

●第11回日本ゴム協会科学技術奨励賞受賞者報告●

天然ゴムラテックスナノ粒子の薬理特性と生体組織工学への展開

豊田工業大学大学院 岡本 正巳



岡本正巳氏

種々の機能を備えたバイオマテリアルは、再生医療や生体組織工学分野への応用だけでなく、薬理の解明でも重要であり、新たなバイオマテリアルの開拓が待たれている。受賞者は、高分子系ナノ複合材料分野で豊富な実績を持ち、近年これを基に、生体組織工学に向けた「生体コンポジット」の研究を進めてきた。

受賞者は、天然ゴムラテックス (NRL) ナノ粒子の精密な構造解析を行い、NRL粒子の細胞毒性の研究を基に、癌細胞に対する標的選択性とプログラム細胞死が癌細胞に導かれること実証し、抗癌剤としての薬理効果を見出した。さらに、NRL粒子の骨および軟骨分化誘導について研究し、NRL粒子を導入した生体コンポジットの創成に初めて成功した。以下にその業績を紹介する。

(1) NRLナノ粒子の細胞毒性

NRL粒子はゴムの木やロシアタンポポから採取されるように、自然界に存在する物質であるため、生体適合性も十分に期待できる。例えば、ラテックスは既に民間薬としての地位も確立しており、面皰、糖尿病、胃炎、および炎症を抑える薬として利用されている。このように、ラテックスの薬理的用途としての可能性は高いが、NRL粒子の細胞毒性に関しては十分に理解されていない。正常細胞にマウス骨芽前駆細胞 (MC3T3-E1) を、癌細胞にはヒト肺癌基底上皮腺癌細胞 (A549) を用いて、NRL粒子細胞毒性について研究した。MC3T3-E1に対してはNRL粒子濃度 1.0 mg mL^{-1} までは毒性がなく低濃度のNRL粒子はMC3T3-E1を安定的かつ効率的に増殖させることを見出した。超遠心分離によりNRL粒子を3つの成分に分別し、タンパク質成分とリン脂質からなる水溶性成分が細胞増殖とがん細胞の死滅に関与している成分であることを発見した。A549に対しては 0.01 mg mL^{-1} 以上のNRL粒子濃度で毒性が発現し、A549を選択的に死滅させることを明らかにした。NRL粒子単体では臨床使用されている抗癌剤 (シスプラチン) と比較して薬効は弱い、腫瘍細胞に対する標的選択性を有し、副作用も弱いことを明らかにした。さらにヒト卵巣癌細胞 (A2780) 及びヒト乳癌細胞 (MDA-MB-231) についても細胞周期とプログラム細胞死 (アポトーシス) の観点から詳細に研究した。NRL粒子を IC_{50} (50%の細胞生存率となる) 濃度にて投与すると、細胞周期分布の特徴的なG0/G1期 (DNAの損傷を調べる準備期間) が時間

経過とともに顕著に長くなり、DNA複製のスイッチがONになる開始点を通り過ぎ難い状況が発現して、細胞周期がS期 (DNA合成期) へ移行困難となり、抗癌作用で必須の細胞応答の機序であるアポトーシスを、NRL粒子が誘発することを初めて見出した。

(2) NRL粒子の骨分化誘導

MC3T3-E1は骨芽細胞への分化能と細胞外マトリックスの形成能を有しており、生体外実験における骨分化誘導実験において広く一般に用いられている細胞である。受賞者は、NRL粒子の細胞外マトリックスの形成能力について研究するために、NRL粒子をMC3T3-E1とともに21日間培養した。NRL粒子添加では、濃度 0.32 から 1.0 mg mL^{-1} ではコントロールとの有意差が認められなかった。この結果からNRL粒子には骨形成の阻害効果はなく、コントロールと同様な骨量を形成していることが見出された。さらに骨形成に関するマーカー遺伝子の解析を行い、NRL粒子濃度 0.32 mg mL^{-1} 以下の濃度においては有意な差は認められなかった。骨芽細胞の遺伝子の解析からもNRL粒子には骨形成の阻害効果はないことを初めて明らかにした。

(3) ヒト間葉系幹細胞 (hMSC) の細胞集塊形成とNRL粒子の軟骨分化誘導

軟骨の再生は重要かつ緊急の課題であり、臨床的にもその必要性は極めて高いために、*in vitro* 培養による軟骨組織形成の研究が注目されている。受賞者は、補強粒子かつ細胞分化の増強因子として作用するNRL粒子 (弾性率 $\sim 1 \text{ MPa}$) を用い、hMSCを軟骨細胞に分化誘導し、それを成熟させた。原子間力顕微鏡による細胞集塊の弾性率マッピング測定を行い、これまで実現されていない力学的強度に優れた新奇な硝子軟骨組織の創成に、人体にアレルギー反応を引き起こすことのないNRL粒子濃度において初めて成功した。

以上に示したように、受賞者は、NRLナノ粒子の薬理特性を解明し、遺伝子レベルの生体組織形成の機序解明を通じ、生体コンポジットの創成を *in vitro* で実現した。本研究の更なる進展により、生体内のがんの制御・治療法や組織再生用の新たなバイオマテリアルの創出に繋がると期待される。

本受賞にあたり、これまでの学生達の協力に心から感謝の意を表します。