

## 機能性医用材料の未来 －材料単独で達成する組織再建－

齧島由二<sup>#</sup>, 岸田晶夫<sup>\*</sup>

## The future prospects of functional biomaterials －Tissue reconstruction achieved by materials alone－

Yuji Haishima<sup>#</sup>, Akio Kishida<sup>\*</sup>

Biomaterials implanted in vivo interact with tissues and cells through a layer of adsorbed proteins formed on the surface of the material, and these proteins play an important role in the functional expression and biocompatibility of the material. Normally, protein adsorption on the surface of materials is passive, and the adsorption behavior is greatly influenced by the physicochemical properties of the material surface. On the other hand, if the composition of the adsorbed protein on the surface of a medical material can be artificially controlled, the intended function can be achieved. Therefore, research on the development of materials immobilized with bioactive substances such as growth factors and antibodies for the purpose of tissue regeneration is underway worldwide. Recently, an anti-CD34 antibody-modified endothelial progenitor cell capture coronary stent was approved in Japan. However, since these functional biomaterials fall under the category of combination medical devices that are used in combination with drugs or cell-derived products, there are high hurdles to their practical application due to manufacturing costs and regulatory application issues. In addition, their quality control and other aspects require significant costs. Therefore, novel creation strategies for functional biomaterials are eagerly awaited.

RNA aptamers, which are the third type of functional molecules to alternate antibodies and growth factors, have the ability to selectively capture arbitrary targets. In addition, they can be freely designed and chemically synthesized, which has the advantage of solving various problems that hinder the practical application of conventional technologies. In this paper, we outline the creation of novel functional biomaterials using RNA aptamer technology and their future prospects.

Keywords: Functional biomaterials, RNA aptamer, decellularized tissue, regenerative medicine replacement device

### 1. はじめに

生体内に埋植した医用材料は、材料表面に形成された吸着蛋白質層を介して組織・細胞と相互作用するため、

<sup>#</sup> To whom correspondence should be addressed:

Yuji Haishima: Division of Medical Devices, National Institute of Health Sciences, 3-25-26 Tonomachi, Kawasaki, Kanagawa 210-9501, Japan.

Tel: +81-44-270-6540, Email: haishima@nihs.go.jp

<sup>\*</sup> Institute of Biomaterials and Bioengineering, Tokyo Medical and Dental University

同蛋白質は材料の機能発現や生体適合性に大きく関与する。通常、材料表面への蛋白質吸着は受動的であり、その吸着挙動は材料表面の物理化学的特性に大きく影響される。一方、医用材料表面の吸着蛋白質組成を人為的に制御できれば、意図した機能を付与できることから、世界的にも組織再生等を目的として、成長因子等の生理活性物質や抗体を固定化した材料の開発研究が進められている<sup>1)</sup>。近年、抗CD34抗体を修飾した血管内皮前駆細胞捕捉型冠動脈ステントが日本においても承認された。しかし、これらの機能性材料は、医薬品又は細胞由来製品を併用したコンビネーション医療機器に該当するため、

製造コストや薬事申請上の問題から、実用化に向けたハードルが高い。また、その品質管理等にも多大なコストを要することから、機能性材料の新たな創成戦略が待望されている。

抗体や成長因子等に代わる第3の機能性分子であるRNAアプタマーは任意の標的を選択的に捕捉する機能を有する。また、自在に設計できると共に、化学合成可能であるため、従来技術の実用化を妨げている諸問題を解決できる利点を有している。本稿では、RNAアプタマー技術を活用した新たな機能性材料の創成と将来的な展望について概説する。

## 2. 医用材料としてのRNAアプタマー

アプタマーは核酸（RNA及びDNA等）やペプチドからなる化合物であり、特定の蛋白質を捕捉して活性を阻害する核酸アプタマーが既に医薬品として上市化されている<sup>2)</sup>。一方、医薬品としての核酸アプタマーをSELEX法<sup>3,4)</sup>により選定する際、活性を保持した状態で標的蛋白質と特異的に結合する捕捉型アプタマーも得られる。これらのアプタマーは阻害活性を示さないため、医薬品としての機能は発現しないが、医用材料としての用途は非常に広い。また、捕捉型アプタマーのほか、成長因子の機能を有する模倣型アプタマー<sup>5)</sup>も開発されている。

捕捉型アプタマーは、①短時間、安価に作成可能、②保存性が高く品質管理が容易、③生物試料の混入のリスクがない、④免疫原性がない、⑤薬事申請上の問題点（コンビネーション医療機器の大部分は、医療機器の承認審査と比較して多大な申請費用・時間が必要となる医薬品としての承認審査が必要）を回避し得る等、事業化する上での利点を数多く有している。医用材料に応用可能なFGF、BMP2及びVEGF捕捉型RNAアプタマーについては、設計開発、最適化、*in vitro*機能評価が終了している<sup>6)</sup>。BMP2捕捉型RNAアプタマーとコラーゲンの複合材料は、マウス頭蓋骨に形成した欠損部の骨再生を促進することも確認されている<sup>6)</sup>。模倣型アプタマーについては、増殖因子機能、肝疾患治療効果が確認されている<sup>7)</sup>。また、より小型で広範な応用が期待できる人工ペプチドアプタマーの合理的設計法も提案されている<sup>8)</sup>。

RNAアプタマーはヌクレアーゼによる分解作用を受け易いため、生体内での使用や生体試料に用いる場合は2'水酸基のメチル化やフルオロ化及びBridged Nucleic Acid / Locked Nucleic Acid (BNA/LNA)等の化学修飾を導入する必要がある。

## 3. 足場材料としての脱細胞化組織

近年、生体組織から細胞成分を除去して得られる脱細

胞化組織等を用いた革新的な医療機器の開発が進められており、米国を中心に多くの製品が上市されている。国内においても、異種動物やiPS細胞由来組織等の脱細胞化組織を利用した医療機器の開発研究が進んでいる。脱細胞化組織の骨格となる細胞外マトリクスに残存するサイトカイン及び細胞外小胞に類似したマトリクス結合ナノベシクル等がマクロファージの抗炎症性M2様表現型への分極や幹細胞の分化等、生体組織の再構築に多くの良好な影響を与えていることが報告されている。

従来、脱細胞化組織は界面活性剤を使用して作製されていたが、現在国内では高静水圧処理 (High Hydrostatic Pressure: HHP) 法や低温マイクロ波処理等の細胞除去技術が主流となっている<sup>9)</sup>。国内における開発研究では、これまでに脱細胞化大動脈、角膜、心臓等が生体内において優れた生体適合性と機能（抗血栓性、透明性、癒着防止）を発現することが確認されている<sup>10-14)</sup>。

脱細胞化組織は新しい足場材料として期待されているが、生体由来のため特性のバラつきが避けられない。RNAアプタマーは、脱細胞化組織を安定した足場材料とするための要素として非常に有用である。アプタマーの複合法としては、吸着法、化学固定法及びハイドロゲルに内包させる技術が既に開発されている。

## 4. 再生医療置き換えデバイスの創成戦略

図1に「再生医療置き換えデバイス」の機能発現機構を示した。医用材料が生体内で機能を発現するためには、初期炎症から長期移植に至るまでに克服すべき課題が複数存在する。それらのうち、最も重要な段階が初期炎症から治癒に移行するステップである。この段階を可能な限り速やかに経過させて治癒段階に移行しなければ長期着生は不可能である。従来の多くの医用材料は、この問題を解決できる機能を実装していなかった。そのため、治癒過程が遅延し、デバイス周囲にカプセル化組織が形成され、脱離、感染、慢性炎症等の問題を引き起こす要因となっていた。

これを可能にする解決法が、RNAアプタマーによる意図した機能の付加と優れた生体適合性を有する足場材料の組み合わせである。脱細胞化組織は、それ自身が非常に高い生体適合性（界面特性及び物理特性）を有しているが、生物由来組織であるため品質が一定せず、個別毎の品質保証に問題がある。ここにアプタマーを複合化することにより、高機能と安定した品質を実現することが可能となる。

骨や神経再生を目指す場合、利用する機能性分子としては、BMP及びNGFの活性を阻害しない捕捉型アプタマーと、それらの増殖因子の機能を代替する模倣型アプ

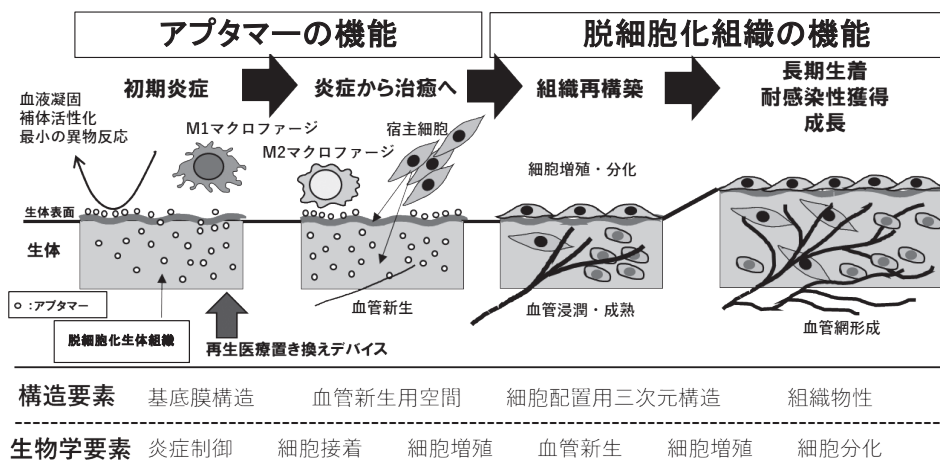
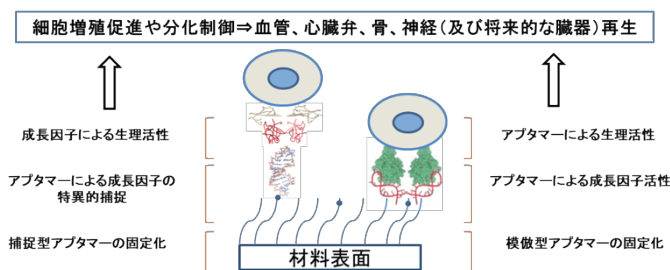
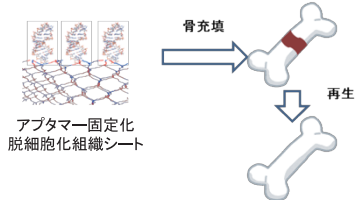


図1 再生医療置き換えデバイスの機能発現機構

<表面材料での作用>



<アプタマー固定化材料による骨再生>



<アプタマー固定化複合材料による神経再生誘導>

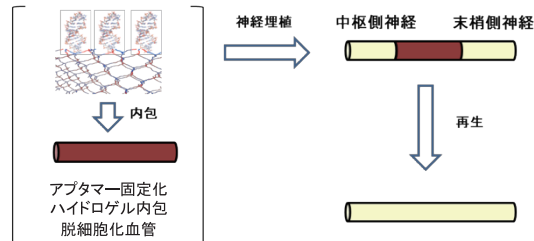


図2 RNAアプタマーの機能発現機構と材料開発への応用例

タマーが該当する。いずれにおいても材料と細胞の界面で機能を発揮し、接触する細胞に対してBMP及びNGFシグナルを伝達することで、周辺組織における骨や神経再生を促進することが可能となる。骨であれば、比較的自由度のある脱細胞化組織シートにアプタマーを固定化することにより、様々な形状の骨再生が期待できる。神経再生が目的の場合、脱細胞化血管を器として利用し、アプタマー固定化ゲルを内包することで実現が可能となる(図2)。また、核酸アプタマーは適切な修飾を施すことで長期間に渡り安定に機能を持たせることが可能であると共に、構造モチーフをパーツとして利用し、分子設計を行うことにより、様々な機能を有する配列が得られる。捕捉及び模倣する対象を時間と共に変える等の複雑な機能制御が可能である。このように再生の経過にお

いて、捕捉及び模倣する対象を変化させていくことにより、あらゆる組織の再生を実現可能な基盤技術となり得る。

5. 標準化戦略

「再生医療置き換えデバイス」は、患者の寿命が尽きるまで機能することが期待される。このような長期間埋植デバイスの治験方法は確立されていない。実時間での評価は現実的に困難であり、長期機能を予測する評価法が必要である。この評価法の確立にあたっては、社会実装に向けた課題としてレギュラトリーサイエンスに基づき、新規機能性医用材料の安全性・有効性を評価する新規試験法及びガイドラインの構築を進める必要がある。また、これらの試験法やガイドラインを国際標準化する

ことにより、世界をリードする体制を整えることも重要な課題となる。

## 6. おわりに

米国における再生医療の戦略は細胞、蛋白質、足場材料を適宜組み合わせることで目的の達成を図ることが一般的である。近年、細胞を用いずに人工材料のみで生体機能の再生を図る考え方が提唱され、「in situ tissue regeneration」と称される研究領域が形成されつつある。その多くは人工材料と成長因子等を組み合わせた研究であるが、生理活性物質の利用に伴って発生する負の側面が実用化の最大の課題となる。この問題を解決できるRNAアプタマーと脱細胞化組織から構成される複合材料は、未来医療における「再生医療置き換えデバイス」として、高機能で安全性も高く、安価でいつでもどこでも治療できる汎用性に富んだ製品の開発に繋がる。将来、細胞を利用せず、材料単独で組織再建を達成できる時代が到来することを期待する。

## 引用文献

- 1) Sethi R., Lee C.H. Endothelial progenitor cell capture stent: safety and effectiveness. *J Interv Cardiol.* (2012), 25, 493-500. doi: 10.1111/j.1540-8183.2012.00740.x
- 2) Eugene W.M.Ng., Shima D.T., Calias P., Cunningham E.T. Jr, Guyer D.R., Adamis A.P. *Nat. Rev. Drug Discov.* (2006), 5(2), 123-32. doi: 10.1038/nrd1955
- 3) Ellington A.D., Szostak J. *In vitro* selection of RNA molecules that bind specific ligands. *Nature.* (1990), 346, 818-822.
- 4) Tuerk C., Gold L. Systematic evolution of ligands by exponential enrichment: RNA ligands to bacteriophage T4 DNA polymerase. *Science.* (1990), 249, 505-510. doi: 10.1126/science.2200121
- 5) Ueki R., Atsuta S., Ueki A., Hoshiyama J., Li J., Hayashi Y., Sando S. DNA Aptamer Assemblies as Fibroblast Growth Factor Mimics and Their Application in Stem Cell Culture. *Chem. Commun.* (2019), 55, 2672-2675.
- 6) 野村祐介, 福井千恵, 森下裕貴, 靛島由二. RNAアプタマーを利用した新規機能性医用材料の創成. 「無機/有機材料の表面処理・改質による生体適合性付与 (監修:靛島由二)」, シーエムシー出版, 東京, 2019, pp.307-315.
- 7) Ueki R., Uchida S., Kanda N., Yamada N., Ueki A., Akiyama M., Toh K., Cabral H., Sando S. A chemically unmodified agonistic DNA with growth factor functionality for in vivo therapeutic application. *Science Advances.* (2020), 6, eaay2801.
- 8) Morimoto J., Hosono Y., Sando S. Isolation of a peptide containing D-amino acid residues that inhibits the  $\alpha$ -helix-mediated p53-MDM2 interaction from a one-bead one-compound library. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* (2018), 28, 231-234.
- 9) 岸田晶夫. 高静水圧処理による生物組織からの再生医療用材料の開発. *高圧力の科学と技術*, (2020), 30 (1), 36-46.
- 10) Negishi J., Funamoto S., Kimura T., Nam K., Higami T., Kishida A. Porcine radial artery decellularization by high hydrostatic pressure. *J. Tissue. Eng. Regen. Med.* (2015), 9(11), E144-151. doi: 10.1002/term.1662
- 11) Wu P., Kimura T., Tadokoro H., Nam K., Fujisato T., Kishida A. Relation between the tissue structure and protein permeability of decellularized porcine aorta. *Mater. Sci. Eng. C. Mater. Biol. Appl.* (2014), 43, 465-471. doi: 10.1016/j.msec.2014.06.041
- 12) Hashimoto Y., Funamoto S., Sasaki S., Honda T., Hattori S., Nam K., Kimura T., Mochizuki M., Fujisato T., Kobayashi H., Kishida A. Preparation and characterization of decellularized cornea using high-hydrostatic pressurization for corneal tissue engineering. *Biomaterials.* (2010), 31(14), 3941-3948. doi: 10.1016/j.biomaterials.2010.01.122
- 13) Funamoto S., Hashimoto Y., Kishida A., Negishi J. A fibrin-coated pericardial extracellular matrix prevented heart adhesion in a rat model. *J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater.* (2019), 107 (4), 1088-1094. doi: 10.1002/jbm.b.34201