

AL10 高分子ミセル型遺伝子キャリアの開発およびその機能評価に関する研究 Study on Development of Polymeric Micellar Gene Carrier and Evaluation of Its Functionality

大庭 誠 (Makoto OBA)

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 (Graduate School of Biomedical Sciences, Nagasaki University)

生体適合性材料であるポリエチレングリコール(PEG)とカチオン性高分子からなるブロック共重合体は、プラスミド DNA (pDNA)や siRNA などのアニオン性高分子と、静電相互作用を駆動力に高分子ミセル型ナノ構造体を形成する。ミセル表層を覆う PEG は生体成分との非特異的な相互作用を抑制して分散安定性を向上させ、遺伝子内包内核は内包遺伝子を酵素加水分解などから保護することができる。またサイズの揃った数十 nm の粒径を有しており、血清存在下でも安定性が高い。本研究では、理想的な遺伝子治療の達成のための更なる分子設計ならびに機能評価として、以下に示す研究を行った。

1. 標的指向性高分子ミセル型遺伝子キャリア：標的部位選択的に遺伝子を送り届けることは、正常組織への分布を回避した副作用の低減、低容量での効果の増強につながることから、非常に重要である。そこで、ミセル表層にがん組織や内膜肥厚部位の血管内皮細胞で過剰発現している $\alpha_v\beta_3$ インテグリンを特異的に認識する環状型RGDペプチドを付与した標的指向性高分子ミセルの開発を行った。RGDペプチドを付与することで、インテグリン発現細胞特異的な遺伝子導入効率の上昇に成功するとともに、ミセルの細胞内取り込み経路が変化するという結果を得た。RGDミセルが、疾患部位の標的化のみならず、細胞に取り込まれた後の細胞内動態の制御も可能であることが示唆された画期的な結果であった。

2. 細胞内動態を制御した新規遺伝子キャリア：非ウイルス性遺伝子キャリアの前に立ちはだかる大きな問題点として、リソソームにおける内包遺伝子の分解があげられる。この問題点を解決すべくポリカチオン構造をスクリーニングする中で、側鎖にジエチレントリアミン(DET)を有するポリアスパラギン酸(PAsp)、PAsp(DET)を見いだした。PAsp(DET)は、pHに応答した側鎖のプロトン化状態の変化により、低毒性ながら高いエンドソーム脱出機能を有しており、結果として高い遺伝子導入効率につながることを明らかにした。またPAsp(DET)をベースとした遺伝子キャリアについては、組織深部への浸透性が高いPEG-PAsp(DET)ミセル、細胞内の還元環境に応答して開裂するジスルフィド(SS)結合を介してPEGとPAsp(DET)を連結したPEG-SS-PAsp(DET)ミセル、pDNAとの会合力が強いポリリジン(PLys)セグメントをさらに導入したPEG-PAsp(DET)-PLysトリブロックミセル、コレステロール(Chol)の凝集力を利用したPEG-PAsp(DET)-Cholミセルの開発を行った。

3. 疾患モデルを用いた機能評価：疾患モデルとして、腭がんマウスモデル、頸動脈内膜肥厚ラットおよびウサギモデルを使用し、遺伝子キャリアの評価を行った。腭がんモデルでは、治療遺伝子として血管新生を阻害する可溶性VEGFレセプター-1を発現するpDNAを搭載したミセルを全身投与することで、抗体医薬アバスタチン、腭がんの第一選択薬ゲムシタピンと比べて、がんの増殖を有意に抑制することに成功した。頸動脈内膜肥厚モデルを用いた遺伝子導入では、患部に局所投与することで閉塞を引き起こすことなく良好な遺伝子導入効率を達成した。

【謝辞】本研究の遂行に際し、ご懇意なるご鞭撻を賜りました、東京大学大学院工学系研究科 片岡 一則 教授に謹んで感謝の意を表します。また、研究者として多大なるご指導をいただきました、九州大学大学院薬学研究院 末宗 洋 教授、長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 田中 正一 教授をはじめ、共同研究者の皆様にご心より感謝申し上げます。