

平成 28 年 7 月 11 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2015

課題番号：24659411

研究課題名(和文)腎血管特異的なRNA干渉による腎移植後拒絶反応回避に向けた戦略的研究

研究課題名(英文)siRNA carrier strategy to inhibit to rejection of transplanted kidneys

研究代表者

渡邊 秀美代(Watanabe, Sumiyo)

東京大学・医学(系)研究科(研究院)・研究員

研究者番号：30422314

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文):増大し続ける医療費によりこのままでは国民経済が破綻する。そこで我々は、より質の高い医療を提供しつつ医療費を削減することを目指す。具体的には年間一兆円以上を要している腎臓透析であるが腎移植が可能であればQOLが上がるだけでなく、医療費が3分の1に削減できる。しかしながら拒絶反応が原因で年々生着率が下がる。そこで我々は移植後の新しい腎臓を生体内免疫システムに「自己」と認識させることで、拒絶反応を抑制し、生着率を上げることを目指す。具体的にはCD40、CD40Lに対するsiRNAを搭載した人工ベクターが静脈投与で腎臓に向かい、siRNAを細胞内に放出する。これによって腎臓は生着することを目指す。

研究成果の概要(英文): Japanese economy would collapse in this state by the immeasurable increasing medical costs. Therefore, we aim to reduce the medical costs while providing higher-quality medical care. In the case of kidney dialysis, which takes more than a trillion yen per year and the QOL is low. Meanwhile, kidney transplant requires only one-third of the expense, and the QOL becomes higher. One of the serious problems that transplant is not performed is the low successful rate of engraftment of the transplanted kidneys caused by immunological rejection. On the other hand, suppressing immune system causes many side effects. Therefore, we tried to make recognize transplanted kidneys as "self" to immune system. For the purpose, we designed CD40 and CD40L siRNA and create artificial vector to carry siRNA to the transplanted blood vessels in the transplanted kidneys.

研究分野: 腎臓内分泌内科 遺伝子治療

キーワード: 腎移植拒絶反応 免疫寛容 遺伝子治療 siRNA siRNAキャリアー

1. 研究開始当初の背景

腎不全に対する透析療法は、腎臓の多岐にわたる機能を補うには限界がある。一方腎移植は拒絶反応のために生着しないリスクと長期にわたる免疫抑制剤の副作用が障害となる。拒絶反応の中で超急性、促進急性、急性拒絶反応は現在の治療方法で一定の効果を示す。一方慢性拒絶反応に関しては免疫抑制剤を服用し続けるしか方法がないが、効果があまりない。腎生着率が移植後年々低下するのはこの慢性拒絶反応のためである。慢性拒絶反応の原因は腎血管で起こる炎症であり、これを阻害することで拒絶反応を抑制できると考えられる。

2. 研究の目的

当研究では我々の研究室で独自開発した siRNA 搭載 carrier に炎症抑制の siRNA を搭載し、腎臓特異的に拒絶反応を抑制することで移植腎の生着率を上げると共に副作用を軽減し、多くの腎不全患者の QOL と生命予後を改善する。

3. 研究の方法

1) 当研究室で開発した各 nanocarrier の血中滞留性の違い、組織分布の違い、分布量の違いを再度詳細に検討する。

2) FRET (蛍光共鳴エネルギー移動: Fluorescence Resonance Energy Transfer) で siRNA と nanocarrier の結合状態から siRNA 乖離までをリアルタイムに in vivo で確認する。Nanocarrier とそれに結合している siRNA に別々の波長の蛍光を付け、それらの蛍光波長が同一会体内にあれば干渉し合うように設計する。

3) nanocarrier に搭載する各種 siRNA を作る。siRNA の候補は各種炎症惹起遺伝子である。これらの遺伝子に対する抑制効率の良い siRNA 配列を作り、nanocarrier に搭載する。

4. 研究成果

IL6 などの炎症抑制性の siRNA をデザインし、一方、キャリアの改良を進めた。

1) 炎症反応を抑制するだけでなく免疫寛容を起こし、移植腎を「自己」として認識させることでその後免疫学的攻撃を起こさない方向にする目的で、CD40、CD40 リガンドに対する siRNA をデザインしたところ、非常に効率良い遺伝子抑制効果を示した。

2) 腎臓に集積するキャリアを工夫している段階で非常に効率良く、特異的に癌組織に集積することができるキャリアが出来た。この偶然の癌細胞集積キャリアは特異的に癌に集積する。従って移植腎集積キャリアも研究を進めることにした。なお、癌に集積させる場合は PLK1

や VEGF の siRNA が効果を示した。

そこで、腎特異的集積キャリアだけでなく癌集積キャリアの研究も同時進行で進めることにした。いずれも原理は同じで、正電荷をもつ PEG-PLL が、イオン結合で負電荷である siRNA と結合して siRNA を周囲環境から守る。しかも結合力が絶妙に調整されており、一つの siRNA に結合する PEG-PLL は生体内の多くの荷電物質の存在にかかわらず優先的に siRNA と結合しては離れ常に入れ替わりながら siRNA を生体内環境から守り、目的細胞に入ると siRNA をフリーにして本来の効果を発揮させるというものである。当内容の論文は 2015 年 8 月 3 日に Nature 誌に投稿し、現在もリバイス中である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 7 件)

K.Hayashi,H.Chaya,S.Fukushima,S.Watanabe,H.Takemoto,K.Osada,N.Nishiyama,K.Miyata,K.Kataoka

Influence of RNA strand rigidity on polyion complex formation with block cationomers. *Macromol.Rapid Commun.* 37(6) 2016

H.J.Kim,T.Ishii,M.Zhen,S.Watanabe,K.Toh,U.Matsumoto,N.Nishiyama,K.Miyata,K.Kataoka

Multifunctional polyion complex micelle featuring enhanced stability, targetability, and endosome escapability for systemic siRNA delivery to subcutaneous model of lung cancer. *Drug Deliv. Transl.Res.* 4(1) 2014

F.Pittela,H.Cabral,Y.Maeda,P.Mi,S.Watanabe,H.Takemoto,H.J.Kim,N.Nishiyama,K.Miyata,K.Kataoka

Systemic siRNA delivery to a spontaneous pancreatic tumor model in transgenic mice by PEGylated calcium phosphate hybrid micelles. *J.Control.Release* 178 2014

Y.Kinoshita,M.Hori,M.Taguchi,S.Watanabe,S.Fukumoto

Functional activities of mutant calcium-sensing receptors determine clinical presentations in patients with autosomal dominant hypocalcemia. *J Clin Endocrinol Metab.* 99(2) 2014

S.Biswas,K.Kinbara,T.Niwa,H.Taguchi,N.Ishii,S.Watanabe,K.Miyata,K.Kataoka,T.Aiba

Biomolecular robotics for chemomechanical

cally driven guest delivery fueled by intracellular ATP.
Nat. Chem. 3 2013

T.Suma, K.Miyata, S.Watanabe, R.J.Christie, H.Takemoto, T.Ishii, N.Nishiyama, K.Kataoka
Smart multilayered assembly for biocompatible siRNA delivery featuring dissolvable silica, endosome-disrupting polycation, and detachable PEG.
ACS Nano 6(8) 2012

F.Pittella, K.Miyata, S.Watanabe, R.J.Christie, K.Okada, N.Nishiyama, K.Kataoka
Pancreatic cancer therapy by systemic administration of VEGF siRNA contained in calcium phosphate/charge-conversional polymer hybrid nanoparticles.
J.Control.Release 161(3) 2012

〔学会発表〕(計 9 件)

宮田完二郎、林光太郎、茶谷洋行、渡邊秀美代、藤加珠子、福島重人、LAN Wanjun, KIM Hyun Jin, 武元宏泰、長田健介、片岡一則
1 分子 siRNA 封入ユニットポリイオンコンプレックスの精密構造設計
第 64 回高分子討論会 2015/9/17 東北大学

K.Hayashi, H.Chaya, H.Takemoto, S.Fukushima, S.Watanabe, K.Osada, N.Nishiyama, K.Miyata, K.Kataoka
Charge number effect of block-ionomers on polygon complex formation with siRNA
第 64 回高分子学会年次大会 (国際学会) 2015/5/27-29 札幌イノベーションセンター

Sumiyo Watanabe, Hiroyuki Chaya, Takahiro Nomoto, Shigeto Fukushima, Kotaro Hayashi, Kazuko Toh, Hiroyasu Takemoto, Xueying Liu, Yu Matsumoto, Shunya Uchida, Masaomi Nangaku, Kensuke Osada, Nobuhiro Nishiyama, Kanjiro Miyata, Kazunori Kataoka
Enhanced blood circulation of siRNA complexed with PEG-block-poly(L-lysine) for BxPC3 pancreatic cancer therapy.
The COINS International Symposium 2015. 2015/2/27 東京大学

Sumiyo Watanabe, Hiroyuki Chaya, Takahiro Nomoto, Kotaro Hayashi, Shigeto Fukushima, Hiroyasu Takemoto, Kazuko Toh, Xueying Liu, Yu Matsumoto, Shunya Uchida, Masaomi Nangaku, Kensuke Osada, Nobuhiro Nishiyama, Kanjiro Miyata, Kazunori Kataoka
Enhanced Blood Circulation of siRNA complexed with PEG-block-poly(L-lysine) for Cancer Treatment.

Controlled Release Society 2013/7/21-24 ハワイコンベンショナルセンター

Sumiyo Watanabe, Hiroyuki Chaya, Takahiro Nomoto, Shigeto Fukushima, Kotaro Hayashi, Kazuko Toh, Hiroyasu Kakemoto, Xueying Liu, Yu Matsumoto, Shunya Uchida, Masaomi Nangaku, Kensuke Osada, Nobuhiro Nishiyama, Kanjiro Miyata, Kazunori Kataoka
Enhanced Blood Circulation of siRNA complexed with PEG-Block-Poly(L-lysine) for BxPC3 pancreatic cancer Treatment.
First international symposium 2014/2/21 東京大学

Kotaro Hayashi, Hiroyuki Chaya, Sumiyo Watanabe, Shigeto Fukushima, Kazuko Toh, Yu Matsumoto, Kensuke Osada, Nobuhiro Nishiyama, Kanjiro Miyata, Kazunori Kataoka
Development of single siRNA-loaded polyion complexes with PEG-b-polycations for enhanced systemic delivery of siRNA.
US-Japan DDS symposium 2013/12/16-20 Lahaina

林光太郎、福島重人、石井武彦、長田健介、片岡一則、茶谷洋行、宮田完二郎、渡邊秀美代、藤加珠子、西山伸宏
分子 siRNA 封入ポリイオンコンプレックスの構築～会合状態に対する PEG-ポリカチオンブロック共重合体の化学構造の効果～
高分子年次学会 2013/5/29-31 京都国際会館

林光太郎、茶谷洋行、渡邊秀美代、宮田完二郎、福島重人、長田健介、西山伸宏、片岡一則
分子 siRNA 搭載ポリイオンコンプレックス (PICnanocarrier) の構築
高分子討論会 2013/9/28-30 岡山大学

Sumiyo Watanabe, Hiroyuki Chaya, Kanjiro Miyata, Nobuhiro Nishiyama, Kazunori Kataoka
Enhanced longevity of siRNA in bloodstream by fine-tuning of PEG-block-polylysine structures.
Kyoto Cell-Material Integration 2012 2012/11/7-9 京都大学

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：

番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

渡邊 秀美代 (WATANABE, Sumiyo)
東京大学・大学院医学系研究科・特任研究員
研究者番号：30422314

(2) 研究分担者

小笠原 徹 (OGASAWARA, Toru)
東京大学・医学部附属病院・講師
研究者番号：20359623

内田 俊也 (UCHIDA, Shunya)
帝京大学・医学部・教授
研究者番号：50151882

福島 重人 (FUKUSHIMA, Shigeto)
東京大学・大学院工学系研究科・研究員
研究者番号：60625680

(3) 連携研究者

なし