

研究区分	教員特別研究推進 地域振興
------	---------------

研究テーマ	生体内でリサイクルされるプラスチック人工抗体創製による敗血症治療				
研究組織	代表者	所属・職名	薬学部・准教授	氏名	小出 裕之
	研究分担者	所属・職名	薬学部・教授	氏名	浅井 知浩
		所属・職名	薬学部・講師	氏名	米澤 正
		所属・職名		氏名	
	発表者	所属・職名	薬学部・准教授	氏名	小出 裕之

講演題目	プラスチック人工抗体の細胞への取り込み量と排泄量の関係
研究の目的、成果及び今後の展望	<p>世界では約 6.7 億人がコロナウイルスに感染し、コロナによって重症化した患者を救う治療方法の開発は、静岡県にとって重要な課題である。重症患者の致死率をあげている一番の要因はサイトカインストームに起因する敗血症であるとの報告がある。近年、敗血症は壊死した細胞からヒストンが血液中に放出されることで引き起こされることが報告されている。申請者らは、タンパク質間の相互作用を模倣し <i>N</i>-isopropylacrylamide (NIPAm) を基盤としたプラスチック抗体を用いることで、血液中中でヒストンを網羅的に中和するプラスチック抗体を開発し、敗血症治療に成功してきた (<i>Nature Communication</i>, 12, 5552, 2021)。しかし、プラスチック抗体は血液中に投与すると速やかに肝臓などの臓器に移行してしまうため、血液中で持続的に標的分子を吸着できない。そこで、本研究では抗体の高い血中滞留性に着目した。抗体は、内皮細胞の胎児性 Fc 受容体 (FcRn) に結合するため、細胞に取り込まれた後も再び血液中に放出される。そこで本研究の目的は、リサイクリング人工抗体を開発することである。生体内でリサイクルされるプラスチック抗体の創製にあたり、プラスチック抗体 (NPs) は NIPAm に加えて、負電荷モノマーの Acrylic acid と疎水性モノマーの <i>N</i>-tert-butylacrylamide を用い、沈殿共重合法により合成した。NPs の細胞内取り込み量、細胞外排泄量を定量するため、蛍光物質である 5-aminofluorescein を acryloyl 化した化合物 (5-AF monomer) を NPs に組み込み、蛍光標識 NPs (5AF-NPs) を合成した。はじめに、共焦点レーザー顕微鏡を用いて 5AF-NPs の細胞内での局在を観察した。その結果、5AF-NPs とリソソームは共局在していた。次に、NPs の細胞内取り込み率と排泄率を検討するため、マウス内皮細胞株 (2H11) に 5AF-NPs を添加し、添加から 24 時間後の細胞内取り込み率を測定した。その結果、NPs 単体として細胞に添加すると数%ではあるが細胞内に取り込まれることが明らかになった。次に、2H11 細胞に NPs を添加してから 24 時間後に培地交換を行い、その 24 時間後に細胞外へ排出された NPs の割合を測定した。その結果、培地交換から 24 時間以内に、細胞内に取り込まれた NPs の約 40%が細胞外に排泄されていた。以上より、細胞内に取り込まれた一部の NPs は細胞外に排泄されることから、この排泄量を向上させることで、生体内でリサイクルされるプラスチック抗体の創製が可能となることが示唆された。今後は、実際に細胞外に放出された NPs の機能や結合しているタンパク質の解析に加え、FcRc に親和性のある NPs を用いることで、細胞内に取り込まれる量や排泄量に与える影響を検討する。そして、実際に血中滞留時間を延長可能かどうか、明らかにする。</p>