

Title	ラクトフェリンナノ粒子の作製と医薬への展開
Sub Title	Preparation of lactoferrin nanoparticle and its pharmaceutical application
Author	田口, 和明(Taguchi, Kazuaki)
Publisher	慶應義塾大学
Publication year	2019
Jtitle	学事振興資金研究成果実績報告書 (2018.)
JaLC DOI	
Abstract	<p>ラクトフェリン溶液 (pH3-9) に5種類の有機溶媒 (メタノール、エタノール、2-プロパノール、アセトニトリル、アセトン) を滴下し、脱溶媒和法によるラクトフェリンナノ粒子の最適な調整条件を検討した。その結果、ラクトフェリン溶液 (pH 6) に2-プロパノールまたはアセトニトリルを滴下した際に粒子径が約100 nmの均一なラクトフェリンナノ粒子を得た。一方、メタノール、エタノール、アセトンを滴下した際には、粒子の不形成または凝集塊の形成が観察された。ラクトフェリンナノ粒子を医薬へ展開するためには、安全性の観点より有機溶媒を除去することが望ましい。そこで、水溶液中における粒子形成を目的にグルタルアルデヒドを用いてラクトフェリンナノ粒子の粒子内架橋を試みた。2-プロパノールで作製したラクトフェリンナノ粒子にグルタルアルデヒドを添加した結果、均一な架橋型ラクトフェリンナノ粒子 (粒子径：約150 nm) を得た。また、透過電子顕微鏡の観察においても、粒子径が100～150 nmの球状の粒子が確認され、上記した動的散乱法 (DLS) の結果と一致した。一方、アセトニトリルを用いて作製したラクトフェリンナノ粒子にグルタルアルデヒドを添加すると、粒子間架橋による不均一な粒子の形成が確認された。次に、血管内投与を想定し、架橋型ラクトフェリンナノ粒子の血液生体適合性についてin vitro で検討を行った。その結果、高濃度のラクトフェリンナノ粒子存在下で約35%の赤血球が溶血した。この原因として、ラクトフェリンナノ粒子表面が正電荷を帯びているため (ζ-電位：約20 mV)、赤血球膜と静電的相互作用により溶血を引き起こしたと考えられる。しかしながら、生体内で想定される低濃度のラクトフェリンナノ粒子存在下における溶血率は5%以下であったため、平成31年度には生体適合性をin vivoで評価する。加えて、現在、経口投与を想定し、ペプシン消化への耐久性について検討中である。</p> <p>Lactoferrin nanoparticles (Lf-NPs) were prepared using desolvation technique as follows: each organic solvent (methanol, ethanol, 2-propanol, acetonitrile, acetone) was dropped into lactoferrin solution (pH 3-9). The results showed that Lf-NPs with ca. 100 nm in diameter were formed when 2-propanol and acetonitrile were used as a desolvating agent. On the other hand, other organic solvents did not function as a desolvating agent due to either non-formation of particles or formation of aggregates. Since the presence of organic solvent in Lf-NPs suspension would bring negative impact on the living cell, attempt has been made to develop the Lf-NPs with intra-particle cross-linkage (cross-Lf-NPs), which is expected to stably maintain the nanoparticle formation even in water solution. As a result of the addition of glutaraldehyde to Lf-NPs prepared by 2-propanol, the cross-Lf-NPs with ca. 150 nm in size were obtained. In addition, the size and shape were also confirmed by transmission electron microscopy (TEM) image. On the other hand, the cross-Lf-NPs did not form by the addition of glutaraldehyde in case of Lf-NPs prepared by acetonitrile. Furthermore, the in vitro hemolysis assay showed that high concentration of cross-Lf-NPs ruptured approximately 35% of red blood cell. This could be due to the electrostatic interaction between the positive charge of cross-Lf-NPs (zeta-potential: ca. 20 mV) and negative charged RBC membrane. However, low concentration of cross-Lf-NPs, which is likely to reflect the physiological concentration in vivo, showed negligible hemolysis (less than 5%). The in vivo biocompatible test of cross-Lf-NPs will be conducted next year, whereas the resistance of cross-Lf-NPs against digestive enzyme such as pepsin is now ongoing.</p>
Notes	
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2018000005-20180275

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

研究代表者	所属	薬学部	職名	専任講師	補助額	500（特B）千円
	氏名	田口 和明	氏名（英語）	Kazuaki Taguchi		
研究課題（日本語）						
ラクトフェリンナノ粒子の作製と医薬への展開						
研究課題（英訳）						
Preparation of lactoferrin nanoparticle and its pharmaceutical application						
1. 研究成果実績の概要						
<p>ラクトフェリン溶液（pH3-9）に 5 種類の有機溶媒（メタノール、エタノール、2-プロパノール、アセトニトリル、アセトン）を滴下し、脱溶媒和法によるラクトフェリンナノ粒子の最適な調整条件を検討した。その結果、ラクトフェリン溶液（pH 6）に 2-プロパノールまたはアセトニトリルを滴下した際に粒子径が約 100 nm の均一なラクトフェリンナノ粒子を得た。一方、メタノール、エタノール、アセトンを滴下した際には、粒子の不形成または凝集塊の形成が観察された。ラクトフェリンナノ粒子を医薬へ展開するためには、安全性の観点より有機溶媒を除去することが望ましい。そこで、水溶液中における粒子形成を目的にグルタルアルデヒドを用いてラクトフェリンナノ粒子の粒子内架橋を試みた。2-プロパノールで作製したラクトフェリンナノ粒子にグルタルアルデヒドを添加した結果、均一な架橋型ラクトフェリンナノ粒子（粒子径：約 150 nm）を得た。また、透過電子顕微鏡の観察においても、粒子径が 100～150 nm の球状の粒子が確認され、上記した動的散乱法（DLS）の結果と一致した。一方、アセトニトリルを用いて作製したラクトフェリンナノ粒子にグルタルアルデヒドを添加すると、粒子間架橋による不均一な粒子の形成が確認された。次に、血管内投与を想定し、架橋型ラクトフェリンナノ粒子の血液生体適合性について in vitro で検討を行った。その結果、高濃度のラクトフェリンナノ粒子存在下で約 35%の赤血球が溶血した。この原因として、ラクトフェリンナノ粒子表面が正電荷を帯びているため（ζ-電位：約 20 mV）、赤血球膜と静電的相互作用により溶血を引き起こしたと考えられる。しかしながら、生体内で想定される低濃度のラクトフェリンナノ粒子存在下における溶血率は 5%以下であったため、平成 31 年度には生体適合性を in vivo で評価する。加えて、現在、経口投与を想定し、ペプシン消化への耐久性について検討中である。</p>						
2. 研究成果実績の概要（英訳）						
<p>Lactoferrin nanoparticles (Lf-NPs) were prepared using desolvation technique as follows: each organic solvent (methanol, ethanol, 2-propanol, acetonitrile, acetone) was dropped into lactoferrin solution (pH 3-9). The results showed that Lf-NPs with ca. 100 nm in diameter were formed when 2-propanol and acetonitrile were used as a desolvating agent. On the other hand, other organic solvents did not function as a desolvating agent due to either non-formation of particles or formation of aggregates. Since the presence of organic solvent in Lf-NPs suspension would bring negative impact on the living cell, attempt has been made to develop the Lf-NPs with intra-particle cross-linkage (cross-Lf-NPs), which is expected to stably maintain the nanoparticle formation even in water solution. As a result of the addition of glutaraldehyde to Lf-NPs prepared by 2-propanol, the cross-Lf-NPs with ca. 150 nm in size were obtained. In addition, the size and shape were also confirmed by transmission electron microscopy (TEM) image. On the other hand, the cross-Lf-NPs did not form by the addition of glutaraldehyde in case of Lf-NPs prepared by acetonitrile. Furthermore, the in vitro hemolysis assay showed that high concentration of cross-Lf-NPs ruptured approximately 35% of red blood cell. This could be due to the electrostatic interaction between the positive charge of cross-Lf-NPs (zeta-potential: ca. 20 mV) and negative charged RBC membrane. However, low concentration of cross-Lf-NPs, which is likely to reflect the physiological concentration in vivo, showed negligible hemolysis (less than 5%). The in vivo biocompatible test of cross-Lf-NPs will be conducted next year, whereas the resistance of cross-Lf-NPs against digestive enzyme such as pepsin is now ongoing.</p>						
3. 本研究課題に関する発表						
発表者氏名 (著者・講演者)	発表課題名 (著書名・演題)	発表学術誌名 (著書発行所・講演学会)	学術誌発行年月 (著書発行年月・講演年月)			