

siRNAのDDS技術 (がん組織)

背景と概要

一般的に、がん組織への核酸医薬の送達には薬剤送達技術(DDS)が必要であると考えられている。siRNAを葉酸(リガンド)結合型カチオン性ペプチドとの複合体にすることより、従来困難であったがん組織に核酸医薬を送達することが可能となる。東京理科大学和田猛先生と高知大学谷内恵介先生らは、siRNAの送達促進剤として葉酸とカチオン性ペプチドの結合体(以下、Fol-Dab8という)を用い、siRNAと複合体を形成させることで、葉酸受容体が高発現しているがん細胞にsiRNAを効率的に送達できることを報告した(文献1)。

肺癌は、早期発見が困難なことに加え、肺癌細胞の運動性がきわめて高く、小さな癌であっても周囲の血管、消化管、神経などに浸潤し、容易に遠隔転移するため、最も予後が悪い癌の1つといわれている。高知大学の谷内恵介先生らは、肺癌の浸潤転移に関与するsnora22 RNAを発見し(文献2)、同RNAをFol-Dab8とsiRNAの複合体(Fol-Dab8/siRNA複合体)にて抑制することにより肺癌細胞の浸潤や増殖を抑制することを見出した(文献1)。これらの成果は、革新的な肺癌治療薬の創生が期待できるとともに、脳腫瘍や乳癌など葉酸受容体を高発現する各種がん細胞へのsiRNA送達を可能とした新たながん治療薬の開発に繋がる。

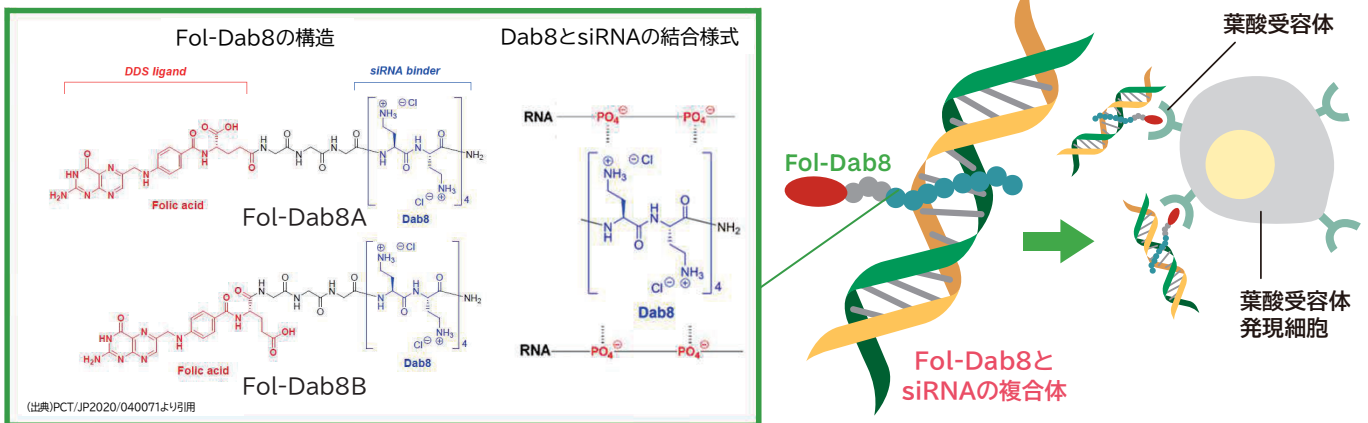
※文献1 PCT/JP2020/040071

※文献2 K.Taniuchi and M. Ogasawara, Oncotarget, 2020, 11:131

※Fol-Dab8は、葉酸(folic acid)がリンカーを介して結合した2,4-ジアミノ酪酸(Diaminobutyric acid)8量体の略称です。

特許情報

PCT/JP2020/040071:核酸送達促進剤



葉酸(リガンド)結合型カチオン性ペプチド(Fol-Dab8)技術の特徴

Fol-Dab8とsiRNAを混合するだけで、siRNAの送達ができる

Fol-Dab8/siRNA複合体は、RNA分解酵素に対する耐性を獲得

Fol-Dab8/siRNA複合体は、肺癌細胞および肺癌組織に葉酸受容体を介して送達可能

Fol-Dab8/SNORA22 siRNA複合体は、肺癌の浸潤及び転移、腫瘍増大を抑制

※SNORA22: 核小体に存在するノンコーディングRNA(small nucleolar RNA)である。

RNA結合タンパク質KHSRP1に対する結合能を有し、肺癌細胞の細胞突起(葉状仮足)に局在する。

葉状仮足に細胞内移動したIGF2BP3に結合するmRNAの翻訳調節を行うことにより、肺癌細胞の運動や浸潤に関与する。

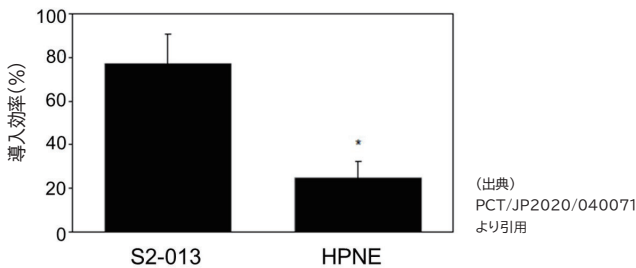
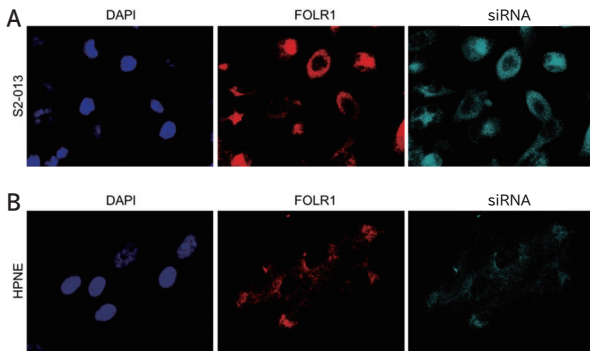
① 膵癌細胞への取り込み

【方法】

SNORA22 siRNAを蛍光色素で標識し、葉酸結合型カチオン性ペプチド(Fol-Dab8B、2当量)と共に、4ウェルチャンバー中のS2-013ヒト膵癌細胞又はHPNE正常ヒト膵管上皮細胞の培養液中に添加して37°Cで一晩インキュベートした後、核(DAPI)、葉酸受容体(FOLR1)および siRNAのシグナルを観察した。

【結果】

S2-013ヒト膵癌細胞では、HPNE正常ヒト膵管上皮細胞と比較して、葉酸受容体の蛍光強度が高く、同時に細胞内に取り込まれたSNORA22 siRNAの蛍光強度が強かった。



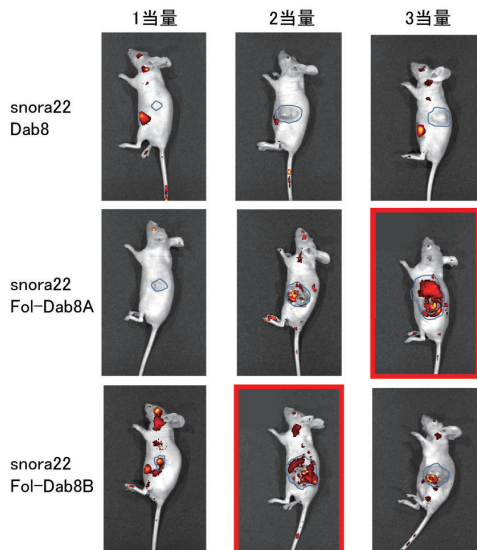
② 膵癌組織への送達

【方法】

ヒト膵癌オルガノイドをヌードマウス皮下に移植後6週目に蛍光色素で標識したSNORA22 siRNA (5μg) にDab8、Fol-Dab8A、またはFol-Dab8Bを添加した複合体を尾静脈注射にて投与した。24時間後、in vivo imagerにて撮影した。

【結果】

Fol-Dab8A、Fol-Dab8Bのいずれも膵癌へのデリバリー促進効果があった。



(出典) PCT/JP2020/040071 より引用

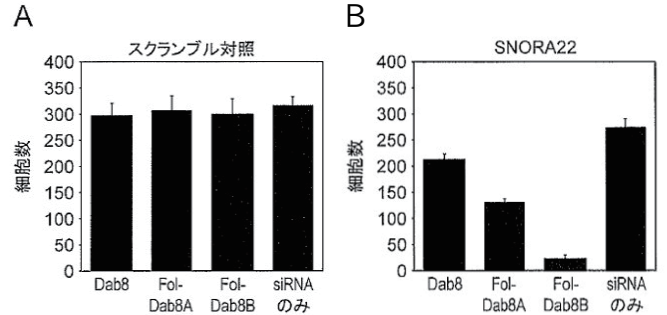
③ 膵癌細胞の浸潤抑制効果

【方法】

葉酸結合性カチオン性ペプチド(Fol-Dab8A、Fol-Dab8B)を添加したスクランブル対照siRNAおよび創薬ターゲットであるSNORA22に特異的なsiRNAのそれぞれをS2-013ヒト膵癌細胞の培養液中に添加し、48時間後にマトリゲル浸潤アッセイを行った。

【結果】

Fol-Dab8A、Fol-Dab8Bの存在下で、スクランブル対照siRNAを添加したS2-013細胞、およびsiRNA単独で添加した場合と比較して、SNORA22 siRNAでS2-013細胞の浸潤が有意に抑制された。



④ 抗腫瘍効果の確認

【方法】

ヒト膵癌オルガノイドをヌードマウス皮下に移植後1週後から、SNORA22 siRNA (5μg) にDab8 (2当量) またはFol-Dab8B (2当量) を付加した核酸化合物を尾静脈注射にて週1回の頻度で投与し、ノギスを用いて毎週腫瘍を計測した (各群n=8)。

対照として、薬剤非投与の対照群およびスクランブル対照siRNAにFol-Dab8Bを添加した核酸化合物を同様の方法にて投与した。

【結果】

非投与の対照群 (Control)、スクランブル対照siRNAを投与した群 (Scr-siRNA/Fol-Dab8)、葉酸を結合していないカチオン性ペプチドを添加したSNORA22-Dab8を投与した群 (SNORA22 siRNA/Dab8) と比較して、葉酸とカチオン性ペプチドを添加したSNORA22 siRNA/Fol-Dab8を投与した群では、8週目以降で有意な腫瘍増大抑制効果を確認した。

