

令和 2 年 5 月 29 日現在

機関番号：14301

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2018～2019

課題番号：18K19919

研究課題名(和文)天然ターゲティング薬物キャリア血小板を活用した革新的再生治療技術の創生

研究課題名(英文)Creation of novel regenerative therapy based on the platelets of natural drug targeting carrier

研究代表者

田畑 泰彦(Tabata, Yasuhiko)

京都大学・ウイルス・再生医科学研究所・教授

研究者番号：50211371

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、ゼラチン、ゼラチン誘導体、およびポリビニルアルコールなどでコーティングしたポリ乳酸粒子を作製した。ウサギ血液から採取した血小板に粒子を与えた結果、いずれの粒子も血小板に取り込まれた。次に、血小板をフィブリンで処理したところ、期待通り、取り込まれた粒子は血小板からはき出された。抗がん剤を包含したポリ乳酸粒子を作製し、それらの粒子の血小板への取り込みとはき出しを調べた。この場合にも粒子は血小板に取り込まれ、フィブリン処理によりはき出された。はき出された薬物は生活活性を保持していた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の目的は、血小板本来のもつ炎症部位への集積機能を活用した革新的治療技術の創生である。血小板は、物質を取り込み、フィブリンなどの刺激により取り込んだ物質をはき出す性質をもっている。本研究では、血小板への薬物取り込みを向上させるために、薬物を高分子粒子キャリアに包含する。薬物を取り込んだ血小板を血液中に投与すると血小板は炎症部位へと自然と集積される(天然ターゲティング)。炎症部位に存在するフィブリンにより、炎症部位で血小板から薬物は放出される。この天然の血小板の性質を利用した薬物デリバリーシステムは、今後の治療概念に大きな変革をもたらすと考えられる。

研究成果の概要(英文)：Poly(lactic acid) microspheres were prepared and coated with gelatin, gelatin derivatives, and poly(vinyl alcohol). When applied to platelets which had been isolated from rabbit blood, the microspheres were taken up by the platelets, irrespective of the coated type. The platelets were treated with fibrin. As expected, the microspheres were excreted from the platelets. Following the incubation with platelets, the microspheres incorporating an anti-tumor drug were taken up by the platelets to a similar extent. The fibrin treatment allowed the microspheres to extract from platelets while the drug in microspheres extracted remained the biological activity.

研究分野：生体材料学

キーワード：血小板 再生治療 炎症ターゲティングキャリア 体内細胞動員 組織幹細胞

## 1. 研究開始当初の背景

再生治療とは、体内に存在している細胞の増殖・分化(ある生物機能をもつように成熟すること)能力を高め、体本来のもつ自然治癒力を介した治療である。この再生治療を実現するためには、病気によって生じた損傷、炎症部位に細胞を呼び込み、その部位で、細胞の能力を高めることが必要不可欠となる。

血小板は、物質を取り込み、組織損傷、炎症部位に存在するフィブリンなどの刺激により取り込んだ物質をはき出す性質をもっている。この物質を取り込み、はき出す血小板の性質を組織損傷、炎症部位で活用することができれば、再生治療効果を高めることができるであろう。すなわち、再生能力の高い体内に存在する組織幹細胞を炎症部位へ呼びよせる(動員させる)薬物を血小板に取り込ませる。薬物を取り込んだ血小板を血液中に投与すると血小板は損傷、炎症部位へと自然と集積する(天然ターゲティングされる)。組織損傷、炎症部位にはフィブリンなどが存在していることから、このフィブリンにより血小板に取り込ませた薬物はその場でのみ放出される。放出された薬物は能力の高い細胞を炎症部位に呼びよせる。動員された細胞によって生体組織の再生修復が実現する。組織損傷、炎症が起これば、必ずフィブリンが産生される。正常部位ではフィブリンはほとんどなく、このフィブリンは特異的な存在によって薬物を損傷、炎症部位のみにターゲティングすることが可能となる。

これまでも、血小板の生物学研究は行われており、血小板が物質を取り込む現象、血小板の炎症部位の自発的な集積能力、炎症、組織損傷部位に存在しているフィブリンなどで活性化されて液性因子を放出することなどは、報告されている。しかしながら、血小板に薬物を取り込ませて、“トロイの木馬”のように血小板の生理的な天然のターゲティング能力を活用して炎症部位へ薬物を効率よくターゲティングさせ、再生修復応用しようという治療的な試みは国内外を通して報告はない。

再生治療では、治療すべき部位に細胞を直接投与する細胞移植、あるいは、治療部位で細胞の増殖分化能力を高める細胞増殖因子および細胞足場材料などを利用する組織工学の2つの方法論がある。しかしながら、これまでに有効な方法論は、ほとんど再生を期待する部位近傍での局所治療であり、全身投与による治療部位選択的な再生修復の試みは国内外を通じて皆無である。本研究の目的が達成されたならば、血液内投与により治療が必要となる部位へ能力の高い細胞の動員を高める唯一、現実的な方法論を与えることになる。体内の炎症、修復メカニズムを活用した再生治療を促す革新的な技術となる。再生治療に対する社会的要求度と期待度がますます高まっている中、その学術的、社会的意義がきわめて大きい。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、創傷治癒過程で働く血小板の天然キャリアとしての性質を増殖分化能力の高い幹細胞を再生の必要な部位に呼びよせ、再生修復を促し、再生治療を実現する革新的再生治療技術の創生である。この目的を達成するために、血小板の生理的な天然の炎症部位ターゲティング能を利用するための技術を開発する。体内幹細胞を呼びよせる性質をもつ薬物を血小板に取り込ませ、血小板のターゲティング能により、必要部位に運ばせ、その部位の修復過程を促す。私たちは、再生修復を期待する部位に幹細胞を呼びよせることができれば、その部位で再生治療が実現できることをこれまでの研究から、すでに明らかにしている。また、SDF-1の局所徐放が幹細胞の体内動員を高めることもわかっている。一方、血小板は炎症あるいは組織損傷部位に生理的に集積される性質をもつことが報告されている。これは、血小板が傷を修復する能力をもつことから考えれば当然である。このような知見を総合的に考慮して、もし、血小板を利用して、再生修復が必要な部位に幹細胞の体内動員を高める薬物を送り込むことが可能となれば、再生治療のための体内に存在する幹細胞が必要部位に動員され、治療修復が促進できるのではないかとこの着想に至った。

## 3. 研究の方法

血小板は血液中に存在し、生体組織が損傷あるいは炎症を起こした時に、その部位に自動的に集積する。さらに、自ら液性因子を放出、他の創傷治癒過程を促す細胞を呼びよせ、損傷部位修復を行う生理機能をもっている。これは、血小板のもつ生理的機能である。本研究の目的は、血小板のもつこの損傷、炎症部位への集積(生理学的な天然ターゲティング能)機能を活用して、再生治療を実現することである。

本研究の目的を達成するためには、血小板への薬物を取り込ませる薬物キャリアの作製、動物からの血小板の単離、薬物キャリアの血小板への取り込みとはき出しの評価、血小板の生物機能の評価、動物を用いた血小板による再生治療効果の評価などに対する実験手技、方法論が実施可能であることが必須である。研究代表の田畑は、これまで、血小板の単離とその生物機能の評価を行った経験をもつ。加えて、動物により血小板の採取、および動物を用いた再生治療効果の評価に対しても豊富な知識と技術を持っている。研究分担者の城は、これまで、薬物キャリア、細

胞内への薬物導入キャリアの作製やキャリアからの低分子薬物やタンパク質の徐放化について研究を行い、その手技は修得しているため、本研究の遂行に問題はない。そのため、田畑と城との両名で、異なる薬物キャリアを作製、薬物の徐放化、および血小板の単離、培養、血小板の生物機能やその再生修復効果の評価を行うことは可能である。

#### 4. 研究成果

本研究の目的は、血小板本来のもつ炎症部位への集積機能を活用した革新的治療技術の創生である。血小板は、物質を取り込み、フィブリンなどの刺激により取り込んだ物質をはき出す性質をもっている。本研究では、血小板への薬物取り込みを向上させるために、薬物を高分子粒子キャリアに包含する。薬物を取り込んだ血小板を血液中に投与すると血小板は炎症部位へと自然と集積する（天然ターゲティング）。炎症部位に存在するフィブリンにより、炎症部位で血小板から薬物は放出される。この目的を達成するために、

本研究では、ポリ乳酸粒子を作製した。加えて、粒子をゼラチン、ゼラチン誘導体、およびポリビニルアルコールなどでコーティングを行った。ウサギ血液から血小板を活性化させることなく採取、それに粒子を与えた結果、いずれの粒子も血小板に取り込まれた。その中でポリビニルアルコールでコーティングしたポリ乳酸粒子が、血小板の活性化をとまわず、血小板内に取り込まれることがわかった。次に、血小板をフィブリンで処理したところ、期待通り取り込まれた粒子は、血小板からはき出された。次にポリ乳酸粒子に抗がん剤を包含させ、その徐放性を確認するとともに、血小板への取り込みとはき出しを調べた。はき出された薬物は生物活性を保持していた。

一方、SDF1 を含有したポリ乳酸粒子の調製を試みた。その結果、SDF-1 の含有を確認できたが、粒子より徐放された SDF-1 の生物活性の低下が問題となった。そこで、この問題点を解決する 1 つの方法として、ゼラチンからなるハイドロゲル粒子を作製した。このハイドロゲル粒子から SDF-1 が徐放されることを確かめた。次に SDF-1 包含ゼラチンハイドロゲル粒子を血小板に与えたところ、粒子は血小板に取り込まれた。現在、この粒子を活用して実験動物を用いて再生治療効果を検討しているところである。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 城潤一郎、明石祐典、田畑泰彦
2. 発表標題 抗がん剤含有高分子ナノ粒子-血小板ハイブリッドDDSのデザイン
3. 学会等名 第40回日本バイオマテリアル学会大会、神戸
4. 発表年 2018年

〔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
研究分担者	城 潤一郎  (Jo Junichiro)  (60511243)	京都大学・ウイルス・再生医科学研究所・助教    (14301)	