

# 癌細胞膜を標的とした高分子型プローブ分子の創製

新倉 謙一 [北海道大学電子科学研究所/准教授]

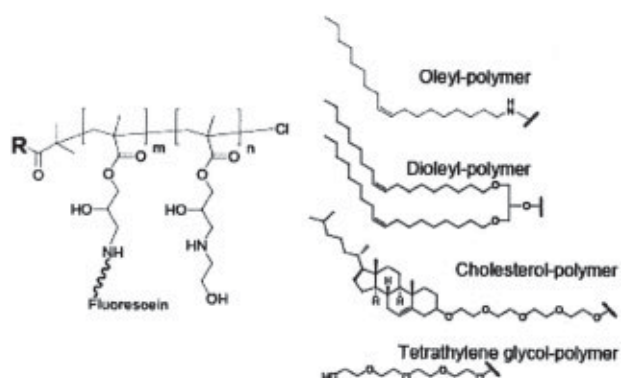
岡嶋 孝治 [北海道大学情報科学研究科/准教授]

## 背景・目的

抗がん薬は正常な血管壁からは漏れず、血管の間隙の多いがん組織だけに入りこむことができる。さらに癌細胞は内部に薬剤などを長時間取り込むという性質を有している。これらはEPR効果と言われ、癌細胞に特異的に薬剤を送り込むための重要なアプローチとなっている。我々はこれらのアプローチとは別に、癌細胞と正常細胞との異なる生体膜物性(堅さ)に着目した。癌細胞は、生体膜の裏打ち蛋白質の形成が不十分なため、正常細胞と比較すると生体膜が柔軟であることが明らかにされている。そこで膜の堅さや特性の違いを認識して癌細胞特異的に取り込まれる高分子を創製し、癌細胞表層の特異的なイメージングを目的とした。

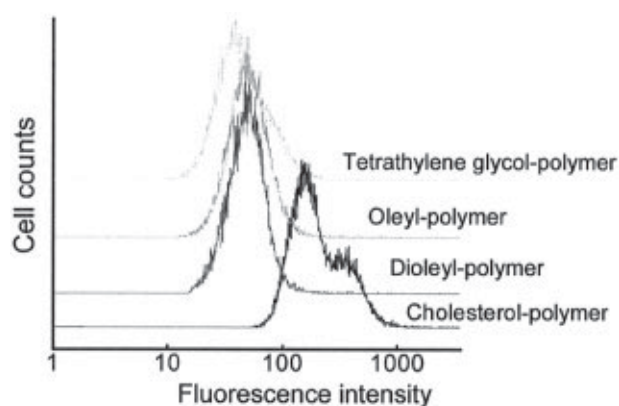
## 内容・方法

細胞膜に長時間滞留させるために、脂質部位を末端に有する高分子を合成した。具体的にはオレイル基、ジオレイル基、コレステロール基、テトラエチレングリコール基を末端に持つ高分子を合成し、癌細胞であるHeLa細胞に添加し、これら脂質構造(柔軟性)の違いにより細胞膜への局在や滞留時間をフローサイトメーター(FACS)によって詳細に検討した。合成方法としては脂質にイニシエーターを導入し、それらのイニシエーターからポリグリシジルメタクリレート(PGMA)をATRPにより伸長させた。PGMAは側鎖にエポキシドを有する高分子で、エポキシの高い反応性を利用して様々な分子で簡便に高分子を修飾できる。本研究では、ビオチン、蛍光色素、糖鎖などによる修飾を検討した。



## 結果・成果

コレステロール基を持つ高分子は他の高分子に比べ、5倍ほど多く取り込まれることが分かった。一方、オレイル基のような柔軟なアルキル基の場合細胞への取り込み量が少なく、テトラエチレングリコールとほぼ同程度の取り込み量であることがわかった。これは、アルキル鎖の疎水性があがれば、細胞膜への取り込みが増えることを意味するが、テトラエチレングリコールでも結合していることを考えると脂質部位以外のポリマー主鎖の部分も細胞膜への結合には関与していることを示している。蛍光修飾した高分子の蛍光量変化は、細胞全体に存在する脂質修飾高分子の変化量を表している。一方、細胞表面のみの高分子量の局在変化は、ビオチン修飾高分子を細胞へ導入し、経過時間毎に蛍光修飾アビジンとの結合量変化を見ることで求められる。様々な分子量のビオチン化した高分子を合成し、時間経過における膜局在性を評価した。膜局在はビオチン化高分子のアビジン認識量をフローサイトメーターにより求め、その初期値からの変化量から定量した。最も分子量の小さい8640のものでは8時間後には膜滞在量がほぼ0になっているのに対し、分子量が増えるに従って、膜局在率が増加しているのが観察された。最も分子量の大きいもの(n=232)では12時間後での10%以上が膜上で認識できる形で残っていることがわかった。これらの結果から、細胞膜に物質を局在させるにはその水溶性部分の分子量が重要な要因であることを明らかにした。



蛍光色素を導入した脂質修飾高分子のHeLa細胞への提示  
(フローサイトメーターによる測定)

## 今後の展望

今後は分子量が5万以上の脂質修飾高分子を用いて、癌細胞と正常細胞との細胞膜局在の選択性を調べていく。現在、精力的に選択性を調べているが、膜の物性に着目した癌細胞の特異的染色法は新規性が高く、今後細胞レベルから組織レベルまで選択性を調べていく。また本研究で見いだした合成した高分子は細胞表層に長時間局在できるため、細胞工学への応用も考えていく。