

研究課題別事後評価結果

1. 研究課題名： 分子運動操作を基盤とした多次元的バイオ界面

2. 研究代表者名及び主たる研究参加者名(研究機関名・職名は研究参加期間終了時点):

研究代表者

由井 伸彦(東京医科歯科大学生体材料工学研究所 教授)

主たる共同研究者

石原 一彦(東京大学工学系研究科 教授)(平成 19 年 10 月～)

山岡 哲二((独)国立循環器病研究センター生体医工学部 部長)(平成 19 年 10 月～)

岸田 晶夫(東京医科歯科大学生体材料工学研究所 教授)(平成 19 年 10 月～)

3. 研究実施概要

本研究では、生体内で安定に存在し続けるバイオマテリアル開発の基礎として、その表面に構築した分子・分子鎖の運動の機作を通して、初期から中長期に亘る生体防御反応を制御しうるナノバイオ界面を創製することを目的とした。

基板の表面にキャストして動的表面を形成する分子として、シクロデキストリン(CD)空洞部にポリエチレングリコール(PEG)鎖が貫通したポリロタキサン(PRX)を主として用いた。PEG の分子量や CD 個数密度の異なるもの、CD の OH 基の一部を OMe 化したり、特異的リガンドで変性したものなど種々の PRX を設計して合成した。その他、PEG 単独系や、種々のメタクリレート単独または共重合体も揃えた。また、基板上への固定法としては PEG の片末端を固定する方法(graft 型)または両末端を固定する方法(loop 型)をとった。これら表面分子の“動き”のパラメータとして、水晶振動子微量重量・エネルギー散逸量(QCM-D)測定による水中でのエネルギー散逸量変化 $Mf(\Delta D/\Delta f)$ を用いた。用いた動的表面は、生体応答との関係を調べるための系統的な検討に適した十分に幅広い範囲の Mf 値を示した。とくに、 Mf の増大に対して OMe 化変性の効果が大きかった。また、 Mf は動的表面に対する水の接触角と空気の接触角との差と正の相関があった。

次に、生体防御反応の初期過程に対する“動き”の効果を考察する目的で、各種表面上への血小板の粘着、および、タンパク質の吸着と接着の挙動を調べた。血小板の粘着では、関与するタンパク質フィブリノーゲンの構造変化(鎖の露出)が Mf の大きい表面上ほど小さく、それにともなって血小板の粘着が低減する傾向が見られた。また、血清存在下での繊維芽細胞の接着、吸着フィブロネクチンのコンフォーメーション変化を調べた結果、表面の Mf 値が大きいほど吸着フィブロネクチンのコンフォーメーション変化が低減した。繊維芽細胞接着数は吸着フィブロネクチン量に依存するものの、自然な接着の程度を表す接着伸長(アスペクト比)は Mf 増大とともに亢進する傾向が見てとれた。さらに、血管(ヒト臍帯静脈)内皮細胞においても、F-アクチンの配向性は Mf が大きいほど小さくなる傾向があったことから、 Mf の大きい動的表面、すなわち材料表面上の分子の動きに対応して、初期の生体防御反応が抑制される傾向があることが強く示唆された。

次に、特異的リガンドとして RGD ペプチド化した CD を利用して PRX に導入し、血管内皮細胞の接着性を調べた。生体埋め込み人工材料の表面修飾剤として用いられることの多いポリ(2-メタクリロイルオキシエチルホスホリルコリン)(MPC ポリマー)にも RGD ペプチドを導入し、PRX 系と比較した。その結果、インテグリンとの結合の速さや細胞接着が少ないなど MPC ポリマーとは異なる結果が得られた。これは MPC ポリマーに比べて PRX の方が動きやすいことに起因すると推論した。また、PRX 系動的表面上で幹細胞の分化誘導を観察した結果、誘導を速やかに促す基盤として作用するという結果も得られた。これら一連の結果は、材料表面の分子が動けること、すなわち動的表面が生体中に近い環境を提供する、生体適合性の重要な要素であることを強く示唆するものである。

また、表面近傍の水分子の動きへの表面分子の動きの効果を見るため、種々のメタクリル系ポリマーブラシの水和構造を NMR により解析し、タンパク質の吸着との関係を調べた結果、タンパク質を吸着しにくい、動きのある表面で水の拡散係数が大きいことがわかった。さらに、生体内での安定な接着過程に重要な役割を果たすコラーゲンのフィブリル化について調べた結果、従来からの埋植後期に問題となっていたカプセル化を回避するためのコラーゲン・フィブリル化が動的表面上で効果的に生起することがわかり、動的な機能リガンドによる特異的生体応答が細胞や組織の再生に適した環境をもたらす可能性を見出した。

4. 事後評価結果

4-1. 研究の達成状況及び得られた研究成果(論文・口頭発表等の外部発表、特許の取得状況等を含む)

材料の生体適合性を動的バイオ界面という切り口で捉えて、表面分子の動きにMfというパラメータを導入し、生体防御反応への効果について整理した結果、一定の傾向を見出すことに成功しており、今後、全体像を解明する上での突破口が開けたと言える。とくに、フィブロネクチン吸着に関する解析について十分に追及された結果、生体防御反応における細胞接着に関して研究を深化した。また、幹細胞の拍動細胞への分化誘導の促進など新しい方向への展開も見え始めている。

しかしながら、QCM-Dを用いた動きのパラメータMfは、定量性においてまだ十分とは言えないこと、実際に表面分子がどのような動きをするのか可視化できていないことなどのため、分子の動きと現象との相関およびそのメカニズム検証が依然として不十分は結果となっている。たとえば、生体適合性が細胞が接着する時の拘束性に依るのか(多くの配置の中から細胞に適したものを選択して接合することができる)、あるいは結合した後も自由に運動できることが本質なのかといった区別を明確に示す事が出来るところまで迫って欲しかった。既に、分子の動きを見ることを得意とする研究者との共同研究が開始されており、その成果に期待したい。これまでの研究でも、表面の分子が「動く」ことが、生体適合性の必要条件である可能性はいくつも示唆されているので、今後、これが十分条件であることが証明されるものと期待する。

また、当初の構想では、後期の生体防御反応にも対応できる多次元ナノバイオ界面構築に向けて、細胞だけではなく組織の代謝や再吸収をも制御したり、高次機能性人工細胞外マトリクスの開発など遠大な展望が提示されていた。これを勘案すると、この5年間での成果は未だ道半ばの段階に留まっていると言わざるを得ない。

成果の発表としては、原著論文が88報あり、とくに後半の伸びが顕著であった。期間初期の立ち上がりはやや鈍かったが、後半、研究代表者グループでキーマテリアルであるPRXの品揃えが出来て以降、4つのグループ間の連携が意義あるものとなり、成果が一気に出始めた。

特許は4件と医療関連にしては少ないが、研究として未だ初期段階であることを反映した数字であると判断される。

4-2. 研究成果の科学技術や社会へのインパクト、戦略目標への貢献

定性的な研究が多い分野にあって定量化を目指したことは評価できる。科学的な理由付けは必ずしも明確とはなっていないが、細胞の運動と接着界面の運動との間に一定の相関があるなど興味ある結果が得られており、医工学の分野に一石を投じたと言える。一方、「ナノ界面」をキーワードにした本領域の趣旨に照らして、ナノの領域を観る・測るといった視点が未だ不足しており、その点で科学技術へのインパクトを減じている

研究テーマが社会的ニーズの高いものであることは言うまでもないが、成果の社会的インパクトについて、まだ評価できる段階ではない。動的界面の実施例が増えるにつれて、実用の観点からの評価も下されることと思う。

共同研究グループを含め、多くのメンバーがCREST研究での成果に基づきパーマネント職を得たことは特筆に値する。

4-3. 総合的評価

人工材料の生体適合性に関して材料表面の分子の動きという新規な視点に基づいて動的表面を設計、合成し、初期防御反応との一定の関係性を見出して、構想の突破口を開いた点を評価したい。ただ、初期になされた全体の研究構想から見れば未だ道は半ばと言わざるを得ない。生体埋め込み材料の長期安定使用を保証するナノバイオ界面を創製するという研究構想は社会的に価値があるものであることは論を待たないため、その実現に向けて研究が継続されることを希望する。そのためにも、可視化などにより、研究のキーとなる「動き」を正確にフォローする方法を確立することが肝要である。