

28M-am09

凍結乾燥法を用いた siRNA/自己組織化ナノ粒子の処方最適化

○西口 祥生¹, 杉浦 朋恵¹, 奥田 知将¹, 岡本 浩一¹ (1名城大薬)

【目的】リポソームなどの脂質ナノ粒子をベクターとする siRNA 吸入粉末剤開発の大きな課題の1つとして『工程の煩雑さ』が挙げられる。本研究では、水中で自己組織化して siRNA/脂質ナノ粒子を形成するとともに簡便に調製可能な粉末微粒子化法である凍結乾燥法 (FD 法) を用いて、siRNA の粉末剤開発に応用することを試みた。水中で均一な siRNA/脂質ナノ粒子を形成するとともに優れた遺伝子発現抑制効果を発揮する粉末微粒子を得るための賦形剤の割合、カチオン性脂質の処方最適化を行った。

【方法】カチオン性脂質 (DOTAP, DOTMA, DODMA) およびコレステロールを含む脂質成分とルシフェラーゼに特異的な siRNA および各種賦形剤の混合液から凍結乾燥 (FD) 法により粉末微粒子を調製した。調製した粉末微粒子を水で溶解することで自己組織化した siRNA/脂質ナノ粒子について粒子径を測定するとともに、マイクロプレートに播種したルシフェラーゼ安定発現ヒト肺癌 (A549-Luc) 細胞に添加した後、ルシフェラーゼ発現に基づく発光を検出・解析することで遺伝子発現抑制効果を評価した。

【結果・考察】FD 法で調製することで、フェニルアラニン、スクロースのどちらの賦形剤を用いても平均粒子径が約 150-250 nm の siRNA/脂質ナノ粒子を形成することが示された。また、自己組織化ナノ粒子の調製の際に用いるカチオン性脂質により細胞毒性、遺伝子発現抑制効果に違いが出ることを示された。さらに、siRNA に対する脂質成分の割合が少ない方が脂質成分の割合が高いものに比べて細胞毒性が低く、遺伝子発現抑制効果が高くなる傾向が見られた。