

共焦点レーザー顕微鏡を用いたペプチドの細胞内動態解析と脳実質細胞標的化への応用

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2022-04-25 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: Sai, Yoshimichi メールアドレス: 所属:
URL	https://doi.org/10.24517/00065892

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 3.0 International License.



共焦点レーザー顕微鏡を用いたペプチドの細胞内動態解析と脳実質細胞標的化への応用

Research Project

All

Project/Area Number

07772237

Research Category

Grant-in-Aid for Encouragement of Young Scientists (A)

Allocation Type

Single-year Grants

Research Field

応用薬理学・医療系薬学

Research Institution

Kanazawa University

Principal Investigator

崔 吉道 金沢大学, 薬学部, 助手 (40262589)

Project Period (FY)

1995

Project Status

Completed (Fiscal Year 1995)

Budget Amount *help

¥1,000,000 (Direct Cost: ¥1,000,000)

Fiscal Year 1995: ¥1,000,000 (Direct Cost: ¥1,000,000)

Keywords

吸着介在型 / エンドサイトーシス / ペプチド / 血液脳関門 / 血管内皮 / 細胞内動態 / 蛍光 / 共焦点レーザー

Research Abstract

脳毛細血管内皮細胞の吸着介在型エンドサイトーシス(AME)機構を利用したペプチドの脳内送達を目指して、蛍光標識した合成塩基性テトラペプチド(H-MeTyr-Arg-MeArg-D-Leu-CONH(CH₂)₈NH₂, NBD-C-001-C8)をモデル化合物として、培養脳毛細血管内皮細胞における細胞内動態を、共焦点レーザー顕微鏡を用いて解析した。更に放射性標識ペプチドを用いて定量的な実験も併せて行った。その結果、

1.NBD-C-001-C8の細胞への内在化(取り込み)過程を、共焦点レーザー顕微鏡によって得られる光学的断層像について経時的に形態観察を行ったところ、細胞内にエンド

サイトーシスを示す顕著な顆粒状染色が見られ、細胞表面吸着と細胞内移行とが分別可能であることがわかった。

2. 蛍光標識された顆粒は、取り込み約10分から30分にかけてluminalからanti-luminal方向へと経時的に深部へと移行した。このことは、画像解析によりその蛍光強度を定量化することによっても確認され、確かにペプチドの細胞への内在化が進行していることを実証することに成功した。

3. ペプチドの内在化はプロタミン、ダンシルカダベリン等により阻害され、AMEによる内在化であることが示された。

4. 細胞の糖鎖選択的消化酵素処理により細胞表面の吸着サイトとしてヘパラン硫酸の関与が示唆された。

5. 以上の結果は放射標識ペプチド([¹²⁵I]001-C8)を用いた定量実験の結果と良い一致を示した。

これらにより、脳毛細血管内皮細胞のAME機構を蛍光標識体を用いた形態的観察、及び放射性標識体を用いた定量実験それぞれの結果により実証することに成功した。本研究の成果は、これまで困難であったペプチド性医薬品の脳送達に、分子に適切なカチオン性修飾を施すことにより可能になることを示すものと考えられる。

Report (1 results)

1995 Annual Research Report

URL: <https://kaken.nii.ac.jp/grant/KAKENHI-PROJECT-07772237/>

Published: 1995-03-31 Modified: 2016-04-21