

研究区分	教員特別研究推進 独創・先進的研究
------	-------------------

研究テーマ	タンパク質の細胞内送達・疾患治療を可能にするバイオミメティックリポソームの開発				
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	九州大学工学院・教授	氏名	三浦 佳子
		所属・職名	九州大学工学院・教授	氏名	星野 友
		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	タンパク質の細胞内送達・疾患治療を可能にするバイオミメティックリポソームの開発
------	---

**研究の目的、成果及び今後の展望**

細胞内タンパク質は、生体内の様々なプロセスに関与しているため、欠損するとがんや炎症などの疾患原因となり得る。そこで、標的細胞内にタンパク質を導入することが可能となれば、細胞の恒常性が回復し、疾患治療に繋がる。しかし、親水性高分子のタンパク質は、細胞膜透過性やエンドソーム脱出能が乏しく、血液中でタンパク質分解酵素により容易に分解されることから、細胞内への送達効率は極めて低い。そのため、タンパク質を細胞内に高効率で送達可能な DDS 技術が必要とされている。タンパク質-タンパク質間の結合は、静電的相互作用、疎水性相互作用、水素結合などの弱い非共有結合の多点結合で形成されている。我々はこれまで、標的タンパク質と様々な相互作用を生み出す機能性脂質を最適な割合でリポソームに組み込むことで、標的タンパク質に対して高い親和性を有する多官能性リポソーム(MF-Lip)の開発を行ってきた。そこで本研究では、標的タンパク質に高い親和性を有する MF-Lip の開発技術を応用することで、タンパク質の細胞内送達に関する基盤技術の開発が可能となると考えた。

標的タンパク質には、抗酸化酵素であるスーパーオキシドディスムターゼ(SOD)とカタラーゼ(CAT)を選択し、活性酸素によって引き起こされる炎症性疾患の治療を目指した。MF-Lip は、正電荷脂質、疎水性脂質、中性脂質の3種類を用いて調製した。MF-Lip の標的タンパク質に対する結合親和性を水晶振動子マイクロバランスにより評価したところ、カチオン性脂質 80%、疎水性脂質 10%、中性脂質 10%で調製した MF-Lip 4 が SOD と、カチオン性脂質 70%、疎水性脂質 10%、中性脂質 20%で調製した MF-Lip 6 が CAT に対して最も高い親和性を示した。凍結融解法を用いることで、最適化された各MF-Lipに約70%のSODまたはCATが内封された。マクロファージ(Raw264.7)細胞をリポ多糖(LPS)で刺激すると、細胞内の活性酸素レベルが上昇した。一方で、SOD内封MF-Lip 4とCAT内封MF-Lip 6をLPS処理細胞に共添加すると、細胞内の活性酸素レベルがSODとCATの単体を共添加した群と比較して有意に減少したことから、MF-Lipを用いることで標的タンパク質の機能を保持したまま高効率に細胞内送達可能であることが示唆された。さらに、敗血症モデルマウスにSOD内封MF-Lip 4とCAT内封MF-Lip 6を共投与することで、SODとCATの単体を共投与した群と比較して有意に生存率が向上したことから、MF-Lipがin vivoにおいてもタンパク質を細胞内に送達し、ROSを効果的に除去していることが示唆された。以上より、機能性脂質の割合が最適化されたMF-Lipは、タンパク質の細胞内送達剤として有用であることが示された。