

テーマ：細胞透過性に優れ、ヌクレアーゼ耐性を併せ持つ癌治療用siRNA (siRQ238)

■ 背景

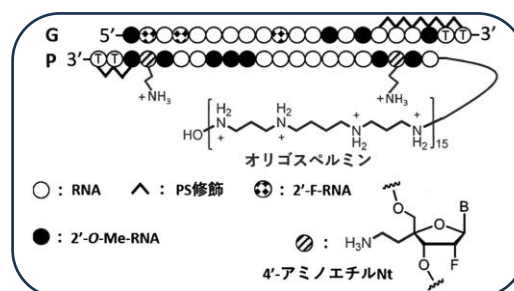
small interfering RNA (siRNA) は、標的mRNAとの塩基配列の相補性に基づいて結合し、がん細胞における特定遺伝子の発現を選択的に抑制する事が可能である。特に、がん幹細胞性の維持に関与する分子(RECQL1, RAB39A, PRDM14など)を標的とすることで、腫瘍再発や転移抑制にも寄与することが報告されている。このような高い選択性により、siRNAは従来の抗がん剤と比較して副作用が少ないという利点を有する。

一方で、siRNAは高分子かつ陰性荷電を持つため細胞膜を通過しにくく、標的細胞への効率的な送達が困難である。また、生体内においてはヌクレアーゼによる分解を受けやすく、血中半減期が短いといった薬物動態上の課題も存在する。これらの点は、siRNAを医薬品として応用する上で克服すべき重要な技術的障壁である。

■ 新規治療標的分子の同定

siRNA開発における課題として知られる分子の陰性電荷およびヌクレアーゼ感受性に対し、2つの化学修飾を施すことで解決を試みた。具体的には、①シチジン残基の糖部4'位にアミノアルキル基を導入することでヌクレアーゼ体制を付与した。これはsiRNA分子全体の陰性電荷も是正した。②オリゴスペルミンを導入することにより更に細胞膜透過性を改善した。これらの修飾により、リポソームへの封入は不必要となった。抗がん剤としてRECQL1を標的とするsiRNA配列を有する候補化合物siRQ238を設計した。パッセンジャー鎖およびガイド鎖の配列は以下の通りである：

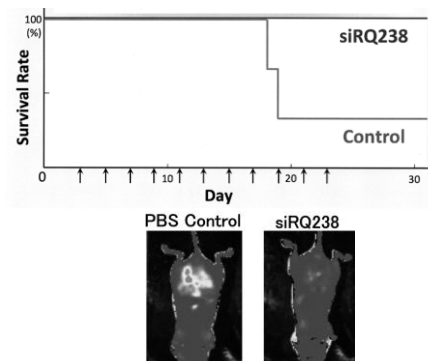
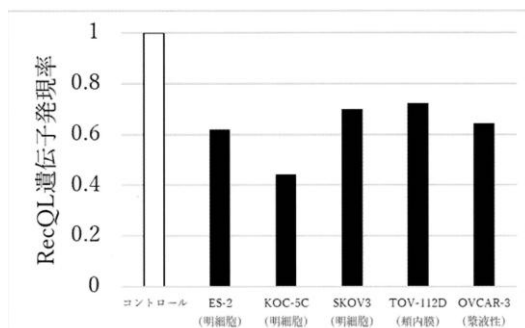
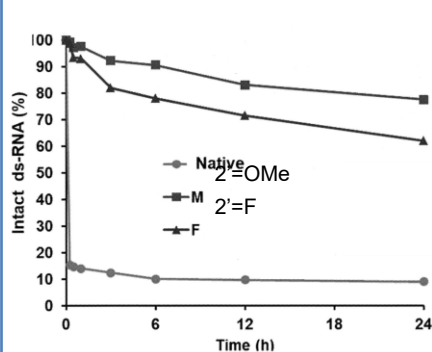
5'-GGCCUUUCACUACUCCUACUU-3' (パッセンジャー鎖) 3'-UUCCGGAAAGUGAUGAGGAUG-F-5' (ガイド鎖)



合成したsiRNAを37℃で20%ウシ血清を含むD-MEM培地で培養し、RNAi活性を評価した。下左図に示す通り、天然核酸と比較して、高いヌクレアーゼ耐性を有することが示唆された。なお、2'位の化学修飾はRNAi活性に対して顕著な影響を及ぼさなかった。

3種のヒト卵巢癌細胞(ES-2, KOC-5C, SKOV3)、類内膜性がん(TOV-112)、漿液性がん(OVCAR-3)に対して、siRQ238 (250 nM)は、細胞内RECQL1の効率的な発現抑制作用を示した(下中図)。

ヒト卵巢がん細胞 ES-2を1x10⁶個/匹を免疫不全ヌードマウスの腹腔内に移植し、siRQ238を2日間隔で腹腔内投与したところ、下右図に示す様にsiRQ238は延命効果および腫瘍縮小効果を示した。



■ 企業との協働

本研究は東海国立大学機構および株式会社ジーンケア研究所との共同研究の成果であり、特許取得済です(第7599157号)。我々と協働して開発候補品取得に向けた更なる最適化研究に協働し携して下さる企業を求めています。

■ 臨床検査医学講座のホームページ

https://www.shiga-med.ac.jp/~hqkikaku/subject/kouza_kensa.html