

東京大学大学院工学系研究科  
「細胞内環境に応答した核酸医薬 (siRNA) 送達のための  
高性能ナノキャリア」

1. 発表雑誌： Angewandte Chemie International Edition

論文タイトル： A Phenylboronate-Functionalized Polyion Complex Micelle for ATP-Triggered Release of siRNA

著者： M. Naito, T. Ishii, A. Matsumoto, K. Miyata, Y. Miyahara and K. Kataoka

DOI 番号： 10.1002/anie.201203360

[Angewandte Chemie International Edition について：]

Angewandte Chemie International Edition は、1887 年に創刊されたドイツ化学会誌「Angewandte Chemie」の英語版の学術雑誌です。本誌では、化学の全領域を対象とした、最高レベルの原著論文が掲載され、2011 年 Thomson, Journal Citation Reports によるインパクトファクターは 13.455 (化学総合分野で 154 雑誌中第 10 位)、アイゲンファクターは 0.51421 (化学総合分野で 154 雑誌中第 2 位) となっています。

2. 発表概要：

ショートインターフェアリング RNA (siRNA) \*1 を薬剤として‘がん’などの難治性疾患の治療に役立てる研究が注目されています。治療法の確立に向けては siRNA を体内の疾患部位に送達することのできるナノサイズの輸送体 (ナノキャリア) が必要不可欠であると考えられています。東京大学大学院工学系研究科マテリアル工学専攻/東京大学大学院医学系研究科疾患生命工学センター臨床医工学部門の片岡一則教授の研究グループは、これまで世界に先駆けて開発したポリオンコンプレックス型高分子ミセル\*2 技術を siRNA に応用し、その確かな有用性を明らかにしてきました (図 1)。このような siRNA を内包したナノキャリアの研究分野では、世界各国の企業・研究者がしのぎを削っておりますが、siRNA のナノキャリアに要求される「体内で siRNA を安定に保持・保護する一方、ひとたび標的細胞にすればこれを速やかに放出する」という、いわば相反する二つの機能を高次に満足するものは現在のところありません。今回発表した研究では、東京医科歯科大学 生体材料工学研究所の宮原裕二教授のグループとの共同で、糖やリボースと可逆的に結合することが知られるフェニル硼酸\*3 という化合物を利用して、上記の要求を満たす新規なナノキャリアの開発に成功しました。本研究の成果は、目下難航を極める siRNA 輸送体開発の現状を打破しうる革新的技術であり、siRNA による難治性疾患治療の実現に大きく貢献する可能性を秘めています。



図 1. siRNA 内包ポリオン  
コンプレックスミセル

本研究成果は、最先端研究開発支援プログラム\*4「ナノバイオテクノロジーが先導する診断・治療イノベーション」(中心研究者：片岡一則教授)において得られたものです。このプロジェクトでは、がんの早期発見・精密診断、低侵襲治療を目指し、治療薬や診断薬をがん

選択的に送り込み、集積させ、副作用の低いピンポイント治療を実現し、技術を早期に社会還元することを目指しております。

### 3. 発表内容：

近年、siRNA による‘がん’などの難治性疾患治療における有効性が数多く報告されております。しかしながら、siRNA 単独では内在性の酵素による代謝・分解を受けやすく、血中から速やかに消失してしまうことから、より効果的な治療を実現するためには、体内での代謝・分解を抑え、かつ疾患細胞内に siRNA を高効率に送達することのできるナノキャリアが必要不可欠となります。これまで様々な方式が提案されておりますが、我々は、多数のマイナス電荷を有する siRNA と、逆に多数のプラス電荷を有する高分子鎖が互いに静電的に引き付け合うことによって生じる相互作用を駆動力として形成された「ポリオンコンプレックス型高分子ミセル」の技術を応用した siRNA ナノキャリアの開発に特に力を注いでいます。ここで言う高分子ミセルとは、多数の生体適合性・親水性高分子鎖によって表面が覆われたナノサイズの微粒子のことであり、内部に siRNA を閉じ込め、内在酵素の浸入を遮断することで siRNA を代謝・分解から守ることができます。しかし、血液をはじめとする生体内の環境はこの高分子ミセルの会合状態を維持し続けるには非常に過酷な環境であるため、我々はこのナノキャリアの安定化技術の開発に長年取り組んでまいりました。一方、このナノキャリアには、「標的の細胞内への浸入に成功した暁には速やかに会合状態を解いて siRNA を放出させる」という非常に高度な環境応答機能が求められます。このように生体内での安定性と標的細胞内での不安定化という、一見矛盾した二つの機能を同時に満たす環境応答型のナノキャリアを、なるべく簡便かつ安価に調製する技術の確立を目指しております。

今回報告した研究では、フェニルボロン酸という siRNA 分子の末端と結合する能力を持つ分子を、ポリオンコンプレックス型高分子ミセル調製が容易なポリエチレングリコールとカチオン性ポリアミノ酸が連結した構造を有するブロック共重合体の側鎖に結合させることにより、ナノキャリア調製の簡便性を損なうことなく、従来法に比べて安定かつ細胞内環境に速やかに応答して siRNA を放出する機能を併せ持つ新型高性能ナノキャリアの開発に成功いたしました。フェニルボロン酸分子は、糖などの水酸基を複数有する分子と可逆的に結合することが知られ、これを利用したグルコースセンサーなどが数多く研究されています。今回我々は、二重鎖を組んだ siRNA の両端にフェニルボロン酸との結合能の高いリボース基が存在することに着目いたしました。フェニルボロン酸をカチオン性高分子へ導入することにより、siRNA が静電相互作用によってカチオン性高分子に引き寄せられると同時に、フェニルボロン酸分子が siRNA の末端を捉えて結合し、これらの相乗効果によって高分子ミセルの内部構造を至適に安定化することを見いだしました。さらに、この高分子ミセル型ナノキャリアの最大の特徴は細胞内環境への応答機能にあります。細胞内にはフェニルボロン酸と結合可能な分子が高濃度に蓄積しており、なかでも「生命のエネルギー通貨」とも呼ばれるアデノシン三リン酸 (ATP) \*5 は細胞内濃度が特に高いことが知られています。ATP は小分子であるため、高分子ミセル内部に浸透し、siRNA と置き換わってフェニルボロン酸と結合すると同時に、ATP が持つマイナスの電荷によって siRNA を高分子ミセルから追い出す効果があることが実証されました (図 2)。実際に、培養細胞を用いて遺伝子の発現抑制効果を検証したところ、ナノキャリア自体に顕著な毒性は見られず、またナノキャリアが安定に細胞内に取り込まれてから初めて siRNA が放出されるため、目的の遺伝子発現が特異的かつ高効率に抑制されることが確認されました。

以上のように、生体内での安定性と細胞内部環境応答性を両立しながら“siRNA と混合するだけ”で調製可能な高機能 siRNA ナノキャリアを開発しました。細胞内 ATP 濃度への応答機能を有するナノキャリアの前例はなく、学術的にも注目されますが、実際の応用における汎用性にも特筆すべきものがあります。今後 siRNA による難治性疾患治療実現のための普遍的なプラットフォームとして大きな可能性を秘めるものと期待されます。

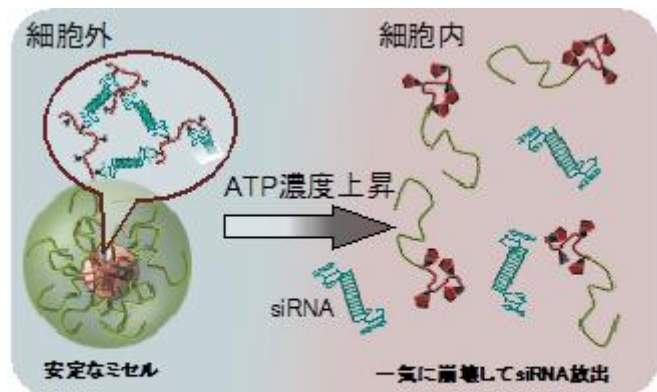


図2. 細胞内外の ATP 濃度に応答して siRNA を放出する siRNA デリバリーキャリア

#### 4. 注意事項：

この論文は 2012 年 10 月 22 日にオンライン版が刊行されました

#### 5. 問い合わせ先：

##### 【研究内容に関する事項】

東京大学大学院工学系研究科バイオエンジニアリング専攻

特任助教 石井 武彦

TEL：03-5841-7109

E-mail：tishii@bmw.t.u-tokyo.ac.jp

東京医科歯科大学生体材料工学研究所

准教授 松元 亮

TEL：03-5280-8098

E-mail：matsumoto.bsr@tmd.ac.jp

東京大学大学院工学系研究科マテリアル工学専攻／大学院医学系研究科疾患生命工学センター  
臨床医工学部門

教授 片岡 一則

TEL：03-5841-7138

E-mail：kataoka@bmw.t.u-tokyo.ac.jp

##### 【その他に関する事項】

科学技術振興機構ナノバイオファースト支援事務局

馬場 恵子

TEL：03-5841-1818、FAX：03-5841-1510

E-mail：baba@nanobiof.t.u-tokyo.ac.jp

## 7. 用語解説:

### \*1 siRNA

Short interfering RNA の略で、低分子二本鎖 RNA のことを指す。siRNA は細胞質内で相補的な配列を持つ mRNA を特異的に分解し、遺伝子の発現（タンパク質合成）を抑制する働き（RNA 干渉：RNAi）を示す。この機能を用いて、疾患を惹起するタンパク質の合成に関連する mRNA を分解することで、細胞を正常な状態に戻すことができる。

### \*2 ポリイオンコンプレックス型高分子ミセル

親水性ポリマー（ポリエチレングリコール(PEG)など）と薬剤内包能を持つ荷電性ポリマー（ポリアミノ酸誘導体など）の2つのブロックから成るブロック共重合体と、その反対電荷を有する薬剤との間の静電相互作用によって自己会合的に形成されるナノ粒子。薬剤を内包した内核が親水性ポリマーの外殻で覆われた2層構造を有している。

### \*3 フェニルボロン酸

ベンゼン環の水素をホウ酸で置換したもので、溶液中で *cis* 型のジオールと可逆的なエステル結合を形成する。

### \*4 最先端研究開発支援プログラム

平成 21 年度補正予算によって創設された「研究者最優先」の研究支援制度で、3～5 年間、世界のトップを目指した先端的研究を推進し、我が国の中長期的な国際的競争力、底力の強化を図るとともに、研究開発成果の国民及び社会への確かな還元を図ることを目的としている。565 人の研究者からの応募がありその中から 30 人が選ばれた。

### \*5 アデノシン三リン酸 (ATP)

Adenosine triphosphate の略で、生体内で用いられるエネルギーの保存や利用に用いられ、「生命のエネルギー通貨」とも呼ばれる。