

低酸素細胞膜に選択集積する人工 DNA を活用した薬剤送達

(青山学院大院理工) ○櫻野 優輔・西原 達哉・田邊 一仁

Drug delivery by oligodeoxynucleotides that accumulated in hypoxic cell membrane (Graduate School of Science and Engineering, Aoyama Gakuin University)○Yusuke Sakurano, Tatsuya Nishihara, Kazuhito Tanabe

The methodologies for selective treatments to hypoxic cells in solid tumor tissues have been required. In this study, we prepared DNA materials that accumulated on hypoxic cell membrane. We have developed DNA aggregate, which is combined uridine derivative ($d^{alkyl}U$) that accumulates on cell membrane and thymidine derivative ($d^{NB}T$) bearing hypoxia-responsive moiety. DNA aggregate with consecutive artificial nucleobases accomplished accumulation on the hypoxic cell membrane. Introducing an aptamer of anticancer drug to DNA aggregate showed selective cytotoxicity to hypoxic cells.

Keywords : Oligodeoxynucleotides; Aptamer; Cell membrane; Hypoxic cells; Drug delivery

低酸素細胞はがん悪性化に関与することから、有効な治療法が求められる。本研究では低酸素細胞の細胞膜に選択的に集積する DNA 材料を開発した。具体的には、細胞膜集積性アルキル基含有ウリジン誘導体 ($d^{alkyl}U$) および低酸素応答性ニトロベンジル基含有チミジン誘導体 ($d^{NB}T$) を導入した DNA オリゴマー Ux-ODN、Nx-ODN を合成し、DNA 鎖の細胞内運搬に利用可能な DNA 会合体を作製した (Figure 1)。

蛍光標識した DNA 会合体 U3N2(U3-ODN と N2-ODN から成る会合体)と U2N2(U2-ODN と N2-ODN から成る会合体)を酸素濃度 0.3%および 21%の条件下で A549 細胞に投与したところ、酸素濃度 0.3%の低酸素細胞において U3N2 は細胞膜に、U2N2 は細胞内にて強い蛍光が見られた。この結果から U3N2 により低酸素細胞膜上に人工 DNA が集積したことが示された。低酸素細胞膜への集積は以下の機構によると考えられる。まず、細胞内に取り込まれた U3N2 は低酸素環境下で活性をもつ還元酵素により、N2-ODN 中の $d^{NB}T$ のニトロ基還元反応を受ける。この還元反応を起点にニトロベンジル基が脱離し、疎水性部位を失った U3N2 が崩壊する。その後、U3-ODN 中の $d^{alkyl}U$ のアルキル鎖が脂質膜に挿入され、U3-ODN が固定化された脂質膜が細胞膜に移行し、細胞膜に U3-ODN が集積する。

この結果を受け、抗がん剤メトトレキサート (MTX) のアプタマーを U3N2 に導入し、細胞膜上のアプタマーによる薬剤捕捉を細胞生存率により評価した。MTX のみ投与した場合には、低酸素細胞の生存率は有酸素細胞の生存率から 24.3%低下したが、アプタマーの導入後に MTX を投与した場合には 57.2%減少した。すなわち、細胞膜上のアプタマーにより低酸素細胞周辺で薬剤が捕捉され、選択的な細胞毒性を発揮したことが示唆された。

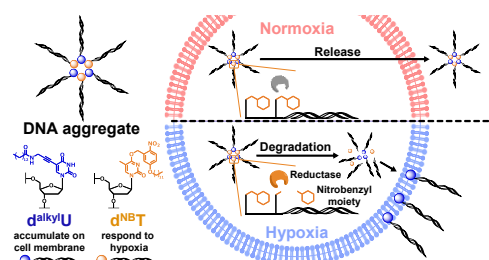


Figure 1. Accumulation of Ux-ODNs on hypoxic cell membrane.