

22R-pm20

細胞膜透過性ペプチド sC18 修飾によるエクソソームの効率的な細胞内移行とマクロピノサイトーシス誘導

○野口 公輔¹, 中瀬 朋夏², Ines NEUNDORF³, 中瀬 生彦¹ (¹阪府大院理, ²武庫川女大薬, ³ケルン大)

【目的】エクソソームは直径 30-200 nm 程の脂質二重膜で構成された小胞で、miRNA や酵素等を内包し、様々な細胞から分泌される。また、我々の血液や尿、唾液等にも大量に含まれている[1]。一方で近年、細胞毒性が無い、機能性分子の内包、及び、修飾が可能等、薬学的観点から高い優位性を持つことから、次世代の薬物送達ツールとして期待されている。しかしながら、細胞内への取込み効率が低いことが、薬物送達ツールとしての応用を考える際に改善すべき重要課題となっている。私たちの研究グループでは最近、エクソソーム膜への機能性ペプチド修飾技術、及び、その修飾による細胞内移行効率を増強させる技術開発に成功した[2]。本研究では新たに、抗菌タンパク質 CAP18 の C 末端領域に由来し、がん細胞内へ移行するペプチド sC18、或いは、(sC18)₂[3]をエクソソーム膜に修飾し、その修飾が細胞内取込みや移行機序に与える影響について検討した。

【方法】本研究で用いたペプチドは Fmoc 固相法により合成した。それらをエクソソームのマーカータンパク質である CD63 に緑色蛍光タンパク質(GFP)を発現したエクソソームに修飾し、その細胞内取込み効率の検討はフローサイトメーター(FACS)と共焦点レーザー顕微鏡を用いて行った。

【結果】sC18、或いは、(sC18)₂ のエクソソーム膜への修飾によりエクソソームの細胞内取込み効率が増強されることを明らかとした。また、エクソソームの取込みに重要とされるマクロピノサイトーシス[2]の関与を検討したところ、ペプチド修飾したエクソソームの取込みに顕著に関与していることが示された。

[1] T. Katsuda *et al.*, *Proteomics* 14, 412-425 (2014), [2] I. Nakase, K. Noguchi *et al.*, *Sci. Rep.* 7, 1991 (2017), [3] A. Gronewold *et al.*, *ChemMedChem* 12, 42-49 (2017)