

## ペプチドによる医用高分子への機能性分子の担持とそれに基づく機能展開

(東工大物質理工) ○澤田敏樹、滝澤実咲、芹澤 武

【緒言】ポリプロピレンオキシド (PPO) とポリエチレンオキシド (PEO) のトリブロック共重合体である Pluronic (Figure 1) は、FDA 認証されている優れた生体適合性をもつ代表的な医用高分子である。Pluronic は濃度上昇に伴ってミセルを形成し、さらにミセル間が物理架橋することでハイドロゲルを形成する。この Pluronic が形成するミセルはドラッグデリバリーシステムの担体として用いられており、またハイドロゲルは温度に応答してゾル-ゲル転移するため、インジェクタブルゲルとして利用することができる。しかしながら Pluronic は活性な官能基をもたないため、簡便かつ高効率に機能化する手法が求められている。

近年、人工物であるマテリアル表面を認識して結合できるペプチドの存在が報告されている。それらペプチドは合理的に設計された訳ではなく、生物学的に構築されたライブラリーからのスクリーニングにより獲得されている。我々はペプチドの結合標的として合成高分子に着目して研究を展開してきた。繊維状ウイルスである M13 ファージ表面に提示されたペプチドライブラリーからのスクリーニングにより、様々な合成高分子に結合するペプチドを獲得し、ペプチドが合成高分子特有の構造を一般に認識して結合でき、さらにペプチドを介して高分子を機能化できることを明らかにしてきた。最近、Pluronic の疎水性コアである PPO 鎖に特異的に結合するペプチドを獲得し、このペプチドに薬剤分子をコンジュゲートすることで、代表的な Pluronic である F127 のハイドロゲルから薬剤を放出制御でき、結果としてがん細胞数を効果的に減少できることを見出した。すなわち、高分子ゲルに対してもペプチドが結合して機能することを明らかにしている。本研究では、PP に結合するペプチドと Pluronic が形成するミセルとの結合を詳細に評価し、さらにペプチドを利用した Pluronic ミセルの機能化を目的とした。

【実験・結果および考察】PPO に結合するペプチド (配列: DFNPYLGVTPVK) と Pluronic が形成するミセルへの相互作用を評価するため、環境応答性蛍光プローブを導入したペプチド誘導体を合成した。緩衝液中でペプチド誘導体と Pluronic ミセルを混合した結果、蛍光強度が大幅に増大し、ペプチド周辺の環境がより疎水的になっていることがわかった (Figure 2)。すなわち、ペプチドは確かにミセルと相互作用しているものと考えられる。一方でペプチド修飾していないフリーの蛍光プローブを用いた場合にはそのような挙動は観察されなかった。蛍光プローブそのものの疎水性が高いことを考えると、ただ疎水的であればミセルと相互作用するわけではなく、ペプチドの PPO への親和性が重要であることがわかった。重要なことに、ペプチドのミセルへの結合はミセルの臨界ミセル濃度以下では大幅に抑制されており、ペプチドが効率良く結合するためにはミセル形成が必須であった。以上の結果は、PPO フィルムを標的として獲得したペプチドが、水中に良く分散した PPO をコアとする Pluronic が形成するミセルに対しても結合できることを見出した。

ミセルに担持されたペプチドの安定性を評価するため、ペプチドの末端に *p*-アセトアニリド (*p*NA) を導入して Pluronic が形成するミセルに担持させた後にプロテアーゼを相互作用させた。その結果、ペプチド末端に導入した *p*NA の分解挙動は Pluronic を形成する PPO ならびに PEO の比率やその分子量によって大きく変化することを見出した。すなわち、機能化に応じて Pluronic を適切に選択することにより、ミセルに担持させたペプチドに対する外部分子のアクセシビリティを制御できることが明らかとなった。以上の結果から、Pluronic を形成する PPO に結合するペプチドを利用することで、安全な医用高分子を自在に機能化できることを見出した。

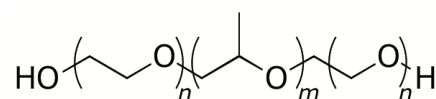


Figure 1. Chemical structure of triblock copolymer composed of PEO-PPO-PEO (Pluronic)

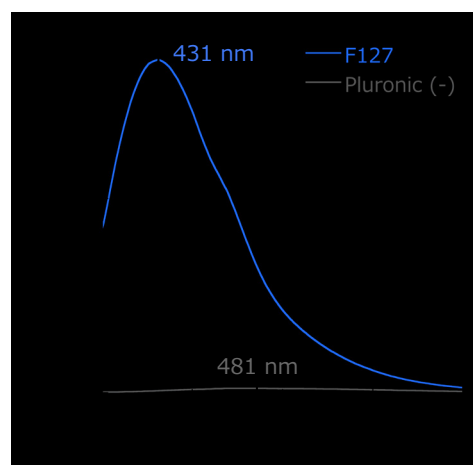


Figure 2. Fluorescence spectra of the c401-ANM peptide. ([Peptide]: 1  $\mu$ M, [Pluronic]: 10%) screening against PPO.