

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 6 年 9 月 6 日現在

機関番号：35303

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K19682

研究課題名（和文）金属-天然由来バイオマテリアル複合体の毒性と免疫機能影響

研究課題名（英文）Toxicity and immunological effect of metal and naturally derived biomaterial complex

研究代表者

西村 泰光（Nishimura, Yasumitsu）

川崎医科大学・医学部・准教授

研究者番号：90360271

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,900,000円

研究成果の概要（和文）：注目する素材Xは、金属と天然由来バイオマテリアルの複合体として利用が期待されているが、一方でその毒性については未知であった。幾つかの予備試験を行ったところ、Xの興味深い細胞毒性が明らかとなった。そこで、Xの毒性影響の解明を目指し、併せて抗腫瘍免疫賦活剤としての可能性を検討した。ヒト細胞株を用いた細胞培養実験によりXの細胞毒性影響および免疫機能影響について、フローサイトメトリー、RT-qPCR、ELISA、蛍光顕微鏡、電子顕微鏡を用いて各種指標を測定し解析を行った。その結果、Xの腫瘍細胞に対する効果的な毒性影響および免疫活性化影響が明らかとなった。Xが新たな抗腫瘍免疫賦活剤となる可能性がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究課題より得られた研究成果により、Xが新たな抗腫瘍免疫賦活剤となる可能性が明らかとなった。Xは上市されている薬剤には当てはまらず、新たな創薬モダリティを拓く可能性が高い。従って、研究成果の学術的意義や社会的意義は大きく、また今後の更なる発展が期待できる。

研究成果の概要（英文）：The material X that attracts attention is expected to be used as a complex of metal and naturally derived biomaterial, but on the other hand, its toxicity was unknown. Our preliminary trials revealed the interesting cytotoxicity of X. Therefore, with the aim of elucidating the toxic effect of X, we also considered the possibility as an antitumor and immunoactivation drug. Through cell culture experiments using human cell lines, various indicators were measured and analyzed by flow cytometry, RT-qPCR, and ELISA on the cytotoxic effects and immune function effects of X. As a result, the effective toxic effects of X on tumor cells associated with immune activation were revealed. X may become a new antitumor immunostimulant.

研究分野：毒性学

キーワード：毒性学 免疫機能 細胞死

1. 研究開始当初の背景

注目する素材 X は、金属と天然由来バイオマテリアルの複合体として利用が期待されているが、一方でその毒性については未知であった。基材となる材料は代表的な“天然由来バイオマテリアル”であり、低炭素社会に資する工業材料であると共に高い生体適合性から再生医療への応用も期待されている。他方で、金属の機能を期待した“金属-天然由来バイオマテリアル複合体”が上市されつつあり、素材 X はその代表的な1つとなっている。X が包含する金属は毒性の知見が確認されていることから、X が細胞に対する有益性と毒性という相反する特徴に基づく未知の毒性影響を示す可能性が考えられた。また、本研究課題に先立ち、毒性領域の研究活動から知見を深め、それらより蓄積された幾つかのエビデンスも本研究を想起することに大きく影響を与えた。

そこで、細胞株を用いて幾つかの予備試験を行ったところ、素材 X の興味深い細胞毒性が明らかとなった。素材 X は正常細胞とは対照的に腫瘍細胞に対して強い毒性を示すことが分かった。また、その際に確認された細胞死は **Immunogenic Cell Death** を予見する特徴を示した。更には、それらの細胞死は素材 X が存在する周囲に限局性に生じていることが確認され、毒性が遠位の正常組織に与える副作用(有害作用)が可溶性の化学物質等と比べて局所に限定できる可能性が示唆された。即ち、素材 X は、複合体としての構造に起因する新たな毒性機序を有し、未知の強力な細胞死誘導作用に加えて免疫賦活作用を併せ持つ新たな抗腫瘍・免疫賦活作用が期待された(図1)。そこで、X の毒性影響の解明を目指し、併せて抗腫瘍免疫賦活薬剤としての可能性を検討した。



図1 研究アイデアの基盤となる複合体構造に因る“新たな毒性機序”の概念図

2. 研究の目的

本研究では、マテリアル X の毒性影響および免疫機能影響を明らかにする。加えて、類縁の素材との比較を行い、また他の薬剤との複合作用を検証し、X の毒性影響の特徴、更には薬剤としての有用性について検証する。

3. 研究の方法

1) 電子顕微鏡による素材 X の観察

走査型電子顕微鏡 (SEM) を用いて素材 X の微細構造の観察を行った。

2) 細胞培養および細胞増殖の測定

ヒト腫瘍細胞株の細胞培養実験を行い、素材 X により示される抗腫瘍作用について WST-1 試薬およびマイクロプレートリーダー (Thermo Fisher Scientific 社) による細胞増殖の測定により確認された。

3) 蛍光顕微鏡による細胞死の確認

カバーガラスボトムチャンバー内で細胞を培養し、蛍光顕微鏡 (Keyence 社) により細胞死の様子が確認された。

4) 細胞死様態の確認

フローサイトメトリー (FACSCanto) および蛍光標識試薬を用いて細胞死の様態が調べられた。

5) 遺伝子 mRNA レベルの相対定量

素材 X の毒性機序を探るため、関連する遺伝子 mRNA レベルについて SYBR Green 色素を用いた RT-qPCR により gapdh 遺伝子を reference とした相対的発現量として調べられた。

6) 細胞内容出物の測定

素材 X の細胞死が免疫機能に及ぼす作用を調べるため、細胞内容出物の培養上清中濃度が ELISA キットおよびマイクロプレートリーダーにより測定された。

4. 研究成果

各種実験を行った結果、素材 X の腫瘍細胞に対する効果的な毒性影響および免疫活性化影響が明らかとなった。素材 X が新たな抗腫瘍免疫賦活剤となる可能性がある。現在、素材 X の毒性機序に関わる遺伝子群の網羅的解析を目的としたトランスクリプトーム data を分析中であり、これにより素材 X 固有の毒性機序に関わる核となる遺伝子群が明らかとなる。また、これらの基礎研究の結果を検証するため、動物実験計画を計画している。それらより得られる成果は、本研究成果と合わせ、素材 X の抗腫瘍・免疫賦活剤としての評価となることから、特許出願を予定している。

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〕

特許出願を予定しているため、研究成果の公表を控えている。従って、本報告書の内容は暫定的なものであり、後日公表可能な段階で正式な研究成果報告書の作成を予定する。

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	吉岡 大輔 (Yoshioka Daisuke) (40638318)	川崎医科大学・医学部・助教 (35303)	
研究分担者	李 順姫 (Lee Suni) (70414026)	川崎医科大学・医学部・助教 (35303)	

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
---------	---------