

26P-pm217

新規添加剤を用いた siRNA 送達のためのリポソームキャリアーの調製と評価
○村田 光隆¹, 戸塚 裕一¹, 竹内 洋文¹(¹岐阜薬大)

【目的】近年遺伝子治療は高い注目を集めており、20 数塩基ほどの短い二本鎖 RNA(siRNA)が標的遺伝子の mRNA を配列特異的に切断することが知られている。siRNA 単独では細胞内への送達効率が非常に低いことから、適切な送達方法の開発が盛んに行なわれている。本研究では、siRNA を効率的に送達するための微粒子キャリアーを設計するために、siRNA と高度分岐環状デキストリン(HBCD)またはシクロアミロース(CA)を用いて siRNA 封入リポソームを調製した。HBCD は環状デキストリンから多数の糖鎖が伸びた構造であり、CA は 17~数百個のブドウ糖が環状につながった環状 α -1,4-グルカンで、ヘリックス構造の内側に、立体的な空洞部分を有しており、両物質とも種々の化合物と相互作用することが期待される。

【方法】HBCD または CA (分子量 7500) と siRNA を用いて、薄膜水和法により siRNA 封入リポソームを調製した。また、同一組成のリポソームと siRNA 溶液を混合し Lipoplex を調製した。プレートに播種した肺癌上皮細胞である A549 細胞に、調製したリポソームまたは Lipoplex を投与し、一定時間インキュベート後、MTS 試験、フローサイトメトリーを用いて、細胞生存率、細胞内取込みを評価した。

【結果及び考察】HBCD および CA を共存させることにより、siRNA のリポソームへの封入特性を向上できた。A549 細胞を用いた毒性試験において添加剤および siRNA 封入リポソームでは、共に細胞生存率の低下は認められなかった。細胞内取込み量を比較すると、いずれの添加剤を用いた場合も添加剤が共存しない Lipoplex に比べ著しく大きな取込み量を示した。また、添加剤共存下で Lipoplex を用いてもこのような結果は得られず siRNA のリポソームへの封入が重要であることが示唆された。