

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2007～2010

課題番号：19300176

研究課題名（和文） 細胞表層工学による次世代ナノバイオマテリアルの創製

研究課題名（英文） Development of next generation nano-biomaterials by cell surface engineering

研究代表者

藤本 啓二 (FUJIMOTO KEIJI)

慶應義塾大学・理工学部・教授

研究者番号：70229045

研究代表者の専門分野：バイオマテリアル
科研費の分科・細目：医用生体工学・生体材料学
キーワード：細胞・組織工学

1. 研究計画の概要

本研究では細胞表層における分子認識とシグナル変換に注目し、これらの情報を生み出している生体分子の階層性をマテリアルデザインのモチーフとしている。このような階層性は分子の構造変化や会合・脱会合、あるいは細胞の形態変化や運動の際に見られる細胞骨格系構造体の動的な変化と関係している。従って、これらの挙動を人為的に操作することにより細胞の認識と応答を制御できるのではないかと発想に至った。高次の階層性を持つ構造体はナノレベルでの変動によって情報を伝えるため、マテリアルをナノレベルでデザインすることが有効である。ポリマー鎖はちょうどナノレベルの素材であり、生体システムに作用するようにデザインすることも可能である。以上の点から、本申請ではポリマーを用いた以下の2つの課題に取り組む。

(1) 細胞認識を調節するナノバイオマテリアルの開発

鎖の末端にバイオアフィニティ、反応性、あるいは活性化因子を結合させることにより細胞表層に別の機能を持たせるという着想のもとに研究を行う。これは単に表面をシールドするものではなく、細胞同士を同種あるいは異種で凝集させることを可能とする。本研究ではさらに発展させて、特定の細胞を捕らえて作用を与える機能を細胞に付与すること、特定の部位に細胞を集積すること、およびデリバリーすることを行

う。さらに、細胞に化学反応性を付与して多様な基材に細胞をパターンニングすることも試みる。

(2) 細胞機能を制御するナノバイオマテリアルの開発

ナノスケールのマテリアルを用いて特定のレセプターのクラスター化を引き起こすことにより機能を発現できるのではないかと考えた。これを踏まえて、本研究ではポリマー鎖あるいは粒子を用いて細胞のレセプターを操作する（マニピュレーション）ことを行う。このマテリアルは多数のリガンドとレセプターの複合体の集合化を引き起こすことができるため、細胞に人工的な刺激を入力可能であり、機能発現を制御することが期待できる。

2. 研究の進捗状況

(1) 細胞接着部位としてこの細胞接着性ペプチドを有したポリマー鎖を作製し、これを人工細胞外マトリックスとして細胞に作用させることで、細胞凝集体を形成させることができた。

(2) 3次元細胞構造体をコラーゲンコートした基板に播種することにより、新規の細胞コーティングおよび組織体構築の端緒を見出すことができた。

(3) リガンド・レセプター間結合を高め、リガンド固定化部位、光反応性部位、アフィ

ニティ部位および解離性部位からなる多機能性ナノ分子(ポリマーナノツール)を作製し、細胞への光固定化により改質細胞を作製した。このアフィニティはリガンド・レセプターの組み合わせによって、容易に組み替え可能であることから、ナノツールを幅広く医療分野へ応用することが期待できる。

3. 現在までの達成度

①おおむね順調に進展している。

(理由) 初年度は博士学生を中心に連携が進み、昨年度からは新しく採用した助教(有期)を中心にさらに広範囲に研究を進展させることができたため。

4. 今後の研究の推進方策

(1) **他のレセプターを介した細胞機能制御** 上皮成長因子レセプター(EGFR)、インシュリンレセプターなどのクラスター化による細胞機能の発現を試みる。2.2.と同様にレセプターのリン酸化および細胞骨格系変化を観察する。さらに下流のシグナル伝達分子である Erk などのリン酸化についても検討を行う。さらに mRNA の変動を RT-PCR 法によって検出し、細胞内シグナル伝達への影響を評価する。

(2) 複数のリガンドを共固定したマテリアルによる細胞機能制御

異種のリガンドを共固定したマテリアルを作製し、レセプター-リガンド複合体のシナプス形成による機能発現の可能性を探る。異種リガンドとして、上皮成長因子(EGF)とRGDSを共固定した微粒子を作製する。さらにT細胞に抗原提示することができるナノバイオマテリアルの作製を試みる。すなわち、主要組織適合性遺伝子複合体分子(MHC分子)に加えてICAM-1、LFA-3などの補助因子を固定化したマテリアルを用いてT細胞の成熟化について検討を行う。

(3) 機能制御型ナノバイオマテリアルによる応用

得られたマテリアルを用いて、細胞からの有用物質産生の増強およびON-OFF制御を試みる。まず、内皮細胞からのNOあるいはプロスタグランジンの分泌、繊維芽細胞からのコラーゲンの分泌の制御を行う。また、癌細胞など特定の細胞にアポトーシスを誘導するなど新規の薬理効果をもつポリマードラッグとして位置づけた研究も行う。さらに、組

織再生に利用する試みとして、周囲の環境(例えば、BMPとBMPレセプターの相互作用)を形作ることによって骨細胞の分化誘導について研究を行う。

5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計4件)

① Y.Fukui and K.Fujimoto, The Preparation of Sugar Polymer-Coated Nanocapsules by the Layer-by-Layer Deposition on the Liposome, *Langmuir*, 25, 10020-10025 (2009). 査読有り

② M.Miura and K.Fujimoto, Formation and recovery of a cell sheet by a particle monolayer with the surface roughness, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 66, 125-133 (2008). 査読有り

③ K.Fujimoto, Y.Fukui and T.Toyoda, Preparation of bionanocapsules by the layer-by-layer deposition of polypeptides onto a liposome, *Macromolecules*, 40, 5122-5128 (2007). 査読有り

[学会発表](計12件)

① M.Miura and K.Fujimoto, Effect of nano-scale roughness on detachment of a cell sheet from a particle monolayer, The 8th World Biomaterials Congress, 2008年5月28日, Amsterdam, The Netherlands

[図書](計6件)

① 藤本 啓二, 化学工業社、生体に学ぶ微粒子材料の創製、13-18 (2008).

[産業財産権]

○出願状況(計0件)

○取得状況(計0件)

[その他]

ホームページ

<http://www.applc.keio.ac.jp/~fujimoto/lab.html>