

講演番号：2A11p04

講演日時、会場：3月25日 14:36～ A校舎11会場

糸状菌由来の免疫回避機能性素材を用いた新規医療用ナノ粒子の開発 - ナノ粒子の性質について -  
Development of imaging nano-particles coated with immune-response free fungal materials -  
about the properties of nano-particles-

○佐藤 大貴<sup>1</sup>、松村 香菜<sup>2</sup>、高橋 慎太郎<sup>3</sup>、高橋 徹<sup>4</sup>、村垣 公英<sup>1</sup>、石井 恵子<sup>2</sup>、川上 和義<sup>2</sup>、富樫 貴成<sup>5</sup>、高見 誠一<sup>6</sup>、阿尻 雅文<sup>6</sup>、福本 学<sup>6</sup>、阿部 敬悦<sup>1,7</sup> (<sup>1</sup>東北大院農、<sup>2</sup>東北大院医、<sup>3</sup>東北大・加齢研、<sup>4</sup>酒類研、<sup>5</sup>山形大理、<sup>6</sup>東北大・多元研、<sup>7</sup>東北大・未来研)

○Daiki SATOU<sup>1</sup>, Kana MATUMURA<sup>2</sup>, Shintarou TKAHASHI<sup>3</sup>, Toru TAKAHASHI<sup>4</sup>, Kimihide MURAGAKI<sup>1</sup>, Keiko ISHII<sup>2</sup>, Kazuyoshi KAWAKAMI<sup>2</sup>, Takanari TOGASHI<sup>5</sup>, Seiichi TAKAMI<sup>6</sup>, Masahumi AJIRI<sup>6</sup>, Manabu FUKUMOTO<sup>6</sup>, Keietu ABE<sup>1,7</sup> (<sup>1</sup>Grad Sch Agric Sci Tohoku Univ., <sup>2</sup>Grad Sch Med Tohoku Univ., <sup>3</sup>IDAC Tohoku Univ., <sup>4</sup>NRIB., <sup>5</sup>Yamagata Univ., <sup>6</sup>IMRAM Tohoku Univ., <sup>7</sup>NICHe Tohoku Univ)

【目的】医療用ナノ粒子は、蛍光イメージング、MRI、CT、中性子捕捉療法、磁気温熱療法分野、薬物送達系 (DDS) としての利用が期待されている。MRI や CT では固体ナノ粒子がイメージング試薬として利用できるが、静脈内に投与したナノ粒子の殆どが肝臓や脾臓などの細網内皮系に捕捉され標的組織へ送達できないことが課題である。一方、我々は産業糸状菌である麹菌の界面活性蛋白質 hydrophobin(-RolA) がポリエステル表面に結合してポリエステラーゼをリクルートして分解を促進する研究、および RolA の材料表面への吸着に関する研究を行ってきた(1)。その後、ヒト感染性糸状菌 *Aspergillus fumigatus* において孢子表層に存在する hydrophobin がヒトの免疫応答回避 (ステルス) 能を有することが示された(2)。そこで我々は、生体内で安定な金属酸化物ナノ粒子に、糸状菌の新規ステルス因子である界面活性蛋白質 RolA を被覆し、ステルス機能と水溶性を賦与した新規のステルスナノ粒子の開発を行った。本研究では、RolA 被覆酸化鉄粒子の分散性指標となるゼータ電位を測定した。また、ステルス機能を樹状細胞およびマクロファージで評価したので報告する。

【方法】RolA は組み換え体として発現し、従来法に従って硫酸沈殿、カラムクロマトグラフィーにより精製した(1)。更に RolA をポリミキシン B 固定化カラムで処理し精製過程で混入する LPS を除去した。酸化鉄 (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) ナノ粒子 (平均粒径 200 nm) は高温熱水反応により合成し(3)、次いで緩衝液中でLPS-free RolA にて被覆した。LPS-free RolA 被覆酸化鉄ナノ粒子について、C57BL/6 マウスより調製した骨髄樹状細胞でサイトカイン産生能を、またマクロファージ RAW264.7 細胞に LPS-free RolA 被覆酸化鉄ナノ粒子を与えて貪食能を観察した。

【結果】飽和被覆試験の結果、酸化鉄ナノ粒子  $5.8 \times 10^3 \text{ mm}^2 / 1 \text{ mg}$  は、13  $\mu\text{g}$  の LPS-free RolA で完全に被覆された。ステルス性試験の結果、LPS-free RolA 担体および LPS-free RolA 被覆酸化鉄ナノ粒子は、樹状細胞でサイトカイン産生を誘起せず、さらにマクロファージの貪食回避が可能であった。以上の結果、LPS-free RolA 被覆酸化鉄ナノ粒子は、医療用ナノ粒子に必要なステルス能を有すると考えられる。現在、マウスを用いた *in vivo* 試験に向けて、生体内における分散性を調べるため、各 pH における RolA 被覆酸化鉄ナノ粒子のゼータ電位を測定中である。

(1) Takahashi T. et al. *Mol Microbiol* 57:1780,2005

(2) Amanianda C. et al. *Nature* 460:1117,2009

(3) Togashi T. et al. *Dalton Trans* 40:1073,2011

hydrophobin, immuno evasion, nano-particles