

2020年5月18日

再生医学・再生医療の先端融合的共同研究拠点
2019年度共同研究報告書

京都大学ウイルス・再生医科学研究所長 殿

研究代表者（申請者）
所属：東北大学大学院工学研究科
職名：教授
氏名：山本 雅哉

下記のとおり共同研究課題の実施結果について報告します。

記

1. 研究課題：
組織浸透性ポリマーを用いた幹細胞凝集体深部への分子デリバリーシステムの開発
2. ウイルス・再生医科学研究所共同研究者： 城 潤一郎
3. 研究期間：2019年4月1日～2020年3月31日

4. 研究経過及び研究成果：

幹細胞凝集体の深部へ様々な分子を送達できる分子デリバリーシステムを開発することを目的として、研究期間に次の点について検討した。すなわち、組織浸透性を有するスルホベタインポリマーを用いて、その細胞凝集体内における動態について、高速共焦点顕微鏡や共焦点ラマン顕微鏡を用いた分子イメージング解析を行った。研究期間を通じて、組織浸透性ポリマーに共有結合を介して結合させた分子が細胞凝集体内部に分布することを確認した。また、ヒトグリオブラストーマ由来細胞株からなる細胞凝集体に対し、分子デリバリーシステムを用いて抗がん剤の一つであるゲルダナマイシン誘導体（17-AAG）を作用させたところ、17-AAG単独と比較して、低濃度で細胞増殖抑制効果を示すことを見いだした。2020年度共同研究では、幹細胞を利用して組織浸透性機構について検討を進める予定である。以下に、研究期間に得られた研究成果について述べる。

われわれは、分子デリバリーシステムとして、正負の荷電基を1つの側鎖に有する、スルホベタインを主成分としたコポリマー Poly[3-dimethyl(methacryloyloxyethyl) ammonium propane sulfonate-co-poly(ethyleneglycol) methacrylate] , P(DMAPS-PEGMA)を合成した。さらに、得られた分子デリバリーシステムが、単層培養した複数種類のがん細胞に対し、細胞毒性を示さないこと、膜透過と考えられる機構により細胞内へ速やかに移行すること、さらにドキソルビシン（DOX）とコンジュゲートすること

により抗がん活性を示しうることを見いだした。本研究では、ヒトグリオブラストーマ由来細胞株 (A-172) からなる平均直径約 300 μm の細胞凝集体内への DOX 修飾 P(DMAPS-PEGMA)の移行挙動について、共焦点レーザー顕微鏡、ならびに高速共焦点レーザー顕微鏡を用いて観察した。その結果、分子デリバリーシステムは、曝露 10 分後には細胞凝集体の外郭に存在する細胞内に移行し、曝露 60 分後には細胞凝集体内部にも移行することがわかった。さらに、時間経過とともに細胞凝集体内の蛍光強度が高くなり、移行量の増加が示唆された。一方、DOX 単独では、曝露 2 時間後においても、DOX は、細胞凝集体の外郭に存在する細胞内に留まっていた。2020 年度共同研究では、分子デリバリーシステムの組織浸透性機構について、幹細胞凝集体を利用して、細胞間結合や細胞外マトリックスなどの影響を含めて検討する予定である。

次に、抗がん剤として 17-AAG を用いて、A-172 からなる細胞凝集体の細胞増殖抑制効果について検討した。その結果、分子デリバリーシステムに化学結合させた 17-AAG は、17-AAG 単独と比較して、10 分の 1 の低濃度で細胞増殖抑制効果を示した。さらに、マトリゲル内に A-172 からなる細胞凝集体を包埋することによって、細胞浸潤性を評価した。その結果、包埋 3 日後の浸潤面積は、17-AAG 単独と比較して、約 10 分の 1 程度に抑制された。これらの結果は、分子デリバリーシステムが細胞凝集体内部へ浸透し、到達した細胞内で作用していることを示唆している。

尚、上記の研究成果について、現在、論文投稿準備中である。

5. 研究成果の公表

1. N. Morimoto, Y. Oishi, M. Yamamoto, The Design of Sulfobetaine Polymers with Thermoresponsiveness under Physiological Salt Conditions, *Macromol. Chem. Phys.*, **221**, 1900429 (2020).