノマシン表層に、複数のグルコース分子を導入し、ナノマシンが BCEC 上に存在する複数の GLUT1 分子と同時に結合可能な状態を作り出すことによって、結合力を上昇させる戦略 (多価効果¹⁴⁾) が有力であると考えた。筆者らは、親水性セグメントに生体適合性の高いポリエチレングリコール (PEG) を有し、荷電性セグメントに反対電荷を有するポリアミノ酸 (および誘導体) からなる荷電性のブロック共重合体を作製し (図 1)、静電相互作用により溶液中で多分子会合させることでナノマシンを構築した。その表層に、GLUT1 への結合能を保持するように C6 位の OH 基を介して複数のグルコース分子を導入したナノマシンを設計・構築した。C6 位の OH 基を介してグルコースを PEG セグメントの α 末端に結合した Gluc(6)-PEG-ポリアニオンとグルコースを結合していな

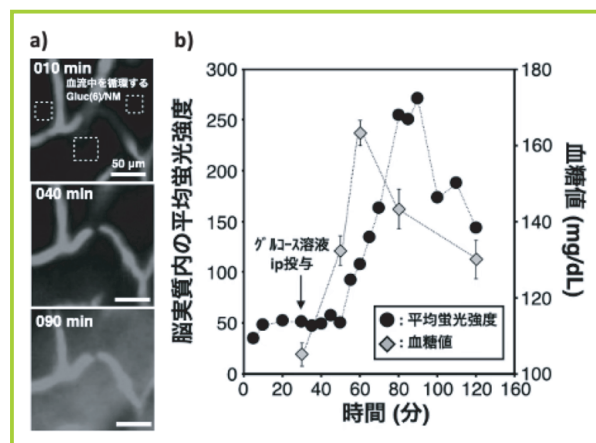


図2 IVRTCLSM を用いた Gluc(6)/NM の BBB 通過性評価
a) IVRTCLSM による脳内観察、b) 脳実質内 (a) の点線四角内) における平均蛍光強度および血糖値の時間変化に伴う推移。

い PEG-ポリアニオンを任意の割合で混合した水溶液を調製し、これと反対電荷を有する PEG-ポリカチオンの水溶液と混合することで、荷電セグメント間の静電相互作用により形成される内核を親水性かつ非荷電性である PEG 外殻が覆う、サイズが一定なナノマシン (Gluc(6)/NM) を調製した (図 1)。動的光散乱測定と透過型電子顕微鏡観察により、調製したナノマシンの直径は 30 nm で単分散であることを確認した。

次に、作製した Gluc(6)/NM が実際に BBB を通過するかを、*in vivo* 共焦点顕微鏡 (IVRTCLSM) を用いて評価した。IVRTCLSM は、生体内における DDS の組織浸透性などの挙動を時空間的および定量的に分析可能な装置である¹⁵⁾。24 時間餌を抜いたマウスを開頭処置後、顕微鏡ステージに麻酔下で固定し、蛍光標識した Gluc(6)/NM を iv 投与し、30 分後に 20 wt% のグルコース溶液を ip 投与した。その結果、iv 投与後は血流中のみで蛍光が観察され、グルコース溶液を ip 投与後に脳実質内において拡散する Gluc(6)/NM 由来の蛍光が確認された (図 2a)。さらに得られた画像について詳細な解析を行い、脳実質部 (図 1a の点線四角内 ROI) における平均蛍光強度および血糖値の時間変化を得た (図 2b)。グルコース溶液を ip 投与後に血糖値が上昇し、同時に、Gluc(6)/NM が BBB を通過していること

が確認できた。このことから、BBB の通過は設計どおり、血糖値の制御により誘発されていることが明らかである。また、BBB を通過するのに必要な血糖値の推移は正常な血糖範囲内（約 100～160 mg/dL）であり、生体の恒常性を崩さない程度の介入であることは特筆に値する。以上の結果より、「BBB 通過型ナノマシン」の機能性および血糖値を制御することでナノマシンに BBB を通過させるという戦略の有用性を実証できたと結論づける。

はやぶさ型ナノマシンの開発

血糖値の制御とグルコースの表面導入により、ナノマシンを脳内へと効率的に送達する方法論を確立した。本システムを高分子化学、材料科学、分子生物学の観点からさらに洗練し、薬剤を疾患部位に送り届けるのではなく、「BBB を効率的に通過」した上で、「脳分子を回収」、さらには「血液中に帰還」することで、脳内の状態・情報を抽出するナノマシンを着想した。約 10 年前に小惑星探査機「はやぶさ」は、地球から惑星に到達し、小惑星「イトカワ」の物質を回収し、地球に持ち帰り小惑星の物質情報を分析することに貢献した。筆者らの開発するナノマシンは、血流中から BBB を通過して脳内に到達し、脳内の分子を回収し、血液中に持ち帰り分子解析を行うことを目的とすることから「はやぶさ型ナノマシン」と命名した。「はやぶさ型ナノマシン」計画を実現するために、生体内で活躍するナノマシン設計を行うグループに加えて、抗体を中心としたタンパク質工学を専門とするグループ、認知情動機能を制御する分子神経機構に関する基礎医学研究を展開しているグループ等、工・医薬・化学の異種分野・専門性をバックグラウンドとする若手研究者で取り組んでいる。この「はやぶさ型ナノマシン」により得られる分子情報を解読すること、すなわち、脳分子情報のデコーディングにより、個々の脳機能状態の理解へとつながることが期待される。心理学、情報科学へも波及し、性格や感情の違い、疲れやすさやストレス脆弱性など、いわゆる個性についてアプロー

チする全く新たな学術創出が期待される。現時点で研究の進む、ゲノム研究や脳画像研究との間を繋ぐ異なる階層で脳機能動態を反映する可能性を有しており、その時々で脳内環境がどのように変化し、それがどのようにヒトの個性と結びつくのか、ゲノムや脳内神経回路といった、比較的長期的な時間軸の観点からの研究を補完する新たな視点をもたらすことが強く期待される。

おわりに

脳への薬剤の送達を妨げる「血液脳関門 (BBB)」を、既存の技術と比較して桁違いに高い効率で通過し、脳内の神経細胞への薬剤送達を可能にする「BBB 通過型ナノマシン」の開発に成功した。BBB 通過型ナノマシンは、外部刺激（グルコース濃度変化）に応答して能動的に BBB を通過する機能を有している。ここでは、食事による血糖値変化に伴う BBB の生理的な反応を利用するという画期的な手法をとり、脳内に薬剤を的確に輸送することに成功した。BBB 通過型ナノマシンは、今後様々なモダリティの医薬品を脳内に運ぶことができるかと期待される。本新規技術をさらに洗練した「はやぶさ型ナノマシン」は将来的に、多様な脳内分子を低侵襲的に回収することで、従来不可能であった精度で脳機能状態の理解や、新たなバイオマーカーの探索による診断の精度向上に貢献することが期待される。

- 1) Y. Anraku et al., *Angew. Chem., Int. Ed.* **2016**, 55, 560.
- 2) H. Cabral et al., *J. Controlled Release* **2014**, 190, 465.
- 3) N. J. Abbott et al., *Neurobiol. Dis.* **2010**, 37, 13.
- 4) D. T. Wiley et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2013**, 110, 8662.
- 5) V. Neves et al., *Trend in Biotechnology* **2016**, 34, 36.
- 6) Y. Uchida et al., *J. Neurochem.* **2011**, 117, 333.
- 7) C. L. Farrell et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1991**, 88, 5779.
- 8) C. A. Eyster et al., *Traffic* **2009**, 10, 590.
- 9) I. A. Simpson et al., *J. Neurochem.* **1999**, 72, 238.
- 10) Y. Anraku et al., *Nat. Commun.* **2017**, 8, 1001.
- 11) J. Xie et al., *ACS Nano* **2020**, 14, 6729.
- 12) J. E. G. Barnett et al., *Biochem. J.* **1973**, 131, 211.
- 13) H. Lodish et al., in *Molecular Cell Biology*, 4th ed, W. H. Freeman, **2000**.
- 14) S. B. Alexis et al., *Biophys. J.* **2004**, 87, 2990.
- 15) Y. Matsumoto et al., *Biomed. Opt. Express* **2010**, 1, 1209.

© 2025 The Chemical Society of Japan