

M11 油中ナノ分散化技術を利用した siRNA 経皮デリバリーシステムの構築

(九大工) ○生津 賢一・(九大院工)(学)田原 義朗・(正)神谷 典穂・(正)後藤 雅宏

【緒言】

近年、遺伝子の発現を抑制する RNA interference (RNAi) を利用した small-interfering RNA (siRNA) による遺伝子治療が注目を集めている。その中でも siRNA の経皮投与は、アトピー性皮膚炎などのアレルギー性疾患や、皮膚癌などの皮膚性腫瘍の局所治療において有効であると期待されている。しかし経皮投与の弱点として、疎水的な皮膚表面から親水性の siRNA を浸透させるのは困難であるという問題がある。そこで本研究では、新たな siRNA 経皮デリバリーシステムを構築する手法として、親水性の薬物を界面活性剤で被覆して油中にナノ分散させる Solid-in-Oil (S/O) 化技術¹⁾ (図 1) に注目した。本手法により、疎水的な皮膚表面からの siRNA の浸透性を向上できると考えられる。今回は siRNA のモデル薬物として一本鎖 DNA (ssDNA, 22 mer) を S/O 化し、その皮膚浸透性について検討を行った。

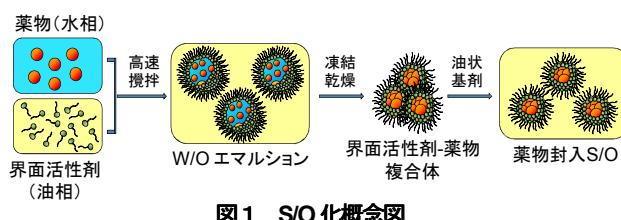


図1 S/O 化概念図

【実験】

1. ssDNA 封入 S/O の調製

ssDNA 水溶液と、界面活性剤であるショ糖エルカ酸エステル (ER-290) シクロヘキサン溶液から得られる W/O エマルションを凍結乾燥することで ER-290-ssDNA 複合体を得た。この複合体を油状基剤 Isopropyl myristate (IPM) に分散させ ssDNA 封入 S/O を調製し、その粒子径を DLS で評価した。

2. ssDNA 封入 S/O の皮膚浸透性評価

実験 1 で調製した S/O を改良縦式フランツ型拡散セルにセットした *Yucatan micropig* (YMP) 皮膚に添加した。サンプル添加 48 時間後の皮膚断面を ssDNA と相補的な好熱菌 *Pyrococcus furiosus* 由来アルカリフィオスマターゼ (PfuAP) - DNA プローブを用いた ISH 法で基質染色し、ssDNA 封入 S/O の皮膚浸透性を評価した。コントロールとして ssDNA 水溶液、未処理 (non-treat) の皮膚を用いて同様の実験を行った。

【結果及び考察】

1. ssDNA 封入 S/O の粒子径評価

図 2 に調製直後の S/O 写真を示す。ER-290-ssDNA 複合体を IPM 中に均一分散させることができ、ssDNA の S/O 化に成功した。また、平均粒径は約 270 nm になることが分かった (図 3)。



図2 ssDNA 封入 S/O 写真

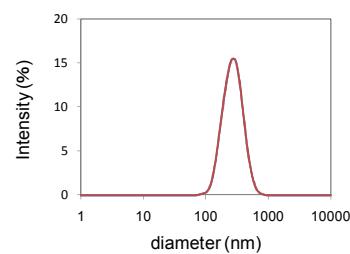


図3 DLS 結果

2. ssDNA 封入 S/O の皮膚浸透性評価

図 4 に ISH 法による染色後の皮膚の顕微鏡観察結果を示す。赤紫色の染色箇所が ssDNA の存在を表している。ssDNA 水溶液、non-treat と比較して、ssDNA 複合体封入 S/O で表皮、特に角質層で強い染色が観察された。この結果から、S/O 化によって表皮付近の ssDNA の皮膚浸透が促進されることが分かった。

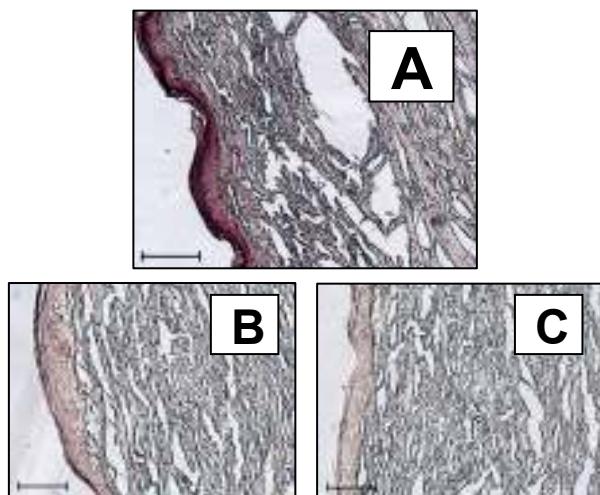


図4 ssDNA 封入 S/O の皮膚浸透性評価

(スケールバー: 100 μm)

A:ssDNA 封入 S/O B:ssDNA 水溶液 C:non-treat

【結言】

ssDNA を S/O 化することで、その経皮浸透性が向上することを確認した。

【参考文献】

- Y. Tahara et al., *J. Control. Rel.*, **131**, 14 (2008)