

## 細胞膜透過ペプチドによるインスリン細胞膜透過促進機構の解明

○山本 修一<sup>1</sup>, 森下 真莉子<sup>1</sup>, 高山 幸三<sup>1</sup>(<sup>1</sup>星薬大)

【目的】これまでに当教室では、細胞膜透過ペプチド：Cell-penetrating peptides (CPPs) がペプチド薬物であるインスリンの消化管粘膜吸収を改善させること、また、この吸収促進効果の発現には、インスリンと CPP の間での分子間相互作用が関与していることを報告している。また、CPP の中でもインスリン消化管吸収改善に特に有効であった L-penetratin を基本骨格とした種々の構造改変体を合成し、L-penetratin を超える吸収促進効果を示す構造改変体を見出している。そこで本研究では、種々の CPP (D-R8, D-penetratin およびその構造改変体) を用いた細胞系 (Caco-2 および HeLa 細胞) における取り込み実験を各種条件下で行い、各 CPP におけるインスリン細胞膜透過促進効率とその機構を解明することを目的とした。

【方法】細胞取り込み実験：FITC 標識インスリンおよび ATTO 655 により標識した CPP を適用し、37℃条件下で1時間インキュベーションした細胞を可溶化し、インスリンおよび CPP の細胞内への取り込み効率を評価した。表面プラズモン共鳴 (SPR) を利用した分子間相互作用測定：センサーチップの流路上に一定量のインスリンを固定化させた後、各濃度および pH の L-penetratin 溶液もしくは D-R8 溶液を適用し、得られたセンサーグラムの平衡結合量をもとに Scatchard 解析により、結合パラメータを算出した。

【結果・考察】HeLa 細胞を用いた取り込み実験において、一部の CPP の適用により顕著にインスリン取り込みが増大した。一方、SPR 結合実験において pH の低下に伴ったインスリン-CPP 間の結合親和性の低下が認められたことから、複合体の形成には静電的相互作用による結合の寄与が大きく、細胞内では pH の低下により複合体が解離する可能性が示唆された。