

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

研究テーマ	新型コロナウイルス感染の重症化により発症する敗血症の治療薬開発				
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	細胞からエクソサイトーシスされたポリマーナノ粒子の標的分子吸着能の評価
研究の目的、成果及び今後の展望	<p>我々は抗体と抗原間の結合が、静電的相互作用や疎水性相互作用など非共有結合の多点結合により形成されていることに着目し、poly <i>N</i>-isopropylacrylamide (pNIPAm) ナノ粒子に様々な官能基を有する機能性モノマーを組み込むことで、抗体のように血液の中で標的分子と強く結合し、その機能を中和するナノ粒子 (NPs) を合成してきた。細胞に添加した NPs はエンドサイトーシスされることが知られている。しかし我々は、細胞に取り込まれた NPs が時間と共に細胞外に放出されていることを明らかにしている。そこで本研究では、細胞に添加した NPs がどの程度細胞内に取り込まれ、そして細胞外に排泄されるのかを明らかにし、さらに、細胞から排泄された NPs の標的分子吸着能を検討した。</p> <p>【方法】本研究では、蜜蜂由来の溶血毒素であるメリチンを用いた。メリチンが正電荷の両親媒性ペプチドであることから、負電荷モノマーである Acrylic acid と疎水性モノマーである <i>N</i>-<i>tert</i>-butylacrylamide を用い、さらに、蛍光物質である 5-aminofluorescein を acryloyl 化した蛍光標識モノマーを NPs に組み込み、蛍光標識 NPs を合成した。共焦点レーザー顕微鏡を用いて、NPs の細胞内局在を観察した。次に、マウスマクロファージ様細胞株 Raw264.7、マウス内皮細胞株 2H11 に NPs を添加し、24 時間後に細胞内への取り込み率を測定した。その後培地を交換し、再度 24 時間培養後に培地中の蛍光強度を測定することで NPs の細胞外への排出率を測定した。細胞から排泄された NPs のメリチンに対する中和能は赤血球溶血試験により検討した。</p> <p>【結果・考察】細胞に取り込まれた NPs は細胞内でリソソームと共局在している様子が観察された。また Raw264.7、2H11 細胞において、細胞に取り込まれた NPs のうち、それぞれ約 20、40% の NPs が細胞外へ排出されていた。赤血球溶血試験により、細胞から排泄された NPs はメリチンによる溶血活性を阻害した。以上より、細胞に取り込まれた一部の NPs は細胞からエクソサイトーシスされ、再び標的分子と結合しその毒性を中和可能であることが示唆された。</p> <p>今後は、内皮細胞の胎児性 Fc 受容体 (FcRn) に結合するポリマーナノ粒子を開発し、リサイクリング人工抗体を開発することで、血液の中で長時間ヒストンを中和するより効果的な敗血症治療法を開発していく。</p>