

研究区分	教員特別研究推進 地域振興
------	---------------

研究テーマ	敗血症治療に向けたプラスチック抗体開発				
研究組織	代表者	所属・職名	薬学部・講師	氏名	小出 裕之
	研究分担者	所属・職名	薬学部・教授	氏名	浅井 知浩
		所属・職名	薬学部・講師	氏名	米澤 正
		所属・職名		氏名	
	発表者	所属・職名	薬学部・講師	氏名	小出 裕之

講演題目	敗血症治療に向けたプラスチック抗体開発
------	---------------------

研究の目的、成果及び今後の展望	<p>世界では約1億人がコロナウイルスに感染し、静岡県においても重症化患者が増加している。重症患者の致死率をあげている一番の要因はサイトカインストームに起因する敗血症の発症であるとの報告がある。敗血症は臓器不全を引き起すために、その致死率は脳梗塞よりもはるかに高いが、未だ有効な治療薬は存在しない。本研究では、敗血症治療に向けてDNA結合タンパク質であるヒストンを吸着・中和するナノ粒子開発を試みた。ヒストンはDNAと結合しヌクレオソームを形成することで遺伝子発現を調節している。しかし、敗血症発症時には傷害を受けた細胞から血中に放出され、全身性の炎症を惹起するため、ヒストンが敗血症の原因タンパク質の一つであると考えられている。</p> <p>ヒストンを構成するH1、H2A、H2B、H3、H4の5つのサブタイプが全て正電荷タンパク質であることから、ナノ粒子(NPs)はN-isopropylacrylamide、架橋剤であるN,N'-methylenebis(acrylamide)(Bis)、疎水性モノマーであるN-tert-butylacrylamide(TBAm)、負電荷モノマーであるacrylic acid(AAc)を用いて合成した。NPsを構成する機能性モノマーの配合比を最適化するために、NPsのヒストンに対する結合能をQuartz crystal microbalance(QCM)を用いて評価した。その結果、NPsに組み込む機能性モノマーの配合比によりNPsのヒストンとの親和性が変化した。また、敗血症時にヒストンは長時間持続的に放出されるため、ナノ粒子は長時間血中を滞留し、持続的にヒストンを吸着し続ける必要がある。そこで、Poly(ethylene glycol) methacrylate(PEGモノマー)を組み込み、血中滞留性の向上効果とヒストンに対する親和性を検討した。その結果、分子量4000のPEGモノマーを1mol%以上組み込むことで、ナノ粒子の血中滞留性が大きく向上した。次に、in vitroにおけるナノ粒子のヒストン毒性中和能を評価した。マウス内皮細胞(2H11)を用い、ナノ粒子(20µg/ml)とヒストン(45µg/ml)を細胞に添加し、24時間後の生細胞数をWST-8 assayにより評価した。その結果、ナノ粒子はヒストンによる細胞死を顕著に阻害することが明らかになった。最後に、敗血症に対するナノ粒子の有用性をin vivoで明らかにするために、Lipopolysaccharides(LPS)をマウスに静脈内投与することで敗血症モデルマウスを作成し、PBS、PEG未含有ナノ粒子あるいはPEG含有ナノ粒子を2時間おきに4回投与した。その結果、PEG未含有ナノ粒子投与群ではLPS投与から24時間以内に全てのマウスが死亡したのに対し、PEG含有ナノ粒子投与群ではその致死率が大幅に改善された。これはPEG含有により血中滞留性が向上し、持続的なヒストン中和が可能になったためであると考えられる。以上より、ヒストンに対するナノ粒子の敗血症治療に対する有用性が示された。</p>
-----------------	---