

熊谷研究助成表彰報告書 (令和2年度 助成分)

令和 4年 3月31日

公益財団法人 熊谷科学技術振興財団 御中

代表研究者・所属機関名

東京女子医科大学

所属学部学科・所属部課室・役職

先端生命医科学研究所・講師

氏名 小林 純

貴財団より助成を受けました件につき下記の通り(中間・最終)報告致します。

1. 研究テーマ及び期間

研究テーマ 細胞シート組織へのメッセンジャーRNAデリバリーのためのバイオマテリアル設計

研究期間 令和3年3月～令和5年3月 (研究が終了していないため延期)

2. 共同研究者名

氏名

所属機関・職名

該当なし

3. 成果の概要

本研究は、効率的なメッセンジャーRNA (mRNA) デリバリーとその持続的なタンパク質発現を実現するための新しいバイオマテリアルを設計する。一般に、細胞への mRNA デリバリーは、速やかなタンパク質発現をもたらすため、三次元 (3D) 組織内部での血管新生因子の産生、脈管形成の誘導などへの応用が期待される。また、mRNA はゲノムに組み込まれないので、プラスミド DNA やウイルスベクターなどによる遺伝子デリバリーに比べて生体にとって安全性の高い治療となる。しかし、mRNA の発現は通常 1~2 日程度で、持続的なタンパク質発現のためには頻回の mRNA デリバリーが必要となる。そこで、ヘパリンあるいはスルホン酸基を有する合成高分子で表面修飾したナノファイバー基材に、静電的相互作用で mRNA/カチオン性脂質複合体を固定化し、細胞シート組織底面にナノファイバー基材を配置することで、徐々に mRNA が細胞内に取り込まれ、効率的かつ持続的に mRNA デリバリーする新たなバイオマテリアル設計を提案する。最終的には、血管等の脈管構造をはじめとする細胞組織の 3D 微細構造を制御し、生体に移植可能な脈管構造をもつ 3D 肝臓および心筋組織の作製を目指す。

当該年度は、移植可能な肝細胞シートを効率的に形成させるための予備検討を行った。具体的には、肝細胞の生存率を維持させるための培養手法を検討した。ガス透過性のポリジメチルシロキサン (PDMS) 上にコラーゲンを共有結合させ、ラットから採取した肝実質細胞を培養したところ、ガス透過を遮断した PDMS とポリスチレン製培養皿に比べて、数日間培養後の接着細胞数が多くなった (図 1)。これは、肝実質細胞の酸素消費量が多く、ガス透過性膜上では十分な酸素を供給できたためと考えられる。この結果に基づき、大気からの酸素流入を促進させるために、培地上面と培養面の高さを減少させると (具体的には 1.3 mm 程度)、高密度を維持したまま肝細胞培養ができることがあきらかになった。

mRNA デリバリーに関しては、レポーター遺伝子として NanoLuc® Luciferase を搭載した mRNA の *in vitro* 合成を行い、Lipofectamine® MessengerMAX を用いた肝細胞への mRNA デリバリーと NanoLuc® Luciferase の発現を確認した。血管新生因子 VEGF mRNA の *in vitro* 合成と VEGF mRNA デリバリーによる VEGF 分泌が可能であることも確認した。

次年度は、最適化された培養条件における肝細胞の高密度培養でシート状組織を形成させるとともに、新たに設計したバイオマテリアルを用いた mRNA デリバリーにより血管新生因子の分泌を誘導できるかどうか検証を行う。

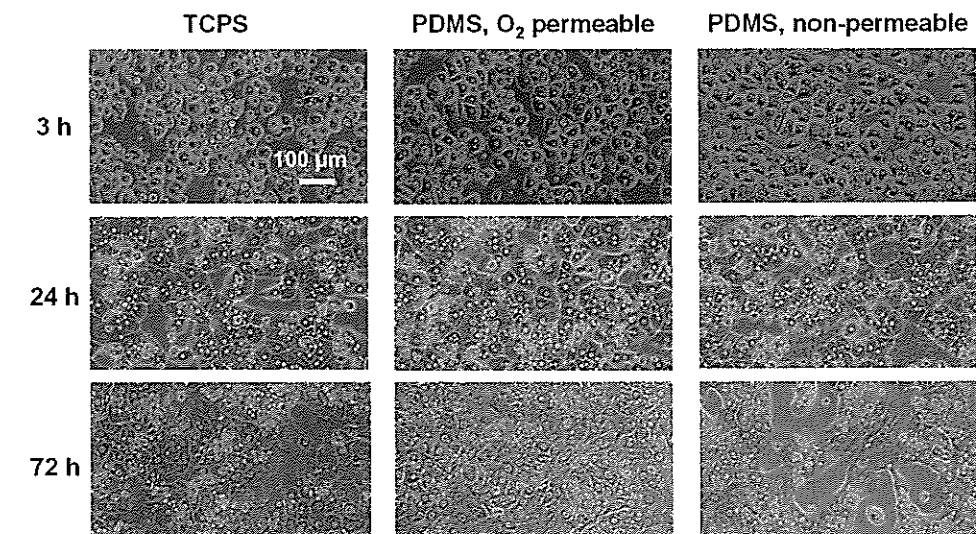


図 1. ポリスチレン製培養皿(TCPS)およびポリジメチルシロキサン(PDMS)上での初代ラット肝細胞

4. 研究成果の発表状況 (予定を含む)

第51回医用高分子シンポジウム (2022年7月25日~26日) での口頭発表 (予定)