

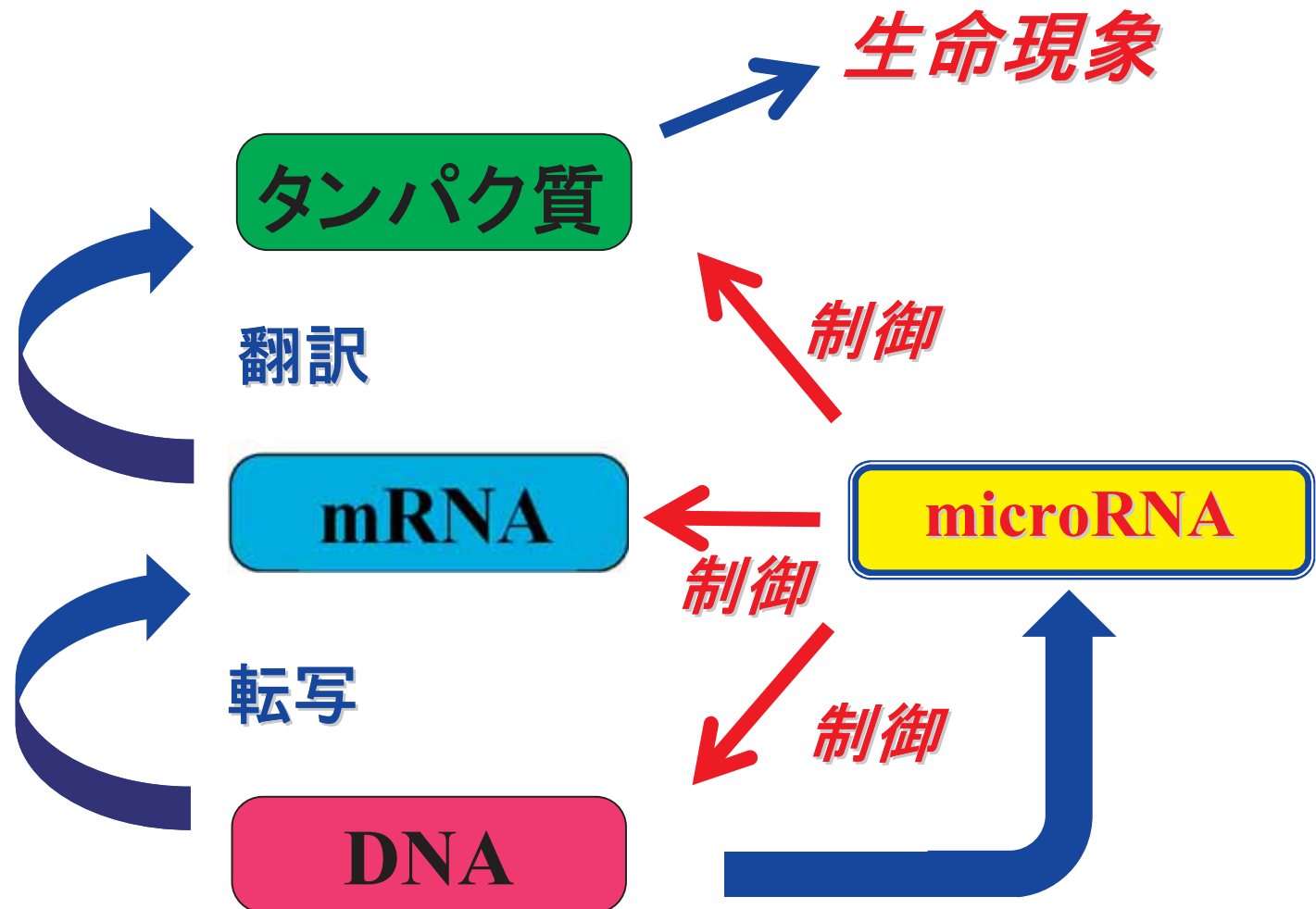
合成microRNAの関節注射による 関節炎治療

広島大学大学院医歯薬学総合研究科
整形外科

中佐 智幸

microRNA

- 低分子(18~25塩基)のタンパク質をコードしないRNAの一種
- 遺伝子の転写後制御に関与している



～25nt程度のmicroRNAが ゲノム遺伝子の約30%の制御に関わっている

ヒトでは現在541個のmiRNAが存在、複雑な制御網が予測される
(miR Base 10.0: : Sequences Data Base)

生命現象に重要

- ・発生／分化
- ・細胞増殖／癌化
- ・アポトーシス
- ・免疫系
- ...etc

幹細胞との関連

- ・ES 細胞で特異的に発現しているmicroRNA
- ・ES細胞から神経細胞への分化に関わるmicroRNA
- ・神経幹細胞
- ...etc

疾患との関連性

- ・DiGeorge 症候群
- ・脆弱性X症候群
- ・HIV (Human immunodeficiency virus)
- ・C型肝炎ウイルス (Hepatitis C Virus)
- ・肺癌、大腸癌など
- ・慢性リンパ性白血病
- ・関節リウマチ
- ・変形性関節症
- ・脊髄損傷
- ...etc



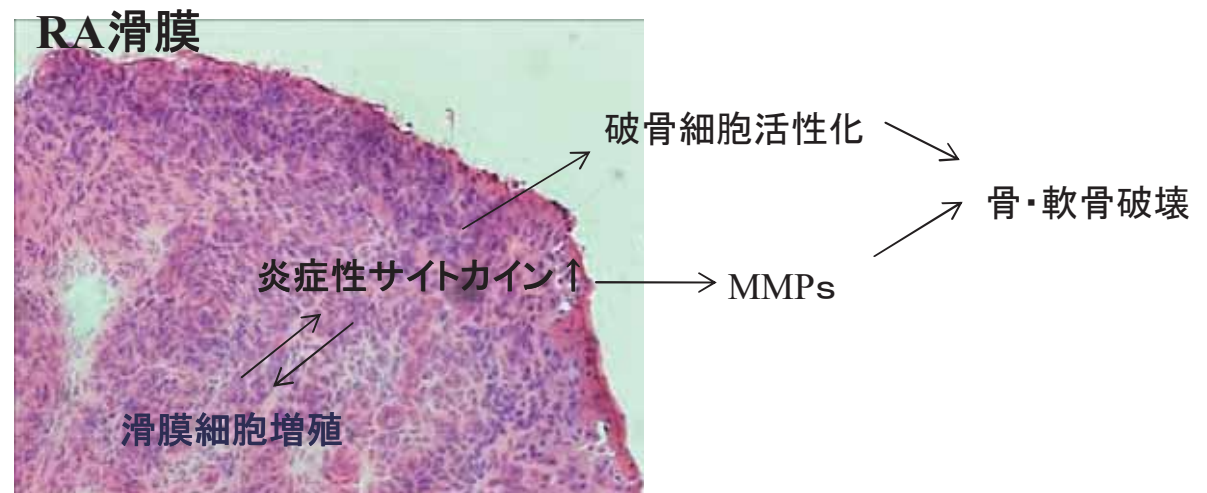
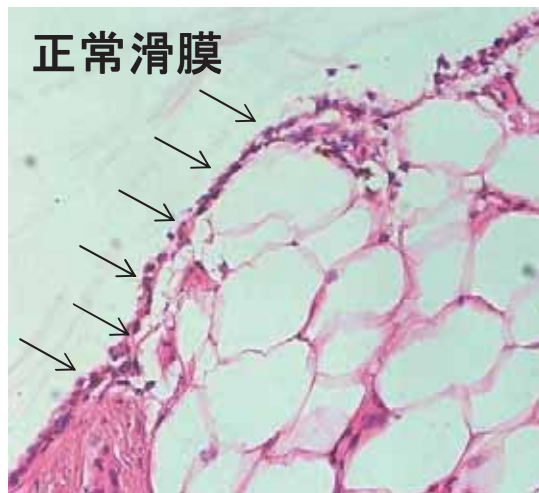
新しい治療ターゲット

関節リウマチ

・慢性滑膜炎を特徴とする全身性自己免疫疾患



- ・日本では約60～70万人が罹患
- ・原因・病態は明らかにされていない



関節リウマチの治療

抗リウマチ薬 (DMARDs)



生物学的製剤の導入

病態形成に関与するサイトカイン (TNF α 、IL-6)などを標的

- ・全ての症例に効果があるわけではない
- ・重篤な副作用
- ・高価

安価で、生物学的製剤と同等の有効性を有する新規薬剤が必要

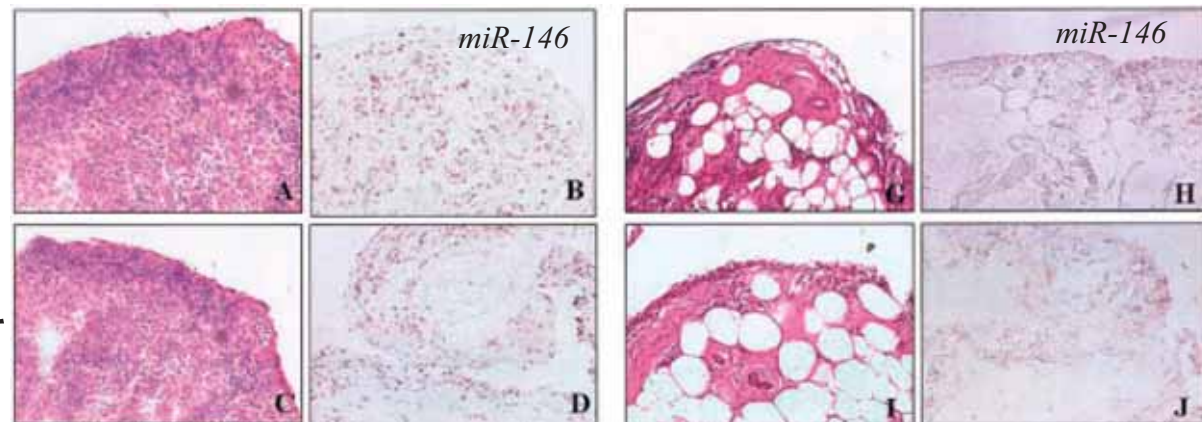
関節リウマチにおけるmicroRNAの関与

- RA滑膜 microRNA-146が強発現しており、炎症性サイトカインにより発現が誘導

Nakasa T et al. Arthritis Rheum 2008

- microRNA-146、155がRA滑膜に強発現しており、MMP3の発現を制御している

Stanzack et al. Arthritis Rheum 2008



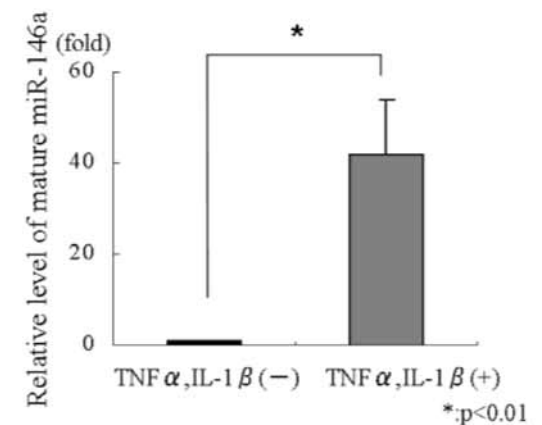
関節リウマチ

変形性関節症

- microRNA-146は、RA患者の末梢血単核球に強発現している

Pauley et al. Arthritis Rheum 2008

- 破骨細胞分化の制御、IL-17発現への関与など



microRNAが関節リウマチの病態に関与

microRNA医薬

microRNA ... 複数の遺伝子を標的



siRNA...単一遺伝子を分解

従来にない新たな医薬品となる可能性

病態形成を促進するmicroRNA
(癌遺伝子様microRNAなど)



化学修飾した1本鎖アンチセンス
オリゴヌクレオチドを投与

発現の低下しているmicroRNA
(癌抑制遺伝子様microRNAなど)



合成microRNAを投与し補充

関節リウマチの病態に関与しているmicroRNAを制御



新しい関節リウマチの治療薬

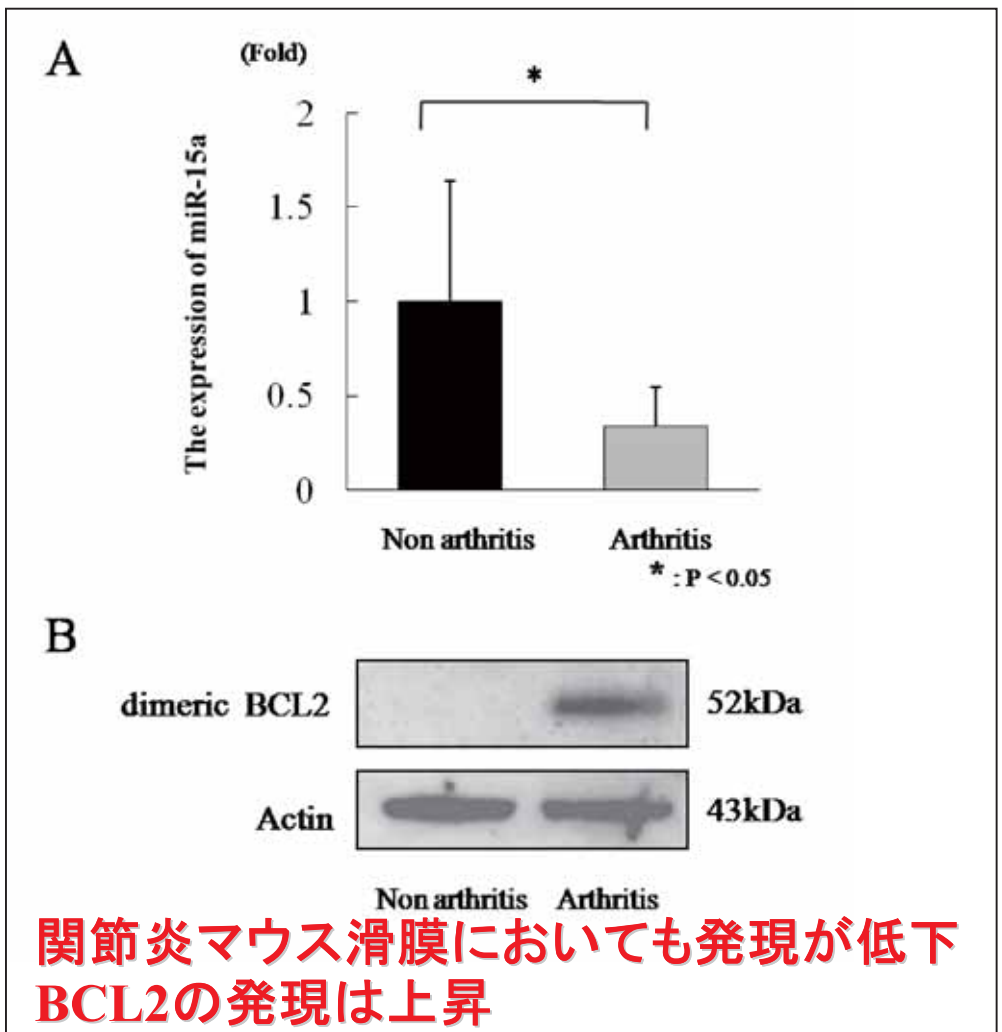
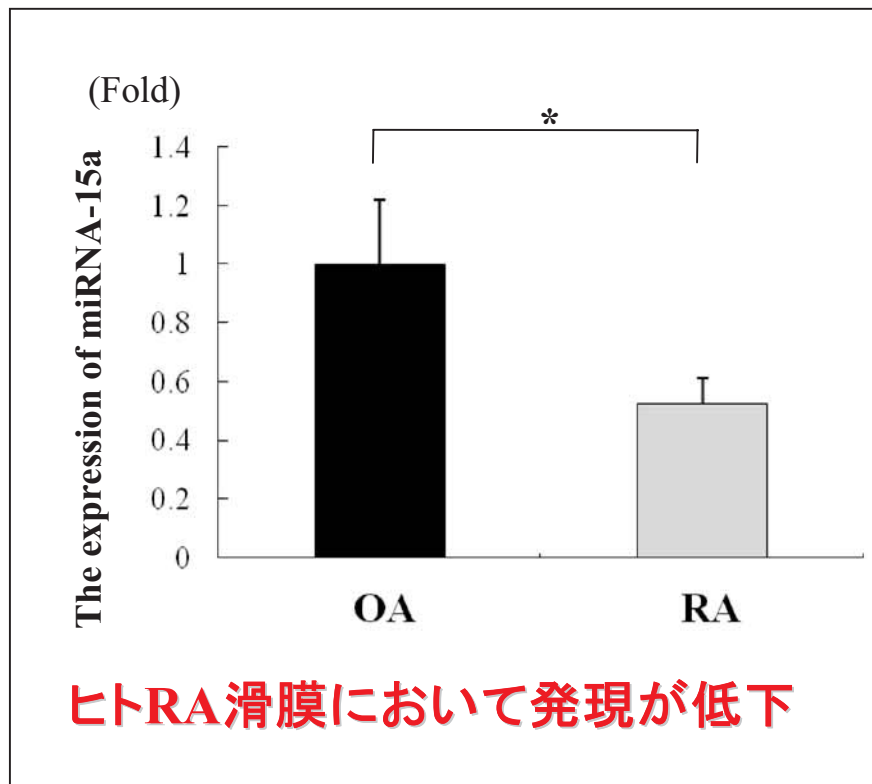
関節内投与して滑膜組織に取り込まれ機能するかどうか

合成microRNAの関節内への導入

microRNA-15a アポトーシス抑制因子であるBCL2の発現を抑制

→ アポトーシスの誘導

白血病などの増殖性の疾患に関与している



関節リウマチ

正常滑膜

BCL2 ↑↑

生理的なアポトーシス

microRNA-15a ↓↓

RA滑膜

滑膜増殖

microRNA-15aを補充

BCL2の抑制

生理的なアポトーシス

滑膜増殖の抑制

合成二本鎖microRNA-15a

5'- UAG CAG CAC AUA AUG GUU UGU G -3'

3'- CAG GCC AUA UUG UGC UGC CUC A -5'

+

アテロコラーゲン

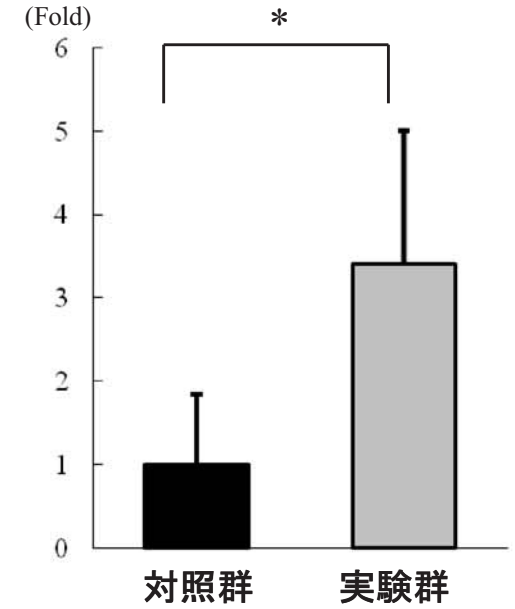
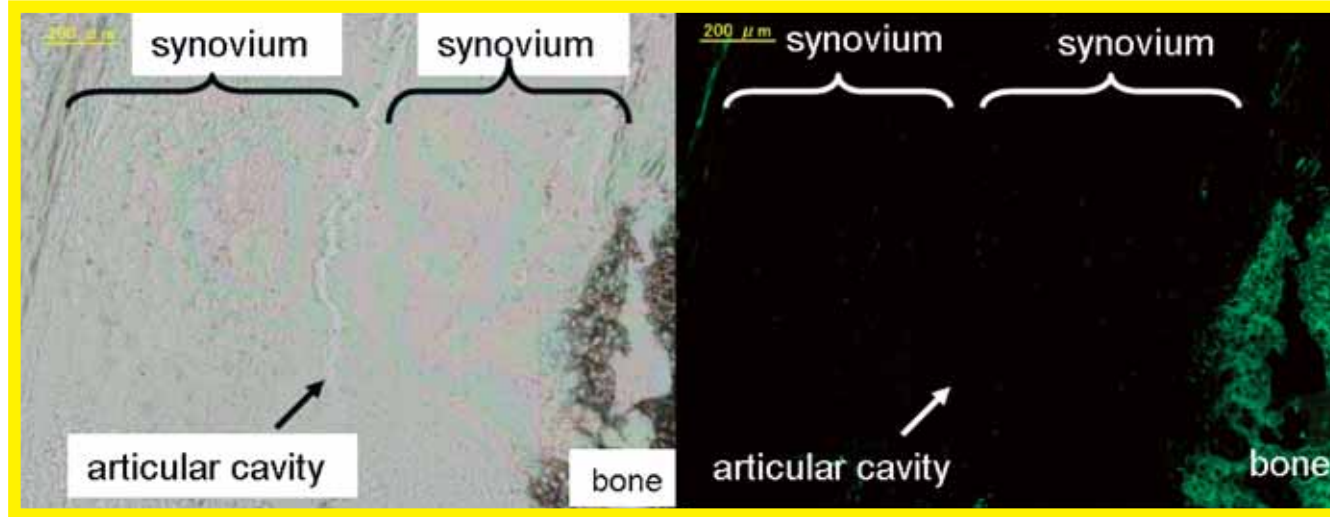


関節炎マウス膝関節に注射

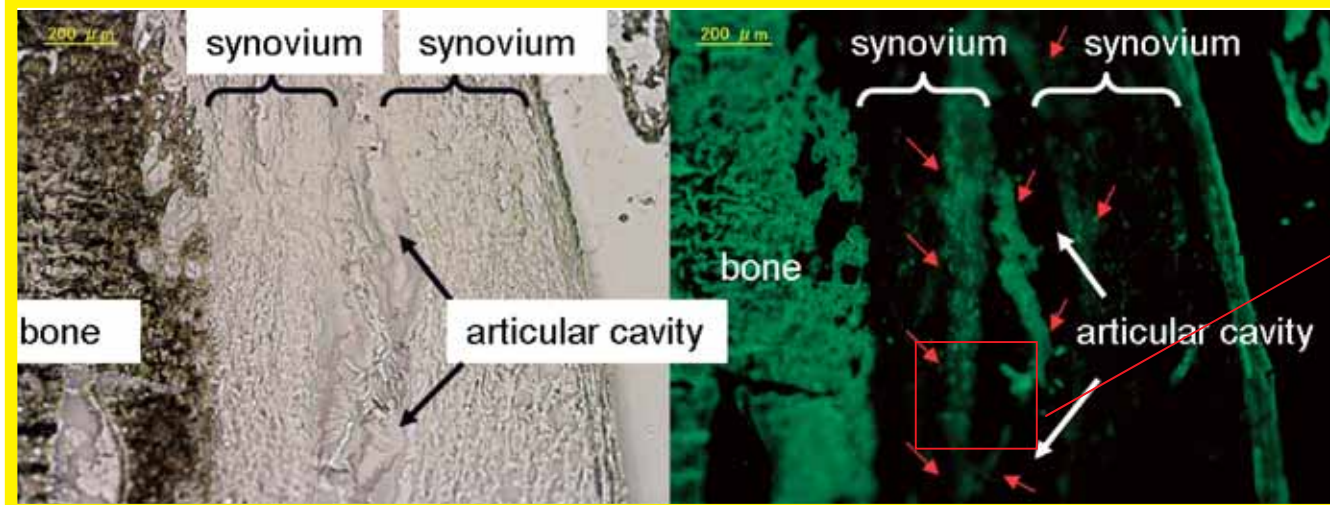
滑膜組織での取り込まれ、
機能するかどうか？

関節注射24時間後 合成microRNA-15aの滑膜組織への取り込み

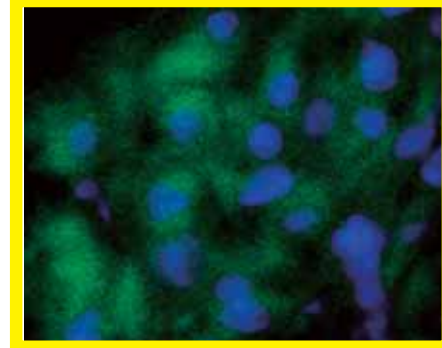
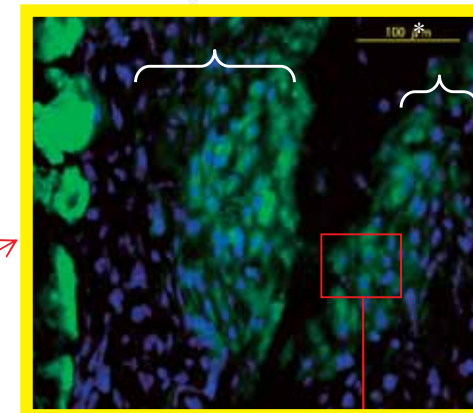
対照群: control siRNA (FAM -)/atelocollagen



実験群: microRNA15a (FAM +)/atelocollagen



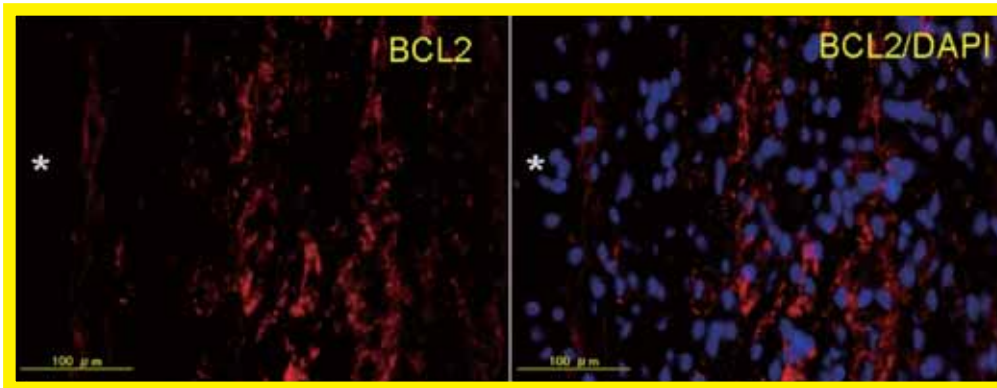
(original magnification × 100)



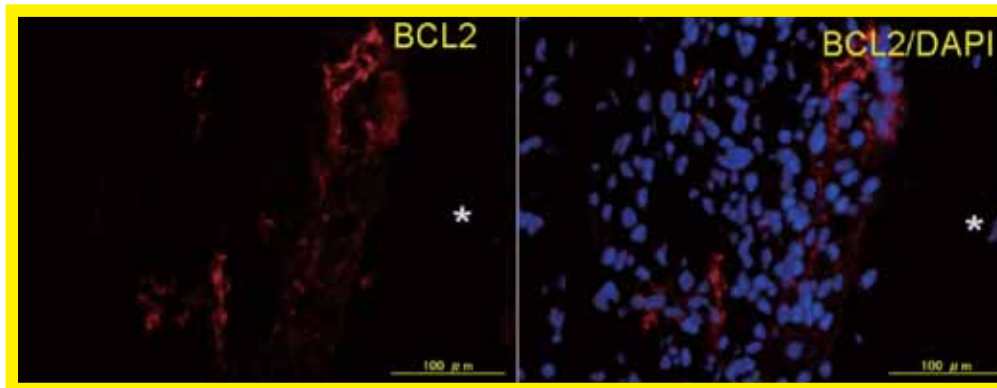
* : P < 0.05

関節注射24時間後 滑膜組織でのBCL2の発現

対照群



実験群



免疫染色 * 関節腔

Western blotting of BCL2

dimeric BCL2



52kDa

Actin



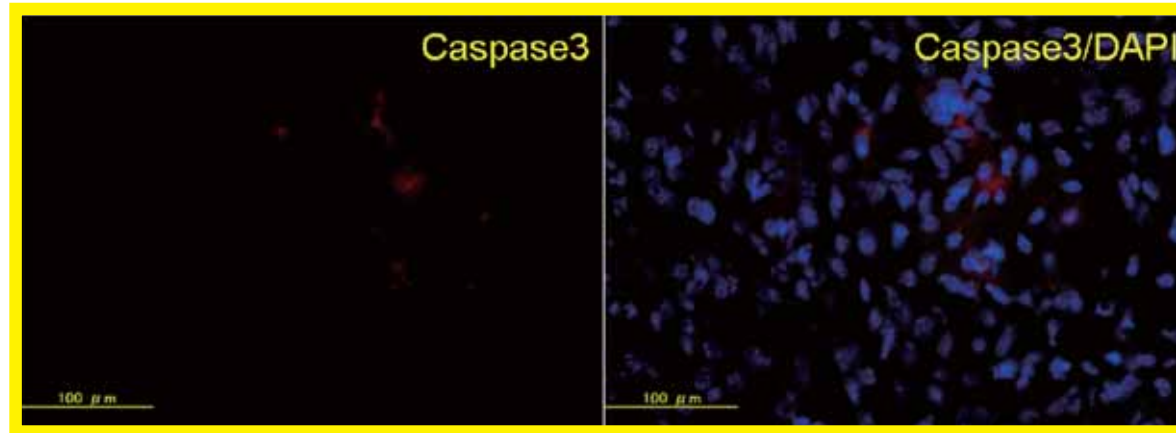
43kDa

関節注射24時間後、BCL2はタンパクレベルで発現が低下

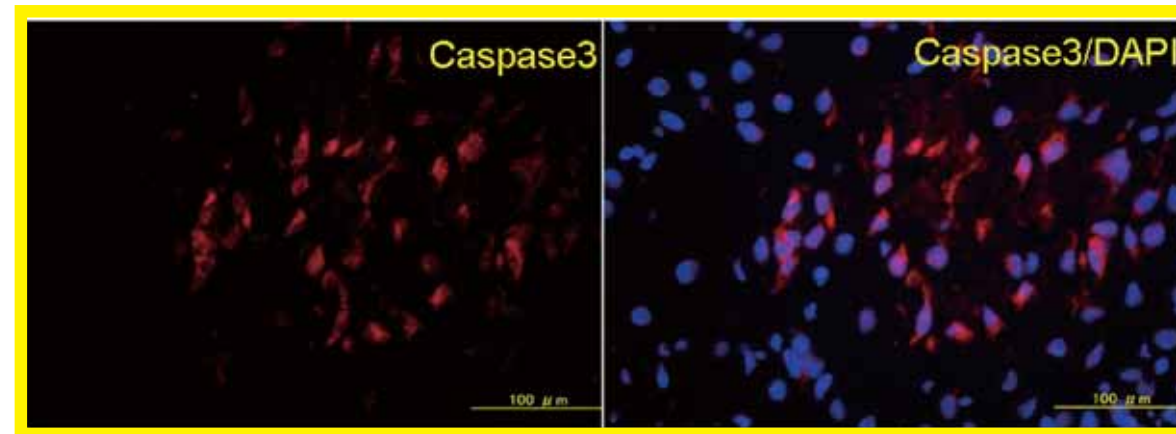
関節注射72時間後 滑膜組織でのCaspase3の発現

Caspase3...アポトーシスの指標

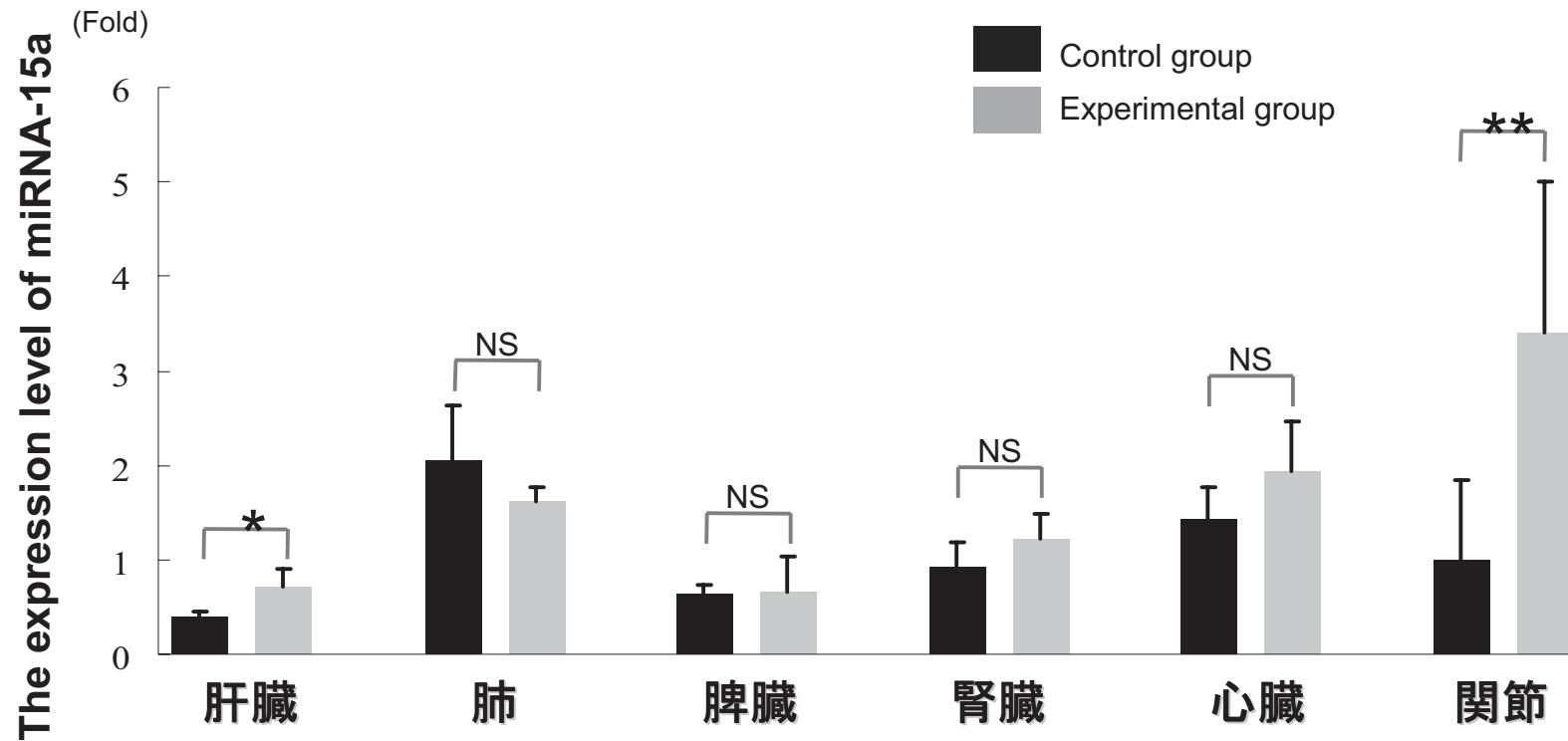
対照群



実験群



関節注射72時間後、滑膜組織にアポトーシス誘導

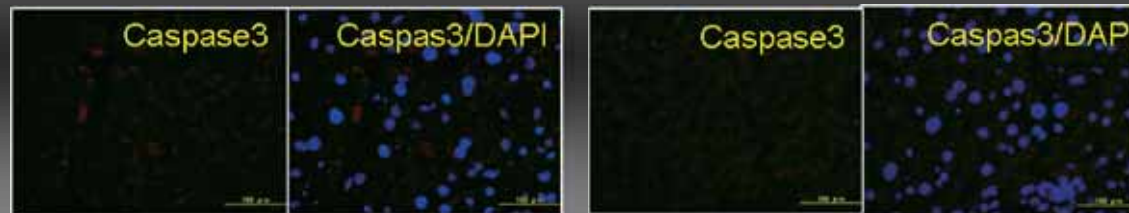


*; $p < 0.05$, **; $p < 0.01$

The expression of caspase3 in the liver

対照群

実験群



肝臓で集積していたがアポトーシスは誘導されていない

従来技術とその問題点

関節リウマチ治療薬で最も効果のあるのは
生物学的製剤である。しかし、

重篤な副作用が発生

高価である

等の問題があり、比較的安価で生物学的製剤
と同様の有効性のある低分子化合物の開発が
必要

新技術の特徴・従来技術との比較

- 関節リウマチの病態にmicroRNAが関与していることが発見され、これを治療ターゲットとすることで新しい治療薬になる。
- すでにいくつかのRNA医薬は臨床応用されている。
- 大量合成・大量精製技術により、安価に提供できることが期待される。

実用化に向けた課題

- 治療効果の検討
- 投与量の問題
- より良いdrug delivery systemの開発
- どのmicroRNAを投与するのが最も効率的か？
また組み合わせが必要か？
- 副作用の問題

企業への期待

- RNA医薬の技術を持つ、炎症に関連する企業との共同研究を希望。
- また、関節リウマチに対する低分子化合物を開発中の企業には、本技術の導入が有効と思われる。

本技術に関する知的財産権

- 発明の名称 : 関節炎治療剤
- 出願番号 : 特願2008-274703
- 出願人 : 広島大学
- 発明者 : 越智光夫、中佐智幸

お問い合わせ先

広島大学

産学連携部門 コーディネーター

榎木 高男

TEL 082-421-3704

e-mail kayaki@hiroshima-u.ac.jp