

新たな遺伝子治療「マイクロRNA標的核酸医療」の可能性

2013/12/4

マイクロRNAは、約22塩基からなるタンパク質をコードしない小さなRNAである。1993年植物シロイヌナズナで発見されて以来、その数は右肩上がりに増えて今では1600を超えている。様々な疾患の発症と関わることが明らかとなったことから、マイクロRNAを標的とする新しいタイプの核酸医療に期待が寄せられている。実際、C型肝炎ウイルス感染ではマイクロRNA-122 (miR-122) に相補的な antimiR (miravirsin®) がすでにフェーズII試験を終え、高い有効性が示されている。心血管疾患ではfirst-in-manはまだのようであるが、動物レベルでは有効性を示すデータが蓄積されつつある。今月は、霊長類の肥満に合併したメタボリック症候群モデルで行われたantimiR治療の前臨床試験の論文を紹介する。

ヒト以外の霊長類でのシード配列を標的とするantimiRによるマイクロRNAファミリーの薬理的抑制

Pharmacological inhibition of a microRNA family in nonhuman primates by a seed-targeting 8-mer antimiR

V Rottiers et al.

[Sci. Transl. Med. 2013;5:212ra162](#)

マイクロRNAはどのように作用するのか？

antimiRについて理解するためには、まずマイクロRNAの作用メカニズムを知る必要がある。マイクロRNAは、標的とする遺伝子の3'側のタンパク質をコードしない部分（この部分を『3'非翻訳領域[3'-untranslated region:3'UTR]』と呼ぶ）に結合する。すると、タンパク合成装置のリボソームが認識できなくなり、タンパク翻訳が阻害される。

マイクロRNAが標的遺伝子の3'UTRに結合する時、マイクロRNAの5'側から第2～8塩基は標的遺伝子と完全に相補的であり「シーズ配列」と呼ばれる。続く第9・10塩基は標的遺伝子と相補性がなく、第11塩基から再び部分的に相補的となる。このため、マイクロRNAと標的遺伝子は中間の2塩基と3'側の数塩基が浮いた部分的な結合となる（図1）。

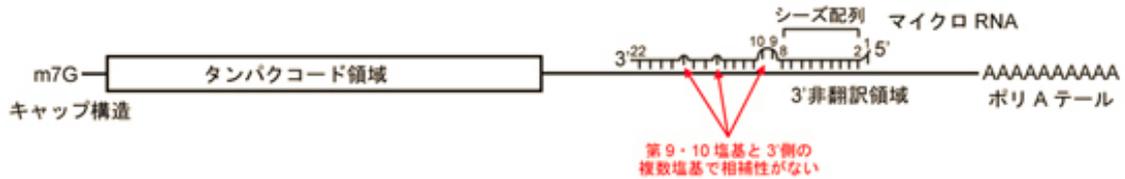


図1 マイクロRNAの標的遺伝子への結合の仕方

antimiRはマイクロRNAに対するデコイ！

antimiRとは、マイクロRNAと相補的なオリゴヌクレオチドである。マイクロRNAに対するデコイとして働くことにより、標的遺伝子とマイクロRNAの結合を競合的に阻害する。このためには、標的遺伝子よりマイクロRNAとの親和性が高くあることが必要で、このために種々の工夫がなされている。

最も単純な方法は、誰でも思いつくことであるがマイクロRNAと完全に相補的なオリゴヌクレオチドを作ることである（図2青）。標的遺伝子とマイクロRNAは中間の2塩基と3'の数塩基が相補的でないので、完全に相補的なantimiRを作ると標的遺伝子より高い親和性が得られる。

最近注目されているのが、「LNA (locked nucleic acid) 」と呼ばれる修飾である。LNA修飾された塩基は、相補的な塩基との結合が強くなる。これを利用して、短いオリゴヌクレオチドのantimiRを作ることによって特異性を自在に変化させつつ、同時に高い親和性を維持することが可能となった。よく利用されているのが、マイクロRNAの第2～第17塩基と相補的なLNA修飾された16-mer LNA-antimiRとシード配列の第2～第9塩基と相補的な8-mer LNA-antimiRである（図2赤）。

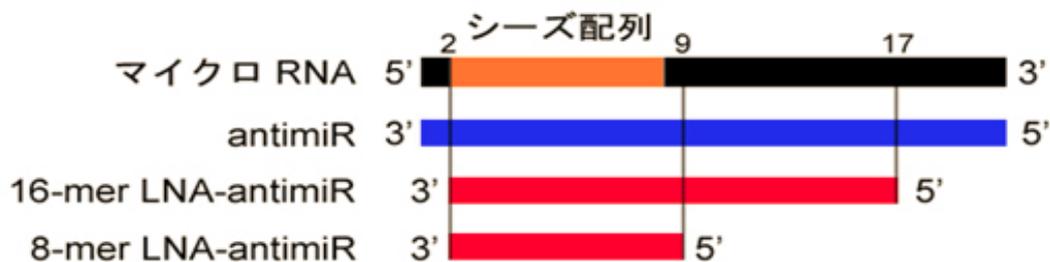


図2 マイクロRNAとantimiR

antimiRはマイクロRNAとの親和性を高めるために、マイクロRNAと完全に相補にするか（青）、塩基にLNAという修飾を加えることにより親和性を高め、同時に特異性を自在に調節する工夫がなされている（赤）。

メタボリック症候群に関連するマイクロRNA : miR-33a・miR-33b

マイクロRNAと標的遺伝子は、「1対1」ではなく「多対多」の関係にある。1つのマイクロRNAが平均100個の遺伝子を標的とし、逆に1つの遺伝子は平均7個のマイクロRNAの標的とされる。

複数のマイクロRNAが1つの遺伝子を標的とするのは、同じシーズ配列を持つ複数のマイクロRNAが存在するからである。miR-33も同じシーズ配列を持つmiR-33aとmiR-33bのファミリーからなる。miR-33a・miR-33bの代表的な標的遺伝子はABCA1である。ABCA1はコレステロールをため込んだマクロファージからコレステロールをHDL-Cに引き抜き、逆コレステロール輸送reverse cholesterol transport (RCT) に関与する。miR-33a・miR-33bはABCA1を標的としタンパク翻訳を抑制するので、RCTを減弱させ動脈硬化を促進する。

また、1つのマイクロRNAは平均100個の遺伝子を標的とするが、この際関連する遺伝子群を標的とすることが一般的である。miR-33a・miR-33bも、ABCA1以外に脂肪酸β酸化、インスリンシグナル伝達、肝臓コレステロール・胆汁排泄に関わる遺伝子を標的とすることから、脂質異常症・高中性脂肪血症・インスリン抵抗性・脂肪肝などのメタボリック症候群発症と関係する。裏を返すと、miR-33a・miR-33bはメタボリック症候群治療の候補マイクロRNAといえることができる。

霊長類メタボリック症候群モデルにおけるantimiR前臨床試験

本論文では、肥満のアフリカミドリザルに高脂肪食を12週間与え、インスリン抵抗性/高血糖、高LDL-C/HDL-C比、高中性脂肪血症などを誘導し、同メタボリック症候群モデルでmiR-33a・miR-33bに対するantimiRの作用を調べている。antimiRとしては、miR-33a特異的な16-mer LNA-antimiR-33a、miR-33b特異的な16-mer LNA-antimiR-33b、miR-33aとmiR-33bの共通のシーズ配列に対する8-mer LNA-antimiR-33a/bの3種類を用いている（図3）。

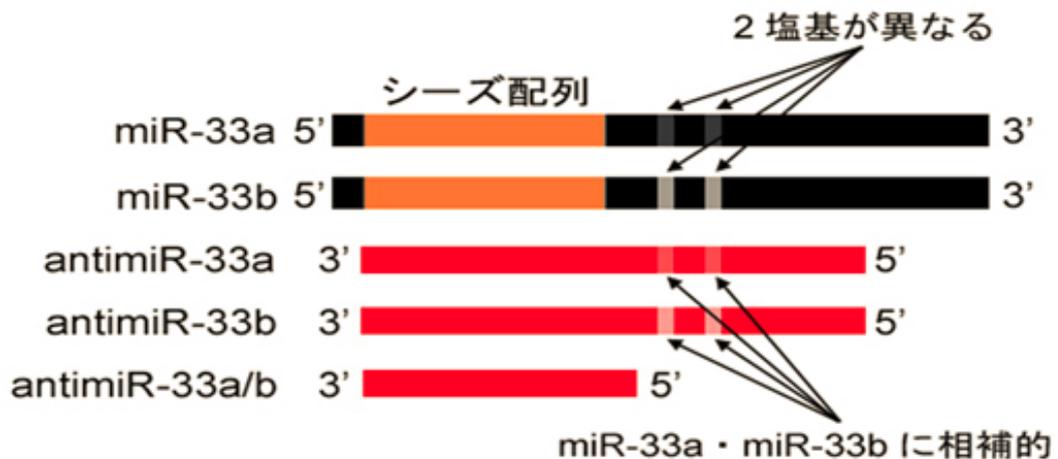


図3 miR-33に対するantimiR

miR-33aとmiR-33bは3'側の2塩基だけが異なる。antimiR-33a・antimiR-33bはこの2塩基を含む16-mer LNA-antimiRで構築し、それぞれmiR-33aあるいはmiR-33bを特異的に抑制する。antimiR-33a/bはmiR-33aとmiR-33bに共通の第2～9塩基に相補的な8-mer

LNA-antimiRで構築し、miR-33aとmiR-33bの両方を抑制する。

miR-33aとmiR-33bは共通の遺伝子を標的とする重複作用があるので、一方だけを抑えるantimiR-33aあるいはantimiR-33bでは効果が不十分であり、両者を抑えるantimiR-33a/bだけがメタボリック症候群を効率的に予防した。一例として、図4には低HDL-C血症に対する作用のデータを示す。antimiR-33a/bだけがHDL-Cを20~40%上昇させている。

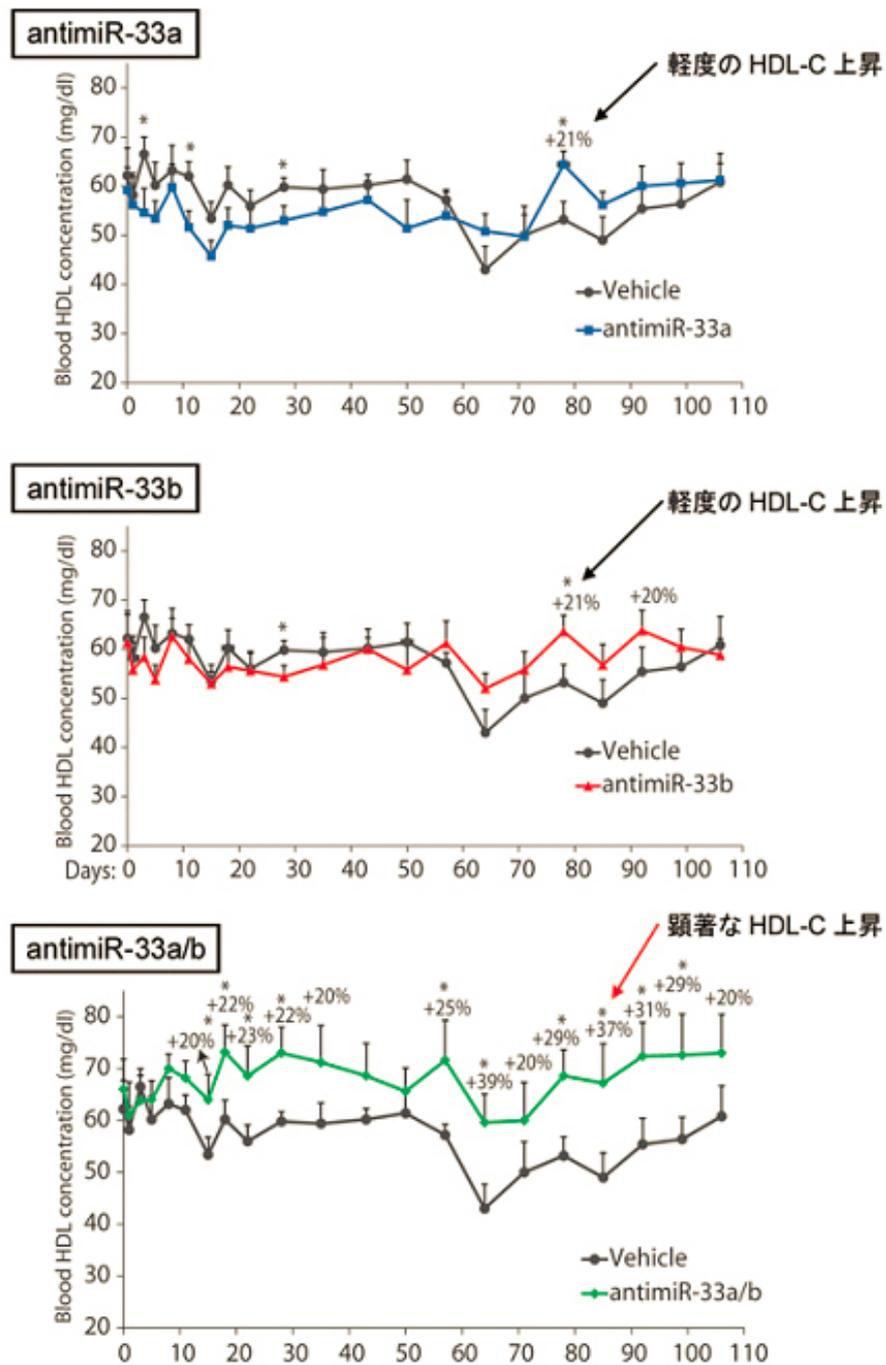


図4 antimiR-33a・antimiR-33b・antimiR-33a/bの低HDL-C血症に対する作用

antimiR-33a・antimiR-33bは軽度なHDL-C上昇作用を示しただけであるが、antimiR-33a/bは顕著なHDL-C上昇作用を示した。

従来の遺伝子治療とマイクロRNA標的核酸医療は何が違うのか？

最初にヒトで行われた遺伝子治療は、1990年米国、1995年日本で行われたアデノシンデアミノゼ欠損症に対するものである。このように従来の遺伝子治療は、単一遺伝子変異による遺伝性疾患において変異を起こした遺伝子の野生型遺伝子を含んだベクターを導入するものが中心であった。これは、単一遺伝子の変異だけを正常化させることから、いわば「カツオの一本釣り」的治療と言える。

これに対して、コモン疾患の発症には1つの分子だけでなく複数の分子からなるパスウェイが関与する。これらの複数の分子を標的とするマイクロRNAが同定されたことにより、単一のマイクロRNAを標的とすることで複数の分子を一網打尽にすることが可能と考えられるようになった。antimiRはいわば「マグロの投げ縄漁業」的治療である。このように、従来の遺伝子治療は遺伝性疾患の治療に適しているのに対して、マイクロRNA標的治療はコモン疾患の治療に適していると考えられるだろう。

それでは、このような新しく登場したマイクロRNA標的核酸医療は多くの疾患で従来の治療法にとって替わるのか、あるいは派手にアドバルーンを上げたものの尻すぼみに終わるのか、は今後の展開を待つ必要がある。心血管疾患に対しても本論文のように前臨床試験に進んでいるantimiRが複数あり、今後の展開から目が離せない。