

2021年 5月10日

再生医学・再生医療の先端融合的共同研究拠点
2020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： 分子デリバリーシステムの組織浸透性に対する幹細胞凝集体の細胞外環境要因の解明
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： 2020年4月1日～2021年3月31日
4. 研究経過及び研究成果：

分子デリバリーシステムとして、側鎖構造の異なる2種類のスルホベタインポリマーを合成した。合成したポリマーの末端を fluorescein-*O*-methacrylate を用いて蛍光修飾した。低タンパク質吸着96ウェルプレート内にヒト肝癌細胞（HepG2）、あるいはマウス頭蓋冠由来の株化骨芽細胞（MC3T3-E1）を1500 cells/wellで播種後、4日間培養することにより細胞凝集体を作製した。得られたポリマーを終濃度1 mg/mLとなるように培養液へ添加後、高速共焦点レーザー顕微鏡（CLSM）を用いて細胞凝集体を経時的に観察し、得られた画像をOLYMPUS cellSens Dimension を用いて解析した。

右図に、HepG2 からなる細胞凝集体内部へのスルホベタインポリマーの移行挙動を、CLSM を用いて観察した結果を示す。CLSM 観察により、側鎖にヒドロキシ基をもつスルホベタインポリマーが、最も速い5分程度で細胞凝集体中心部まで移行することがわかった。また、細胞内での局在は観察されなかった。スルホベタインポリマーの細胞凝集体内移行では、ポリマー添加直後に細胞-細胞間接着部位へ浸透後、ポリマーの濃度勾配にしたがって細胞凝集体外部から中心部へと移行する初期挙動が確認された。さ

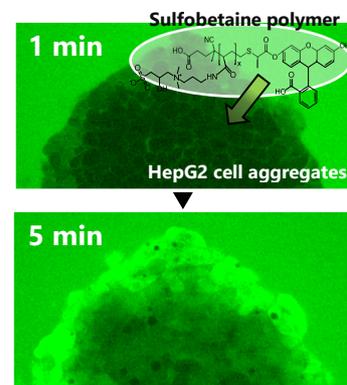


図. スルホベタインポリマーの細胞凝集体内部移行挙動

らに、ポリマー添加 40 分後、ポリマーは、細胞凝集体内全体の細胞内に分布していることがわかった。一方、コントロールとして、スルホ基を導入していないカチオン性ポリマーを用いたところ、1 時間内では細胞凝集体の最外部に位置する細胞へも移行できないことがわかった。これらの傾向は、用いた細胞に依存しなかった。

現在、ヒト脂肪組織由来間葉系幹細胞などからなる細胞凝集体を作製し、様々な分化誘導後、細胞外環境が分子デリバリーシステムの浸透性に及ぼす影響について検討を続けている。

5. 研究成果の公表

N. Morimoto, M. Yamamoto. Effective Permeation of Anticancer Drugs into Glioblastoma Spheroids via Conjugation with a Sulfobetaine Copolymer. *Biomacromol.*, 21, 5044-5052 (2020).