

二国間交流事業 共同研究報告書

令和5年4月11日

独立行政法人日本学術振興会理事長 殿

[日本側代表者所属機関・部局]

東北大学大学院・歯学研究科

[職・氏名]

准教授・小川徹

[課題番号]

JPJSBP 120203501

1. 事業名 相手国:ドイツ (振興会対応機関: DAAD)との共同研究

2. 研究課題名

(和文) 血管新生、硬組織形成、抗炎症作用を具備した多機能性遺伝子導入剤の開発

(英文) Development of triple-functionalized calcium phosphate nanoparticles to induce bone formation, vascularization and to inhibit inflammation as advanced drug delivery system

3. 共同研究実施期間 令和2年4月1日～令和5年3月31日(3年0ヶ月)

【延長前】 令和2年4月1日～令和4年3月31日(2年0ヶ月)

4. 相手国側代表者(所属機関名・職名・氏名【全て英文】)

Duisburg-Essen University、Inorganic Chemistry・Full Professor・

Matthias Epple

5. 委託費総額(返還額を除く)

本事業により執行した委託費総額		3,595,750 円
内訳	1年度目執行経費	1,900,000 円
	2年度目執行経費	1,695,750 円
	3年度目執行経費	- 円

6. 共同研究実施期間を通じた参加者数(代表者を含む)

日本側参加者等	8名
相手国側参加者等	5名

* 参加者リスト(様式 B1(1))に表示される合計数を転記してください(途中で不参加となった方も含め、全ての期間で参加した通算の参加者数となります)。

7. 派遣・受入実績

	派遣		受入
	相手国	第三国	
1年度目	0		0(0)
2年度目	0		0(0)
3年度目	2		0(0)

* 派遣・受入実績(様式 B1(3))に表示される合計数を転記してください。

派遣:委託費を使用した日本側参加者等の相手国及び相手国以外への渡航実績(延べ人数)。

受入:相手国側参加者等の来日実績(延べ人数)。カッコ内は委託費で滞在費等を負担した内数。

8. 研究交流の概要・成果等

(1)研究交流概要(全期間を通じた研究交流の目的・実施状況)

本研究の目的は、血管新生作用、硬組織形成作用、抗炎症作用を具備した多機能性遺伝子導入剤を開発し、複数の細胞賦活因子を時間的、空間的に任意に分泌放出させるドラッグデリバリーシステム(DDS)を確立することである。デュイスブルク・エッセン大学無機化学科 Eppler 研究室(ドイツ)では、2020 年度から BMP-7 および VEGF をコードした plasmid-DNA 及び、TNF- α を抑制する siRNA を具備したリン酸カルシウムナノ粒子ペースト(以下 CaP-NP)を作製し、コロイド化学的、形態学的評価を行い、材料学的性質を確認した。一方、東北大学小川研究グループ(日本)では、同材料を評価できる適切な骨欠損形態や大きさ、部位を探索してきた。最終的に 2022 年度にラット大腿骨関節部に開発した DDS である CaP-NP を移植し、CaP-NP の炎症抑制効果、硬組織再生効果を生化学的、形態学的、免疫形態学的に評価し、治療方法としての有効性を検討した。その結果、CaP-NP(BMP7)は、移植部位の細胞に遺伝子導入され BMP-7 を放出させ、硬組織形成能を発揮すること、CaP-NP(siRNA(抗 TNF- α))は TNF- α は炎症を抑制することで、間接的に硬組織形成を促進すること、CaP-NP(VEGF)は血管形成促進作用を発揮することを明らかにした。さらにこれら 3 種類の CaP-NP を含有した機能性リン酸カルシウムナノ粒子(3mixCaP-NP)は、高い硬組織再生能を示すことを明らかにした。これらの結果を公表するために、現在、国際専門科学雑誌への投稿を行っている。本共同研究では、コロナウィルスのパンデミックによってお互いの国を行き来することができず、さらに日本側への入国制限により、最終的にドイツ側研究者の来日はできなかった。しかし、ドイツ入国の規制緩和が日本よりも早かったことから、日本人研究者は渡独し、相手国研究室で研究と意見交換を行うことができた。また、渡独できなかった研究者に対しても、Zoom を使用したオンライン会議を複数回行うことによって工学系知識を持つ若手研究者と歯学系知識を持つ若手研究者らがお互いの技術や知識を十分に提供し合うことができ、双方の研究力の向上につながった。特に日本側若手研究者は、工学分野の視点を携えた問題解決能力、分析能力を涵養し得た。

(2)学術的価値(本研究交流により得られた新たな知見や概念の展開等、学術的成果)

細胞賦活因子は、それぞれが複雑に相互作用することによって、硬組織の形成を促進することや抑制することは知られている。特に、硬組織再生療法において血管新生の促進、硬組織形成促進細胞賦活因子の適用、適切な抗炎症作用は、それぞれ有効であることが報告されているが、これら 3 つの効果を同時に適用した報告はこれまでのところなかった。そこで、本研究では、リン酸カルシウムナノ粒子を基材とした遺伝子導入剤を応用することで、上記 3 つの作用を発揮する DDS を開発した。その結果、血管新生だけでは硬組織形成に影響はなく、siRNA を用いた抗炎症作用は plasmid-DNA(BMP7)をコードした遺伝子導入による硬組織形成と同程度の硬組織形成効果を発揮すること、さらにこれら 3 種類の作用を同時に適用した場合、硬組織形成が相加的に促進できることを明らかにした。これらの結果は抗炎症治療や再生療法にも応用できる新しい知見となりうるだけでなく、遺伝子導入療の有効性を示すこともできた。特にこれまでの細胞移植や細胞賦活因子を応用が主体であった硬組織再生療法に、抗炎症療法の有効性を示しただけでなく、血管新生促進療法、硬組織形成を促進細胞賦活因子の適用、適切な抗炎症作用の 3 種併用療法の有効性を導入できたことから学術的成果としての意義は大きいと思われる。

(3)相手国との交流(両国の研究者が協力して学術交流することによって得られた成果)

本研究で共同研究を行ったデュイスブルク・エッセン大学無機化学科 Epple 研究室(ドイツ)は、ソリッドステート、無機-コロイド化学、生体材料、ナノ技術についての研究しており、ドイツ国内において医療への応用を目的に、これまでにリン酸カルシウム、金属、ポリマー、それら複合体、さらには機能を添加したナノサイズ粒子を基材とした新しい生体材料を開発してきた。しかし、in vivo 研究環境は保有しておらず、生体反応性は評価することはできなかった。一方、日本側の小川研究グループは、in vivo 研究環境を保有し、これまでに材料や力に対する生体反応性を多く評価してきた。本研究課題では、コロナパンデミックによる入国制限ならびに出国制限のため、直接の交流を行うことはほとんどできなかったが、Zoom を用いたオンライン交流によって、お互いの技術や知識を補完しあうだけでなく、日本側研究者は工学分野の視点を携えた問題解決能力、分析能力を向上することができた。また、リン酸カルシウムナノ粒子を基材とした遺伝子導入技術は、Epple 研究室が第一人者であり、同研究室と共同研究した成果は硬組織形成療法に新しい治療方法(血管促進療法、細胞賦活因子による硬組織形成療法、抗炎症療法の併用療法)を提示できたものと思われる。

(4)社会的貢献(社会の基盤となる文化の継承と発展、社会生活の質の改善、現代的諸問題の克服と解決に資する等の社会的貢献はどのようにあったか)

骨組織再生を目的とした人工生体材料の開発は、幅広く世界的にも研究されており、良好な成績も数多く報告されている。しかし、その多くが、移植した場所における未分化間葉細胞の分化を促進、活性化させることにより再生を促している。そのため基礎代謝機能が減少した高齢者を対象とした場合、組織再生量が限られていた。本研究で共同開発した機能性リン酸カルシウムナノ粒子は、①未分化間葉細胞ではなく数多く存在する周囲細胞に遺伝子導入することで効果を発揮すること、②遺伝子サイレンシングによって炎症を抑制できることが明らかになった。これらの結果は、従来の再生療法とは異なる新しい治療方法の可能性の提示であり、今後の臨床へ繋がる基礎研究として、相応の社会的貢献ができたものと考えられる。

(5)若手研究者養成への貢献(若手研究者養成への取組、成果)

本研究は、ドイツの無機化学分野と日本の歯科分野を跨いだ研究であった。我が国からは 1 名の歯学研究科博士課程大学院生と 5 名の若手教員、2 名の教授が参加した。コロナパンデミックによって直接の交流はできなかったが、Epple 研究室からは、構造解析やコロイド化学解析について Zoom を介して講義を受けるだけでなく、定期的な研究会議によって工学的視点を共有できた。この経験は、歯科領域単独での研究では得られにくく、若手研究者にとって有意義であったと考えられる。また工学系知識を持ったドイツ側研究者との議論や意見交換できたことは、参加した若手歯学研究者に、工学分野の視点を携えた問題解決能力、分析能力を向上させたものと思われる。

(6)将来発展可能性(本事業を実施したことにより、今後どのような発展の可能性が認められるか)

これまで遺伝子治療はウィルスベクターを用いたがんや ADA 欠損症といった単一遺伝子疾患、ウィルス感染症などを対象として行われている。しかし、ウィルスベクターは遺伝子導入しやすく、発現期間も長期であるが、挿入変異のリスクや増殖性ウィルスの出現の可能性や家族、医療従事者への伝播の可能性が否定できない。一方、非ウィルスベクターは、挿入変異のリスクやウィルス特有の問題がないことが知られているが、導入効率が低いことが課題であった。しかし、本研究で硬組織再生療法に非ウィルス遺伝子導入療法が有効であることを明らかにすることができた。さらに開発を進めてきた機能性リン酸カルシウムナノ粒子は、搭載する遺伝子やペプチドを自由に変えることが可能であり、再生、感染予防、炎症抑制と多目的に応用することができる。現在、人工生体材料には、単独の目的で使用するのみならず、複数の機能を有することが求められている。本研究の成果は、今後の人工生体材料に多機能性を具備する方法として、有力な一つの指針を示すことができたと考えられる。

また、特に従来の細胞賦活因子を含有した溶液の応用が主体であった硬組織再生療法に、抗炎症療法、血管新生治療の併用の有効性を示したことは今後の硬組織再生療法の方向性に大きく貢献できたものと思われる。

(7)その他(上記(2)～(6)以外に得られた成果があれば記載してください)

例:大学間協定の締結、他事業への展開、受賞など

特記事項なし