

28Q-am09

腫瘍低酸素イメージングを目的としたタンパク質放射性薬剤の細胞内移行性向上を目指した膜透過ペプチドの検討

○小西 宏明¹, 榎谷 真貴¹, 上田 真史², 工藤 喬¹, 近藤 科江³, 久下 裕司¹, 平岡 真寛³, 佐治 英郎¹ (¹京大院薬, ²京大病院RI, ³京大院医)

【目的】腫瘍の低酸素領域では、Hypoxia Inducible Factor-1 (HIF-1) が発現しており、それによって腫瘍の悪性度を高める様々な因子が誘導される。演者らはこれまでに、腫瘍に存在する低酸素領域のイメージングを行う目的で、HIF-1 分子内の低酸素依存的分解に関与するペプチド(ODD)を母体とし、ストレプトアビジンの一部を組み込んだ融合タンパク質の開発に成功している。本研究では、当該タンパク質の細胞内移行性を高めるための膜透過ペプチドの選択と、低酸素状態の種々のがん細胞での安定化の評価を行った。

【方法】膜透過ペプチドとして TAT 由来の Protein Transduction Domain 1 (PTD1) とポリリジン(K9)を主体とする PTD3 の 2 種類を選択し、それぞれを EGFP と融合させ、HeLa 細胞での細胞膜透過能を FACS で比較した。膜透過ペプチドを組み込んだ融合タンパク質の通常酸素条件下における分解をウェスタンブロットにより評価した。さらに、ビオチン誘導体である [¹²⁵I]IBB を用いて融合タンパク質を標識し、通常酸素および低酸素条件下の HeLa 細胞(子宮頸がん)、MM1 細胞(肝がん)、FM3A 細胞(乳がん)での取り込みを比較した。

【結果・考察】PTD1-EGFP に比べ、PTD3-EGFP は 7 倍高い取り込みを示したことから、PTD3 の有用性が示された。次にウェスタンブロットにより、PTD3 を組み込んだ融合タンパク質が通常酸素条件下で分解されることが確認できた。さらに [¹²⁵I]IBB で標識した融合タンパク質は、通常酸素条件下よりも低酸素条件化において HeLa 細胞で 3.2 倍、MM1 細胞で 2.2 倍、FM3A 細胞で 2.3 倍高い取り込みを示した。以上の結果から、本融合タンパク質が高い膜透過能を有し、低酸素条件下の種々のがん細胞で安定化されることが確認できた。