

微粒子吸入による肺疾患の遺伝子治療

名城大薬・岡本 浩一

small interfering RNA (siRNA) は、標的 mRNA に対し配列特異的に RNA 干渉効果を示すことから遺伝子治療への適用が期待されている。RNA 干渉を治療手段として適用するためには、siRNA を標的細胞へ送達する手段が必要となる。当研究室ではこれまでに、水溶性キトサンを非ウイルス性ベクターとしたプラスミド遺伝子の微粒子製剤を調製し、遺伝子の安定性が向上し、経肺投与後のマウス肺局所での遺伝子発現効率が改善されることを示している。本研究では、水溶性キトサンと siRNA の複合体形成について確認するとともに、肺がんなど肺疾患治療への適用を目的とした siRNA 微粒子を調製した。

GL3 Luciferase に相同する GL3 siRNA を用いた。種々の N/P 比と pH の siRNA - 水溶性キトサン混合溶液を調製し、エチジウムブロマイド (EtBr) 添加時の蛍光強度減少をリアルタイム *in vivo* イメージングシステム (IVIS) により測定することで、これらの相互作用の程度を評価した。pH が酸性になるにつれて、また、N/P 比が高くなるにつれて EtBr の蛍光強度が減少する傾向にあることから、水溶性キトサンは pH が低下することにより正電荷密度が増加し siRNA との相互作用が強くなることが示唆された。

微粒子は、賦形剤としてラクトース水和物またはマンニトールを使用し、超臨界二酸化炭素晶析 (SCF) 法により調製した。調製直後の微粒子を再溶解して電気泳動したところ、キトサン無添加または N/P 比の小さい微粒子では siRNA の分解が認められたが、キトサン添加量に依存して分解が抑制されることが示唆された。その後 25 及び 40 で 4 週間まで保存しても微粒子中の siRNA の分解はほとんど認められなかった。

pCMV-Luc を導入した colon26/Luc 細胞の尾静注により肺転移癌モデルマウスを作成した。ルシフェラーゼによる発光強度が一定値に達した肺転移癌モデルマウスに siRNA-水溶性キトサン混合溶液または微粒子を経肺投与し遺伝子発現抑制効果の検討を行ったところ、微粒子に遺伝子発現抑制効果があることが示された。

これらの知見は、siRNA 微粒子製剤が肺局所疾患の吸入療法に有効な製剤であることを示唆するものである。