

研究テーマ (和文) AB		ヒスチジンプロトン化をトリガーとした環境応答型 DDS の開発基盤研究			
研究テーマ (欧文) AZ		Environment-responsive DDS using histidine protonation in low-pH condition			
研究氏 代表名 者	カカナ CC	姓) イワサキ	名) タシ	研究期間 B	2012 ~ 2013 年
	漢字 CB	岩崎	崇	報告年度 YR	2013 年
	ローマ字 CZ	IWASAKI	TAKASHI	研究機関名	鳥取大学 農学部
研究代表者 CD 所属機関・職名		鳥取大学 農学部 助教			
概要 EA (600 字~800 字程度にまとめてください。)					
<p>固形腫瘍組織の内部では腫瘍細胞の無秩序な増殖に起因した低酸素状態が形成され、それに伴い低 pH 環境(pH6.0~6.9)が特異的に形成されることがよく知られている。そこで本研究では、新しい細胞膜透過ペプチドである『ポリヒスチジン(H16)』を利用して、低 pH に選択的な細胞膜透過技術(DDS)の開発を試みた。</p> <p>ポリヒスチジン(H16)は、2011 年に我々の研究室で発見された細胞膜透過ペプチドであり、ヒスチジンが 16 残基連続したユニークな配列を有している。ヒスチジンは、低 pH 環境(pH6.0 以下)選択的に正電荷を帯びる性質を持つ。また、ヒスチジンは金属イオンと配位結合(錯体)を形成するが、低 pH でヒスチジンが正電荷を帯びると、金属イオン-ヒスチジン錯体は解離することが知られている。このような、『ヒスチジンの環境応答性』に注目し、本研究ではポリヒスチジン(H16)を利用した『低 pH に選択的な DDS の開発』に挑戦した。</p> <p>まず、ポリヒスチジン(H16)と 6 種類の金属イオン(Zn^{2+}、Cd^{2+}、Cu^{2+}、Fe^{2+}、Ni^{2+}、Co^{2+})との錯体を形成し、ヒスチジン残基を各金属イオンでマスクした状態を作出した。次いで、ヒスチジン残基に金属イオンが結合している生理的 pH 環境(pH7.4)と、金属イオンが解離する低 pH 環境(pH6.0)の二条件において、RERF 細胞(ヒト扁平上皮癌細胞株)に対するポリヒスチジン(H16)の細胞膜透過効率の差を比較した。</p> <p>その結果、すべてのポリヒスチジン(H16)-金属イオン錯体において、pH7.4 と pH6.0 の条件間で細胞膜透過に有意な差は認められなかった。しかしながら、興味深いことに、錯体を形成していないフリーのポリヒスチジン(H16)と比較して、ポリヒスチジン(H16)-亜鉛イオン(Zn^{2+})の錯体は、pH 条件に関係なく 3.7 倍も高い細胞膜透過効率を示すことが明らかになった。詳細な解析の結果、細胞を亜鉛イオン(Zn^{2+})で前処理することでも、同様のポリヒスチジン(H16)の細胞膜透過効率の上昇は観察された。これらの結果から、亜鉛イオン(Zn^{2+})による細胞処理は、ポリヒスチジン(H16)の細胞膜透過に関連する因子を細胞膜表面に露出させる可能性が示唆された。</p> <p>本研究より、当初の目的であった『低 pH に選択的な細胞膜透過技術(DDS)の開発』は達成することはできなかったが、『ポリヒスチジン(H16)の細胞膜透過は、亜鉛イオン(Zn^{2+})処理により促進される』という興味深い知見を得ることができた。この新知見は、いまだ細胞膜透過メカニズムが不明であるポリヒスチジン(H16)の分子機構を解明する上で、貴重な足掛かりになると言える。</p>					
キーワード FA	細胞膜透過ペプチド	ヒスチジン	腫瘍細胞	低 pH 環境	

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	

欧文概要 EZ

In solid tumor tissues, low-oxygen and low-pH condition (pH6.0-6.9) are specifically formed. Therefore, recent studies in the field of drug delivery system (DDS) focus on the specific low-pH condition as a tumor-specific target for novel therapeutic strategy.

In this study, we tried to develop low-pH selective DDS using “Poly-histidine (H16)”. The H16 is a kind of cell-penetrating peptide (CPP) with unique sequence (HHHHHHHHHHHHHHHHHH-NH₂) and has discovered in our laboratory. Histidine is a sole of basic amino acid obtains positive charge in low-pH (<pH6.0) dependent manner. Moreover, histidine is known to bind to metal ion in physiological condition (around pH7.4) and this histidine-metal ion complex dissociates in acidic condition (<pH6.0) because of positive charge of histidine. Therefore, we hypothesized that H16-metal ion complex may show no cellular uptake in physiological pH, but H16 dissociates from metal ion and exhibits cell-penetrating property in acidic pH condition.

To confirm this hypothesis, 6 metal ions (Zn²⁺, Cd²⁺, Cu²⁺, Fe²⁺, Ni²⁺, Co²⁺) were used to form H16-metal ion complex, and cell-penetrating abilities of 6 complexes against RERF cells (human squamous cell lung carcinoma) were compared in between pH7.4 and pH6.0 conditions. As a result, all H16-metal ion complexes showed same level of cellular uptake in both pH conditions. However, as compared with free H16, H16-Zn ion complex showed 3.7-fold higher cellular uptake in a pH independent manner. Further studies revealed that pretreatment of cells by Zn²⁺ ion enhanced H16 cell-penetration. This result indicates that Zn²⁺ ion pretreatment may induce expression of molecules associated with H16 cellular uptake.

In summary, we could not achieve original goal of this study that development of low-pH selective DDS using H16, but we found novel knowledge that pretreatment of cells by Zn²⁺ ion enhances H16 cellular uptake. This finding is an important key to elucidate molecular mechanism of H16 cell-penetration in the future.