

令和 5 年 6 月 22 日現在

機関番号：32692

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2022

課題番号：19K15410

研究課題名（和文）金ナノ粒子触媒の抗炎症作用

研究課題名（英文）Anti-inflammatory effect of gold nanoparticulate catalysts

研究代表者

藤田 隆史（Fujita, Takashi）

東京工科大学・工学部・助教

研究者番号：30737565

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000 円

研究成果の概要（和文）：Au/MOx触媒の合成と抗炎症作用の機構解明に関する研究から、以下の成果が得られた。還元雰囲気下での熱処理によりAuナノ粒子の粒径分散が改善された。Au/MOx触媒の抗炎症作用は細胞内での内在化によって発現し、細胞の生存率や貪食能に影響を与えなかった。Au/TiO₂ > Au/ZrO₂ > Au/CeO₂の順に抗炎症効果があり、MOxナノ粒子の効果がAuナノ粒子の大きさよりも重要であることが示唆された。Au/TiO₂およびAu/ZrO₂の抗酸化作用が抗炎症作用に関与している可能性が示唆された。以上の結果から、Au NPsとMOxの相乗的な効果によって抗炎症作用が生じることが推察された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ナノ材料は表面積に基づく特性を持ち、薬剤輸送や触媒に利用されるが、生体への毒性が懸念される。特にMOxナノ粒子は炎症を引き起こす可能性がある。研究代表者はAu/TiO₂やAu/ZrO₂が抗炎症作用を示すことを発見している。本研究ではAu/MOx触媒の抗炎症機構の解明を試みた。Au/MOx触媒が示す抗酸化活性が抗炎症作用に関与している可能性が示された。しかし、それだけでは説明できない結果もあり、複合的な機構も考慮する必要があった。本研究の成果により、生体に優しい金属酸化物や抗炎症塗り薬の開発が期待され、炎症性疾患の予防・治療に貢献できる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：The synthesis of Au/MOx catalysts and the elucidation of their anti-inflammatory mechanism yielded the following noteworthy findings. Heat treatment in a reducing atmosphere was found to enhance the size dispersion of Au nanoparticles, contributing to improved catalytic performance. The anti-inflammatory effect of Au/MOx catalysts was observed through their internalization within cells, without compromising cell viability or phagocytic activity. Comparative analysis revealed that the order of anti-inflammatory effectiveness was Au/TiO₂ > Au/ZrO₂ > Au/CeO₂, highlighting the significant role of MOx nanoparticles over the size of Au nanoparticles. Furthermore, the potential involvement of the antioxidant properties of Au/TiO₂ and Au/ZrO₂ in their anti-inflammatory effects was suggested. Collectively, these findings support the hypothesis that the anti-inflammatory action is synergistically mediated by the combined effects of Au NPs and MOx.

研究分野：ナノマテリアル

キーワード：金ナノ粒子 金属酸化物 抗炎症作用 担持金属触媒

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

ナノ材料は、その莫大な比表面積に基づく物質表面の物理化学特性により、バルクとは異なる機能が現れる。この特性を活かした薬剤輸送、触媒、光学素子など様々な応用が盛んである。しかし、ナノ材料が生体に曝露された際、その特性が毒性(ナノリスク)となりうる問題が提起され、EU や米国で規制が始まっている。特に、金属酸化物(MOx)ナノ粒子は、化粧品や食品添加物など我々が触れる状況での利用が多い。

異物や病原菌などの侵入に対する生体の防御機構である炎症は、慢性化により、間質性肺炎、アトピー性皮膚炎、がんなど様々な重篤な疾患を招く。Nelらは、生体中のMOxナノ粒子が活性酸素を生じ、炎症を招く危険性を指摘し(A. E. Nel, et al., Nat. Mater., 2009) Boczkowskiらは、MOxナノ粒子による肺組織の炎症を報告した(J. Boczkowski, et al., Part. Fibre. Toxicol., 2014)。

研究代表者の研究グループは、Auナノ粒子とMOxナノ粒子のナノ複合材料Au/MOx触媒を開発し、室温以下でのCO酸化など優れた低温触媒特性を明らかにしてきた。さらに、研究代表者は、Auの他の貴金属種よりも高い生体適合性に着目し、生体内で意図的に触媒反応を生じさせることで、抗がん剤などの医薬品への応用展開を期待した研究を行っていた。その過程で、研究代表者は、Au/TiO₂やAu/ZrO₂が抗炎症作用を示すことを培養細胞を用いた実験により見出した。

2. 研究の目的

Au/MOx触媒の抗炎症機構が解明できれば、炎症によるナノリスクが問題であるMOxナノ粒子に対して、逆に抗炎症作用を付与できる。これを例えば、肌に塗布する化粧品に応用した場合、皮膚炎のリスクを低減し、肌への悪影響を小さくできる。また、発展的には、ナノ材料の生体透過性や薬物輸送などの特性と併せた、新しい抗炎症薬の開発(ナノメディシン)につながる可能性もある。このような将来展望を期待して、本研究では、Au/MOx触媒の抗炎症作用の機構解明を目指した。

3. 研究の方法

(1) Au/MOx触媒の精密な合成

Au/MOx触媒と抗炎症作用との因果関係を議論するためには、抗炎症作用に寄与すると考えられるAuナノ粒子の粒径域の決定や、細胞の粒子認識・取り込み過程に影響を与えるAu/MOx触媒の二次粒径の制御が特に重要となる。そこで、Auナノ粒子の粒径分布を小さくし、Au/MOx触媒の培地中での凝集状態の制御を行う。

Auナノ粒子の粒径分布を小さくする

直径5nm以下のAuナノ粒子では、サブnm程度の僅かな粒径の違いが触媒活性に劇的な影響を与える。このため、粒径分布が大きい場合、Auナノ粒子の粒径効果を議論することは困難である。そこで、合成条件の最適化(熱処理の雰囲気、温度、時間の制御)により現状40%程度の粒径分散を、20%以下(理想的には10%)にすることを目指した。

Au/MOx触媒の培地中での凝集状態の制御

炎症の中心的な役割を担う細胞、マクロファージによるMOx粒子の取り込み(貪食)が炎症の開始経路とされている。粒子の貪食量はμmから数百nmの範囲で粒径に依存するため、Au/MOx触媒の二次粒径制御は、抗炎症作用の定量的な評価に必要である。TiO₂表面を非晶質SiO₂で被覆することで触媒の培地への分散性を向上させることを目指した。

(2) Au/MOx触媒の抗炎症作用の機構解明

抗炎症作用の検証のため、リポ多糖の投与により、意図的に炎症状態にしたマクロファージ(細菌感染モデル)に対して、炎症関連因子の定量、細胞中の活性酸素種の分析を行うことで、Au/MOx触媒の抗炎症作用の機構解明を行った。

炎症関連因子の定量

(1)で系統的に合成したAu/MOx触媒をマクロファージに曝露し、曝露前後の炎症性サイトカインを定量する。この実験から、抗炎症作用に寄与するAu/MOx触媒のパラメータが明らかになる。炎症性サイトカインは、酵素結合免疫吸着法(ELISA法)により定量を行った。

細胞中の活性酸素種の定量

活性酸素種は、炎症の原因となる化学種であり、ナノ粒子表面での活性酸素種の産生は炎症を引き起こす。一方で、Au/MOx触媒は、室温で活性酸素種を分解する触媒活性を有する。細胞内の活性酸素種は、非炎症性で細胞膜を容易に透過するDCFH-DAにより標識し、その蛍光強度の測定により、細胞内の活性酸素の濃度を定量した。Au/MOx触媒曝露時における細胞内の活性酸素を定量し、細胞内における活性酸素種の濃度とAu/MOx触媒の活性酸素分解活性の関係性を議論した。

4. 研究成果

Au/MOx触媒の精密な合成とそれを用いた抗炎症作用の機構解明を行い、下記の成果を得た。

(1) Au/MOx 触媒の精密な合成

・Au ナノ粒子の粒径分布を小さくする

Au/MOx 触媒の調製過程において、Au を還元する際、還元雰囲気下で熱処理すると、Au ナノ粒子の粒径分散が 25% 程度に改善されることを見出した。この現象は、還元雰囲気下において生成しやすい MOx の酸素欠陥サイトで成長した Au ナノ粒子は、酸素欠陥サイトに強固に接合し、MOx の表面で Au ナノ粒子が凝集・粗大化しにくくなることに起因していると考えられた。これにより、様々な直径を持つ Au ナノ粒子を作りわけることが可能になった。

また、副次的な成果であるが、この手法を用いて作成した Au/ZnO は、極めて高い CO 酸化反応に対する触媒活性を有することが明らかになった。このことから、Au ナノ粒子の粒径分布が小さいだけでなく、反応サイトと考えられている Au と ZnO の接合界面の構造も特異的である可能性が示唆された。

・Au/MOx 触媒の培地中での凝集状態の制御

当初計画した、超音波破碎と遠心分離による粒子の分画法では、凝集状態の制御が困難であることが判明した。つまり、本研究で用いる担体である TiO₂ のゼータ電荷は、培地の pH である 7 付近で 0 となり、静電反発がほぼなくなるため、容易に不可逆的に凝集し、二次粒子が粗大化する。そこで、計画を変更し、TiO₂ の表面を SiO₂ で被覆することで、pH7 における静電反発を増大させ、凝集を抑制することを着想した。TiO₂ の表面をテトラエトキシシランの加水分解によりアモルファス SiO₂ を被覆した結果、TiO₂/SiO₂ では、pH7 における水への分散性が向上した。

(2) Au/MOx 触媒の抗炎症作用の機構解明

・炎症関連因子の定量

Au/MOx 触媒を曝露したマクロファージに対して、細胞毒性の評価や、TNF- α や IL-1 などの炎症性サイトカインの定量を行い、Au/MOx 触媒の抗炎症作用を評価した。Au/MOx の抗炎症作用は、粒子の細胞への内在化に伴って生じ、細胞生存率および貪食能には影響を与えなかった。Au/MOx の抗炎症作用は、Au/TiO₂ > Au/ZrO₂ > Au/CeO₂ の順に効果が大きかった。さらに、Au ナノ粒子の平均粒径が 8 nm と 3 nm の Au/TiO₂ の抗炎症効果の比較を行ったところ、Au NPs の粒径とは関係がなく、MOx NP の効果に依存することが示唆された。細胞に内在化した Au/TiO₂ の透過型電子顕微鏡観察により、Au/TiO₂ は、細胞内の液胞に局在することが確認された。

Au NPs 自体が抗炎症作用を示すとする報告例は過去に多数研究がなされてきたが、本研究の Au NPs の濃度は、それらの研究例と比較して極めて少ない。そのため、本研究で示された抗炎症作用は、単に Au NPs 自体の生物活性に依るものではなく、Au NPs と MOx の相乗的な効果に起因すると推察された。

・細胞中の活性酸素種の定量

Au/TiO₂ および Au/ZrO₂ の抗炎症作用が抗酸化作用と関連しているかどうかを検討した。この問題を調べるために、細胞内の活性酸素種 (ROS) 濃度に対する Au/MOx 触媒の効果を測定した。これらの実験から、Au/TiO₂ および Au/ZrO₂ によって誘導された細胞内の活性酸素生成は、それぞれ TiO₂ および ZrO₂ よりも有意に小さく、Au/TiO₂ および Au/ZrO₂ の抗酸化作用を示すことを示した。この抗酸化作用は、抗炎症作用に関与している可能性がある。興味深いことに、CeO₂ に曝露した細胞の活性酸素レベルは、TiO₂ や ZrO₂ に曝露した細胞の活性酸素レベルと比較して低く、これは先に述べた CeO₂ の抗酸化作用と一致した。CeO₂ NPs は元々抗酸化作用を有しているため、CeO₂ 上に担持された Au NPs の効果は限定的であったと考えられる。これらの結果から、抗炎症作用は Au NPs と MOx の複合化による活性酸素の除去作用に起因すると考えられた。

これらの成果からは、Au/MOx 触媒の抗酸化活性が抗炎症作用に関与している可能性が示唆された。しかしながら、結果には単純な一つの機構だけでは説明できないものもあり、複合的な機構を考慮する必要がある。これらの研究の成果は、炎症を引き起こさない生体親和性の高い金属酸化物や抗炎症作用を持つ塗り薬の開発につながる可能性がある。これにより、炎症を抑える新たな治療法や、炎症性疾患の予防・治療に貢献することが期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Takashi Fujita, Maeva Zysman, Dan Elgrabli, Toru Murayama, Masatake Haruta, Sophie Lanone, Tamao Ishida & Jorge Boczkowski	4. 巻 11
2. 論文標題 Anti-inflammatory effect of gold nanoparticles supported on metal oxides	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-021-02419-4.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Takashi Fujita, Tamao Ishida, Kohei Shibamoto, Tetsuo Honma, Hironori Ohashi, Toru Murayama, Masatake Haruta	4. 巻 9
2. 論文標題 CO Oxidation over Au/ZnO: Unprecedented Change of the Reaction Mechanism at Low Temperature Caused by a Different O ₂ Activation Process	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 ACS Catalysis	6. 最初と最後の頁 8364-8372
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1021/acscatal.9b02128	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Takashi Fujita, Kohei Shibamoto	4. 巻 7
2. 論文標題 Formation and Characterization of 2D Closely Packed Arrays of Bare Gold Nanoparticles without Aggregation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 ACS Omega	6. 最初と最後の頁 44711-44719
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1021/acsomega.2c04032	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 藤田隆史、石田玉青、芝本幸平、本間徹生、大橋弘範、村山徹、春田正毅
2. 発表標題 酸化亜鉛に担持した金ナノ粒子触媒によるCO酸化 低温における酸素の活性化過程の変化
3. 学会等名 第124回触媒討論会
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 中山晶皓・吉田彩乃・青野智香・本間徹生・坂口紀史・竹歳絢子・藤田隆史・村山徹・嶋田哲也・高木慎介・石田玉青
2. 発表標題 ナノ粒子状の層状複水酸化物 (LDH) を利用した担持金クラスター触媒の開発
3. 学会等名 第131回触媒討論会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 中山 晶皓, 吉田 彩乃, 青野 智香, 岡山 夏帆, 本間 徹生, 坂口 紀史, 竹歳 絢子, 藤田 隆史, 村山 徹, 嶋田 哲也, 高木 慎介, 石田 玉青
2. 発表標題 "層状複水酸化物 (LDH) ナノ粒子を用いた担持金クラスター触媒の開発"
3. 学会等名 第130回触媒討論会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 山本倅平, 藤田隆史, 高橋昌男
2. 発表標題 電気化学的 surface 処理による鉄材料の表面改質
3. 学会等名 日本セラミックス協会2022年 年会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------