

ナノ・ヒーティングによる組織凍結保存技術の開発

堀 江 正 信*

Development of Tissue Cryopreservation Technology Using Nano-heating

Masanobu HORIE*

This research aims to develop cryopreservation/thawing technology for organs, tissues and cells using 'nano-heating' technology, which utilises the oscillation/heating of magnetic nanoparticles in an AC magnetic field. Specifically, as an example of tissue, the technology for preserving liver organoids created from human iPS cells will be completed, with the aim of practical application in the medical cell production and clinical fields. The development of cryopreservation technology for transplanted tissue is essential and urgently needed in the rapidly developing field of regenerative medicine and its industrialisation. This research aims to create a new industry and market in the medical field as a nanotechnology-based cryopreservation technology for living tissue and to realise a new stage of advanced heat-using society.

1. 研究内容と目的

最近 Manuchehrabadi ら (2017 年) が磁性ナノ粒子を凍結保存液に分散させて凍結し、交流磁場で磁性ナノ粒子を発熱させて解凍することで、大容量の細胞凍結液中の生体組織を生存率よく解凍することに成功している¹⁾。このことは Science Translational Medicine 誌の表紙に取り上げられたことから、インパクトの大きな研究成果として注目されている。しかしながら、ここで使用された組織は輪切りにされた血管であり、目標とする肝臓や心臓には程遠い。一方で、食品の解凍技術の進歩は目覚ましく、奈良県の株式会社アビー (<http://www.abi-net.co.jp/cas/>) は電磁波を食品に照射しながら冷凍することでドリップング無く細胞を破壊せずに冷凍する技術を開発している。しかしながら、解凍技術に関しては自然解凍による対流伝熱で行われる。これらの先行技術を基に申請者は、磁性ナノ粒子の交流磁場中での発熱原理はナノ粒子の振動によるブラウン緩和や磁気モーメントの回転によるネール緩和に起因することから、磁性ナノ粒子の振動/発熱を周波数等で制御する(ナノスケール・サーマルマネージメントを行う)ことで、細胞を破壊せずに冷凍/解凍を同時に達成する有用性の高い技術および装置が開発できるのではないかと着想した。具体的なアプローチ方法として、申請者がこれまで培ってきた磁性ナノ粒子を修飾する手法を踏襲し、生体適合性が高く細胞内に取り込まれる「MCL」を細胞や組織に取り込ませ、低周波磁場で磁性ナノ粒子を振動させて氷結を防ぎながら凍結(凍結工程)し、高周波磁場で磁性ナノ粒子を発熱させて均一かつ一気に融解する(融解工程)プロセスを開発する(図 1)。細胞内に機能性磁性ナノ粒子を導入して加温する「細胞内加温法」は、申請者のオリジナルの発想であり科学的に独創性・革新性が高いと考えられるうえ、これまで別の研究開発で培ってきた技術を応用する研究であるために目標達成の可能性は非常に高い。本研究では、磁性ナノ粒子が交流磁場中で振動/発熱することを利用した「ナノ・ヒーティング」技術による臓器・組織・細胞の冷凍保存/解凍技術を開発する。具体的には組織の一例として、ヒト iPS 細胞から作成したオルガノイドの保存技術を完成させることで医療用細胞製造現場および臨床現場での実用化を狙う。発展著しい再生医療とその産業化における移植組織の冷凍保存技術の開発は必須であり急務である。本研究はナノテクノロジーによる生体組織の冷凍保存技術として医療分野での新産業・新市場創製を実現し新たな段階の高度熱利用社会の実現を目的とするものである。

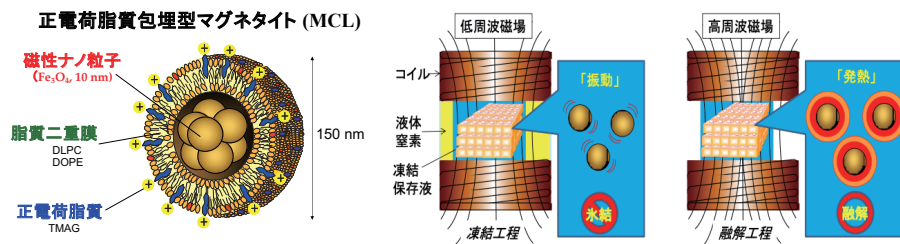


図 1 正電荷脂質包埋型マグネタイト (MCL) と凍結融解工程の概要。

2025年2月28日 受理

* 豊田理研スカラー

京都大学環境安全保健機構

2. 研究結果

本研究では、磁性ナノ粒子が交流磁場中で発熱する原理を利用した「ナノ・ヒーティング」技術による無細胞・細胞 各レベルで検討を行い、生体組織の冷凍保存/解凍技術を開発した。

A) ナノ・ヒーティングにおける凍結/解凍のスペクトル学的理解

磁性ナノ粒子の発熱量は、交流磁場の周波数および磁場強度に比例する。周波数可変型の交流磁場照射装置を用いて、凍結保護液中での磁性ナノ粒子の発熱を調べたところ、周波数依存のかつ出力依存的に加温速度は増大し、さらに磁性ナノ粒子の濃度依存的に加温速度をコントロールできることが分かった (図2左)。また、ナノ・ヒーティングは大容量の細胞凍結保護液であっても、容器内を均一かつ容量非依存的に加温できることが分かり、スケールアップ可能な加温技術として有用であることを実証した (図2右)。

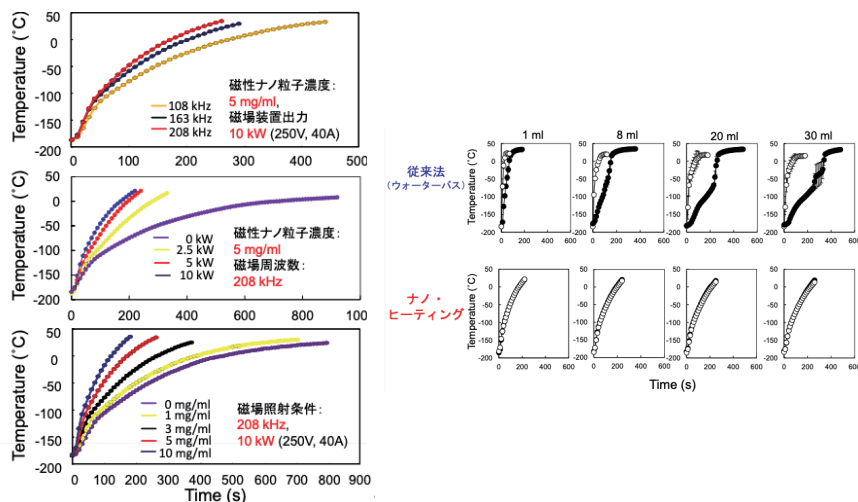


図2 ナノ粒子の発熱に伴う温度上昇 (左) と解凍時の各容量における容器内の中心 (●) と端 (○) の温度変化 (右)。

B) ヒト iPS 細胞の冷凍保存/解凍技術の開発

ヒト iPS 細胞 (1×10^6 cells/mL) を用いて、磁性ナノ粒子を幹細胞用凍結保護液 (StemCell Keep) に分散させて交流磁場を照射したところ、磁性ナノ粒子 5 mg/mL を含むガラス化凍結細胞を 200 kHz, 10 kW で磁場照射することにより、サンプルの容量 (1 mL~20 mL) に依存せずにガラス化凍結細胞を均一にかつ急速に加温することが可能であり、再結晶を誘導することなく解凍することに成功した。その結果、大容量であっても氷晶を形成させずに融解することに成功し、ヒト iPS 細胞を高い生存率 (図3) および未分化性/多分化能を維持して凍結保存することに成功した。さらに、ヒト iPS 細胞をバイオリアクターで培養した際の大容量の細胞凝集塊のガラス化凍結保存も同様にナノ・ヒーティング法で高い生存率および未分化性/多分化能が達成された。この技術により、従来 0.2 mL の容量でしかガラス化凍結保存できなかったヒト iPS 細胞を、その 100 倍量である 20 mL (細胞数も 100 倍) で凍結保存することに成功した。

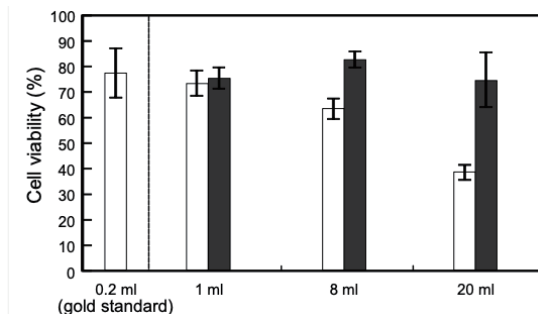


図3 解凍後の細胞生存率 (□) 従来法 (ウォーターバスによる37℃加温), (■) ナノ・ヒーティング。

REFERENCE

- 1) N. Manuchehrabadi, et al., *Sci. Transl. Med.*, **9** (2017) eaah4586.