

新規細胞膜透過ペプチドを利用した ライソゾーム病細胞治療法の開発

農学部 生命環境農学科
生体制御化学分野
准教授 岩崎 崇



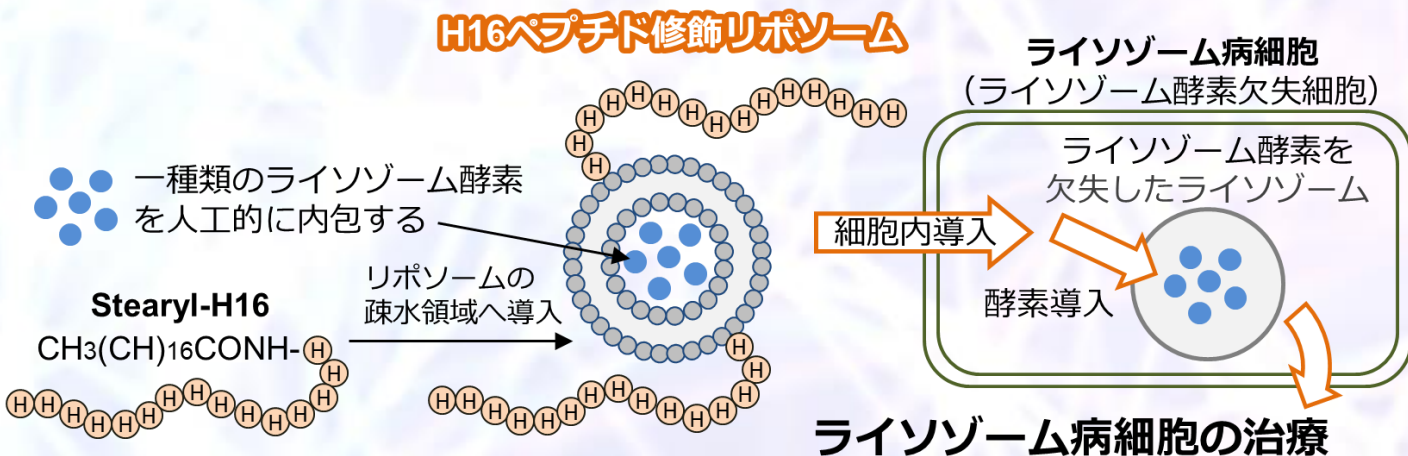
研究概要

ライソゾーム病細胞のライソゾーム中に酵素を補充する酵素補充療法を開発

- 細胞内のライソゾーム中の酵素が欠失するとライソゾーム病と呼ばれる代謝異常が発生します。
- 我々が新しく開発した細胞膜透過ペプチド「ポリヒスチジン（H16ペプチド）」は、細胞内のライソゾームに物質を輸送する能力を持っています。
- ポリヒスチジン（H16ペプチド）を利用して、ライソゾーム病細胞のライソゾーム中に酵素を補充する二通りの酵素補充療法を開発しました（以下に概要図を示します）。
- これらの手法によるライソゾーム病細胞に対する治療効果が確認されました。

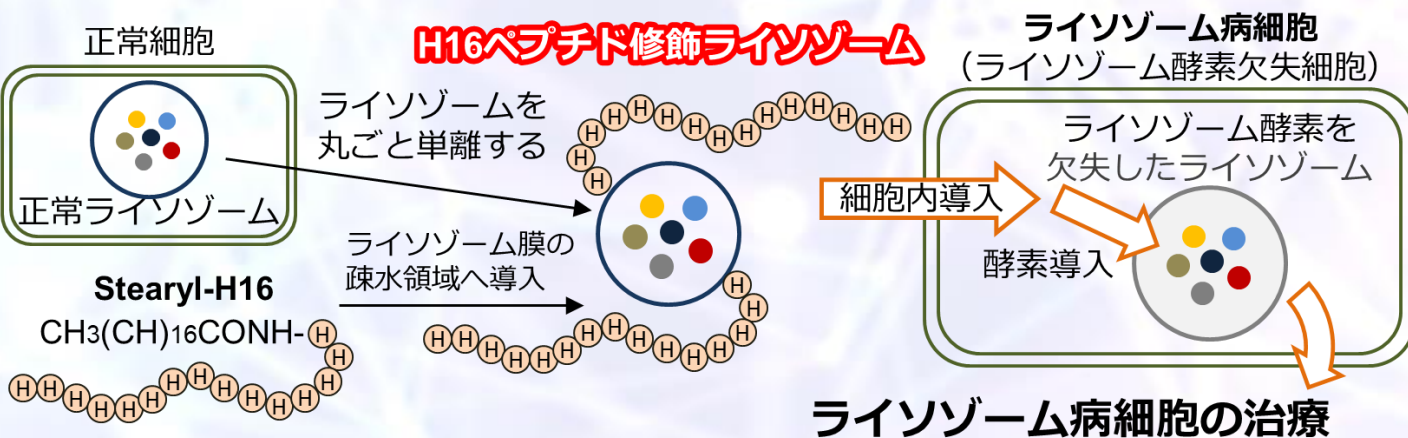
手法①：H16ペプチド修飾リポソームを利用した酵素補充療法

※文献(1)



手法②：H16ペプチド修飾ライソゾームを利用した酵素補充療法

※文献(2)

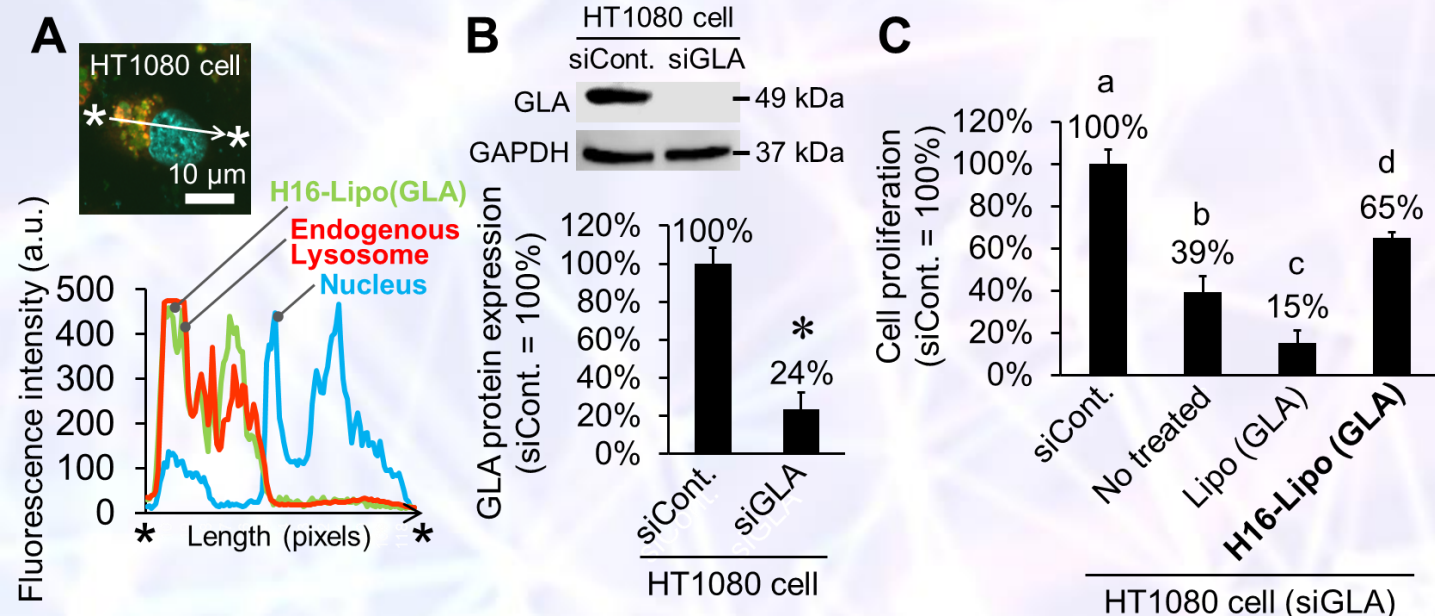


(1) T. Hayashi, M. Shinagawa, T. Kawano, T. Iwasaki; Drug delivery using polyhistidine peptide-modified liposomes that target endogenous lysosome. Biochemical and Biophysical Research Communications, 501 pp.648-653, 2018, doi: 10.1016/j.bbrc.2018.05.037

(2) T. Hayashi, R. Okamoto, T. Kawano, T. Iwasaki; Development of Organelle Replacement Therapy Using a Stearyl-Polyhistidine Peptide against Lysosomal Storage Disease Cells. Molecules, 24, pp.2995, 2019, doi: 10.3390/molecules24162995.

手法① : H16ペプチド修飾リポソームを利用した酵素補充療法

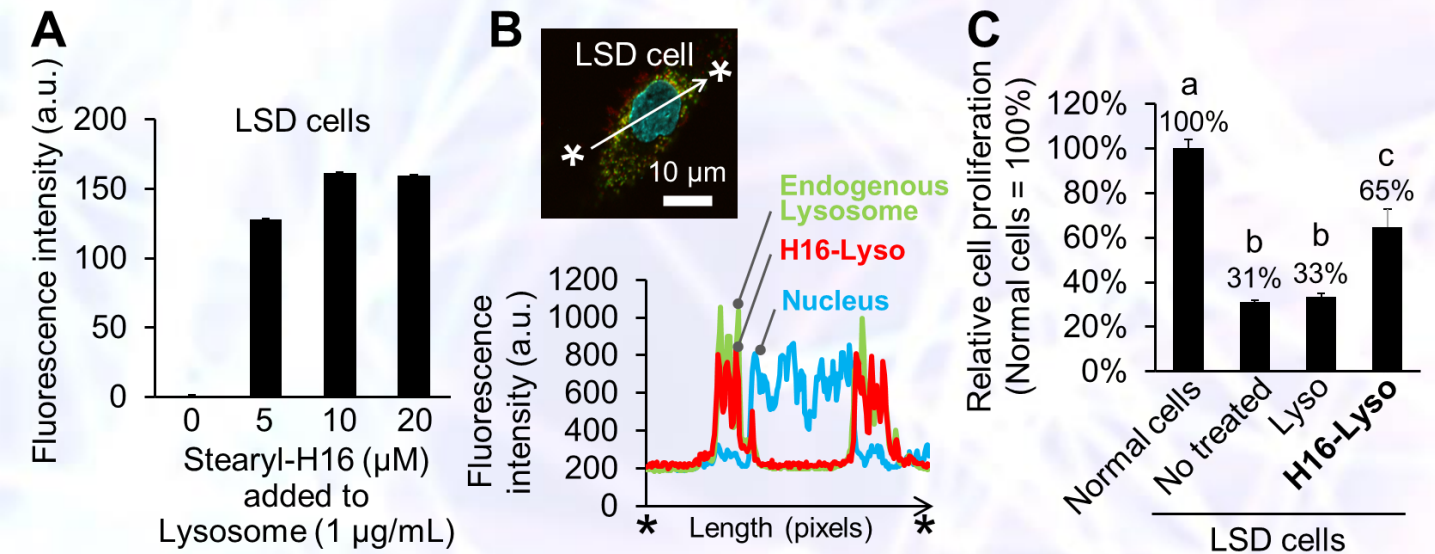
※文献(1)



A) ライソゾーム酵素を内包したH16ペプチド修飾リポソーム (H16-Lipo) は、細胞膜透過した後、細胞内のライソゾームに集積する。緑色蛍光はH16-Lipo、赤色蛍光は細胞内ライソゾーム、青色蛍光は核を示す。
B) ライソゾーム酵素であるα-Galactosidase (GLA) をsiRNA処理によりノックダウンすることで、ライソゾーム病細胞を構築した。*は有意差 ($p < 0.05$ by Student's t-test) を示す。
C) 正常細胞 (siCont.処理細胞) と比べて、ライソゾーム病細胞 (siGLA処理細胞) では増殖速度の低下が確認された。しかし、GLAを内包したH16ペプチド修飾リポソーム {H16-Lipo (GLA)} を処理することで、ライソゾーム病細胞の増殖速度が改善することが確認された。異なるアルファベットは有意差を示す ($p < 0.05$ by Tukey's test)。

手法② : H16ペプチド修飾ライソゾームを利用した酵素補充療法

※文献(2)



A) 正常細胞から単離したライソゾームを用いて、H16ペプチド修飾ライソゾーム (H16-Lyso) を調製した。蛍光標識したH16-Lysoは、ライソゾーム細胞に取り込まれることを確認した。
B) 共焦点レーザー顕微鏡観察の結果、H16-Lysoはライソゾーム病細胞に取り込まれた後、細胞内の内在性ライソゾーム (Endogenous lysosome) に局在することを確認した。赤色蛍光はH16-Lyso、緑色蛍光は細胞内の内在性ライソゾーム、青色蛍光は核を示す。
C) 正常細胞 (Normal cells) と比べて、ライソゾーム病細胞 (LSD cells) では増殖速度の低下が確認された。しかし、H16-Lysoを処理することで、ライソゾーム病細胞の増殖速度が改善することが確認された。異なるアルファベットは有意差を示す ($p < 0.05$ by Tukey's test)。

(1) T. Hayashi, M. Shinagawa, T. Kawano, T. Iwasaki; Drug delivery using polyhistidine peptide-modified liposomes that target endogenous lysosome. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 501 pp.648-653, 2018, doi: 10.1016/j.bbrc.2018.05.037

(2) T. Hayashi, R. Okamoto, T. Kawano, T. Iwasaki; Development of Organelle Replacement Therapy Using a Stearyl-Polyhistidine Peptide against Lysosomal Storage Disease Cells. *Molecules*, 24, pp.2995, 2019, doi: 10.3390/molecules24162995.