

Banyu Foundation Research Grant 2012—女性研究者支援—

研究成果報告書(最終) <概要>

所 属	東京大学医学部附属病院 女性外科
氏 名	松本陽子
研究テーマ	ヒトパピローマウイルス癌蛋白 E6 に対する siRNA を内包したナノミセル型 DDS を用いた子宮頸癌治療

- ・ 研究助成報告として広報資料に掲載される点を留意すること。
- ・ 概要の構成は自由とするが、研究目的、手法、成果など、一般の方にもわかりやすくすること。
- ・ 枚数は 1 ページにまとめること。(図表、写真などの添付を含む)

【背景】子宮頸癌はウイルス発癌であり、原因であるヒトパピローマウイルス(HPV)を標的とした新規分子標的薬は有効性・安全性の面でも大いに期待しうると考えられている。特に siRNA は、標的遺伝子の特異的かつ効率的にノックダウンできることから、がん治療分野への応用が期待されている。これを実現するには siRNA を患部まで送達し、標的細胞内で効率的に機能発現させることのできる運搬体(薬物送達システム:DDS)の開発が不可欠である。

東京大学工学部マテリアル工学研究室では様々な薬剤を直径約 100nm のミセルに内包し、効率よく目的の組織へ薬剤を届ける高分子ミセル型 DDS の開発で日本をリードしている。この技術を核酸創薬に応用し、ポリエチレングリコール(PEG)-ポリリシン(PLys)の側鎖にアミジン基とチオール基を同時に導入し、siRNA との間で安定なミセル型構造体を形成させて生体適合性、血中安定性を改善した。その結果、siRNA ミセル(siRNA/m)は血中で長時間安定性を保つことができた。さらに PEG の末端にがん細胞や血管内皮細胞を特異的に認識するペプチドリガンド(環状 RGD)を導入し、siRNA/m に標的指向性という機能を賦与した。

【目的と手法】本研究では、医工連携研究として子宮頸癌の原因となるウイルスである、ヒトパピローマウイルスの E6、E7 癌遺伝子に対する siRNA をミセルに内包することで、子宮頸癌をピンポイントでターゲットにした新規核酸創薬の臨床応用の確立を目指している。また、血中での siRNA の動態評価として、IVIS やリアルタイム共焦点レーザー顕微鏡などの *in vivo* イメージングを用いた解析を行い、siRNA の生体内における安定性や薬剤の適切な組織内移行をリアルタイムで評価する。研究の流れは下記である。

- ① 子宮頸がんの原因となるハイリスク HPV のうち最も重要な2タイプである 18 型、16 型の HPV E6siRNA を用いた DDS 製剤の作成
- ② 皮下担癌マウスを用いた *in vivo* での抗腫瘍効果の評価
- ③ *in vivo* イメージングを駆使した、生体内 DDS の動態評価(腫瘍選択的集積性)、機能評価
- ④ マウスの子宮頸部に *de novo* で子宮頸癌を発生するモデル(K14-HPV16トランスジェニックマウス)を用いた抗腫瘍効果の解析

【成果】*in vivo* で効率的に E6 の発現を抑制し、腫瘍増殖抑制効果をしめす siRNA の設定と、それを用いた効率的な DDS である高分子ミセル製剤の作成に成功した。この siRNA/m は HPV の型特異的に、有意な抗腫瘍効果を示すことをマウスを用いた *in vivo* の系で実証し得た。siRNA/m は全身投与によっても目的通り HPV の癌蛋白である E6 の発現を抑制することにより抗腫瘍薬として奏効していることが示された。またマウスに明らかな副作用も認めなかった。siRNA/m の

生体内での組織移行性(標的指向性)を IVIS(生体イメージングシステム)にて調べたところ siRNA/m は内包する siRNA の種類によらず腫瘍に高集積を示した。さらに現在、マウスの子宮頸部に *de novo* で子宮頸癌を発生するモデル(K14-HPV16 トランスジェニックマウス)を作成中である。マウスの皮下にエストロゲンパッチを埋め込むことで、持続的なエストロゲンが刺激となって 16 型 E6/E7 を恒常的に発現し、子宮頸癌の自然発癌と全く同じ経過をたどって *de novo* に発癌をする。現在トランスジェニックマウスの継代、ペレット埋め込みなどの手技に成功し、現在マウスに前癌病変が発生してきている。今後は通常の免疫機構を持つ生体に自然発生した子宮頸がんに対しても同様に E6siRNA/m が抗腫瘍効果を示すのかについて検討する予定である。

2. 学会発表実績		
<ul style="list-style-type: none"> ・ 発表年順(新しいものから)に記入すること。ただし、本研究助成金交付後のものに限る。 ・ 発表学会名、発表者名、演題を記入する。 ・ 国内外を問わない。 ・ 欄が足りない場合は、増やして記入すること。 		
	発表時期	発表学会名、発表者名、演題
1	2014年4月	第66回日本産科婦人科学会学術講演会、西田晴香、松本陽子他、HPV E6 siRNA 内包ナノミセル型分子標的治療薬に対する子宮頸癌細胞の感受性に関する in vitro、in vivo モデルによる検討
2	2013年12月	12 th US-Japan Symposium on Drug Delivery Systems, Yoko Matsumoto, et al, Antitumor effect of human papillomavirus E6 siRNA-loaded polymeric micelles on human cervical cancer
3	2013年7月	40 th Annual Meeting & Exposition of the Controlled Release Society, Haruka Nishida, Yoko Matsumoto, et al, Analysis of antitumor effect of human papillomavirus E6 siRNA-loaded polymeric micelles on human
4	2013年5月	第65回日本産科婦人科学会学術講演会、西田晴香、松本陽子他、子宮頸癌担癌マウスにおける HPV E6 siRNA 内包ナノミセルを用いた新規分子標的薬の抗腫瘍効果の検討
5	2013年5月	第65回日本産科婦人科学会学術講演会、松本陽子他、難治性成人喉頭乳頭腫治療経過におけるヒトパピローマウイルスジェノタイプング検査と再発リスクの検討
3. 投稿、発表予定		
	投稿/発表時期	雑誌名、学会名等
1		
2		
3		
4		