

癌細胞選択的薬物導入システムの構築と機能性評価：オリゴアルギニンと PAD 誘導体を活用した新規高効率細胞内導入ペプチドシステムの開発

(東北大多元研¹・阪公大院理²・東北大 INGEM³) ○石川 航大¹・加藤 ひらり¹・荒木 保幸¹・松本 光代¹・中瀬 生彦²・和田 健彦^{1,3*}

Construction and evaluation of cancer cell-selective drug delivery system: Development of highly efficient intracellular transfection systems based on oligoarginine combined with PAD derivatives (¹IMRAM, Tohoku Univ., ²Osaka Metropolitan Univ., ³INGEM, Tohoku Univ.) ¹Kodai Ishikawa, ¹Hirari Kato, ¹Yasuyuki Araki, ¹Mitsuyo Matsumoto, ²Ikuhiko Nakase, ¹Takehiko Wada

The side effects and cytotoxicities mainly resulting from the delivery of anticancer treatments into normal cells, have been pointed out as serious issues to be improved. We have proposed and demonstrated the promising characteristics of the cancer cell selective intracellular delivery system consisting of three functional modules, i.e., oligoarginine peptide (R8), polyethylene glycol (PEG), and matrix metalloproteinase (MMP) substrate peptide. Oligoarginine, one of the most popular cell-penetrating peptides, has been used in pharmaceuticals to enhance cellular uptake capability. To provide cancer cell specificity, oligoarginine was conjugated to PEG via MMPs substrate peptide, which would be expected to act as a cancer cell-responsive cleavable linker since MMPs have been reported to be specifically overexpressed in cancer cells. In this design, the PEG was used to reduce non-specific aggregation and adsorption. The pro-apoptosis domain (PAD) was conjugated to the C-terminus of the system as a model pharmaceutical. Cellular uptake of the PEGylated peptide was scarcely observed. In sharp contrast, efficient intracellular delivery of the PEG-cleaved PAD conjugated system after endogenous MMP digestion was observed with apoptosis inducing function. In addition, five different PAD derivatives conjugated with LRSG-R7, a peptide cleaved by MMP-9, were designed and synthesized as a new CPP system.

Keywords: Cell penetrate peptides, Matrix metalloproteinase, Cancer cell selective delivery, Drug delivery system (DDS), Cellular membrane uptake capability, Oligo Arginine

我々は一般的投与方法として多用される静脈投与(静注)を想定した癌細胞選択的 DDS 分子系開発に向け、血中滞留性向上、癌細胞選択性付与、細胞膜透過性向上に取組んだ。これら各課題解決を目指し、生体ストレス性を有するポリエチレングリコール(PEG)とオリゴアルギニン、なかでも 8 残基のアルギニン(R8)に注目し、癌細胞選択的付与のため癌細胞で過剰発現されるマトリックスメタロプロテアーゼ(MMP)、特に放出型 MMP-9 の基質配列を PEG と R8 のリンカー部に導入した新たな癌細胞選択的 DDS 分子系を立案した、その有効性を実証し、報告してきた(図)。

本研究では、DDS 分子系有効性実証に向け、R8 の細胞内取込機能の PEG 修飾による抑制ならびに内在性 MMP-9 による基質リンカーの酵素分解による細胞取込み機能の活性化を検討した。さらにモデル薬物としてアポトーシス促進ドメイン (Pro Apoptosis Domain: PAD) を C 末端に導入し、 α -ヘリックス型両親媒性ペプチドである PAD が細胞内取込挙動に与える影響や MMP-9 基質切断後モデルにおける PAD の細胞生存率への影響を検討した。

さらに、PAD 導入により細胞膜透過性が導入前に比較して約 30 倍も向上する予想外の結果が得られたため、MMP-9 切断後基質断片 Leu-Arg-Ser-Gly(LRSG)を付加した LR7-PAD を新規細胞膜透過性ベクターペプチドとしての展開を目指し、5 種類の PAD 誘導体の設計・合成と細胞内導入効率と細胞毒性など初期的特性解析に取組んだ。その結果、優れた CPP としての特性を有することを見出した。

