

超越バイオメディカルDX研究 拠点 研究紹介・松村

北陸先端科学技術大学院大学

松村和明

材料の機能性

シンプルで高性能
≡ 臨床応用可能な次世代材料

- ・凍結保護物質設計
- ・分解性ゲル、足場
- ・DDS材料

メカニズムの解明
分子設計

実用化研究

既存材料

×
DX

e^{MEDX}

材料の新規性 ≡ 複雑さ ≡ 臨床応用困難

バイオメディカルイノベーション

- * 高齢化社会 → 再生医療、移植医療
- * 診断・治療・予防
- * 生体組織・生体材料・生体機能の保護・保存をキーワードに、
バイオメディカルイノベーションを目指す研究を行っている。

研究シーズ

- * 1. 凍結保護ポリマー
- * 2. タンパク質保護ポリマー
- * 3. 酸化多糖類の分解機構の解明とそのDDS、再生医療材料応用
- * 4. 凍結濃縮を利用した細胞内物質輸送
- * 5. 刺激応答性ポリマー
- * 6. 生体と調和するポリマー材料
 - * PVAハイドロゲルの構造制御による人工軟骨応用

凍結保護高分子の創成



大学連携バイオバック
アッププロジェクト
2013-2018

研究成果展開事業

A-STEP

研究成果最適展開支援プログラム
Adaptable and Seamless Technology transfer Program
through target-driven R&D

2011

CF キヤノン財団
The Canon Foundation

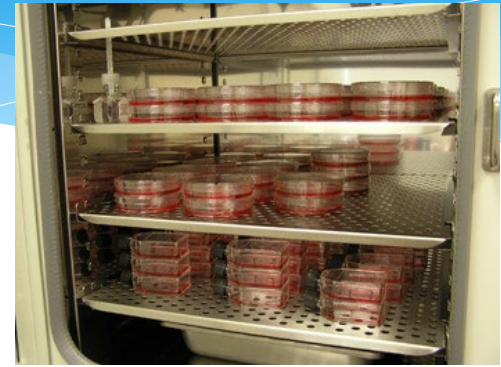
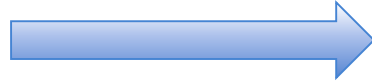
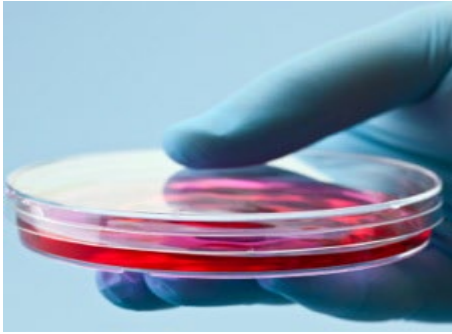
2012-2013

科研費
KAKENHI

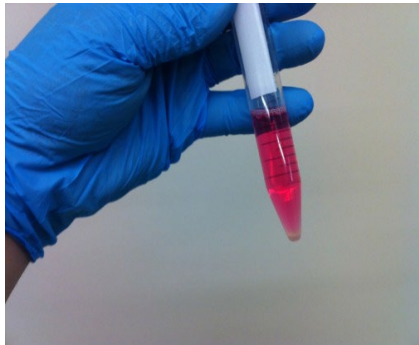
若手研究B 2009-2010
若手研究B 2013-2014
基盤研究B 2020-2023

凍結保存

Culture of cells



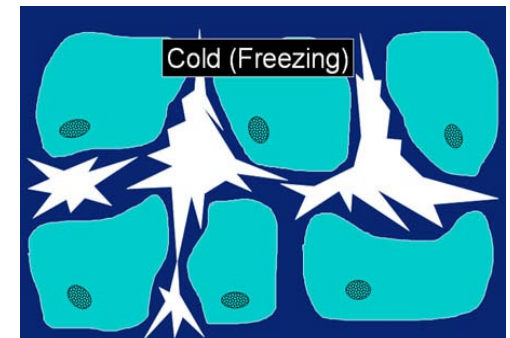
Cryopreservation of Cells



During Cryopreservation



凍結ダメージを防ぐため、凍結保護剤(CPA)を添加する必要がある。



細胞の凍結保存

- * 1949年にグリセリンが精子の凍結保存に有効であることが発見される。(Polge, Nature 1949)
- * 1959年にジメチルスルホキシド(DMSO)が赤血球の凍結保存に有効と発表(Lovelock, Nature 1959)
- * 現在ではこれらの他にトレハロースを始めとする糖類や血清タンパク、ポリビニルピロリドンなどの高分子などを種々混合することにより凍結保存効率を上げる研究が盛んに行われている。

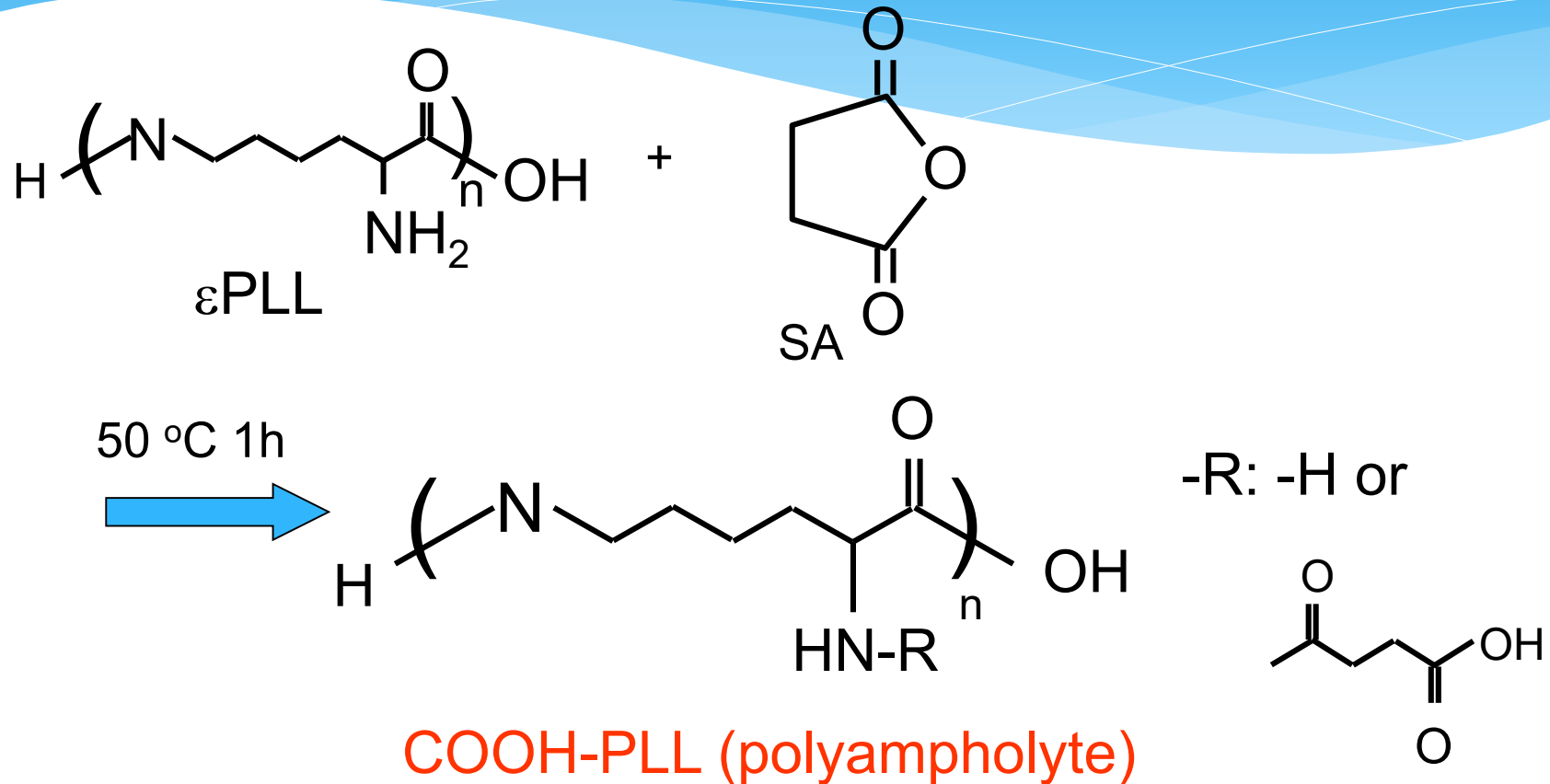
凍結保護剤(Cryoprotective agents, CPAs)

- * DMSOが最も保存効率が良いが、毒性も高い。→解凍後は速やかに洗浄除去が推奨されている。
- * DMSOにより分化する細胞もある。
- * ヒトES細胞や肝細胞など凍結保存の効率の悪い細胞が存在する。
- * 毒性が低く、効果の高い凍害防御剤の開発が望まれている。



- * これまでに我々は、新規高分子系凍結保護剤を開発し、報告してきた。(Biomaterials 2009, Cell Transplantation 2010, Cryobiology 2011, J Tissue Eng Regen Med 2012, J Biomater Sci. Polym. Ed. 2013)

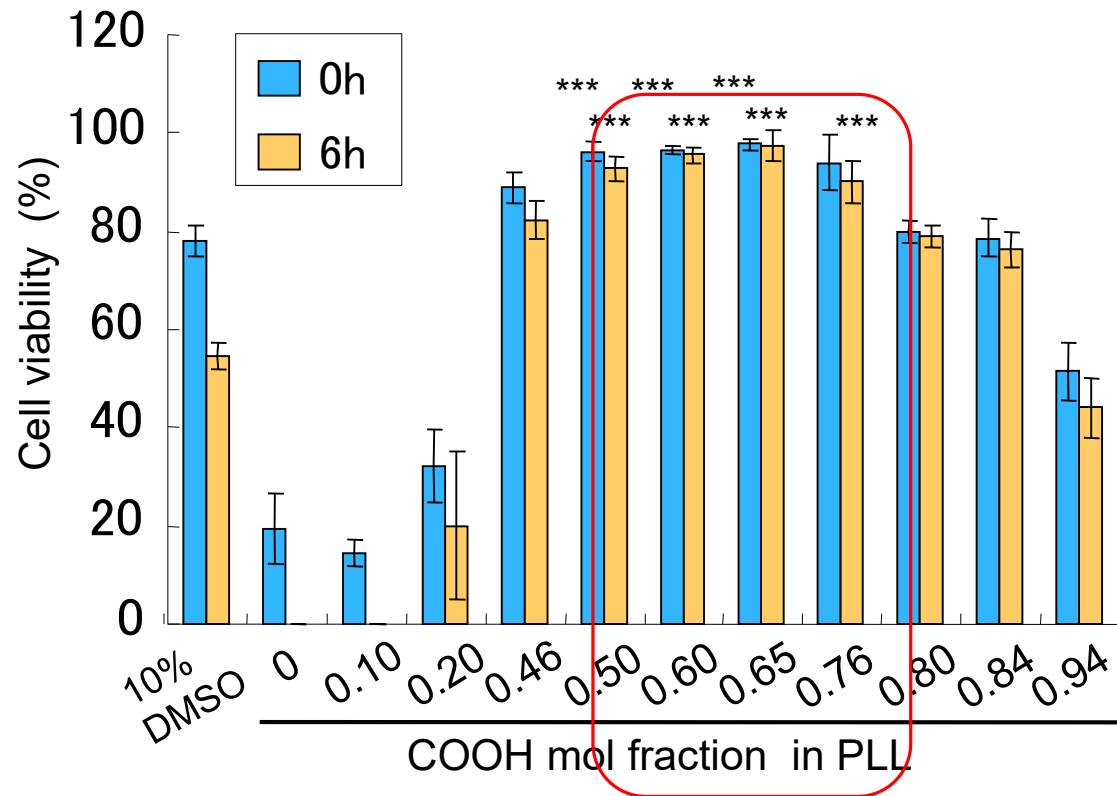
ϵ -ポリ-L-リジンが無水コハク酸で処理し、カルボキシル基を導入
(Polyampholyte: 一分子にプラスとマイナスに荷電した官能基を
両方持つ高分子)



ϵ -ポリ-L-リジンが無水コハク酸で処理し、カルボキシル基を導入
一分子にプラスとマイナスに荷電した官能基を両方持つ高分子
ポリリジン誘導体の合成

細胞凍結保護効果

PLL誘導体は7.5% pHは7.4 浸透圧は600mOsmに調整 無血清で凍結



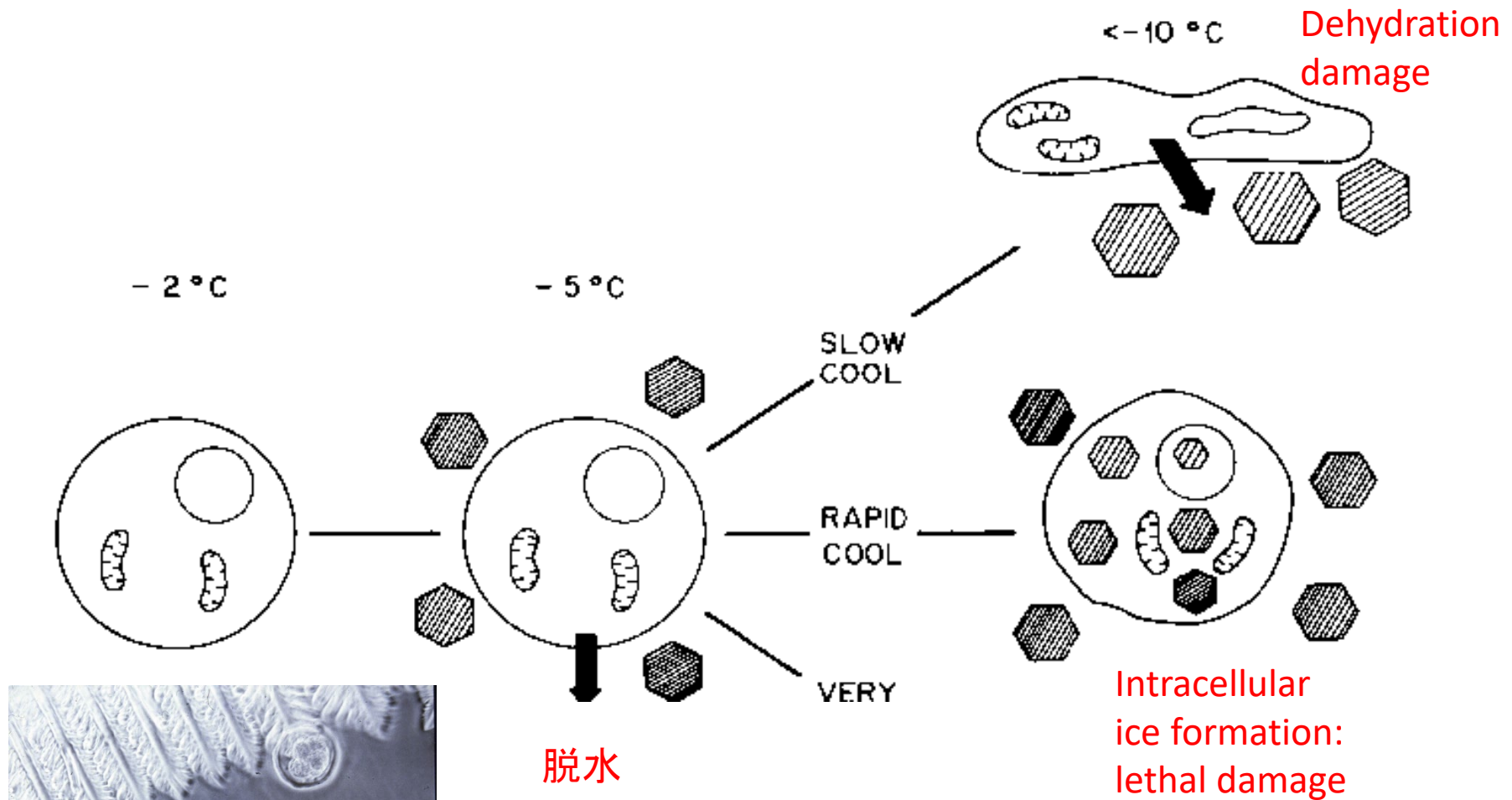
L929細胞を7.5%の各PLL誘導体液で 1×10^6 個/mLの密度で懸濁し、 -80°C フリーザー中に放置することで凍結。解凍は 37°C 湯浴中で急速解凍。トリパンプルーにて生死判定。

PLLのアミノ基の内、50%～76%をカルボキシル基に変換した場合、凍害防御効果が有意にDMSO以上

Matsumura et. al., Biomaterials, 2009

合成高分子による保護物質の開発(Biomacromolecules 2016)など幅広い展開

凍結保護メカニズムの解明



Mazur P. Cryobiology 1977

細胞の脱水を制御するメカニズムが存在するのではないか？



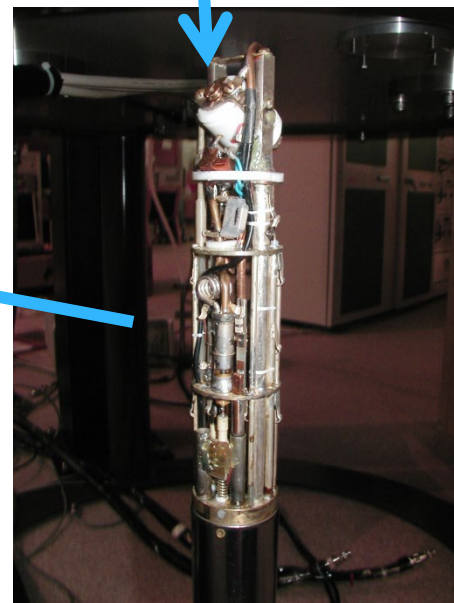
濃縮される塩に着目した。

固体NMRを用いて無細胞系でPLLの水および塩との相互作用を検討

40ul溶液用セルと4mmローター



JEOL ECA-700と低温測定用液体窒素デュアー



固体測定用Probe head

凍害保護剤の作用機序

NMR観測データの解釈

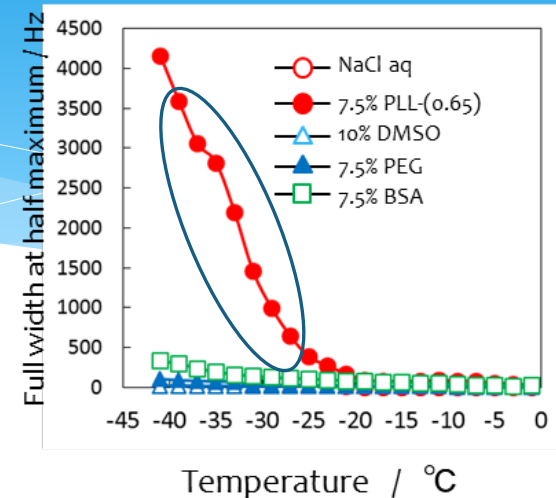
- 不凍水の有無 → 氷の成長阻害
- 水の広幅化 → 水の粘性上昇
- 塩の広幅化 → 塩の固体化、塩濃度緩衝作用
- 保護剤の広幅化 → マトリクス(可逆ゲル)形成

* 2つの生存条件

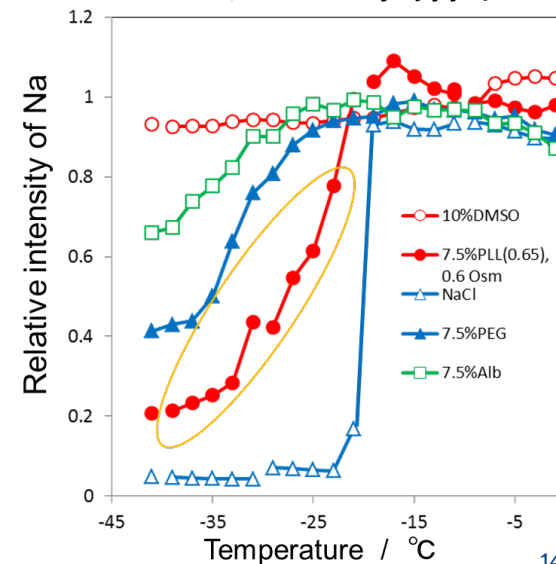
生存条件1 (従来の凍害保護剤(DMSO等))
細胞内外の氷の成長抑制

生存条件2 (両イオン性高分子、糖類)
細胞外液の氷の成長抑制
溶媒、塩の緩衝作用
水、浸透圧ショックからの物理的保護
凍結濃縮による脱水ストレス軽減

水の粘性上昇

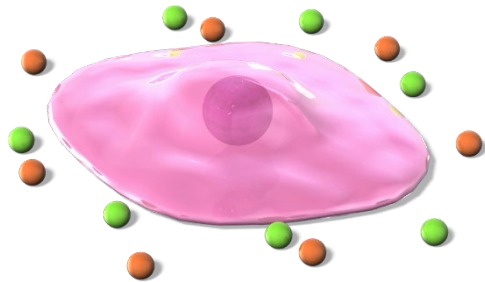


Naイオンの固体化

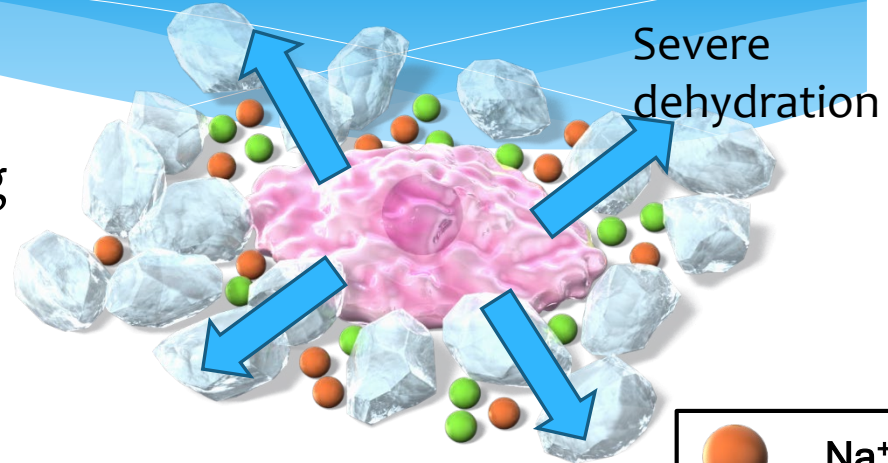


両性電解質ポリマーの凍結保護メカニズム

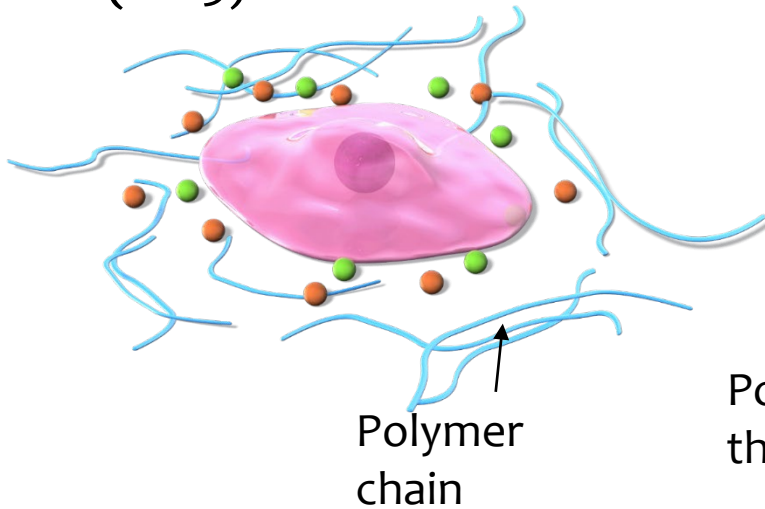
Saline solution



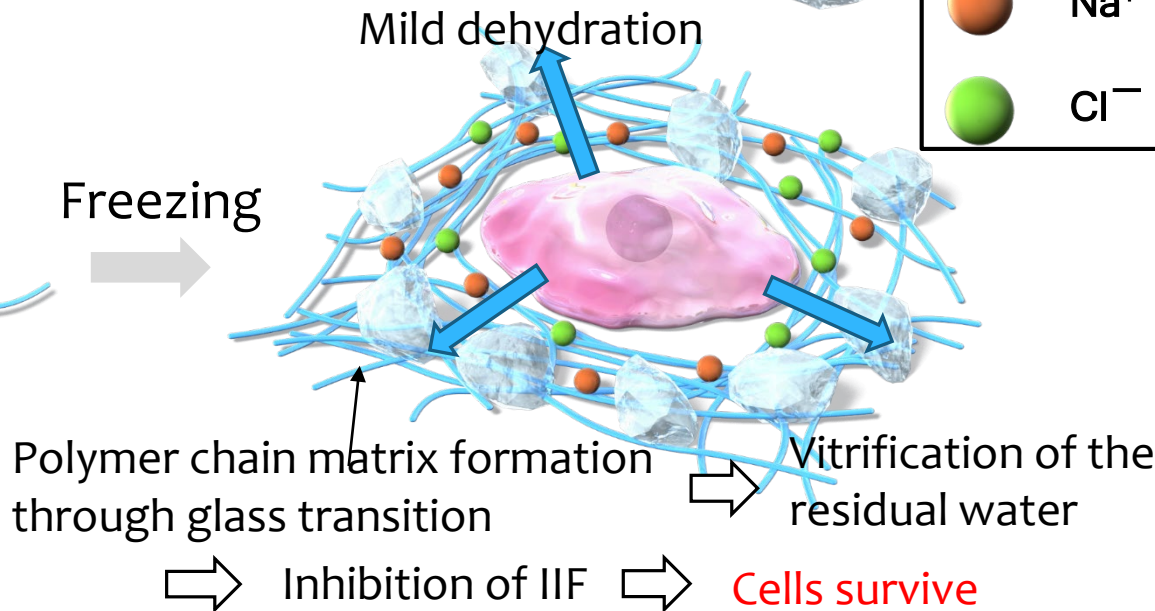
Freezing



PLL-(0.65) solution



Freezing



既存のDMSOなどとは異なる機序での凍結保護。
固体NMRを用いた、塩や高分子の動きの解析手法の確立

Matsumura K. et al.,
Commun. Mater. 2021, 2, 15

* 再生医療の臨床応用拡大

- * 皮膚や軟骨など高次な再生組織の形成が可能となった時、それらを**必要な時に必要なだけ**使用することが望まれる。そのためには長期の保存が必要である。
- * 再生医療市場は国内6,200～8,550億円、米国5,000億ドル/2020年と言われる
(「幹細胞の分化誘導と応用、NTS出版」p446)

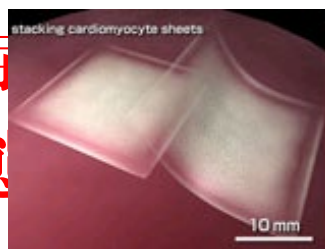
必要になってから作成していたのでは遅い！

幹細胞
でき



培養軟骨

保存
状態



心筋シート

ので
が必

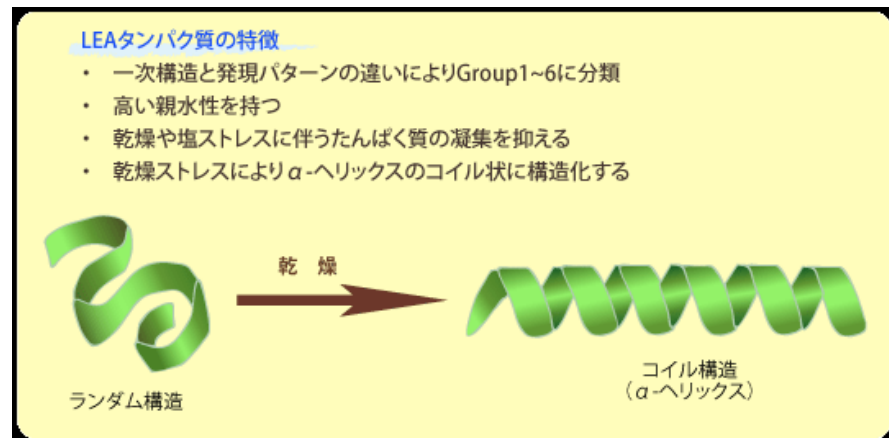
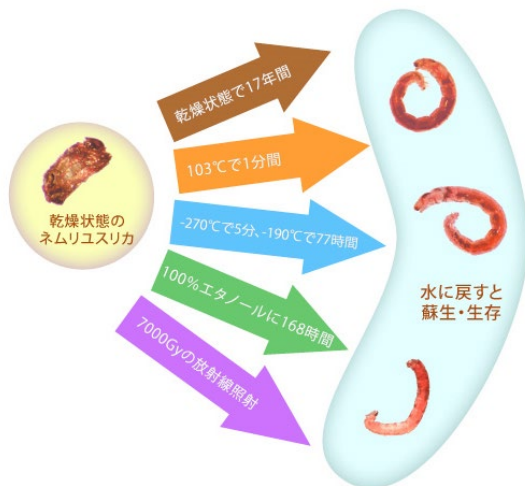


培養皮膚

- * 現在行われている移植組織の凍結も視野
- * 生殖医療分野、畜産分野への応用も期待

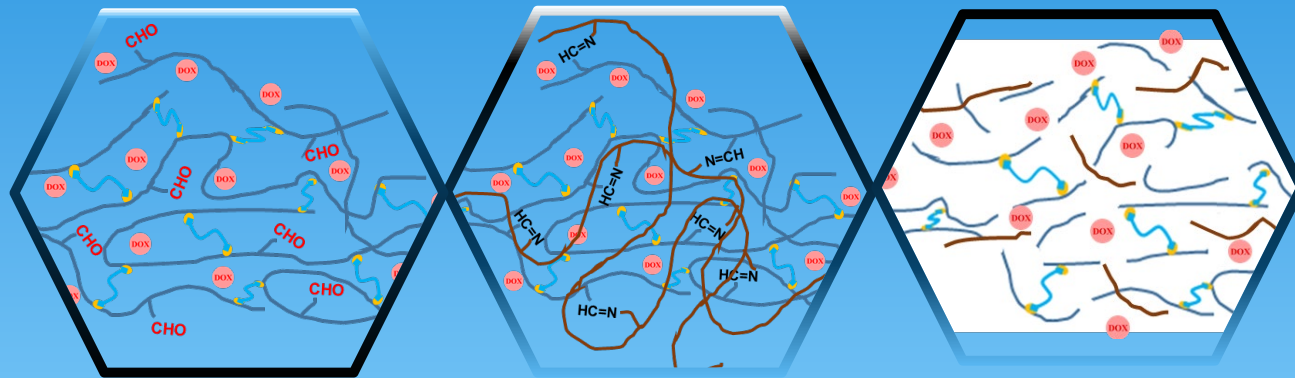
自然を超越する！

- * 凍結メカニズムが脱水制御であることを突き止めた。
- * 自然界に生存する耐乾燥性生物(クマムシ・ネムリユスリカの幼虫など)がもつタンパク質と機能的に類似。
- * **さらなる非常識に挑戦！**
- * **機能性タンパク質を超越する人工材料の研究！**

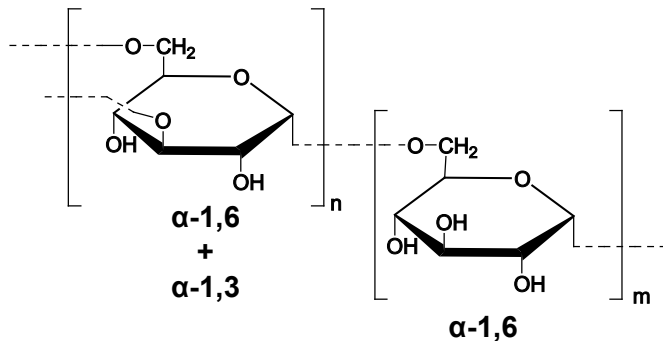


分解性多糖類に関する研究

接着剤・DDS材料

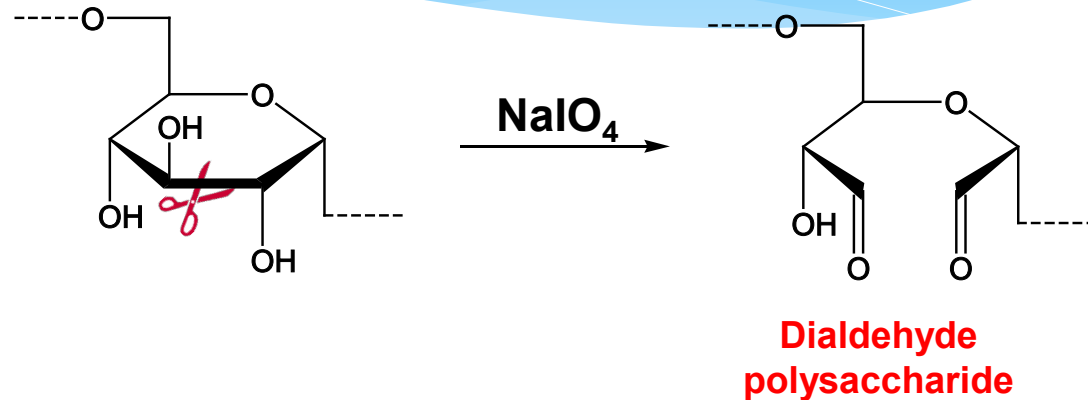


Dextran

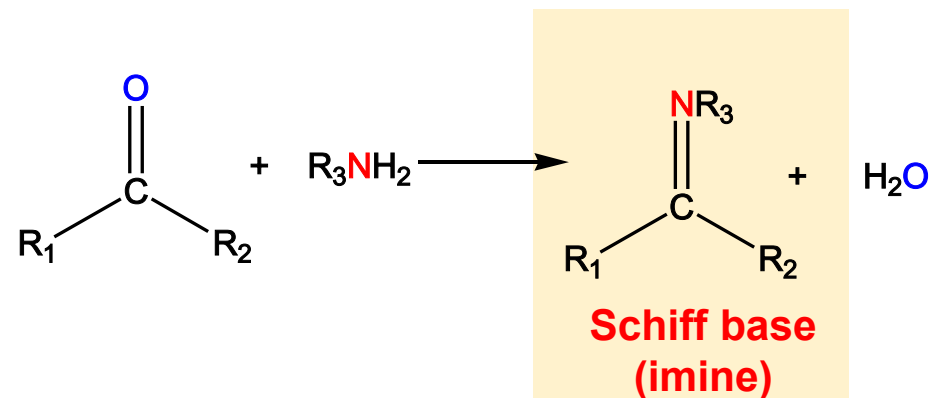


- Bacterial polysaccharide
- Biocompatibility, low toxicity, high abundant in nature
- Water-soluble polysaccharide to form clear and stable solution
- Easy to functionalize through its hydroxyl groups
- Hydrogel formation

Malaprade reaction

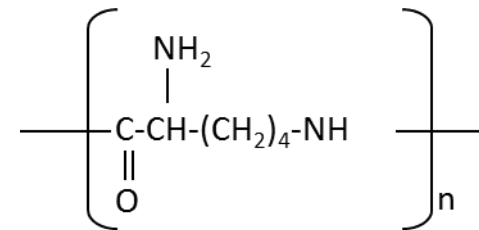
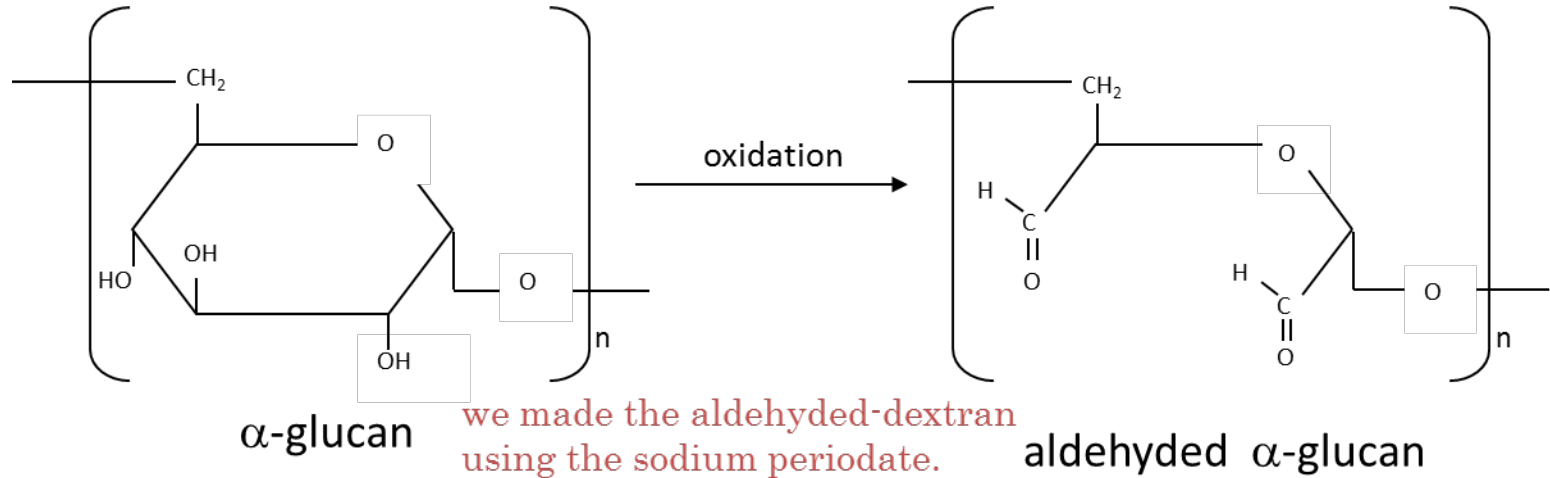


Schiff base reaction

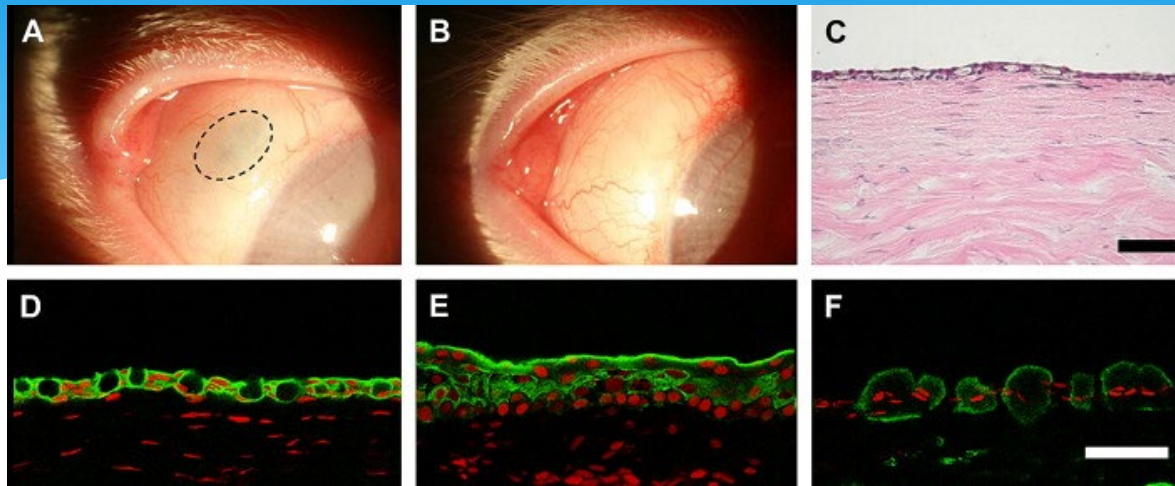


Used in cross-linked hydrogel

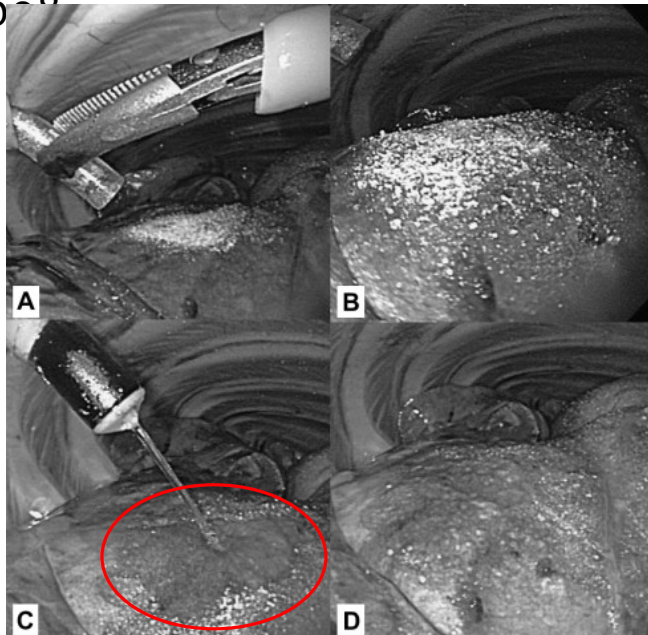
Tissue adhesive (*in situ* hydrogelation)



ϵ -poly-L-lysine



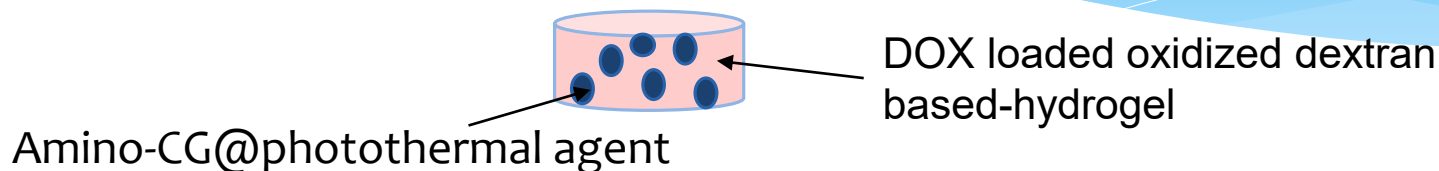
Sutureless cornea implantation, Takaoka M, et al., Biomaterials, 2012



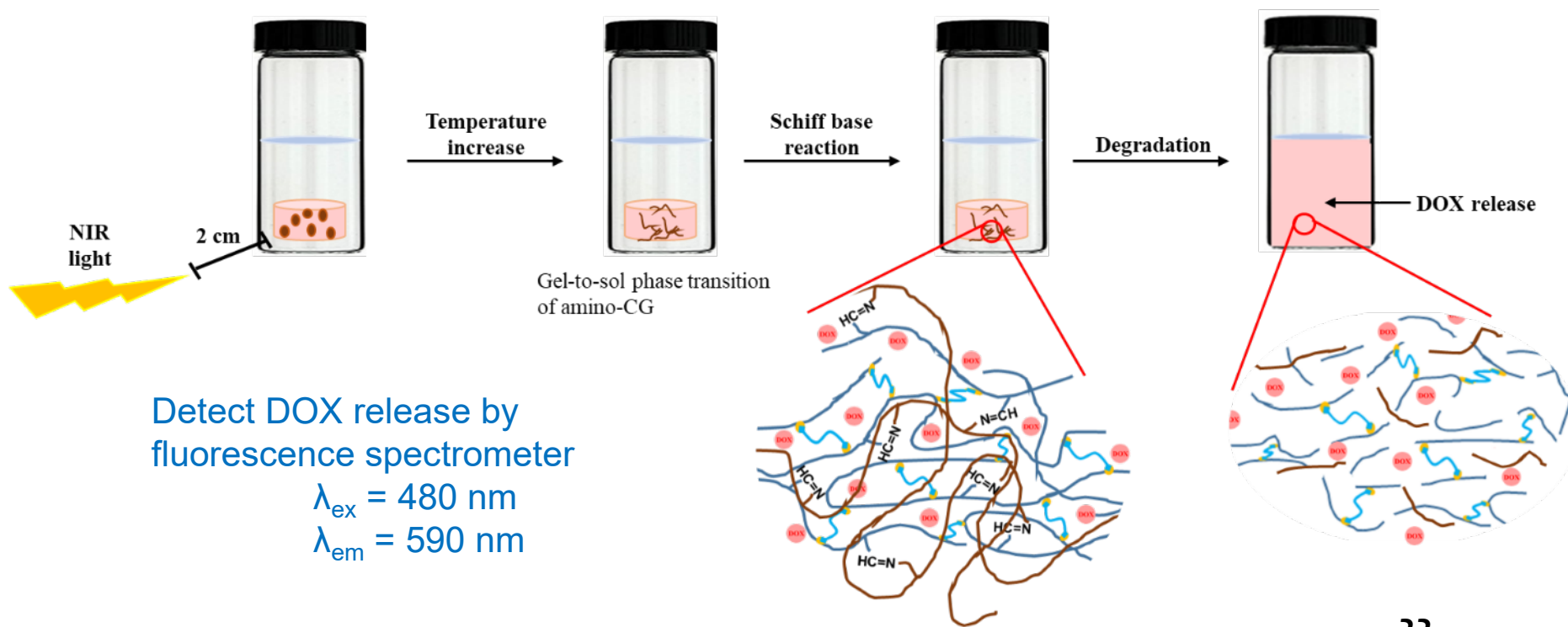
Postoperative pleural adhesion, Takagi K, et al., J. Surg. Res. 2013

NIR light-responsive DOX release from hydrogel degradation test

DOX@hydrogel preparation



The proposed the model of drug release



タンパク質保護高分子

研究成果展開事業

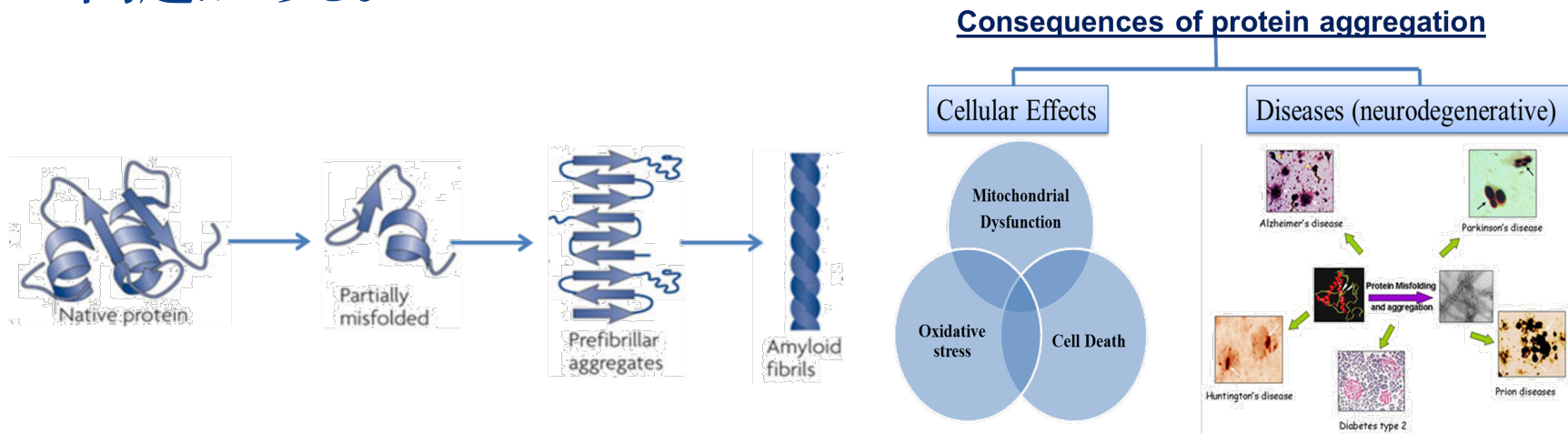
A-STEP

研究成果最適展開支援プログラム
Adaptable and Seamless Technology transfer Program
through targetdriven R&D

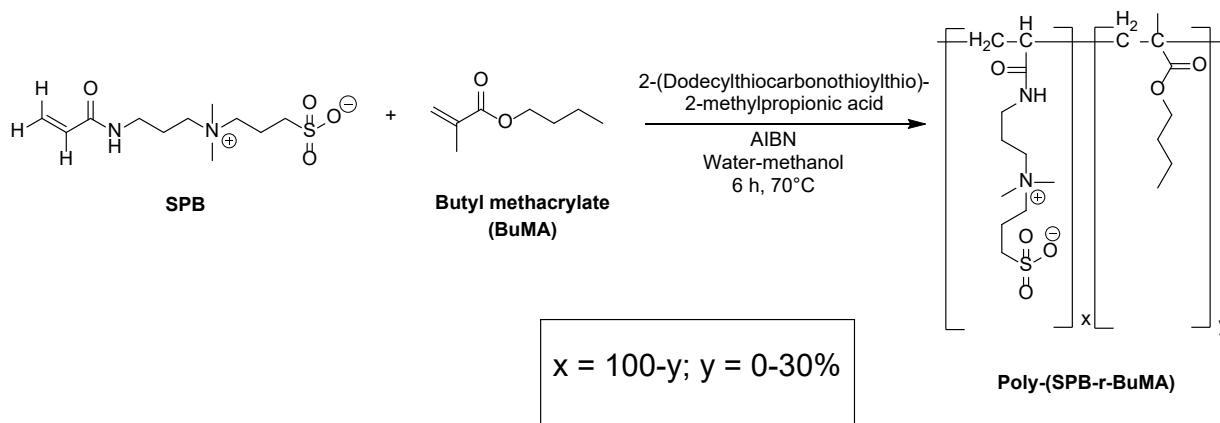
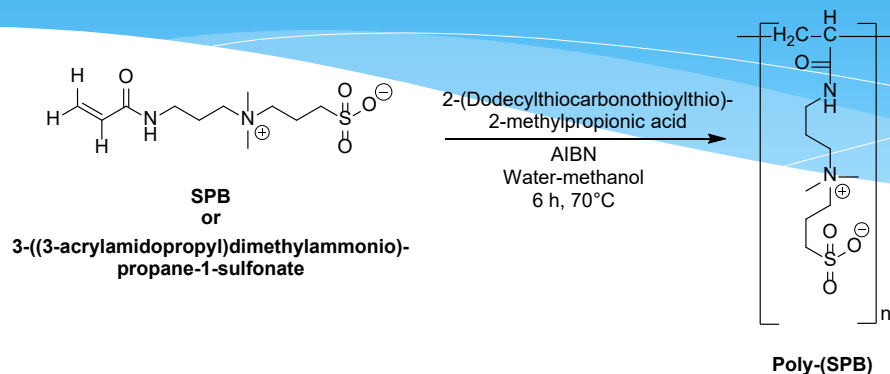
2019-2020, 2020-2022

タンパク質の凝集抑制

- * アミロイド β に代表されるタンパク質の凝集が疾患を引き起こすことが知られている。
- * 抗体医薬品の製造時にも不安定な抗体が凝集することで生産効率が低下する。
- * アルギニン、トレハロースなどの低分子凝集抑制剤の研究は既に行われているが、分子設計の自由度などに問題がある。

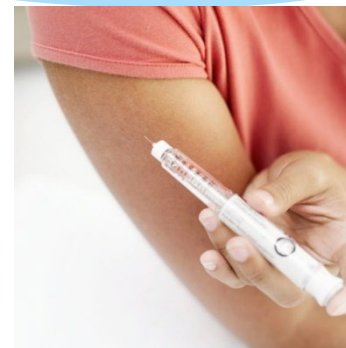
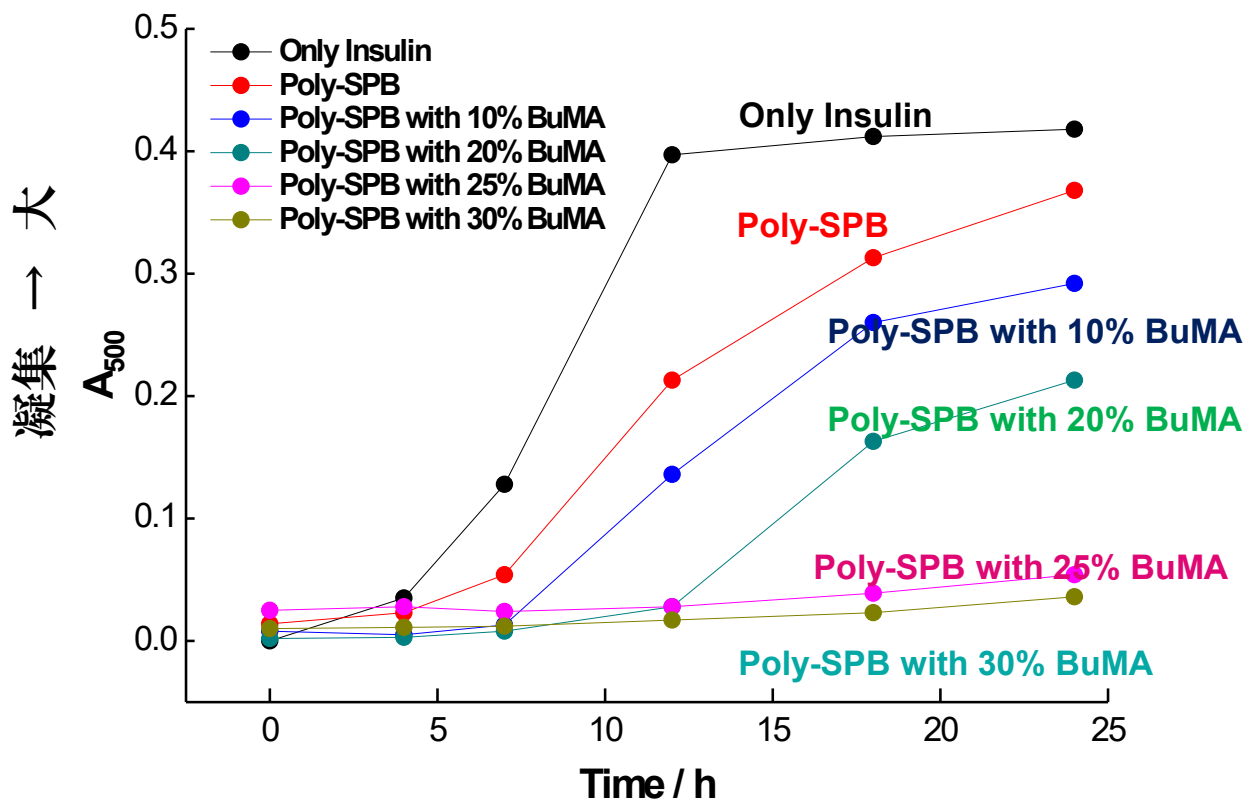


ポリスルホベタインにタンパク質凝集抑制効果を確認し、その最適分子設計を目指す。



RAFT polymerization was used for polymer synthesis

インスリンの凝集抑制効



Insulin Pump

Image source: uofmchildrenshospital.org

双性イオンポリマーの存在下でインスリンの凝集が抑制される。
疎水性部位導入により効果が増大

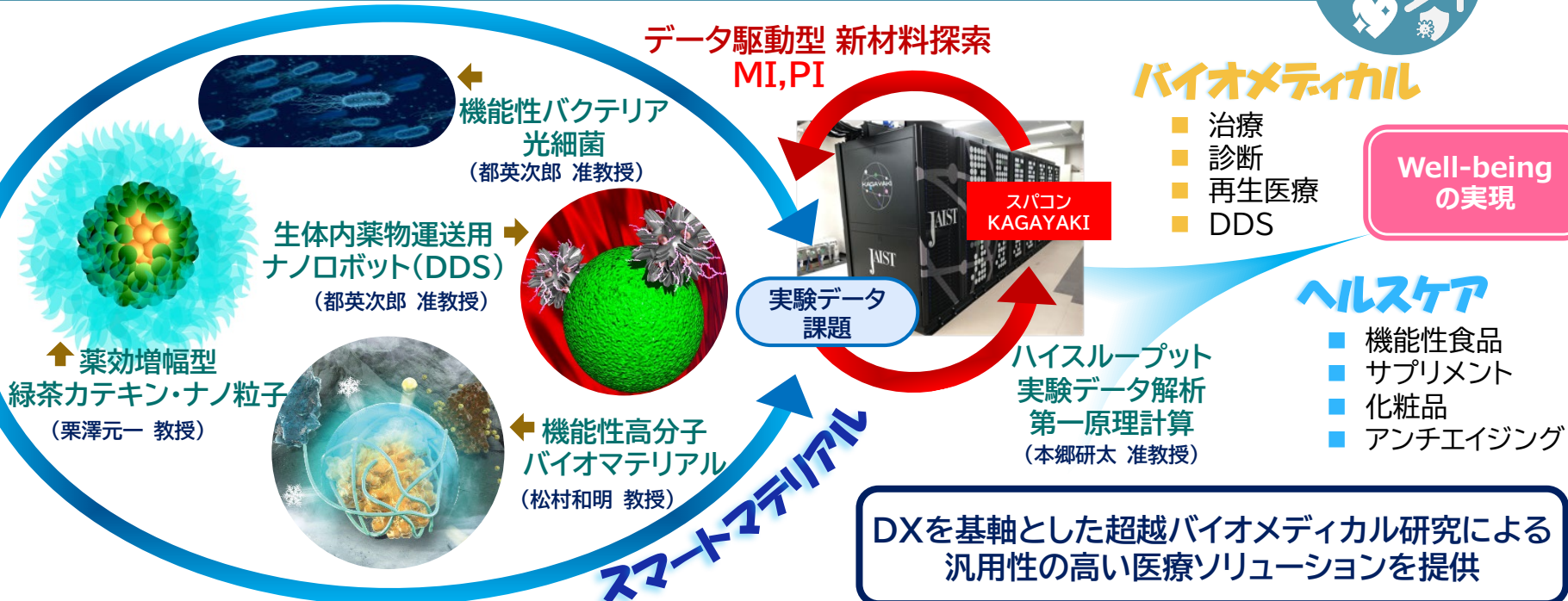


超越バイオメディカルDX研究拠点



日本や世界の医療に貢献する北陸の新しい拠点形成

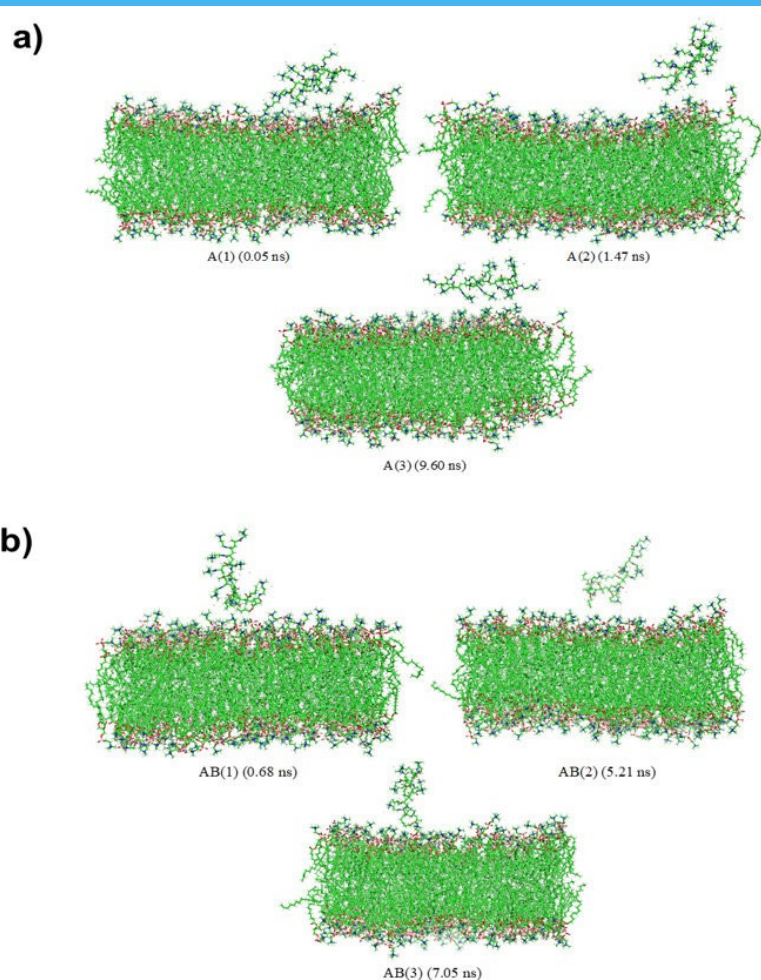
ヘルスケア・医療分野のDXとバイオメディカルイノベーション



共同研究成果事例

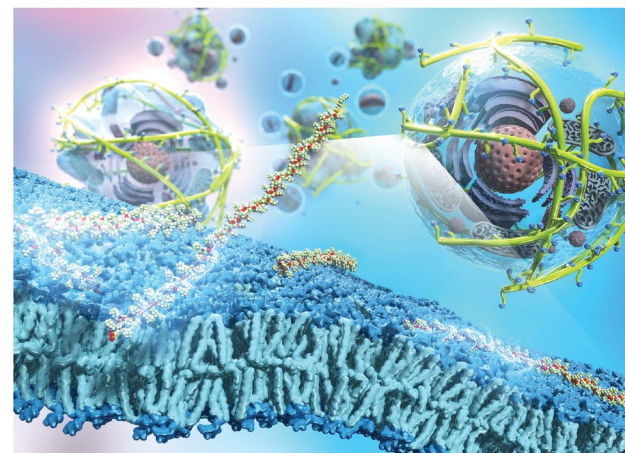
Mechanistic insights and importance of hydrophobicity in cationic polymers for cancer therapy
N. Kurita, S. Yusuke, et al.
Journal of Materials Chemistry B
2023, 11, 1456-1468

カチオン性高分子の細胞膜へのリン酸化による効果的ながん細胞の破壊作用のメカニズムをMDシミュレーションで明らかにした。



cancer
Takagi,
1456-
)

より抗がん剤
について
調べた。MD
により細胞
膜のリン酸化
が高分子
に期待される。



Showcasing work from the Japan Advanced Institute of Science and Technology, Matsumura Laboratory, Ishikawa, Japan and the University of Hyogo, Japan.

Mechanistic insights and importance of hydrophobicity in cationic polymers for cancer therapy

We demonstrate the synthesis of cationic polymers via RAFT polymerization and highlight the significance of hydrophobicity in augmenting their interaction with the cell membrane, resulting in exceptional effectiveness in eliminating cancer cells.

As featured in:



See Robin Rajan, Kazuaki Matsumura et al., *J. Mater. Chem. B*, 2023, 11, 1456.

ROYAL SOCIETY
OF CHEMISTRY

rsc.li/materials-b
Registered charity number: 207890

産学連携

- * ここに示したのはあくまでこれまでの研究成果であり、新たな産学共同研究を強く推進していきます。
- * 多くの企業の皆様とのオープンイノベーションを楽しみにしています。



超越バイオメディカルDX研究拠点