

令和 5 年 6 月 2 日現在

機関番号：13901

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2022

課題番号：21K16379

研究課題名（和文）組織再生を目指したペプチドによる材料表面設計の研究

研究課題名（英文）Research on peptide-based material surface design for tissue regeneration

研究代表者

牧田 智（Makita, Satoshi）

名古屋大学・医学部附属病院・病院助教

研究者番号：20718415

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、線維化を抑制し、組織再生を促進させる新規ペプチド候補のスクリーニングを行い、候補ペプチドの線維化・癒着の評価を行うためのin vitro/in vivoモデルを構築した。具体的には、配列の単純な短鎖ペプチド（アミノ酸trimer）20種類を配したペプチド修飾アレイを用いて、筋線維芽細胞分化抑制ペプチドのスクリーニングを行い、様々なペプチド修飾表面によって筋線維芽細胞の分化を制御できる可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

外科手術で用いられる非生体吸収性の補強材料は強固で癒着防止の機能があるが、違和感や疼痛があったり、異物として感染源となったり成長によって位置がずれたりする欠点がある。一方生体吸収性補強材の場合は、異物反応を起こさない強みがあるが、機械的特性が不十分で、非選択的な接着性により重要な臓器への癒着が起こるなどの課題がある。このような課題が生じる要因に、材料周囲の細胞に対する制御が不十分さが考えられる。本研究により、ペプチド修飾表面により筋線維芽細胞の分化を制御できる可能性が示唆された。足場材料の表面設計により細胞を制御することで、線維化・癒着を抑制する効果を有する治療用材料開発に繋がると期待できる。

研究成果の概要（英文）：In this study, we screened novel candidate peptides that inhibit fibrosis and promote tissue regeneration and constructed an in vitro/in vivo model to evaluate fibrosis inhibitory performance of functional peptides.

Specifically, we screened myofibroblast differentiation inhibitory trimer peptides using peptide-modified arrays of 20 simple sequences of trimer amino acids, suggesting the possibility that myofibroblast differentiation can be regulated by various peptide-modified surfaces.

研究分野：医療機器開発

キーワード：ペプチド修飾 筋線維芽細胞 線維化 癒着

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

現在、外科手術で用いられている非生体吸収性の補強材料は、強固で癒着防止の機能もあり広く利用されているが、術後の違和感や疼痛を引き起こしたり、体内に異物として残存し感染源となったり、成長によって位置がずれて再発したりするという欠点がある。一方で生体吸収性補強材の場合は、分解吸収されてしまうので異物反応を起こさないことを強みとして開発が進められているが、機械的特性が不十分で収縮や破断を起こしやすく、非選択的な接着性により腸管などの重要な臓器への癒着が起こるなどの課題がある。

このような課題が生じる要因として、材料周囲の細胞に対する制御が不十分であることが考えられる。つまり、臨床現場で使用される医療材料は、非細胞接着もしくは非特異的細胞接着のいずれかであり、選択的な細胞制御がなされていない。そのため、慢性的な炎症作用が引き起こされたり、他組織同士の接着が促進されたりするため、線維化や癒着等の副作用が生じる。既存材料には存在しない新たなアプローチが現在求められている。

そこで本研究では、線維化や癒着の課題解決のために、細胞の接着・増殖・分化の制御に関わる細胞外マトリックスタンパク質(ECM タンパク質)に着目し、その配列中の機能部位であるペプチドを新規アプローチとして考えた。線維化に関わる細胞を抑制し、組織再生に関わる細胞を促進させるペプチドを取得し、細胞を選択的に制御する材料表面設計を考案する。また、ペプチド取得の際には、*in vivo* モデルを反映する様な *in vitro* モデルの構築が必要不可欠である。そのため、本研究では線維化や癒着を反映した *in vitro* モデルを構築し、新規ペプチドの精度の高い評価を目指す。

2. 研究の目的

本研究の目的は、消化管、肺、腹壁および横隔膜等の補強修復手術において生じる線維化を抑制し、組織再生を促進させる新規ペプチド取得と、線維化を *in vitro* で評価するための基盤技術構築である。

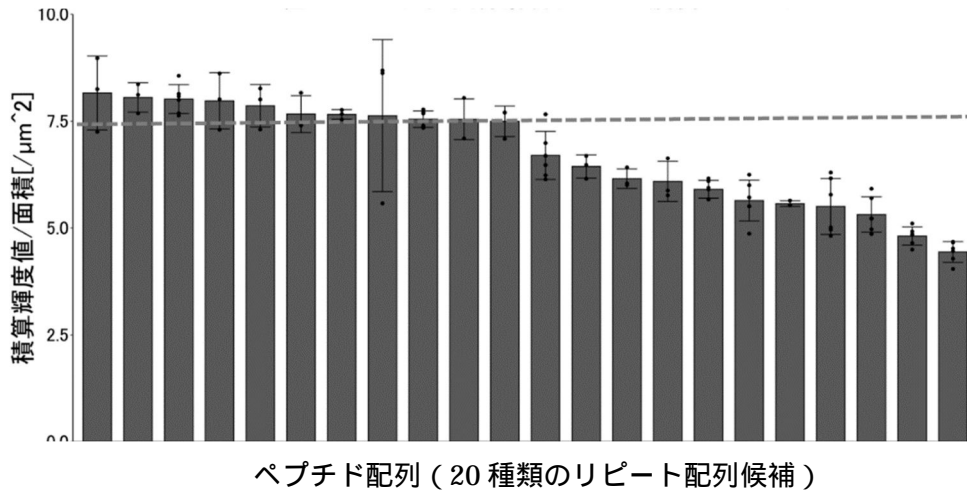
3. 研究の方法

in vitro/in vivo モデルの設計、確立とともに、筋線維芽細胞分化抑制ペプチドを取得する。

4. 研究成果

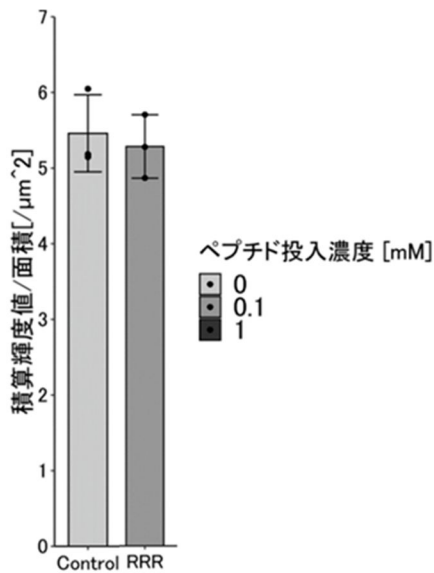
まず、得られた候補ペプチドの線維化・癒着の評価を行うための *in vitro/in vivo* モデルを構築した。*in vitro* の評価系としては、医療材料の細胞アッセイ系を構築した。*in vivo* の評価系としては、ラットおよびウサギを用い複数種類の臓器損傷モデル(横隔膜/腹壁欠損、肺損傷、胃粘膜/胃漿膜損傷)を作成した。候補ペプチド修飾生体材料の動物体内での挙動(組織切片、炎症反応・毒性・臓器運動追従性等)や操作性を検証し、安全性と有効性を評価する手法を確立した。

次に、配列の単純な短鎖ペプチド(アミノ酸 trimer) 20 種類を配したペプチド修飾アレイを用いて、筋線維芽細胞分化抑制ペプチドのスクリーニングを行った。この結果、様々なペプチド修飾表面によって、*in vivo* の線維化組織で生じる線維芽細胞の筋線維芽細胞への分化を制御するような *in vivo* アッセイモデルの開発に成功した。特にペプチド配列(Ac-RRR-YKYKY:RRR など)の修飾界面では、筋線維芽細胞への分化の程度を調節できることが示され、この効果は遺伝子発現からも確認された。このペプチド修飾効果の原理を理解するため、配列から各配列の物理化学的高次元特徴量を計算して線形モデル化した結果、物理科学的特徴の特定の組合せが見いだされた。これは、線維化で生じる筋線維芽細胞分化に、物性のメカノシグナルが影響を持つ可能性を示唆する発見である。またこの結果は、従来 *in vivo* でしか評価の難しかった癒着や線維化の促進・阻害評価を、ペプチド修飾 *in vitro* モデルで代替できる可能性でもあり、医療機器材料創出や創薬スクリーニングへの応用が期待された。



ペプチド被覆表面上での線維芽細胞の筋線維芽細胞分化傾向の蛍光値による定量結果
(右の配列は筋線維芽細胞分化の抑制ペプチド)

最後に、分化抑制ペプチドを医療機器材料 PCL 薄膜へ修飾したところ、ペプチドの分化抑制効果が低下することがわかった。原因としては、ペプチドの物性と、修飾対象となる材料の物性と、の相性の問題が考えられ、今後ポリマーとペプチドとの組合せ最適化が必要である。今回開発したモデルアッセイ系は探索に有効なため、今後効率的な物性組合せの最適化研究を進める。



ポリマーシート上における α -SMA 発現量の比較

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------