

平成 30 年 5 月 25 日

報道機関 各位

東北大学大学院薬学研究科

細胞内に自発的に入る無毒性の蛍光ナノゲル温度計を開発

【発表のポイント】

- イミダゾリウム骨格を有する新規のアゾ系カチオン性重合開始剤の合成に成功した。
- この開始剤を用いて重合した温度応答性ポリマーナノゲル粒子は、細胞内移行性を示し、温度に応じてその蛍光強度が変化した。
- 細胞内に導入された温度応答性ナノゲルは、さらに細胞分裂や細胞の分化を阻害しないという特徴を有する。

【概要】

東北大学大学院薬学研究科の徳山英利教授らは、東京大学大学院薬学系研究科の内山聖一助教らのグループ、奈良先端科学技術大学院大学の稲田のりこ准教授（当時）らのグループ、キリン株式会社 R&D 本部基盤技術研究所との共同で、細胞内移行能を持ち細胞毒性の極めて少ない、新規のポリマーナノゲル粒子を開発しました（図 1）。開発した温度応答性のポリマーナノ粒子は、混ぜるだけで細胞内に移行する性質を持ち、様々な種類の細胞の中の温度を計測できるナノゲル温度計として働きます。さらに、細胞分裂や細胞の分化といった細胞のふるまいを阻害せずに、安定に細胞内に保持されることも分かりました。細胞内移行性と低毒性を兼ね備えた粒子の開発は、医療や創薬といった様々な分野で求められていました。徳山教授らは、イミダゾリウム骨格を有するカチオン性ラジカル重合開始剤（図 2、注 1）を新たに開発し、これを粒子合成法に用いることで、温度応答性ポリマーナノゲル粒子の開発を実現しました。開発した重合開始剤はラジカル重合で合成可能な多くのポリマー合成に応用できるため、今後の機能性粒子の創出に大きく寄与することが期待されます。

本研究成果は、2018 年 5 月 4 日に、*Angewandte Chemie International Edition* 誌に掲載されました。

【論文情報】

English Title : A Cell-Targeted Non-Cytotoxic Fluorescent Nanogel Thermometer Created with an Imidazolium-Containing Cationic Radical Initiator.

Authors: Seiichi Uchiyama, Toshikazu Tsuji, Kyoko Kawamoto, Kentaro Okano, Eiko Fukatsu, Takahiro Noro, Kumiko Ikado, Sayuri Yamada, Yuka Shibata, Teruyuki Hayashi, Noriko Inada, Masaru Kato, Hideki Koizumi, and Hidetoshi Tokuyama

「イミダゾリウム系カチオン性ラジカル重合開始剤による細胞移行性のある無毒性蛍光ナノゲル温度計の創出」

著者名：内山 聖一、辻 俊一、河本 恭子、岡野 健太郎、深津 英子、野呂 堯広、

井門 久美子、山田 小百合、柴田 悠圭、林 晃之、稲田 のりこ、加藤 大、小泉 英樹、徳山 英利

掲載誌名：Angewandte Chemie International Edition, Volume 57, Issue 19, 4 May 2018, Pages 5413 –5417

【詳細な説明】

共同研究者である東京大学大学院薬学系研究科の内山聖一助教らは、これまで、温度応答性ポリマーであるポリ *N*イソプロピルアクリルアミド(PNIPAM)と環境応答性蛍光色素との組み合わせにより、分子レベルの蛍光ポリマー温度計を開発し、それによって細胞内の温度を測ることを実現してきました。特に、開発した蛍光温度計の中でも、ポリマー同士を架橋したナノ粒子型のナノゲル型温度計は、温度変化に対する応答感度の高さを特徴としており、生きた細胞の 1 細胞レベルでの温度計測を世界で初めて実現しました。我々は、このナノゲル型温度計をさらに幅広く活用できるように、課題であったナノゲルに細胞内移行性を付与することに取り組みました。

一般に高分子の細胞内移行には、その表面をプラス電荷を帯びたカチオン性部位で覆うことが有効とされています。さらに、水溶性開始剤を用いてナノゲルを合成した場合には、そのナノゲル表面が開始剤の構造で覆われることが明らかになっています。そこで、カチオン性部位を持った開始剤によるラジカル重合反応でナノゲルを合成すれば、ナノゲル表面をカチオン性部位で覆うことができるのではないかと考えました。しかし、これまでカチオン性部位を持つ安定なラジカル重合開始剤（注 1）は報告がなく、今回その新規の開始剤の設計と合成法に取り組みました。

新たに合成したカチオン性重合開始剤 ADIP (図 1) は、汎用されるアゾ系ラジカル重合開始剤である 2,2'-アゾビスイソブチロニトリル (AIBN) を原料として、3 段階の反応で合成しました。高収率 (2 段階目まで収率 90%、最終段階反応収率 99%) かつ精製も簡便で、工業スケールでの合成にも応用可能な実用性の高い方法を確立しました。

合成したカチオン性重合開始剤 ADIP を用いて、NIPAM モノマーと環境応答性蛍光色素 benzothiadiazole 骨格を持つモノマーを共重合させたナノゲルを合成した (図 2) ところ、表面に ADIP 由来のカチオン性を有するイミダゾリウム環が導入されたことがわかりました。興味深いことに、10 分という短い時間でカチオン性ナノゲルが、全体数の 9 割以上の HeLa 細胞内 (注 2) に移行しました。細胞内移行性はカチオン性ナノゲルに特徴的な性質で、既存の重合開始剤の 1 つである過硫酸アンモニウムを用いて合成したアニオン性ナノゲル (注 3) では認められない現象でした。カチオン性ナノゲルは、HeLa 細胞だけでなく、血球系浮遊細胞 MOLT-4 や初代培養褐色脂肪細胞など様々な細胞内へと入り込み、細胞内でも温度変化に応じてその蛍光強度や蛍光寿命 (注 4) が変化することを確認しました。さらに特筆すべき性質として、ADIP で合成したナノゲルは、細胞内へ移行後も、その細胞分裂や分化といった細胞内での複雑な反応を伴うイベントを阻害せずに、安定に細胞内に保持され続けることもわかりました。細胞内移行性と低毒性を兼ね備えた粒子の合成法の開発は、医療や創薬といった様々な分野での課題でした。今回新たに開発した重合開始剤は、ラジカル重合可能な多くのモノマーの合成に応用できるため、様々な機能性ポリマー粒子の創出に大きく寄与できると期待されます。

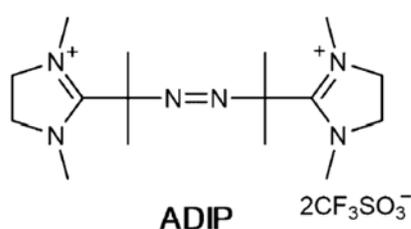


図 1 : 新たに開発したカチオン性ラジカル重合開始剤の構造。カチオン性部位としてイミダゾリウム骨格を有するアゾ化合物を開発した。この化合物は、加熱条件下、熱分解によりラジカル種を発生させ、ラジカル重合反応が始まります。

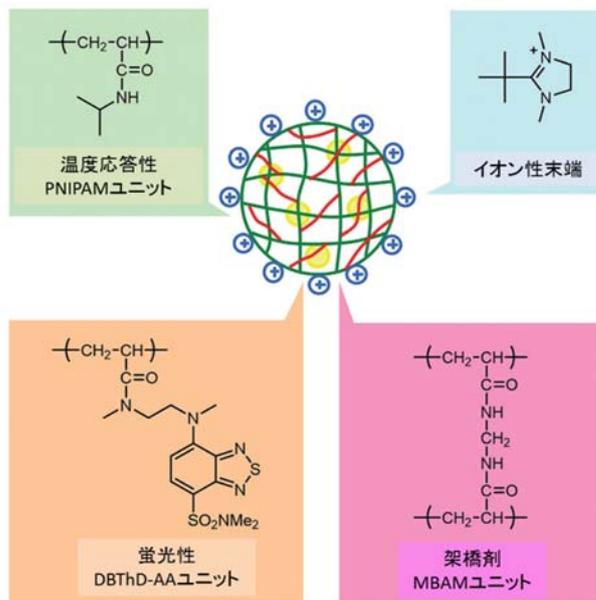


図 2 : カチオン性開始剤 ADIP を用いて合成したナノゲル温度計の概要

(注 1) ラジカル重合開始剤 : 加熱条件下、熱分解によりラジカル種を発生させてラジカル重合反応を開始させる試薬。ラジカル重合開始剤としては、アゾ化合物と有機過酸化化合物アゾ化合物が、よく用いられる。

(注 2) HeLa 細胞 : ヒト子宮頸がん由来細胞。本研究ではヒト接着細胞のモデルとして用いた。

(注 3) アニオン性ナノゲル : 表面がマイナス電荷で覆われたナノゲル。過硫酸アンモニウムで合成した場合は、硫酸基でナノゲル表面が覆われている。

(注 4) 蛍光寿命 : 蛍光物質に光を照射した後、発せられる蛍光が減衰するまでの時間。蛍光物質に特有の時間を持つため、濃度に依存せず定量できる。

【問い合わせ先】

東北大学大学院薬学研究科

医薬製造化学分野

教授 徳山英利（トクヤマ ヒデトシ）

TEL : 022-795-6887

FAX : 022-795-6877

E-mail: tokuyama@m.tohoku.ac.jp

キリン株式会社

R&D 本部 基盤技術研究所

辻 俊一（ツジ トシカズ）

TEL : 080-2288-8675

FAX : 045-788-4047

E-mail : Toshikazu_2_Tsuji@kirin.co.jp