

28CE-am03

プロテオグリカンを介したデカアルギニン脂質/DNA 複合体の細胞内取り込み
○泉澤 友宏¹, 服部 喜之¹, 戸潤 一孔², 米谷 芳枝¹(¹星薬大, ²旭化成)

【目的】これまでに我々は、デカアルギニンとポリエチレングリコール(PEG)脂質を結合させた新規化合物 (Arg10B)を合成し、遺伝子ベクターとしてヒト子宮頸癌 HeLa 細胞で評価してきた。本研究では、Arg10B/DNA 複合体の細胞内取り込みへのヘパラン硫酸プロテオグリカン (HSPG)の関与、および細胞内取り込み機構を種々の癌細胞を用いて検討した。

【方法】HeLa、ヒト咽頭上皮癌 KB、ヒト前立腺癌 PC-3 細胞を用い、HSPG 濃度を ELISA 法にて測定した。Arg10B による遺伝子導入効率は、ルシフェラーゼ発現プラスミド DNA (pDNA)と水溶液中で混合し、複合体を形成して評価した。また、heparinase やエンドサイトーシス阻害剤 (sucrose、EIPA、filipin)処理後、Arg10B による FITC 標識 pDNA の細胞内取り込み量の変化を FACS にて評価した。

【結果】HSPG 濃度は PC-3、HeLa、KB 細胞の順で低くなった。また、Arg10B による遺伝子導入効率も PC-3、HeLa、KB 細胞の順で低くなった。pDNA の細胞内取り込み量は PC-3、KB、HeLa 細胞の順に高く、いずれも heparinase 処理により約 40%低下した。さらに、PC-3、KB 細胞では主にクラスリン依存性エンドサイトーシス阻害剤である sucrose で、HeLa 細胞では主にマクロピノサイトーシス阻害剤である EIPA で取り込み阻害が見られた。

【考察】各細胞における HSPG 濃度と遺伝子導入効率に相関性が見られ、Arg10B/pDNA 複合体の細胞内取り込みは heparinase 処理により低下したことから HSPG が関与していることが示唆された。HeLa 細胞においては、pDNA の取り込み量が低いにも関わらず、高い遺伝子導入効率を示したことから、マクロピノサイトーシスによる取り込みは、効率的な遺伝子発現をもたらすことが示唆された。