

組織再生機能に優れた複合足場材料の開発研究

研究代表者 山崎 淳司
(創造理工学部 環境資源工学科 教授)

1. 研究課題

再生医療において、特に組織再生を安全かつ高効率に行うためには、生体適合性に優れ、抗感染性細胞との親和性と構造的・機械的特性を両立した、細胞活性因子の複合足場材料基材が不可欠である。本研究では、アパタイト系物質、非晶質ケイ酸、窒化物、酸化物、金属、高分子などの適切な物性を有する基材を選択・創成し、これに細胞活性化因子、DNAなどの有機シグナル物質や光熱変換などの機能性物質を複合化して、目的細胞の増殖・分化や局所的高選択死滅を設計でき、かつ組織再生やがん治療に有効な機能を付与した足場材料の開発を行う。

2. 主な研究成果

メソポーラスシリカ/炭素複合体の合成

光熱療法とは、正常細胞に比べて相対的に熱に弱い性質を持つがん細胞のみを死滅させるために、生体透過性に優れた近赤外線により、がん細胞付近を局所的に温度上昇させて、がん細胞のみを選択的に死滅させる治療法である。昨年度は、メソポーラスシリカに NIR (近赤外線) に応答・発熱性の高い炭素を複合した数 10 nm～数 100 nm 径の球状粒子を作製し、所定量飼育させた LLC (Lewis Lung Carcinoma) 細胞への近赤外線の照射エネルギーと到達温度および細胞生存率との相関性を調べ、光メソポーラスシリカ/熱変換炭素複合体の粒径等の形態・性状の最適化を行った。

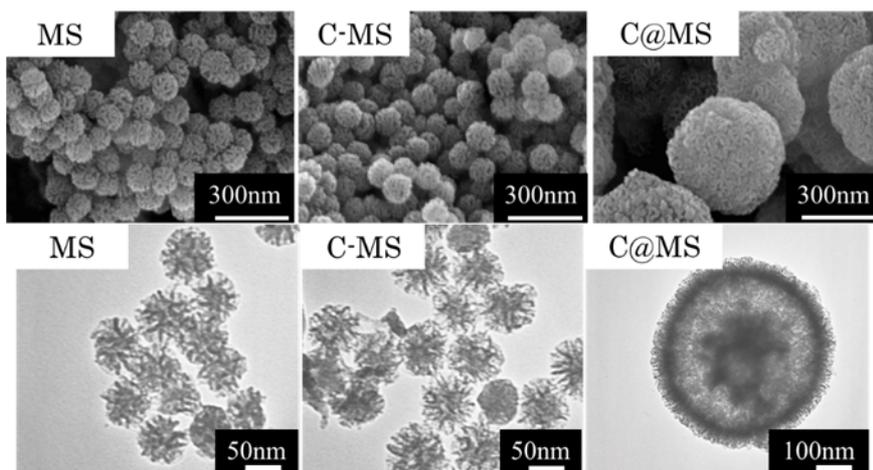


表 1 各試料の炭素含有量

Sample Name	Carbon(%)
MS	0.24
C-MS	3.45
C@MS	39.31

図 1 メソポーラスシリカ (MS) および炭素複合体 (C-MS、C@MS) の SEM 像 (上段) および TEM 明視野像 (下段)
(2018 年度報告より引用)

本年度は、最適化したメソポーラスシリカおよびメソポーラスシリカ炭素複合体のナノ粒子について、実用化を目指したアジュバントとしての安全性、有効性を、①In vitro での安全性評価、In vitro での②有効性評価と③ATP 放出量評価、および④ATP によるマクロファージ様細胞の活性化挙動について実験を行った。

- ① In vitro での安全性評価については、各試料(MS、C-MS、C@MS)を LLC 細胞に添加し、24 時間後の細胞生存率を測定した。その結果、いずれの試料も添加量 $50 \mu\text{g/mL}$ 以下で安全であることがわかった。(図 2)
- ② In vitro での有効性評価では、各試料を LLC 細胞に添加し、 6W/cm^2 で 5 分間 NIR 照射 24 時間後の細胞生存率を測定した。その結果、C@MS 試料で特に高い細胞死滅効果があることが示された。(図 3)
- ③ In vitro での ATP 放出量評価では、②で高い細胞死滅効果を示した C@MS 試料を LLC 細胞に添加し、 6 W/cm^2 で 5 分間 NIR 照射してから一定時間後に細胞外に放出された ATP 量を測定した。その結果、NIR 照射 6 時間後に ATP 放出量が極大値をとることがわかった。(図 4)
- ④ ATP によるマクロファージ様細胞の活性化挙動については、分化誘導したマクロファージ様 THP-1 細胞に ATP 試薬を添加し、細胞外に放出された IL-1 β 産生量を測定した。その結果、ATP 刺激により THP-1 細胞が有意に活性化することがわかった。(図 5)

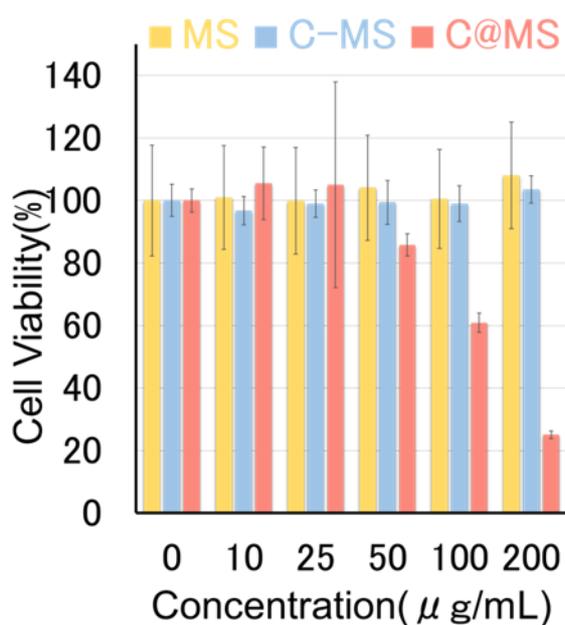


図 2 MS、C-MS、C@MS を LLC 細胞に添加した 24 時間後の細胞生存率

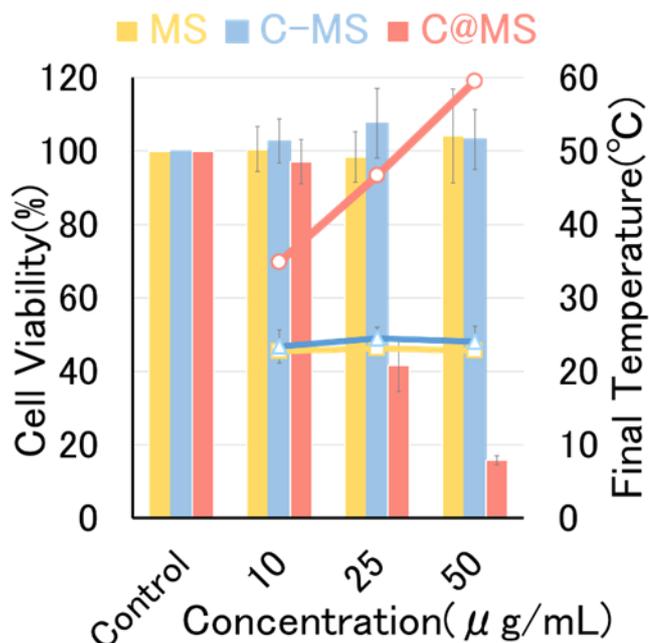


図 3 MS、C-MS、C@MS を LLC 細胞に添加し 6W/cm^2 で 5 分間 NIR 照射 24 時間後の細胞生存率

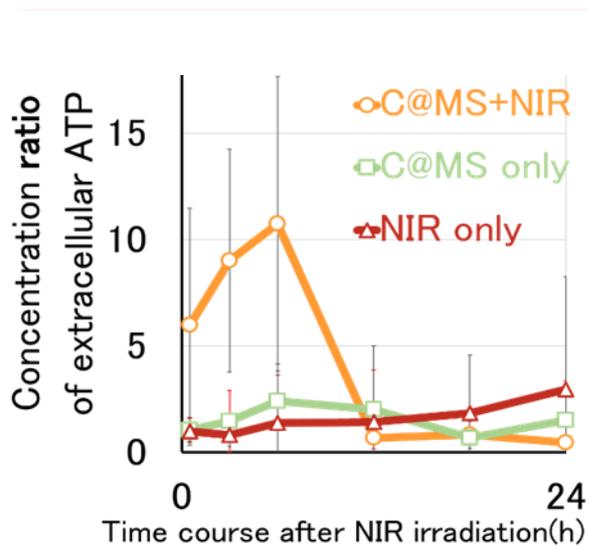


図4 C@MS 試料を LLC 細胞に添加し 6 W/cm²で 5 分間 NIR 照射してから一定時間後に細胞外に放出された ATP 量

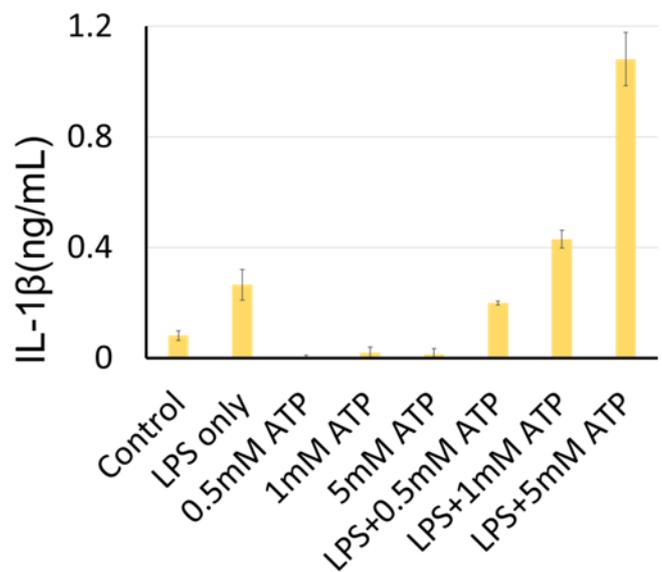


図5 マクロファージ様 THP-1 細胞に ATP 試薬を添加し、細胞外に放出された IL-1β 産生量

以上の結果より、本実験で最適に調製したメソポーラスシリカ炭素複合体(C@MS)は、その安全性と有効性から、がん光熱免疫療法用ナノ材料として有望であることが示唆された。

3. 共同研究者

一ノ瀬 昇 (理工学術院総合研究所 顧問研究員)
安井 万奈 (理工学術院総合研究所 客員次席研究員)

4. 研究業績

4.1 学術論文

4.2 総説・著書

4.3 招待講演

4.4 受賞・表彰

4.5 学会および社会的活動

5. 研究活動の課題と展望

本研究では、昨年度に続いて、免疫療法用アジュバントとしても期待されるメソポーラスシリカ／炭素複合体の合成を最適化し、近赤外線応答による発熱でがん細胞を選択的に死滅させる効果を確認した試料について、その安全性および有効性を、In vitro での細胞実験により多角的に検証を行った。しかし、機能発現機構の解明は十分とは言い難く、さらに近赤外レーザーを照射したことにより破壊されたがん細胞に含まれる特異的な抗原に免疫反応を起こす機序の解明を進めて、原発性のがん細胞だけでなく、再発や各所転移したがん細胞に対する効果と安全性についても検討を進め、最終的には臨床から新規のがん治療法構築への寄与を目指す。