

C301

蛍光ハイブリッドリポソームのがん診断薬への応用
 (崇大院工)○(学)行原真美子・(正)田上修・
 (正)松本陽子・(正)上岡龍一*

1. 緒言

現在のがん診断法には血液検査、画像診断、針生検などがあるが患者への身体的、経済的負担が大きい。よって早期発見が可能であり、且つがん特異的な診断方法が求められている。上岡研究室で開発されたハイブリッドリポソーム(HL)¹⁾は、ベシクル分子とミセル分子を緩衝溶液中で超音波照射することで得られ、これまでの研究で *in vitro*、*in vivo* においてがん細胞をアポトーシスに導くことが明らかとなっており、動物を用いた安全性試験では無毒性であることが証明されている²⁾。また、HL に蛍光標識として蛍光リン脂質(NBDPC)を含有させた蛍光脂質含有HL(HL/NBDPC)は、*in vitro* における共焦点レーザー顕微鏡を用いた観察からヒト肝臓がん細胞には高い蓄積を示し、正常ヒト肝細胞にはほとんど蓄積が見られないという結果が得られている³⁾。本研究では、HL/NBDPC の肺がん診断薬としての可能性を種々の肺がん細胞および正常肺細胞を用いて *in vitro* で検討した。

2. 実験

2-1. 試料の調製

HL および HL/NBDPC は、リン脂質(DMPC)と界面活性剤(C₁₂(EO)₂₃)に蛍光リン脂質(NBDPC)を加え、緩衝溶液中で超音波照射し調製した。

2-1. 細胞増殖抑制試験

がん細胞に対する増殖抑制試験は酵素活性測定法である WST-1 assay を用いた。

2-3. 膜流動性の測定

細胞の膜流動性測定は、蛍光プローブに 1,6-diphenyl-1,3,5-hexatriene(DPH)を用いた蛍光偏光解消法により評価した。

2-2. アポトーシス誘導評価

HL が肺がん細胞に対して誘導するアポトーシスの評価は、Annexin-V binding assay および TUNEL assay を用いた共焦点レーザー顕微鏡による観察により評価した。

2-3. HL/NBDPC の蓄積

HL/NBDPC の細胞への蓄積は、共焦点レーザー顕微鏡による観察およびフローサイトメーターによる測定により評価した。

3. 結果と考察

3-1. 細胞増殖抑制試験

HL は DMPC 単一リポソームと比べて各種ヒト肺がん細胞に対して高い増殖抑制効果を示した。

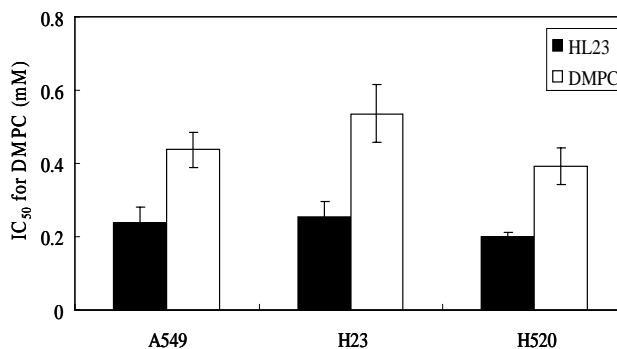


Fig.1 肺がん細胞に対する HL の IC₅₀

3-2. 膜流動性測定

肺がん細胞の膜流動性は、正常肺細胞よりも高いことが明らかとなり、膜流動性と増殖抑制効果との関連性が示唆された。

3-2. アポトーシス誘導評価

Annexin-V binding assay および TUNEL assay の結果より、HL は各肺がん細胞に対してアポトーシスを誘導することが明らかとなった。

3-3. HL/NBDPC の蓄積

共焦点レーザー顕微鏡による蛍光蓄積観察およびフローサイトメーターを用いた蛍光蓄積量測定の結果から、HL/NBDPC はヒト肺がん細胞(Fig.2-A)に蓄積し、蛍光量の経時的な増大が見られたが、正常ヒト肺細胞(Fig.2-B)にはほとんど蓄積せず蛍光量の増大もほとんど見られないことが明らかとなった。

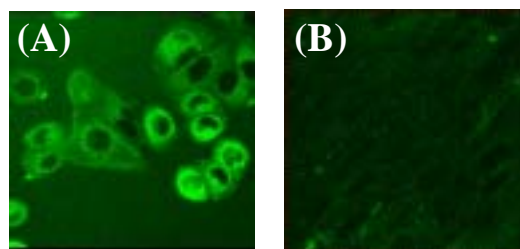


Fig.2 HL/NBDPC の肺がん細胞(A)および正常肺細胞(B)への蓄積

1) R. Ueoka, Y. Matsumoto, R. A. Moss, S. Swarup, A. Sugii, K. Harada, J. Kikuchi, Y. Murakami, *J. Am. Chem. Soc.*, **110**, 1588 (1988).

2) R. Ueoka, Y. Matsumoto, H. Ichihara, T. Kiyokawa, *Am. Chem. Soc. Books*, "Biological System Engineering", 177 (2002).

3) K. Nakano, Y. Iwamoto, W. Takata, Y. Matsumoto, R. Ueoka, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **12**, 3251 (2002).

*TEL:096-326-3952

FAX:096-323-0522

E-mail:ueoka@life.sojo-u.ac.jp