

# 26P-pm219

噴霧急速凍結乾燥法による Dual Imaging Dry Powder の調製および肺内送達と遺伝子発現の関係評価

○毛利 浩太<sup>1</sup>, 森 麻実<sup>1</sup>, 奥田 知将<sup>1</sup>, 岡本 浩一<sup>1</sup>(<sup>1</sup>名城大薬)

【目的】近年、治療用遺伝子を用いた遺伝子治療が難治性、致死性疾患の新規治療方法として期待されている。肺癌などの呼吸器系疾患において、遺伝子微粒子吸入剤は治療用遺伝子を直接局所に送達できるため有用である。遺伝子吸入剤の開発においては、遺伝子の肺内送達と遺伝子発現の両者を最適化する必要がある。そこで本研究では、微粒子肺内送達を蛍光で、遺伝子発現をルシフェラーゼ (Luc) 活性により同時に評価できる Dual Imaging Dry Powder (DIDP) を噴霧急速凍結乾燥 (SFD) 法により調製し、SFD 製剤中の遺伝子安定性を評価すると共に、DIDP を用いて最適 N/P についての検討を行った。

【方法】SFD 法により調製した DIDP は、蛍光物質にインドシアニンググリーン (ICG)、レポーター遺伝子に pCMV-Luc、ベクターには生体適合性が高く細胞毒性の低いキトサン、賦形剤にマンニトールを用い、N/P を変化させてマウス肺内投与実験を行った。微粒子中の遺伝子安定性はアガロース電気泳動にて評価した。微粒子肺内送達と遺伝子発現は、DIDP を肺内投与したマウスにおける ICG の蛍光と Luc による発光をリアルタイム *in vivo* イメージングシステムにより観察、評価した。

【結果および考察】SFD 過程にある噴霧、凍結、乾燥の各工程で pDNA が一部分解することが確認できた。N/P=5 として調製した微粒子にはリニア型の pDNA が存在していたが、N/P=20 で調製した微粒子にはリニア型の pDNA は検出されず、遺伝子が安定化しており、SFD 法におけるキトサンの遺伝子保護作用が確認できた。また、DIDP のマウス肺内投与による ICG 蛍光と Luc 活性の間に相関関係を認め、微粒子吸入剤の肺内送達と遺伝子発現の両者を対応させて評価可能な Dual Imaging 法の有用性が示唆された。