

活性酸素を制御するバイオマテリアルの構築

Design of Novel Biomaterials which Scavenge Reactive Oxygen Species and Their Applications

課題番号：25220203

長崎 幸夫 (NAGASAKI YUKIO)

筑波大学・数理物質系・教授



研究の概要

代謝可能な中分子量ポリマーに抗酸化能を創り込み、正常な細胞の電子伝達系などのレドックス反応を妨害せず、病気に起因する活性酸素種を選択的に除去する新しい材料を設計し、ナノメディシンとして評価するとともに、癒着防止剤、腹膜透析、幹細胞分離など、様々なバイオ関連材料として評価し、高い性能を確認した。患者に優しい新バイオマテリアルが期待される。

研究分野：生体機能材料

キーワード：活性酸素種、高分子ミセル、酸化ストレス、電子伝達系、ナノメディシン

1. 研究開始当初の背景

過剰に産生される活性酸素種(ROS)が様々な疾病の重大な原因となることが明らかになってきた。ROSを除去するにはビタミンEや抗酸化剤など様々あるものの、低分子抗酸化物質は非特異的に拡散し、生体に必要な活性酸素種をも除去するため、使用には限界がある。我々は、活性酸素種が正常なエネルギーを産生するとともに様々な疾病にも関与する「諸刃の剣」であることに着目し、高分子に抗酸化能を創り込むという発想で酸化ストレスを低減する材料設計を行った。

2. 研究の目的

正常なROSの産生を妨げず、過剰なROSを選択的に除去するため、代謝可能な中分子量高分子にROS除去能を創り込む新しい材料の設計を進めてきた。具体的には図1に示すように、自己組織化能や環境応答能を有する高分子に触媒的に活性酸素除去能を有するニトロキシドラジカルを導入し、ミトコンドリア内の正規電子伝達系を阻害せず、マクロファージや好中球が過剰に産生するROSを選択的に除去するレドックス高分子材料を設計し、その自己組織化によるナノ粒子(レドックスナノ粒子(RNP)と略記)が脳や腎臓血管の梗塞、再灌流によって生じるROSの除去のみならず、潰瘍性大腸炎や様々な疾患部位に送達し、そこで過剰に産生される悪玉活性酸素を効果的に除去し、副作用の少ない新しいナノメディシン(レドックスポリマー薬)として

働くことを示してきた。本研究ではこれら材料を生体内治療のみならず、基材表面にコーティングすることにより、血液細胞の材料接触活性化を抑制することやROS除去能と老廃物吸着能を併せ持つ腹膜透析用レドックス吸着剤などに展開し、新しい生体機能材料として、ROS除去型高分子による革新的医療技術の開発を目指すことを目的としている。

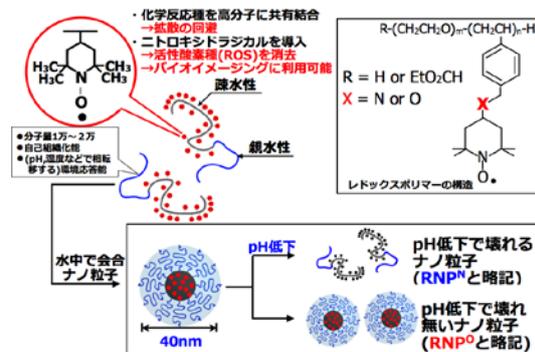


図1 悪玉活性酸素種を選択的に除去する新しいレドックス高分子の設計

3. 研究の方法

本研究では、ニトロキシドラジカル含有高分子をベースにレドックス反応性を示すRNP、シリカを封入したRNP(siRNPと略記)、フラワーミセル型レドックスナノ粒子を設計し、その物理化学特性、毒性およびROS除去能を評価するとともに疾患動物モデル評価を行い、効果を検証した。特に活性酸素除去能と疾患治療効果の相関とともに代謝や副作用に関する検討も進めた。生体温度でゲル化するレド

ックスインジェクタブルゲル(RIG)は歯周病や臓器癒着防止剤、局所 DDS 等としての評価を行った。シリカ含有レドックスナノ粒子 (siRNP)は ROS 消去型吸着剤として腹膜透析、経口 DDS としての評価を行った。レドックス型表面処理剤は血液凝固評価を行うとともに細胞分離培養床など、これまで問題であった細胞と材料の接触に伴う活性化をアクティブに抑制する新型医療デバイスの創出を行った。

4. これまでの成果

4.1 安全性：低分子抗酸化剤（この場合 TEMPOL）がゼブラフィッシュを 100%死滅する濃度条件で、RNP は 100%生存する驚異的安全性を示すことを確認した。この安全性をマウスにおいても確認した。

4.2 レドックスインジェクタブルゲル(RIG)：RNP の設計をさらに進めて ROS を消去し且つ生体温度でゲル化する RIG を作製した。これは歯周ポケット内 ROS 消去による歯周病薬へ展開した。また RIG コア内に様々なタンパク質を効率よくかつ安定に封入することができることから、IL-12 を RIG に内包せしめ、皮下投与により高い腫瘍増殖抑制効果を示すだけでなく、IL-12 の肝毒性等の副作用を強く低減した。開腹手術後の臓器癒着が大きな問題になっているため、RIG をスプレーにして臓器表面に塗布すると、物理的隔離のみならず、開腹による ROS の影響を低減させることにより、現状利用されているセプラフィルムに比較してきわめて高い臓器癒着抑制効果を発揮することを確認した。このように RIG は単体として歯周病薬になるだけで無く、DDS 用担体、医療用癒着防止剤など広範囲の用途があり、開発が期待される。

4.3 吸着能の高いレドックスナノ粒子 (siRNP) の作製：シリカ内封 siRNP は高い吸着能を有し、これを腹膜透析用透析液に添加すると、透析液内に浸出した老廃物分子を吸着することで腹膜液交換回数を減らすだけでなく、ROS による被覆性腹膜硬化症を抑制し、QOL の高い腹膜透析法となることを確認した。siRNP は薬物の安定封入が可能であり、経口 DDS 用材料としての高い効果を確認した。

4.4 レドックスポリマーによる医用デバイス表面処理：紙面の都合上割愛するが、ROS を消去する表面処理材が血液凝固を抑制し、細胞培養に効果的であった。このほか下記の成果が得られているものの、紙面の都合上割愛する。後述する詳細報告版を参照されたい。

4.5 抗がん剤アジュバント

4.6 慢性疾患に対する RNP の経口投与効果

5. 今後の計画

これまで RNP、RIG、siRNP および表面処

理材を作製し、様々なナノメディシン・マテリアルとして評価を進めてきた。本研究後半ではこれらの研究をさらに広範に展開するとともに一酸化窒素や過酸化水素に注目した新しいナノメディシンの設計を進める。

6. これまでの発表論文等（受賞等も含む）

1. Long Binh Vong, et al., Combination treatment of murine colon cancer with doxorubicin and redox nanoparticles, *Molecular Pharm.*, in press.
2. Shiro Ishii, et al., Development of a long-acting, protein-loaded, redox-active, injectable gel formed by a polyion complex for local protein therapeutics, *Biomaterials*, 84, 210(2016)
3. Makiko Saita, et al., Novel antioxidative nanotherapeutics in a rat periodontitis model: Reactive oxygen species scavenging by redox injectable gel suppresses alveolar bone resorption, *Biomaterials*, 76, Pages 292(2016)
4. Shinpei Kudo, Yukio Nagasaki, A Novel Nitric Oxide-based Anticancer therapeutics by Macrophage-targeted Poly(L-Arginine)-based Nanoparticles, *J.Cont.Rel.*, 217, 256 (2015)
5. Hiroyuki Nakagawa, et al., Design of high-performance anti-adhesion agent using injectable gel with an anti-oxidative stress function, *Biomaterials*, 69,165(2015)
6. Pennapa Chonpathompikunlert, et al., Recovery of Cognitive Dysfunction via Orally Administered Redox-polymer Nanotherapeutics in SAMP8 mice, *PLoS ONE*, 10(5): e0126013 (2015).
7. Long Binh Vong, et al., Development of an oral nanotherapeutics using redox nanoparticles for treatment of colitis-associated colon cancer, *Biomaterials*, 55, 54(2015)
8. Yukio Nagasaki, et al., Design and use of silica-containing redox nanoparticles, siRNP for high-performance peritoneal dialysis, *Biomat.Sci.*, Vol.2, No.4., 522(2014)

受賞

2014年11月日本潰瘍学会賞

2014年11月日本バイオマテリアル学会賞

2015年7月日本 DDS 学会 永井賞

ホームページ等

http://www.ims.tsukuba.ac.jp/~nagasaki_lab/index.htm

なお、本報告の詳細バージョンは

http://www.ims.tsukuba.ac.jp/~nagasaki_lab/160229nagasaki_rep_S.pdf を参照されたい。