

死細胞に学ぶ新たなバイオマテリアルの開発

*¹国立研究開発法人物質・材料研究機構高分子・バイオ材料研究センタースマートポリマーグループ、*²筑波大学大学院数理物質科学研究群物性・分子工学サブプログラム

岩瀬 大周*^{1,2}, 荻原 充宏*^{1,2}

Taishu IWASE, Mitsuhiro EBARA



岩瀬 大周



荻原 充宏

1. バイオマテリアルの今昔

バイオマテリアルの歴史は長く、古代エジプト人や古代ローマ人の遺骨からも貝殻や木で作られた義歯や義足などが発見されている(図1)。手術用縫合糸に至っては、今から数万年前にすでに使われていたという記述が古代エジプトのパピルスに残されている。このように、バイオマテリアルの歴史は、人々の健康とともに歩んできた。20世紀に入ると材料科学の著しい進歩により、金属やセラミックス、合成ポリマーなどを用いた新たなバイオマテリアルが次々と登場し、現代医療の礎となったり。そして現在では、マスク、コンタクトレンズ、シリンジ、メスから人工臓器に至るまで、バイオマテリアルは我々の生活に欠かせない存在となっている。

その中でも、生体の免疫機能を調節可能なバイオマテリアルの開発が長年望まれてきた。そのブレイクスルーの1つが、Ishiharaらが開発したMPC(2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine)ポリマーである²⁾。MPCは、細胞膜表面に存在するリン脂質であるphosphorylcholine(PC)の構造を模倣したポリマーで、免疫反応を回避する材料として人工股関節や人工心臓などに応用されている。MPCポリマーは双性イオンポリマーに分類され、近年ではホスホベタイン型、スルホベタイン型、カルボキシベタイン型など多くの双性イオンポリマーが合成され、その免疫回避特性が確認されている³⁾。このような免疫回避型のポリマーの



図1 古代エジプトの義足
(National Museum of Egyptian Civilizationの展示より)

登場により、体内埋め込み型人工臓器への道筋が大きく拓けた。

2. 免疫を調節可能なバイオマテリアル

その一方で、免疫システムに積極的に関与して免疫の調整を行う、いわゆる免疫活性型のバイオマテリアルの開発も行われている。代表的な例としては、がんワクチンや新型コロナウイルス感染症で話題となったmRNA(messenger ribonucleic acid)ワクチンに用いられるアジュバント材料である。アジュバント材料は1926年にミョウバンなどのアルミニウム塩がアジュバントとして開発されて以来⁴⁾、約1世紀の間、ゴールドスタンダードとして用いられてきた。しかし、ミョウバンは好酸球およびIgE(immunoglobulin E)産生の増加を伴うアレルギー、およびアナフィラキシーのリスクが増大することが問題視されている。アジュバント材料は、理想的には、安定で保存期間が長く、生分解性を

■ 著者連絡先

国立研究開発法人物質・材料研究機構高分子・バイオ材料研究センタースマートポリマーグループ
(〒305-0044 茨城県つくば市並木1-1)
E-mail. EBARA.Mitsuhiro@nims.go.jp

持ち、製造コストが安く、免疫学的に不活性で、適切な免疫応答、つまり保護の要件に応じて細胞免疫または抗体免疫を促進する機能などが求められている。

例えば、polyinosinic-polycytidylic acid sodium salt (poly IC) は二本鎖ウイルスRNA模倣物質であり、toll-like receptor 3 (TLR3) アゴニストとしてよく知られている。Poly ICは、パターン認識受容体 (pattern recognition receptor, PRR) 経路を通じて自然免疫を活性化させることができる。そして、細胞内の複数のカスケードを増幅させることでIFN (interferon) やIL-6 (interleukin 6) などの炎症性サイトカインの産出が促進される。しかし、poly ICは親水性で酵素分解を受けるために体内での薬物動態が悪く、非常に高い用量を必要とし、その結果、高い毒性が問題視されている。そこで、nanoengineered coordination polymers (NCPs) というコンセプトに注目が集まっている⁵⁾。NCPsは金属イオンと有機配位子からなる多孔質材料である。金属イオンと有機配位子を適切に選択して組み合わせることで、通常細胞環境では薬物を保護し、腫瘍組織近傍でのみ免疫活性を発揮させることができる。Liらは、poly ICを有機配位子として用いた亜鉛ベースのNCPs (pIC@NPC) を作製した⁶⁾。pIC@NPCは血中滞留性の向上、癌細胞への取り込みの促進、および酸性環境下特異的なpoly ICの放出により、強力な腫瘍増殖抑制効果を示した。

また、近年では、免疫を活性化するだけでなく免疫細胞に作用して免疫寛容を起こす生体材料の開発も盛んに行われている。自己免疫疾患は、自己の組織を抗原と認識して、自らを攻撃する疾患である。主な疾患として、関節リウマチや全身性エリテマトーデスなどが挙げられる。自己免疫疾患の原因はまだ不明な点が多いが、遺伝や感染との関連が示されている。現在、それらの治療法は免疫抑制薬とコルチコステロイドなどの薬物療法が主流であるが、根本的な治療法ではないため、継続的な薬物の投与が必要であることや、重篤な副作用があることが問題視され、これらの原因解明とともに新規治療法の開発が進められている。そうした中、自己免疫疾患の治療薬として、インフリキシマブやアバセプトのような抗体医薬に関する研究が進められており、投与により自己免疫疾患の症状が軽減されたという研究結果も出ている。このように自己免疫疾患の治療に関する研究は盛んに行われている。一方で、免疫抑制治療は感染症のリスクを伴う。生体材料を用いた免疫抑制を行う場合、免疫のメカニズムと材料の特性をしっかりと把握したうえで行うことが必須となる。そこで筆者らが着目したのは、体内で日常的に行われているアポトーシス細胞の免疫寛容効果である。次節では、アポトーシス細胞の免疫寛容

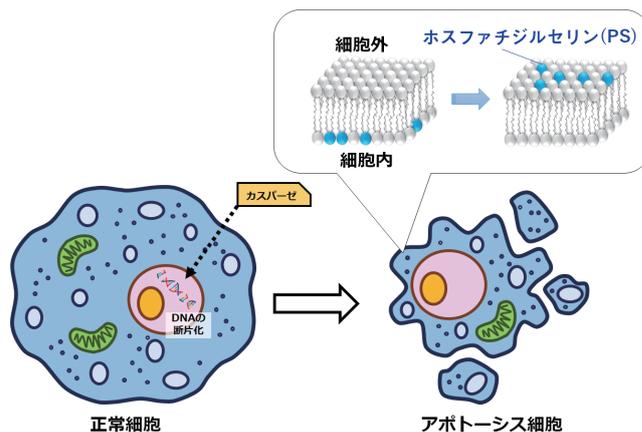


図2 細胞のアポトーシス

効果について詳しく紹介する。

3. アポトーシス細胞の免疫寛容効果

アポトーシスは「プログラムされた細胞死」とも呼ばれ、生体組織の恒常性を維持するために欠かせない重要な現象である。例えば、カエルが幼体から成体に変態する過程において、オタマジャクシの尾ひれがアポトーシスを起こして消失するというのは有名な話である⁷⁾。また、我々の体内では毎秒約100万個もの死細胞が除去されていると推定されており、アポトーシス細胞がそれに伴う炎症反応を抑制しているともいわれている。

炎症反応を抑制するメカニズムで重要なことは、細胞がアポトーシスを起こすと、早期の貪食を促進するマーカーである phosphatidylserine (PS) を細胞表面に示すことである(図2)。PSは、正常細胞ではフリッパーゼという酵素により脂質二重層の内側に存在しているが、アポトーシスを起こすとカスパーゼによりフリッパーゼが分解され不活性化することで膜構造が変化し、PSが外側に露出される。このPSをマクロファージが認識すると、そのフェノタイプを炎症性(M1型)から抗炎症性(M2型)に誘導することが知られている⁸⁾(図3)。Vollらの実験では、ヒト末梢血単核細胞(peripheral blood mononuclear Cells, PBMC)においてアポトーシス細胞が炎症を抑制することが初めて実証され、アポトーシス細胞を用いた炎症性疾患の治療に可能性を見出した⁹⁾。また近年では、ToitaらがPSの構造を含有したリポソームを合成し、マクロファージのフェノタイプを炎症性から抗炎症性に変化させることを示し、様々な炎症性疾患の治療に有用であることを証明している¹⁰⁾。

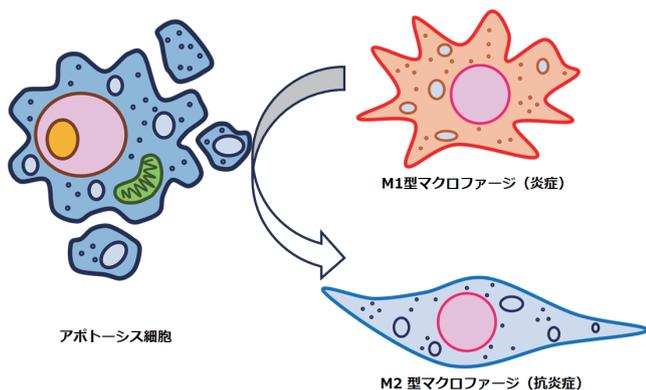


図3 アポトーシス細胞の免疫寛容効果

4. アポトーシス細胞模倣ポリマー (人工アポトーシス細胞)

こうした背景のもと、筆者らは10年ほど前からアポトーシス細胞膜模倣ポリマーの設計に着手してきた。DNAの固相合成法であるホスホロアミダイト法にヒントを得て、PS部分をメタクリレートに導入したモノマー〔MPS (2-methacryloyloxyethyl phosphorylserine) モノマー〕を合成し、ラジカル重合を用いてポリマー化することで、MPSポリマーを合成した¹¹⁾(図4)。MPSポリマーは、マウスマクロファージ様細胞株 (RAW 264.7 cells) において用量依存的に炎症性の転写因子であるNF- κ Bの発現を低下させた。また、MPSポリマーは細胞毒性が低いことが知られており、アポトーシス細胞と似た挙動をすることも示唆されている。PSが導入された合成ポリマーであるMPSポリマーの強みは、材料の形状を制御できることにある。それは分子量制御だけでなく、ナノファイバーやフィルムなど様々な形状への応用が期待できることを意味している。

例えば、polyethylene glycol, PEG, polycaprolactone (PCL), poly *N*-isopropylacrylamide (PNIPAAm) の側鎖の水酸基にアミダイト試薬を結合させることで、ポリマーのPS化に成功している¹²⁾。この方法より、butyl methacrylate (BMA) と 2-hydroxyethyl methacrylate (HEMA) を共重合させた poly (BMA-*co*-HEMA) に、PSを導入させることで、両親媒性のポリマーである poly (BMA-*co*-HEMA-*co*-MPS) を合成した¹³⁾。そして、このポリマーを自己組織化により粒子化させることでMPS粒子の作製を行った。粒子径は約1 μ mを示し、アポトーシス細胞を模倣した形状のMPS粒子の作製に成功した。MPS粒子は、RAW 264.7 cells とマウスミクログリア由来細胞株 (MG6) において、炎症性サイトカインの産生を有意に減少させた。さらに、MPS粒子によるミクログリアのフェノタイプシフトを *in vivo* で調査し

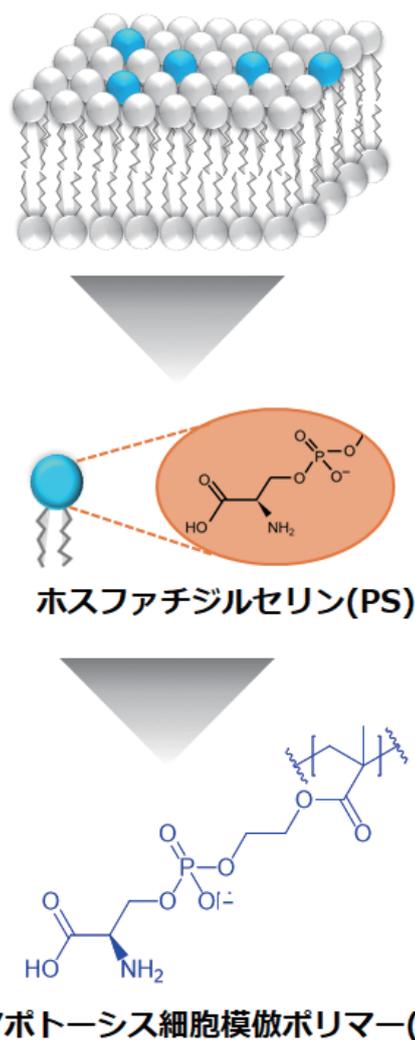


図4 アポトーシス細胞膜模倣ポリマー (MPS)

た¹⁴⁾。MPS粒子とリポ多糖 (lipopolysaccharide, LPS) を脳実質に投与し、4日後の脳組織を免疫染色により評価した。神経免疫応答を制御する機能を持っている peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) の中でも、PPAR- γ は脳に多く集積しており、ミクログリアを含む免疫細胞のフェノタイプシフトを促すことが知られている。そこで PPAR- γ と炎症性マクロファージ (M1型) マーカーである inducible nitric oxide synthase (iNOS)、抗炎症性マクロファージ (M2型) マーカーである arginase-1 (Arg-1) を用いてミクログリアのフェノタイプを評価したところ、iNOSが減少し、Arg-1が上昇することが確認され、MPS粒子はマクロファージのフェノタイプをM1型からM2型に分極させることを証明した(図5)。

5. おわりに

本稿では、炎症性疾患の新規治療法と免疫寛容バイオマ

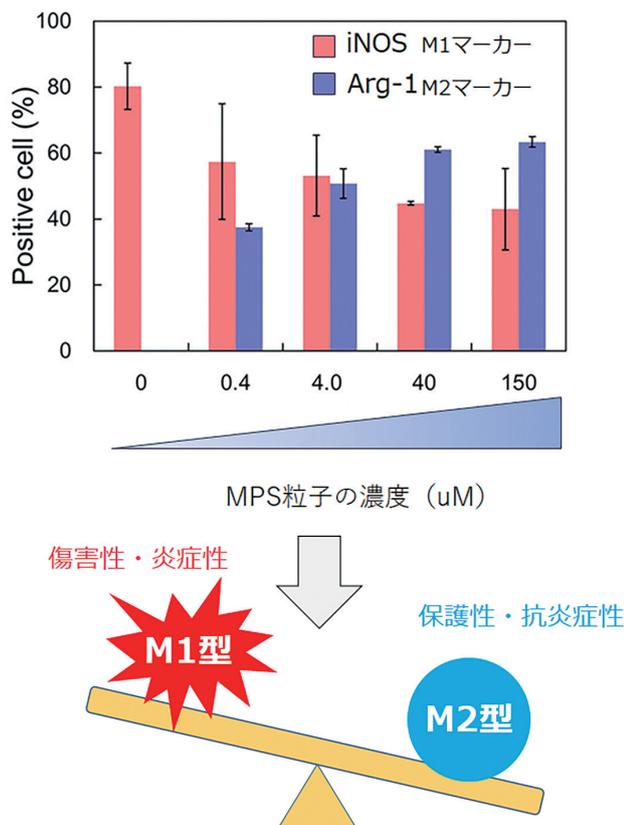


図5 MPS粒子のミクログリアに対する抗炎症効果

テリアルの最近の進歩を紹介した。筆者らが開発したMPSポリマーは、免疫細胞の炎症抑制作用を促進可能なため、広く炎症性疾患の治療に応用展開ができると期待される。一方でPEGのような、免疫原性や細胞毒性が低く、リポソームの表面修飾や、化粧品などに広く用いられてきたポリマーにも抗体の産生が確認されている¹⁵⁾。したがって、MPSポリマーのような安全と思われる材料に関しても、体内における免疫反応をしっかりと調査する必要があると考えられる。いずれにせよ、材料自身が炎症抑制機能を持つという革新的戦略は技術的にもコスト的にも優れており、今後の人工臓器開発の基盤技術となる可能性を大いに秘めている。高齢化が進む現代社会において、人工臓器のニーズは今後も継続的に上昇していくことに間違いはなく、免疫抑制型バイオマテリアルの研究開発はこれからの社会に大きく貢献すると確信している。

本研究の一部は文部科学省科学研究費助成事業学術変革領域(A)「物質共生」の支援により行われた。

本稿のすべての著者には規定されたCOIはない。

文献

- 1) Ratner BD, Hoffman AS, Schoen FJ, et al: Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine 3rd Edition. Elsevier, 〇〇, 2012
- 2) Ishihara K, Ueda T, Nakabayashi N: Preparation of Phospholipid Polymers and Their Properties as Polymer Hydrogel Membranes. *Polym J* **22**: 355-60, 1990
- 3) Zhang Z, Chen S, Jiang S: Dual-functional biomimetic materials: nonfouling poly(carboxybetaine) with active functional groups for protein immobilization. *Biomacromolecules* **7**: 3311-5, 2006
- 4) Glenn AT, Pope CG, Waddington H, et al: The antigenic value of toxoid precipitated by potassium alum. *J Path Bact* **29**: 38-45, 1926
- 5) Li X, Yamazaki T, Ebara M, et al: Nanoengineered coordination polymers boost cancer immunotherapy. *Materials Today* **67**:27-150, 2023
- 6) Li Y, Jiang X, Luo T, et al: TLR₃ agonist nanoscale coordination polymer synergizes with immune checkpoint blockade for immunotherapy of cancer. *Biomaterials* **290**: 121831, 2022
- 7) Grant P, Clothier RH, Johnson RO, et al: In situ lymphocyte apoptosis in larval *Xenopus laevis*, the South African clawed toad. *Dev Comp Immunol* **22**: 449-55, 1998
- 8) Fadok VA, de Cathelineau A, Daleke DL, et al: Loss of phospholipid asymmetry and surface exposure of phosphatidylserine is required for phagocytosis of apoptotic cells by macrophages and fibroblasts. *J Biol Chem* **276**: 1071-7, 2001
- 9) Voll RE, Herrmann M, Roth EA, et al: Immunosuppressive effects of apoptotic cells. *Nature* **390**: 350-1, 1997
- 10) Toita R, Shimizu E, Murata M, et al: Protective and healing effects of apoptotic mimic-induced M2-like macrophage polarization on pressure ulcers in young and middle-aged mice. *J Control Release* **330**: 705-14, 2021
- 11) Nakagawa Y, Saitou A, Aoyagi T, et al: Apoptotic Cell Membrane-Inspired Polymer for Immunosuppression. *ACS Macro Lett* **6**: 1020-4, 2017
- 12) Nakagawa Y, Saitou A, Aoyagi T, et al: Rational design of anti-inflammatory polymers inspired by apoptotic cell death using phosphoramidite chemistry. *Polymer* **134**: 85-93, 2018
- 13) Nakagawa Y, Yano Y, Lee J, et al: Apoptotic Cell-Inspired Polymeric Particles for Controlling Microglial Inflammation toward Neurodegenerative Disease Treatment. *ACS Biomater Sci Eng* **5**: 5705-13, 2019
- 14) Nakagawa Y, Lee J, Liu Y, et al: Microglial Immunoregulation by Apoptotic Cellular Membrane Mimetic Polymeric Particles. *ACS Macro Lett* **11**: 270-5, 2022
- 15) Dams ET, Laverman P, Oyen WJ, et al: Accelerated blood clearance and altered biodistribution of repeated injections of sterically stabilized liposomes. *J Pharmacol Exp Ther* **292**: 1071-9, 2000