

HeLa 細胞に対する RGD バブルの吸着特性

Adsorption characteristics of RGD microbubbles to HeLa cells



同志社大 ^{○(M2)}明石 隆太, 小山 大介

Doshisha Univ., ^{○(M2)} Ryuta Akashi, Daisuke Koyama

E-mail: dkoyama@mail.doshisha.ac.jp

1. はじめに

がんなどの薬物治療における副作用を抑える技術として超音波ドラッグデリバリシステム (UDDS) が注目されている.^[1] UDDS では, 薬剤を付着したマイクロバブルを血流によって病変部位に特異的に吸着させ, 超音波照射によりバブルを崩壊させ, 薬剤を局所的に放出する. そのため標的指向性マイクロバブルの開発とその超音波特性を検討する必要がある. 本報告では, マイクロバブルの細胞への吸着特性について水晶振動子 (QCM) を用いて評価した.

2. 実験方法

リン脂質である DSPC を 15 mg, PEG 修飾 DSPE を 10 mg, DSPE-PEG-(2000)Maleimide 10 mg を生理食塩水 10 mL に溶解した後, 細胞接着因子の RGD ペプチドを加え, さらに再攪拌したものをマイクロバブルの膜材質となるリン脂質溶液として準備した. 2つのシリンジの一方をリン脂質溶液 1 mL で, もう一方をバブルの内部気体となる混合フルオロカーボンガス (C₄F₈ 8%, N₂ 92%) 2 mL で満たし, 30 回手攪拌することでマイクロバブル懸濁液を作製した. さらに超音波ホモジナイザを用いて 1 分間攪拌し, RGD バブル懸濁液を作製した.

QCM (電極面積 8×8 mm²) 表面に細胞を接着させるため, コラーゲンと塩酸を混成した溶液で QCM 表面をコーティングした. 接着細胞として事前に 72 時間培養した HeLa 細胞を用いた. 径 0.5 mm のマイクロ流路中に QCM を設

置し, RGD 溶液のみ, もしくは RGD バブル懸濁液を流路に流し, QCM のアドミタンス特性を測定することにより, バブルの細胞への吸着特性を評価した.

3. 実験結果

RGD 溶液および RGD バブル懸濁液を流路に流した際の, QCM 共振周波数 8.94 MHz からの周波数シフト量を測定した (Fig. 1). QCM 表面に物質が吸着するとその共振周波数は低下する. RGD 溶液の場合と比較して RGD バブル懸濁液の場合, より大きな周波数シフト量が観測された. 本結果より, QCM によって HeLa 細胞への RGD 吸着を測定可能であり, RGD を介して吸着するマイクロバブルの存在が QCM の振動にとってより大きな付加質量の影響を与えることが明らかとなった.

参考文献

- [1] Alexander L. Klibanov, Adv. Drug Deliv. Rev. 37 pp. 139-157, 1999

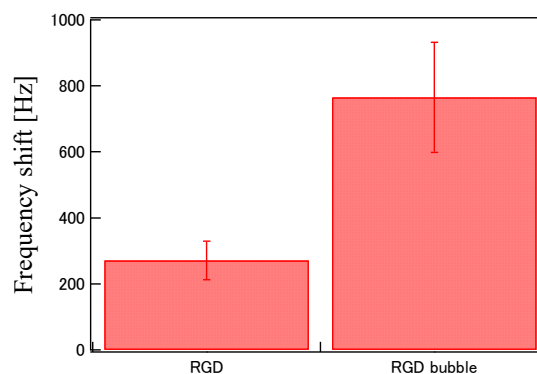


Fig.1 Frequency shift from the resonance frequency (8.94 MHz) of the QCM.