

28L-pm04

膜融合性ペプチドを用いた腫瘍選択的 siRNA デリバリーシステムの開発
○ 畠山 浩人^{1,3}, 伊東 恵理佳^{1,3}, 秋田 英万^{1,3}, 大石 基^{2,3}, 長崎 幸夫^{2,3},
二木 史朗⁴, 原島 秀吉^{1,3} (1 北大院薬, 2 筑波大学学際物質科学研究セ,
3 CREST, JST, 4 京大化研)

我々は効率的な核酸の導入を可能とする人工ベクターとして多機能性ナノ構造体 (MEND) の開発を進めている。また腫瘍特異的に活性化される機能素子 PPD を修飾した PPD-MEND は、腫瘍環境にตอบสนองして発現活性が向上することを報告した。

そこで本研究では、siRNA を内封した PPD-MEND にエンドソーム脱出の促進を図る目的で膜融合性ペプチド GALA を導入した GALA/PPD-MEND について、*in vitro* での遺伝子発現抑制試験と *in vivo* 腫瘍における局所投与による RNAi 効果の評価を行った。

初めに luciferase 安定発現 HeLa 細胞にトランスフェクションし 24 時間後の RNAi 効果を指標に最適化を検討した。約 70% のノックダウンを示す MEND に PEG 脂質を修飾した PEG-MEND は RNAi 効果を示さなかったが、GALA や PPD をそれぞれ修飾すると RNAi 効果は上昇した。さらに GALA と PPD を組み合わせたところ、PEG 未修飾 MEND と同等のノックダウン効果を示した。これらの結果は、PEG の切断により細胞内取り込みが上昇し、さらに GALA によってエンドソーム脱出が促進されることによって、RNAi 効果が上昇したものと考えられる。

in vivo 腫瘍へ未修飾 MEND、PEG-MEND、PPD/GALA-MEND を局所投与したところ、*in vitro* で最も抑制効果を示した未修飾 MEND ではほとんど抑制されなかったが、PPD/GALA-MEND において高い RNAi 効果が得られた。このことから PPD/GALA-MEND が、*in vitro* だけではなく *in vivo* 腫瘍組織においても効率的にはたらくキャリアであることが明らかとなった。